



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA ESTIMAR LA DEGRADACIÓN
DE LA FURAZOLIDONA Y SUS EFECTOS TÓXICOS EN UN
SITIO INDUSTRIAL”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis

Para obtener el título en:

Licenciatura en Ingeniería Ambiental

Presenta:

Alejandra Michelle Trujillo Castillo

Directores:

Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez

Dr. Randy Howard Adams Schroeder



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MAYO 04 DE 2022

C. ALEJANDRA MICHELLE TRUJILLO CASTILLO
PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL
P R E S E N T E

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA ESTIMAR LA DEGRADACIÓN DE LA FURAZOLIDONA Y SUS EFECTOS TÓXICOS EN UN SITIO INDUSTRIAL"**, asesorado por la Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez y Dr. Randy Howard Adams Schroeder, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. José Ángel Gaspar Génico, M. en C. Marco Antonio Hernández Cobian, Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez, M.I.P.A. Rosalinda Frías de la O y Dr. Rodolfo Gómez Cruz.

A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.

CARTA AUTORIZACIÓN


El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **“ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA ESTIMAR LA DEGRADACIÓN DE LA FURAZOLIDONA Y SUS EFECTOS TÓXICOS EN UN SITIO INDUSTRIAL”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 04 de Mayo de Dos Mil Veintidós.

AUTORIZO



ALEJANDRA MICHELLE TRUJILLO CASTILLO

Agradecimientos

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco por el apoyo económico brindando para la obtención de grado.

A la Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez y al Dr. Randy Howard Adams Schroeder por la oportunidad de realizar este proyecto de tesis en el laboratorio de remediación de suelos, así como también, por la confianza y la calidez humana brindada durante todo este proceso. Por el tiempo brindado en la revisión de este trabajo, y por todo el aprendizaje obtenido.

A la Mtra. Liliana Hernández Acosta, por su dirección en la realización de los análisis de este proyecto, por su paciencia y sus conocimientos compartidos.

A todos los amigos, maestros y demás tesisistas, con los que compartí gratos momentos, gracias por hacer del laboratorio una hermandad y un segundo hogar. Y a todos los que formaron parte de toda mi etapa universitaria, por recorrer este largo camino y ver consolidado este objetivo.

A mi comité sinodal, por dedicar su tiempo a la revisión de este proyecto y hacer correcciones en el mismo.

A mis padres, el Sr. Gerardo de Jesús Trujillo González y la Sra. Rosa Iris Castillo López, por brindarme los medios necesarios para alcanzar mi formación como profesionista. Gracias porque hicieron lo necesario hasta donde estuvo a su alcance.

Dedicatoria

A mis padres, mis hermanos & mi sobrinita preciosa; Elizabeth:

Hoy ven consolidado todo esfuerzo y lucha en este proyecto de tesis; forjado un anhelo y un deseo. Como un testimonio del eterno agradecimiento por todo el apoyo que siempre me han brindado y con el cual he logrado terminar esta etapa memorable en mi vida.

A todos mis amigos y demás personas que han compartido de la mano este proceso de titulación, que sin su apoyo y su cariño no hubiera sido posible este logro personal que comparto con todos ustedes ¡Gracias infinitas!

& a mí, porque hoy mi logro es de superación. Me he demostrado que puedo lograrlo y que por más piedras que se presenten en el camino... ¡llegaré! Para mí es mucho más que una tesis, es la superación de una gran etapa de la vida.

Índice General

Contenido

1. Introducción	1
2. Justificación	3
3. Antecedentes	6
4. Marco teórico	9
4.1 Suelo	9
4.2 Importancia ambiental del suelo	9
4.3 Contaminación del suelo	9
4.4 Bioestimulación	10
4.5 Toxicidad	11
4.6 Espectrofotometría UV-VIS	11
4.7 Antibióticos	12
4.8 Nitrofuranos	13
4.9 Furazolidona (FZD)	13
5. Hipótesis	14
6. Objetivos	14
6.1 General	14
6.2 Particulares	14
7. Área de estudio	15
8. Metodología	16
8.1 Determinación de la identidad del analito	17
8.2 Diseño experimental	18
8.3 Establecimiento del experimento	19
8.3.1 Análisis de pH	19
.....	19
8.3.2 Análisis de Conductividad Eléctrica (CE)	20
8.4 Seguimiento	20
8.4.1 Método de extracción del analito Furazolidona	21
8.4.2 Pruebas de toxicidad por bioensayos con lombrices de tierra por contacto directo (OCDE, protocolo 207 mod. Domínguez, 2020)	22

9. Resultados y Discusiones.....	23
9.1 Identidad del analito	23
9.2 Resultados del establecimiento del experimento	25
9.2.1 Caracterización de parámetros de p ^H y Conductividad Eléctrica (CE)...	25
9.2.2 Parámetros de control.....	26
9.3 Monitoreos del suelo contaminado.....	26
9.4 Resultados de absorbancias y concentraciones	27
9.5 Resultados de toxicidad	28
10. Conclusiones	35
11. Recomendaciones.....	35
12. Literatura citada.....	36
13. Anexos	42

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Índice de Figura

Figura 1 Área de estudio	15
Figura 2 Diagrama de Metodología	16
Figura 3 Solución madre de 100 mgL ⁻¹ de FZD grado HPLC	17
Figura 4 Serie de diluciones de solución madre	17
Figura 5 Soluciones de 10 mgL ⁻¹ de solución madre de FZD grado HPLC	17
Figura 6 Determinación de máxima absorbancia del analito	17
Figura 7 Preparación previa de las muestras	18
Figura 8 Diseño experimental	19
Figura 9 Procedimiento de filtrado para prueba de pH y CE	19
Figura 10 Lectura del extracto recolectado de prueba de pH Y CE	19
Figura 11 Control de porcentaje de humedad	20
Figura 12 Adición de humedad a muestras	20
Figura 13 Extracto del analito de FZD	21
Figura 14 Muestras recolectadas para lectura	21
Figura 15 Lectura de muestras en equipo UV-VIS	21
Figura 16 Observación de organismos expuestos a muestras	23
Figura 17 Registro de pesos finales de organismos	23
Figura 18 Espectro de absorción de FZD grado HPLC y muestra de suelo contaminada con FZD	24
Figura 19 Espectro de absorbancia de FZD y sus efluentes de degradación. Adaptada de Kong et al. (2015)	24
Figura 20 Gráfica de porcentaje de humedad	26
Figura 21 Espectro de absorción de los monitoreos	27
Figura 22 Curva de calibración de FZD grado HPLC	27
Figura 23 Monitoreos de las concentraciones de suelo contaminado con FZD	28
Figura 24 Organismos expuestos al inicio del tratamiento	29
Figura 25 Organismo con inflamación en su clitelo	29
Figura 26 Organismo con presencia de líquido celómico y adelgazamiento	29
Figura 27 Organismos afectados por la toxicidad	30
Figura 28 Correlación de toxicidad	32

Índice de Tablas

Tabla 1 Pruebas de análisis de caracterización	19
Tabla 2 Caracterización inicial de muestras de suelo contaminado con furazolidona (p ^H y CE).	25
Tabla 3 Tabla del grado de toxicidad inicial y final	30
Tabla 4 Relación de resultados de espectrofotometría UV-Vis y toxicidad	33
Tabla 5 Clasificación de Toxicidad para el Bioensayo de Contacto con el Suelo de Determinación Rapida.....	43

1. Introducción

En la actualidad las diferentes enfermedades que se han desarrollado a través del tiempo, tanto para las personas como para los animales son bastante agresivas por lo tanto es necesario combatirlas, mediante el uso de medicamentos. A causa de esto, la presencia de productos farmacéuticos en el ambiente se ha hecho más evidente en los últimos años, de los cuales se pueden mencionar un extenso número de grupos de los que destacan los antibióticos, y éstos son fármacos de extenso uso en el mundo (Gil *et al.*, 2012). Es el principal grupo terapéutico estudiado debido a que son consumidos por el ser humano y usados en la producción ganadera, agrícola y piscícola, por lo que su uso ha ido en aumento en las últimas cinco décadas trayendo consigo situaciones o escenarios de gran preocupación (Díaz Cruz *et al.*, 2003), estos se elaboran mediante el metabolismo secundario de microorganismos vivos o se sintetizan artificialmente o semiartificialmente y a partir de esto pueden eliminar patógenos, bacterias o enfermedades infecciosas.

En el año 2010 se reportó una generación de uso anual en antibióticos, los cuales habían alcanzado las 100,000-200,000 toneladas en todo el mundo, incluidos antibióticos para uso veterinario y antibióticos para uso humano (Du & Liu, 2012). Entre los países que sobresalen como mayor productor y consumidor de antibióticos esta China; en 2003 produjo 28 000 y 10 000 toneladas de antibióticos de Penicilina y Oxitetraciclina respectivamente, el cual ocupa el 60% y el 65% de la producción mundial (Du & Liu, 2012).

De acuerdo con las características físicoquímicas, sus metabolitos, sus productos de degradación, y las propiedades del suelo, éstos fármacos pueden alcanzar a las aguas subterráneas, trayendo consigo posibles consecuencias no deseadas a los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse pudiendo afectar al ambiente y a los seres vivos mediante la cadena trófica (Gil *et al.*, 2012), por tanto existen diferentes fuentes y destino de los productos farmacéuticos aplicados en humanos y animales que son introducidos en el ambiente mediante desechos de

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

los procesos de fabricación, excretas, la eliminación de productos farmacéuticos no utilizados o vencidos y los derrames accidentales durante la fabricación o bien por medio de la distribución (**Díaz Cruz, et al.**, 2003). Durante las dos últimas décadas se ha incrementado el interés por estudiar la presencia de productos como lo son los fármacos, ya que forman parte de productos de uso diario y pueden llegar a ser candidatos a futuras regulaciones dependiendo de sus efectos potenciales a la salud humana y a los ecosistemas (**Avilés-Flores et al.**, 2015).

Los Nitrofuranos son un tipo de antibiótico que se han implementado en el área de medicina veterinaria, principalmente para tratar a animales que presentan enfermedades gastrointestinales causadas por bacterias y protozoos. Dado que tienen un amplio espectro de propiedades antibacterianas y antiparasitarias, se han aplicado también en medicina humana (**Biosic et al.**, 2017). Sin embargo, en muchos países se ha prohibido el uso de los Nitrofuranos debido a los posibles efectos mutagénicos y carcinogénicos que presentan (**Wen-Hui et al.**, 2013), por lo que se prohibió su uso en la Unión Europea (**Tolic et al.**, 2019), a excepción de algunos países en desarrollo donde se continúa su uso debido a la efectividad que han presentado. Para la detección de Nitrofuranos se incluyen métodos que incorporen en sus procedimientos la espectrofotometría, cromatografía en capa fina, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y espectrofotometría de masas en tándem de cromatografía líquida (**Wen-Hui et al.**, 2013).

Actualmente los estudios sobre su determinación en muestras ambientales aún son muy escasos (**Biosic et al.**, 2017), por lo que no hay muchos datos contundentes al respecto. La Furazolidona es un fármaco derivado de los Nitrofuranos, usada en algunos países europeos, principalmente como un antibiótico veterinario eficiente, primordialmente utilizado para la cría de cerdos, empleado como aditivo alimentario para el crecimiento en el campo de la ganadería, acuicultura y el tratamiento terapéutico de infecciones bacterianas e incluso protozoarias. (**Vass et al.**, 2008). Estudios realizados revelaron que presenta efectos potenciales en células bacterianas y de mamíferos (**Vass et al.**, 2008).

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

El propósito de este trabajo fue medir la reducción de la concentración de la Furazolidona de una muestra procedente de un episodio de contaminación, en estas muestras se experimentó con una bioestimulación, mediante la obtención de los espectros de absorción de este analito por medio de espectrofotometría UV-VIS se identificó la concentración de la Furazolidona y se comparó con la toxicidad presente en el suelo.

2. Justificación

En México son diversas las actividades antropogénicas, ganaderas, agrícolas, industriales y de servicio, que generan sitios contaminados (pasivos ambientales y los sitios contaminados por una emergencia ambiental) (**SEMARNAT**, 2021), como son el caso de los derrames accidentales que se pueden presentar desde la fabricación hasta la distribución de estos compuestos. De manera que los suelos presentes son reservorios a largo plazo de sustancias persistentes, bioacumulativas y tóxicas. Muchas sustancias clasificadas como contaminantes emergentes engloban a productos farmacéuticos, del cuidado personal, surfactantes, aditivos industriales y a una variedad de compuestos químicos que alteran las funciones endocrinas (**García-Gómez et al.**, 2011), estos compuestos aún no se miden en muestras ambientales por lo que se desconoce su destino (**Chiaia-Hernández et al.**, 2020). Los contaminantes emergentes también se pueden definir como compuestos que hasta la fecha no están completamente regulados en matrices ambientales y se cree que son amenazas potenciales para los ecosistemas ambientales, la salud y la seguridad humana ya que pueden ser transportados y distribuidos mediante diferentes rutas como lo es la eliminación de desechos municipales, industriales y agrícolas, excreción de productos farmacéuticos y derrames accidentales (**La Farré et al.**, 2008). Del grupo de los contaminantes emergentes se encuentran los productos farmacéuticos que, a diferencia de los plaguicidas y otros contaminantes, su comportamiento en el ambiente no se ha estudiado ampliamente, de modo que resulta importante su estudio ya que grandes cantidades de medicamentos de entre ellos aplicados a

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

medicina veterinaria acaban en sedimentos en las proximidades de las zonas acuosas (**Díaz-Cruz et al.**, 2003).

Los productos farmacéuticos se clasifican en diferentes grupos destacando a los antibióticos ya que al ser compuestos aplicados para combatir enfermedades en humanos y animales estos han ayudado para su tratamiento y su prevención de ambos (**William-Nguyen et al.**, 2016). A causa de esto, se ha hecho evidente el uso excesivo de estos medicamentos en el mundo, de modo que la producción ha sido más elevada, trayendo consigo posibles consecuencias no deseadas al ambiente y la presencia de antibióticos en el suelo puede ser perjudicial para los ecosistemas. Las introducciones de productos farmacéuticos en el ambiente podrían originar daños que afecten severamente a los organismos acuáticos y terrestres (**Graciani & Vidrih-Ferreira.**, 2014). Según diversos autores, se tiene conocimiento que los antibióticos son capaces de causar riesgos ambientales como contaminantes. En vista a que estos medicamentos perseveran en el ambiente por medio de las emisiones originadas de las fábricas durante los procesos de producción y fabricación por la gran demanda que tiene su uso en medicina humana y veterinaria (**Lewkowski et al.**, 2019).

La presencia de compuestos antibióticos en el ambiente ha empezado a generar una preocupación en cuanto a los efectos ecológicos de estos medicamentos en los diferentes procesos interrelacionados con las actividades antropogénicas (**Du & Liu**, 2012).

Los antibióticos son uno de los diferentes tipos de medicamentos que se sospecha está presente en el ambiente a causa de su incapacidad de biodegradación o por su descarga constante de los hospitales, centros médicos y de la industria que generan altas concentraciones (**Tolic et al.**, 2019). Es el caso de la Furazolidona ya que al ser un antibiótico puede resultar su liberación en el ambiente a través de la inadecuada eliminación de estos medicamentos no utilizados, los efluentes residuales de la fabricación o los derrames accidentales durante la fabricación o distribución, por lo que se consideran puntos importantes de contaminación de estos medicamentos (**Kumara et al.**, 2019), posteriormente a su liberación al

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

ambiente, estos productos farmacéuticos pueden estar expuestos a diferentes procesos en suelos o sedimentos, como la sorción y procesos abióticos y bióticos (**Biosic et al.**, 2017). La sorción es un proceso que puede afectar el destino y la influencia de los fármacos en el ambiente, el cual depende de factores como capacidad de intercambio catiónico, fuerza iónica y pH. El grado de sorción cambia con las propiedades fisicoquímicas de cada producto farmacéutico, el tipo de matrices sólidas (contenido de suelo, minerales y materia orgánica) y las condiciones ambientales presentes como la temperatura y el pH. Por lo que los resultados que se obtengan con valores altos indican una fuerte sorción entre el analito y la fase sólida, mientras que, por otro lado, el caso de baja sorción indican que los componentes serán probablemente lixiviados del suelo o sedimento (*Tolic et al.*, 2019).

Por lo que para llevar a cabo la detección y evaluación del riesgo de los medicamentos en el ambiente están los métodos analíticos. La cromatografía de gases con espectrometría de masas o espectrometría de masas en tándem son métodos que se han usado y son capaces de determinar los compuestos de interés a niveles de ng/L y se usan actualmente para la detección de compuestos farmacéuticos en aguas residuales (**Moreno-Ortiz et al.**, 2013), por otro lado la detección UV y fluorescencia han sido los métodos de detección utilizadas, acopladas a la cromatografía líquida de alta resolución para el análisis de fármacos en matrices ambientales sólidas, aunque los estudios en matrices sólidas suelen ser escasos (**Díaz-Cruz et al.**, 2003). El éxito de estos métodos depende principalmente del tipo de matriz que se requiera analizar en la cual se encuentre el fármaco de interés (**Moreno-Ortiz et al.**, 2013).

3. Antecedentes

Se han realizado diferentes estudios del grupo de los Nitrofuranos, de entre ellos la Furazolidona, donde se han encontrado concentraciones a partir de métodos analíticos.

White (1989), realizó una revisión de métodos analíticos probados en medios biológicos como sangre, bilis, orina y heces, para estudiar el fármaco de Furazolidona. Donde menciona el uso de la absorción ultravioleta, difusión de agar, colorimetría y cromatografía en estudios realizados principalmente a ratas y perros.

Peralta et al. (2001) realizaron un estudio anátomo histopatológico en testículos de pavos, a los cuales se les administraron Furazolidona a dosis de 0.04% p/p durante 45 semanas en sus dietas. El cual revelo al final del tratamiento la presencia de quistes en 30% de los órganos.

Barragán et al. (2011) determinaron la genotoxicidad de la Furazolidona en pollos en dos etapas; la primera durante 28 días con dosis de 110 g/ton de alimento y la segunda por 10 días con dosis de 220 g/ton de alimento mediante la técnica analítica en cromatografía líquida de alta resolución. Donde los datos obtenidos confirman la capacidad de la Furazolidona para inducir un efecto genotóxico bien definido en concentraciones de 0.1 y 10 μm por 7 días (22.5 μg y 250 μg).

Douny et al. (2013) presentaron un método cuantitativo de análisis de la suma de residuos de Nitrofuranos mediante la aplicación de la cromatografía líquida combinada con espectrofotometría de masas en tándem en camarones contaminados con Furazolidona para evaluar la cantidad de metabolitos que se podían encontrar. Determinaron que se pueden encontrar residuos después de 28 días del tratamiento final con Furazolidona, por lo que no se debe usar por los posibles efectos mutagénicos y carcinogénicos.

Biosic et al. (2017), estudiaron la degradación hidrolítica de la Nitrofurantoina al 98% de su pureza en matriz de agua, donde concluyeron que el grado de hidrólisis

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

depende significativamente del valor del pH y la temperatura, ya que puede afectar su capacidad de permanecer estable en el agua.

Tolic et al. (2019), evaluaron la Nitrofurantoina en suelos y sedimentos al 99% de su pureza, donde encontraron que tiene una pequeña afinidad para acumularse en muestras de suelo y sedimentos arenosos y arcillosos. La capacidad de sorción disminuía con un aumento en la concentración inicial y el tiempo de exposición.

Lewkowski et al. (2019) reportaron los efectos dañinos que tiene la Furazolidona en el ambiente a través del crecimiento y desarrollo de plantas vegetales como las plántulas de avena y rábanos, lo que se demostró ser significativamente tóxicos en concentraciones del 98%.

Hay estudios que comprobaron en general que la degradación metabólica de los Nitrofuranos implica la biotransformación reductora del anillo de 5-nitrofurano. Por lo tanto, la Furazolidona resulta un compuesto peligroso, como desecho comunal o industrial, así como desechos después de su uso veterinario, agrícola o acuícola ya que son nocivos para el suelo (**Lewkowski et al.**, 2019).

También se han reportado estudios en matriz biótica realizados por **Acousticbiotech** (2020), donde evalúa los efectos carcinogénicos de la Furazolidona y sus metabolitos en *Poecilia formosa*, una especie de pez ginogenético ornamental, considerada un modelo adecuado para probar el potencial carcinogénico de los medicamentos. En este ensayo se demostró que el tipo de cáncer inducido por la Furazolidona se definió como melanohistiocitoma (tumores benignos de los centros de melanomacrófagos), los cuales se vuelven más evidentes y profusos con el tiempo de exposición de la Furazolidona.

Es de suma importancia llevar a cabo estudios sobre la Furazolidona en alimentos y matrices ambientales ya que según conclusiones del Comité de expertos en aditivos alimentarios de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud, y basados en la literatura científica disponible no existe actualmente un nivel seguro de Furazolidona o de sus metabolitos que represente un riesgo aceptable a la salud y

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

al ambiente. Por lo tanto, las autoridades competentes deberían prevenir la presencia de la Furazolidona en dichas matrices para evitar posibles repercusiones al ambiente. (FAO y OMS, 2018)

Entre los métodos existentes que se han utilizado para las mediciones de concentraciones de antibióticos como el grupo de Nitrofuranos, **Wang & Zhang** (2006) llevaron a cabo la determinación e identificación simultánea del grupo de Nitrofuranos mediante condiciones cromatográficas optimizadas, donde los resultados indicaron que la mezcla de metanol y acetonitrilo, que contenía una solución de amoníaco al 1% era el mejor disolvente de extracción.

De igual forma, se mencionan en la literatura métodos para medir diferentes tipos de antibióticos, como los ensayos microbiológicos. Estos emplean especies de bacterias sensibles para la determinación de ciertos antibióticos específicos, este tipo de ensayos microbiológicos se han usado para el análisis de muestras en alimentos como leche y suero. Por otra parte, se han utilizado los ensayos físicos y químicos, donde su procesamiento se lleva a cabo a escala laboratorio y van dirigidos principalmente a propiedades específicas de la molécula. Posteriormente, se ubican los inmunoensayos, los cuales proporcionan una detección específica y altamente sensible a este tipo de fármacos. Entre los inmunoensayos se mencionan los inmunoensayos ELISA que se han adaptado a muestras de suelos, alimentos y agua, donde se lleva a cabo la determinación de sus análisis. Por último, se encuentran presentes los biosensores de células enteras. Los biosensores utilizan la maquinaria interna de las células bacterianas para la determinación de las concentraciones que se quiere conocer del antibiótico a evaluar a un bajo costo. Por ello la disponibilidad de métodos que proporcionen un diagnóstico respecto a la presencia de antibióticos permitirá una mejor evaluación previa del sitio contaminado. (**Parthasarathy et al.**, 2018).

4. Marco teórico

4.1 Suelo

El suelo se forma a partir de la alteración física y química de la roca madre bajo acciones de las condiciones climáticas y la actividad de organismos vivos, por un tiempo prolongado (**García-Amador**, 2014)

Por otro lado, la norma **NOM-021-RECNAT-2000** establece que, el suelo es una colección de cuerpos naturales formados por sólidos (minerales y orgánicos), líquidos y gases, sobre la superficie de los terrenos.

El cuidado del suelo es fundamental ya que es parte de la vida de los seres vivos y de su desarrollo en el entorno, por ello cumple con funciones que son esenciales para la vida.

4.2 Importancia ambiental del suelo

Entre las funciones que desempeña el suelo es dar soporte y suministro a las plantas. Sin embargo, el suelo cumple con otras funciones, como la de constituir un medio filtrante que permite la recarga de los acuíferos, influyendo también en la calidad del agua. Así también constituye el medio donde se llevan a cabo los ciclos biogeoquímicos en el ambiente. (**Cotler et al.**, 2007).

Existen diferentes tipos de suelos, de acuerdo a sus características, estos son clasificados para una mejor caracterización a nivel de campo o de laboratorio, lo cual es esencial para llevar a cabo las medidas pertinentes para sus análisis.

4.3 Contaminación del suelo

La contaminación del suelo es una causa que se ha dado a través de los años por diferentes tipos de agentes, de los que se pueden mencionar los hidrocarburos, la acumulación de sales, los metales, residuos, lixiviados, y particularmente agentes químicos como son los contaminantes emergentes de entre ellos; fármacos de antibióticos, utilizados en medicina humana o veterinaria.

La causa de la contaminación del suelo trae consigo consecuencias como lo es la degradación del suelo, el cual, implica todo proceso que rebaja la capacidad actual y potencial del suelo para producir, bienes y servicios. Esto se puede llevar a cabo por causas naturales, pero principalmente sucede por la consecuencia directa de su uso por la sociedad. Los procesos de degradación se clasifican de acuerdo a la naturaleza y del tipo de consecuencias negativas que provocan en las propiedades del suelo (**García-Amador**, 2013).

Los métodos biológicos pueden presentar ventajas de recuperación de suelos contaminados, pues son una estrategia de limpieza viable. Estas técnicas de tratamientos biológicos dependen de la capacidad de los organismos para degradar los contaminantes a productos inocuos como CO₂, agua y biomasa (**García-Amador**, 2014).

4.4 Bioestimulación

La bioestimulación es una técnica de biorremediación que se basa en la circulación de soluciones adicionadas con nutrientes o bien, oxígeno, a través del suelo contaminado con el fin de estimular la actividad de los microorganismos autóctonos, y lograr así la biodegradación de contaminantes orgánicos o en su caso la inmovilización de contaminantes inorgánicos in situ. La estimulación de la actividad de los microorganismos natural es mediante el control de parámetros, como las condiciones de humedad y la adición de oxígeno. Por lo que para que los microorganismos puedan eliminar las sustancias químicas dañinas, el suelo y las aguas subterráneas deben contar con la temperatura, nutrientes y cantidad de oxígenos apropiados, con el fin de que los microorganismos presentes crezcan, se multipliquen y asimilen más contaminantes. Este tratamiento se puede aplicar in situ o e situ, su costo de operación es bajo, genera pocos residuos y no requiere la utilización de equipos especializados para su aplicación (**García-Amador**, 2014).

Los suelos tienden a ser reservorios de una gama sustancias químicas, por lo que están expuestos a la toxicidad de estos compuestos y de sus metabolitos, sin ninguna regulación normativa completa en los ecosistemas y la aplicación de tratamientos de remediación para la recuperación de estos sitios contaminados, *“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”*

por lo que el estudio de la toxicidad de contaminantes como los fármacos que son de uso diario es fundamental para disminuir su impacto ambiental.

4.5 Toxicidad

La norma **NOM-052-SEMARNAT-2005** establece que, la toxicidad es la propiedad de una sustancia o mezcla de sustancias de provocar efectos adversos en la salud o en los ecosistemas. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo pruebas CRETl o toxicológicas a sustancias que se presuman hacen un daño al ambiente.

Existe una gran gama de productos de uso diario, los cuales pueden llegar a diferentes matrices ambientales por medio de varias corrientes de desechos como lo son los fármacos, y estos se han ido detectando en el ambiente a partir de 1990 (**Avilés-Flores et al.**, 2015), por lo que es importante conocer si se hallan estos compuestos farmacológicos en el suelo. Una forma precisa para identificar estos contaminantes en matrices solidas es por medio de espectrofotometría UV-VIS.

4.6 Espectrofotometría UV-VIS

Las propiedades básicas de la luz son su longitud de onda (se designa frecuentemente en nanómetros) y su frecuencia. La luz visible representa apenas una pequeña porción del espectro electromagnético, que abarca desde longitudes de onda muy cortas (rayos gamma y rayos X) hasta longitudes de onda muy largas (microondas y ondas de radio). La espectrofotometría de absorción UV-VIS se encarga de medir la atenuación de un haz de luz después de su paso a través de una muestra. Esta técnica es usada para la detección de contaminantes emergentes, entre otros. El principio básico de la técnica de UV-VIS es la absorción de radiación de una frecuencia determinada en el rango de longitudes de onda de UV-VIS, realizada por una molécula para producir una transición de un nivel de baja energía a un nivel de mayor energía (**Castellanos-Cuellar et al.**, 2018).

La espectrofotometría UV-VIS es una técnica no destructiva, lo que permite reutilizar las muestras o continuar con su procesamiento o análisis. Se pueden realizar mediciones rápidamente, lo que permite una fácil integración en protocolos

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

experimentales. Los instrumentos son fáciles de usar, requiere poca capacitación del usuario antes de su uso. El análisis de datos generalmente requiere procesamiento mínimo, lo que nuevamente significa que se requiere poca capacitación del usuario (Tom, 2021).

La espectrofotometría UV-VIS se ha visto aplicada a diversas situaciones, como los análisis de ADN y ARN, ya que mediante esta técnica se puede realizar una verificación rápida de la pureza y la concentración del ADN o ARN que se quiera estudiar en cuestión, así como en cultivos bacterianos y se usa regularmente dado que se prefiere debido a las propiedades ópticas de los medios de cultivo bacterianos en los que se cultivan y para evitar dañar las células, mismo también como en análisis en bebidas, debido a que la luz ultravioleta puede facilitar la cuantificación de ciertos compuestos (Tom, 2021). Entre las diferentes aplicaciones que se le ha dado a la espectrofotometría UV-VIS es también a los análisis farmacéuticos por lo que es una herramienta precisa para medir concentraciones de contaminantes a partir del espectro que se genera, como por ejemplo a los antibióticos.

4.7 Antibióticos

Son fármacos de amplio uso en todo el mundo; sus efectos son contra microorganismos patógenos en animales y humanos, también se han implementado su uso para la preservación de alimentos (Gil et al., 2012), a través del paso del tiempo el consumo de productos farmacéuticos, humanos y veterinarios aumenta constantemente día a día, así como su liberación al ambiente (Tolic et al., 2019)

Los fármacos entran al ambiente a través de vías derivadas de los procesos de manufactura, por consumo de los pacientes, la inadecuada disposición de los medicamentos y por derrames accidentales. Los fármacos han sido detectados en el ambiente con mayor frecuencia a partir del año 1990 (Avilés-Flores et al., 2015). Estimaciones sobre el uso de antibióticos en animales agrícolas y humanos en países como Canadá, Dinamarca y Australia han demostrado que los

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

antibióticos administrados a animales representan la mayoría de todos los antibióticos usados por peso. (**Williams-Nguyen et al.**, 2016)

4.8 Nitrofuranos

Los Nitrofuranos pertenecen a una clase de antibióticos sintéticos de amplio espectro que contienen todos, un anillo característico de 5-nitrofurano. Este grupo está clasificado por Furazolidona, Nitrofurazona, Furaltadona y otros compuestos emparentados (**Loayza-Pérez**, 2008), anteriormente fue empleado como aditivos alimentarios para el crecimiento y se usaba para la ganadería, principalmente para las aves de corral, porcinos y bovinos, en la acuicultura usados en pescados y camarones, en colonias de abejas para la profilaxis y tratamientos terapéuticos de infecciones bacterianas y protozoarias. El uso de Nitrofuranos para el ganado se ha prohibido en países como Australia, Estados Unidos, Filipinas, Tailandia y Brasil (**Vass et al.**, 2008)

4.9 Furazolidona (FZD)

La Furazolidona es un antibiótico con fórmula molecular $C_8H_7N_3O_5$, posee un peso molecular 225.16 g/mol (**SIGMA-ALDRICH**, 2021), pertenece al grupo de los Nitrofuranos, ha sido utilizada en animales de granja como profiláctico o terapéutico contra un amplio grupo de bacterias y protozoos (**Peralta et al.**, 2001). La mayor información que se encuentra disponible describe estudios que utilizaban ratas y ratones en sus modelos para el examen de efectos de la Furazolidona, la cual se encuentra incluida en la lista de carcinógeno de la Proposición 65 del Estado de California (**Vass et al.**, 2008). Existen datos disponibles que muestran que los antibióticos del grupo de Nitrofuranos todavía se siguen utilizando en algunos países como promotores del crecimiento y agentes profilácticos porque son baratos y efectivos (**Vass et al.**, 2008), sin embargo, la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de América considera que se debe prohibir su comercialización dado que puede generar residuos carcinogénicos en tejidos de animales (**Barragán-Hernández et al.**, 2011). Es por ello que el uso de métodos de detención de la Furazolidona puede mejorar la

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

eficacia de su control residual (Vass *et al.*, 2008) en matrices ambientales como el suelo.

5. Hipótesis

Los espectros de absorción UV-VIS, del proceso de la degradación de Furazolidona presente en un suelo, pueden ser un instrumento para detectar su nivel de toxicidad y su concentración.

6. Objetivos

6.1 General

Identificar la existencia de correlación directa entre los valores de los espectros de absorción y los niveles de toxicidad obtenidos del proceso de degradación de Furazolidona en un suelo contaminado procedente de la planta CIVAC en Jiutepec, Morelos.

6.2 Particulares

- Identificar el espectro de absorción de la Furazolidona, mediante el gráfico de absorbancia para conocer la identidad del analito.
- Evaluar la degradación de la Furazolidona en el suelo contaminado, mediante pruebas de toxicidad y espectros de absorción UV-VIS.
- Relacionar los resultados de espectrofotometría UV-VIS y toxicidad con respecto al tiempo de degradación de Furazolidona en el suelo estudiado.

7. Área de estudio

El área de estudio de donde proceden las muestras contaminadas con Furazolidona se ubicada en la zona 14Q donde se encuentra la Planta CIVAC en el Estado de Morelos, municipio de Jiutepec.



Figura 1 Área de estudio

8. Metodología

Para el cumplimiento de los objetivos se describe la metodología que se llevó a cabo de la siguiente manera cronológica.

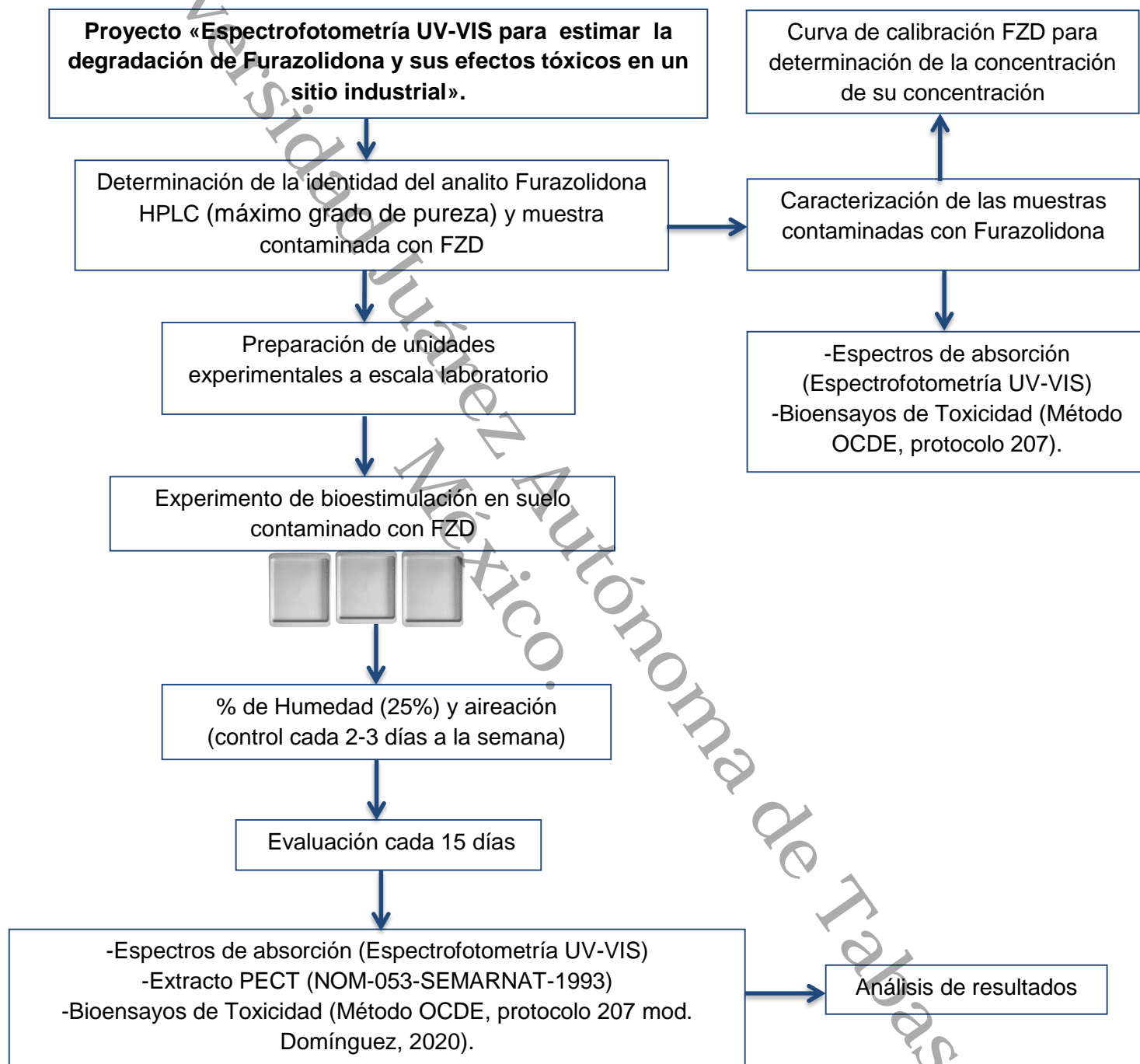


Figura 2 Diagrama de Metodología

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

8.1 Determinación de la identidad del analito

Se preparó una solución madre de 100 mgL^{-1} de FZD grado HPLC (máximo grado de pureza) (figura 3), con el propósito de llevar a cabo una curva de calibración, posteriormente se realizaron nueve repeticiones de diluciones de 10 mgL^{-1} de FZD (figura 4), utilizando material de precisión: Balanza analítica, micropipetas, matraces volumétricos tipo A.



Figura 3 Solución madre de 100 mgL^{-1} de FZD grado HPLC



Figura 4 Serie de diluciones de solución madre

Con las soluciones de 10 mgL^{-1} (figura 5), se determinó la identidad del analito, mediante un espectrofotómetro Genesys 10s UV-VIS de doble haz, usando una cubeta de cuarzo (figura 6). Donde se identificó los espectros de absorción, a la vez que se identificó el valor de máxima absorción que caracterizo al analito



Figura 5 Soluciones de 10 mgL^{-1} de solución madre de FZD grado HPLC



Figura 6 Determinación de máxima absorbancia del analito

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

Se continuó realizando la misma metodología para determinar los espectros de absorción del suelo contaminado realizando tres réplicas.

8.2 Diseño experimental

Previo a la experimentación, se prepararon las muestras, sometiéndolas a un proceso de secado a temperatura ambiente y trituradas de forma mecánica, para posteriormente intentar realizar un tratamiento de bioestimulación.



Figura 7 Preparación previa de las muestras

Se contó con un diseño completamente aleatorizado, el cual se constituía de suelos contaminados con Furazolidona, teniendo un total de tres unidades experimentales (figura 8), compuestas por charolas de vidrio, donde en cada una se extendieron 600 gramos de suelo para llevar a cabo la experimentación con una bioestimulación en el mismo.

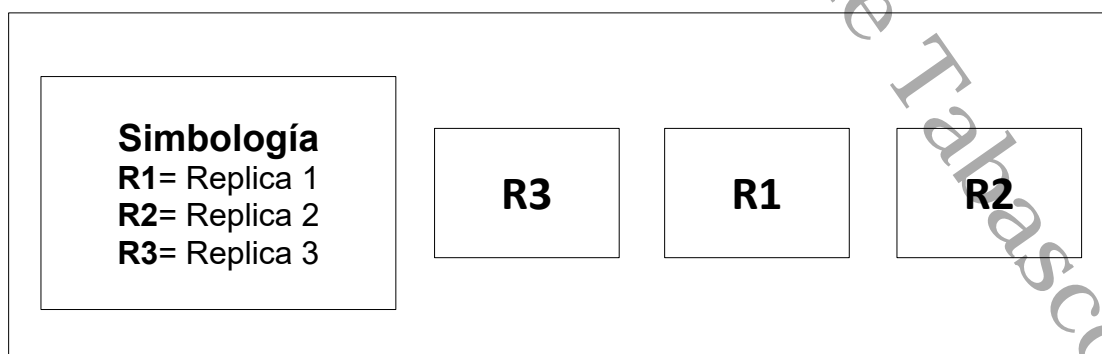


Figura 8 Diseño experimental

8.3 Establecimiento del experimento

Para el experimento, se usó una muestra recolectada en campo procedente de un episodio de contaminación, la cual se caracterizó en el Laboratorio de Remediación de la DACBiol.

Tabla 1 Pruebas de análisis de caracterización

Análisis de caracterización	Referencia
p ^H	NOM-021-RECNAT-2000
Conductividad eléctrica (CE)	NOM-021-RECNAT-2000

Los análisis de caracterización se realizaron en dos etapas: previo a someter al tratamiento en los tiempos seleccionados para implementar el experimento de bioestimulación y al finalizar la aplicación de este.

8.3.1 Análisis de p^H

La realización de la prueba de p^H se llevó a cabo bajo el método AS-02, establecido en la NOM-021-RECNAT-2000 (**Diario Oficial de la Federación** (DOF), 2000), donde se pesaron 10 gramos de la muestra (molida y tamizada) ya identificada previamente en un matraz Erlenmeyer por medio de una balanza digital. Se adicionaron 20 mL de agua desionizada y posteriormente, se agitó la mezcla en un equipo multiagitador durante 30 minutos a 120 rpm, se continuó filtrando la solución por medio de un filtro Whatman (figura 9). Finalmente, se tomó lectura del extracto obtenido del filtrado por medio de un equipo multiparámetro Hanna HI 98195 (figura 10).



Figura 9 Procedimiento de filtrado para prueba de pH y CE



Figura 10 Lectura del extracto recolectado de prueba de pH y CE

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

8.3.2 Análisis de Conductividad Eléctrica (CE)

Se continuó con la determinación de la conductividad eléctrica en solución, donde se pesaron 10 gramos de la muestra (molida y tamizada) en un matraz Erlenmeyer mediante una balanza digital, después se adicionaron 50 mL de agua desionizada, y se continuó agitando la muestra por una hora en el equipo multiagitador a 80 rpm, y pasando el tiempo de agitación se dejó filtrando. Finalmente se registró la lectura del extracto obtenido del filtrado por medio de un equipo multiparámetro Hanna HI 98195 (figura 10).

Posteriormente, extendiendo la mezcla sobre las charolas de vidrio, se mantuvieron los parámetros de control de % de humedad (25%) (figura 11), humectando las muestras con agua corriente y proporcionándole aireación mecánica mismos que fueron monitoreados y realizados de 2 a 3 días de la semana, todo esto con el propósito de estimular la capacidad de degradación natural (figura 12), sin la aplicación de fertilizante.

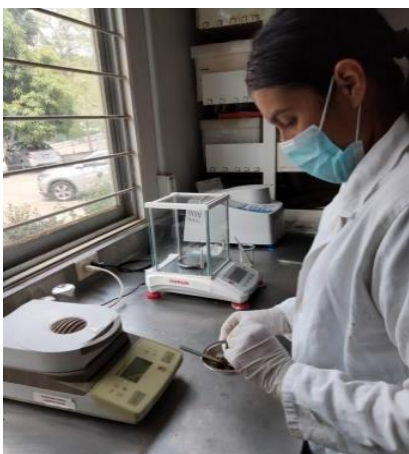


Figura 11 Control del porcentaje de humedad



Figura 12 Adición de humedad a muestras

8.4 Seguimiento

Cada 15 días, se llevó a cabo un muestreo en cada unidad experimental del suelo contaminado, con el propósito de obtener un extracto por medio del método establecido por la **NOM-053-SEMARNAT-1993** (DOF, 1993), y al finalizar el tratamiento realizar pruebas de toxicidad por bioensayos con lombrices de tierra (Método OCDE, protocolo 207 mod. Domínguez, 2020).

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

8.4.1 Método de extracción del analito Furazolidona

La prueba de extracción se realizó mediante la identificación de las muestras provenientes del tratamiento que se les aplicó a las réplicas; se inició pesando en balanza digital 0.5 g de muestra, se continuó agregando 10 mL agua desionizada para someterlo durante tiempos determinados en equipos de separación. Como primer equipo de separación, se usó el multiagitador, donde las muestras tuvieron un tiempo aproximado de cinco minutos de agitado, se continuó empleando el equipo ultrasónico alrededor de 10 minutos, y por último se usó el equipo de la centrifuga aproximadamente 5 minutos con el propósito de extraer de una mejor manera al analito por medio de un filtro Whatman (figura 13). Pasando alrededor de 15 minutos, se procedió a aforar 1 μ L del extracto recolectado con la ayuda de matraces de 10 mL para leer al analito por medio de un equipo espectrofotómetro UV-VIS (figura 14) y determinar la concentración mediante su mayor rango de absorción (figura 15).

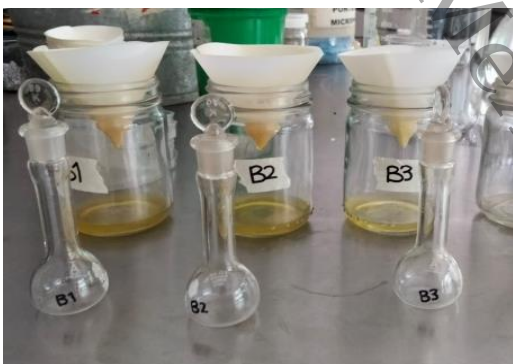


Figura 13 Extracto del analito de FZD



Figura 14 Muestras recolectadas para lectura



Figura 15 Lectura de muestras en equipo UV-VIS

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

8.4.2 Pruebas de toxicidad por bioensayos con lombrices de tierra por contacto directo (OCDE, protocolo 207 mod. Domínguez, 2020).

Esta prueba se llevó a cabo exponiendo directamente a los organismos (*Eisenia foetida*) al suelo a través del contacto directo con las muestras contaminadas con Furazolidona y un suelo testigo en 2 etapas: previo al tratamiento y al final del tratamiento, de la siguiente manera:

Un día previo a la prueba se apartaron a los organismos en edad adulta. El día de la prueba se procedió a sacar los organismos seleccionados de la charola (ya limpios) para colocarlos en una caja cerrada con papel húmedo con el propósito de que evacuaran durante tres horas. Durante este tiempo se identificaron y acondicionaron los frascos (forrados de papel para evitar la penetración de la luz) para cada organismo donde después se pesaron cinco gramos de las muestras según la etapa correspondiente y finalmente se humectó dicha muestra (25%).

Tras haber pasado el tiempo en que evacuaron los organismos de prueba (tres horas), se continuó pesando a cada organismo en la balanza digital, registrando su peso inicial con las características observadas en cada frasco, se aseguran los frascos tapándolos correctamente con el fin de evitar la entrada de luz al organismo. Se colocaron todos los frascos, ya identificados previamente, en una charola donde permaneció en un espacio con 25 ± 2 °C de temperatura. Pasadas las 24 horas se monitoreo cada frasco y se registraron las características observadas (figura 16).

Tras transcurrir las 24 horas después del primer monitoreo se sacaron los frascos y a cada uno se le registró las características observadas y el peso final de su respectivo organismo (figura 17). Dichos datos se compararon respecto a los testigos en la disminución de peso, capacidad de respuesta a estímulos y movimientos, y la presencia de líquido celómico.



Figura 16 Observación de organismos expuestos a muestras



Figura 17 Registro de pesos finales de organismos

A partir de los datos obtenidos se realizaron análisis estadísticos y conclusiones en relación con los datos de concentración anteriormente realizados

9. Resultados y Discusiones

9.1 Identidad del analito

Mediante los valores promedios de las concentraciones obtenidas de las pruebas de identidad se construyó un espectro de absorción, donde se presenta el valor de mayor absorción en una longitud de onda en 360 nm, el cual registró un valor de absorción de 2.516 de la Furazolidona estándar (Grado HPLC), con el propósito de que dicho valor ayudaría a realizar una curva de calibración posteriormente.

Así mismo, se identificó un espectro de absorción a partir de valores promedios obtenidos de la muestra de suelo contaminada con Furazolidona que se usó en el experimento de bioestimulación (figura 18).

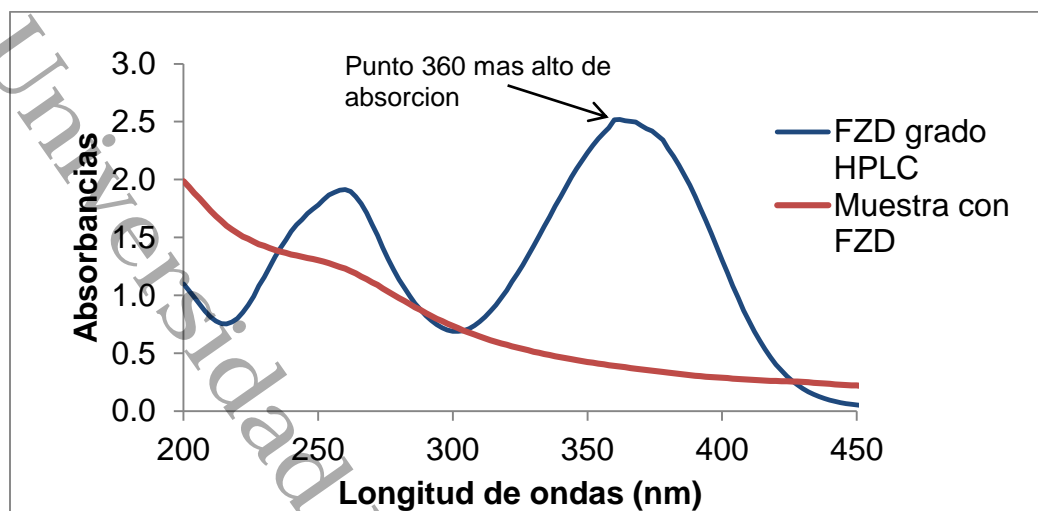


Figura 18 Espectro de absorción de FZD grado HPLC y muestra de suelo contaminada con FZD

Comparando nuestros resultados con el estudio de degradación de la Furazolidona mediante espectro UV-VIS y sus valores de degradación bajo diferentes tiempos seleccionados que realizaron **Kong et al.** (2015), se puede observar que el comportamiento de la Furazolidona en el tiempo 0 (0 h), antes de ser sometido al proceso de degradación (figura 19) es similar al comportamiento obtenido de nuestro espectro de absorción referido en la figura 18 de la Furazolidona grado HPLC en laboratorio.

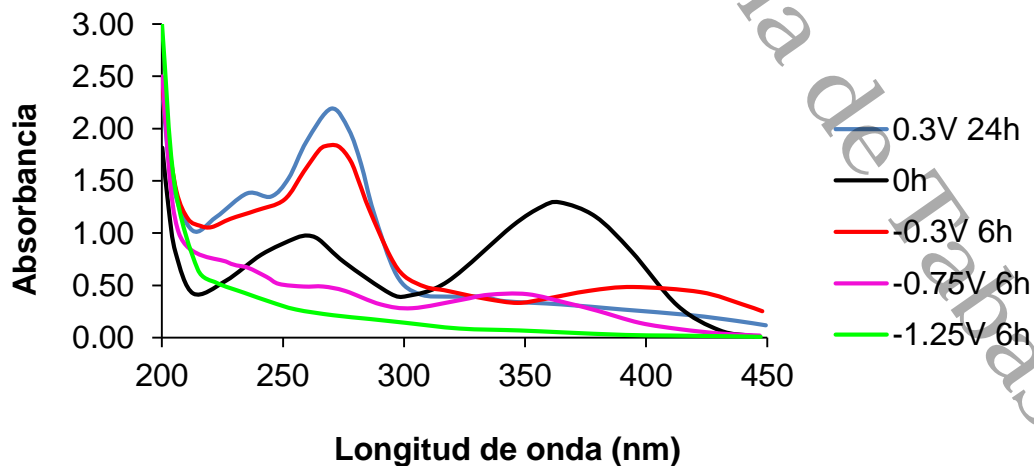


Figura 19 Espectro de absorbancia de FZD y sus efluentes de degradación. Adaptada de Kong et al. (2015)

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

En el tiempo -1.25 V 6 h, correspondientes a 42 horas de degradación de la Furazolidona (figura 19) se observa que es el comportamiento que más se asemeja al resultado obtenido de la muestra de suelo contaminada con FZD (figura 18).

9.2 Resultados del establecimiento del experimento

9.2.1 Caracterización de parámetros de pH y Conductividad Eléctrica (CE)

Las muestras se caracterizaron inicialmente antes de someterlas a tratamiento y al finalizar el tratamiento, obteniendo los siguientes resultados (tabla 2).

Tabla 2 Caracterización inicial y final de muestras de suelo contaminado con Furazolidona (pH y CE).

ID Muestra	Inicial		Final	
	pH	CE (ds/m)	pH	CE (ds/m)
R1	7.19	0.53	7.24	0.93
R2	7.2	0.49	7.16	0.82
R3	7.22	0.53	6.91	0.94
Promedio	7.20 (± 0.02)	0.53 (± 0.03)	7.10 (± 0.17)	0.89 (± 0.06)

Las muestras contaminadas con Furazolidona (R1, R2 y R3) no tuvieron cambios significativos en el parámetro de pH, clasificando el valor obtenido al inicio y al final en un suelo neutro de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, aunque estudios realizados por **Raimondo et al.** (2020) demostraron que hay parámetros como el contenido de humedad que se ven reflejados sobre el pH, afectando este directamente en el suelo y modificando la movilidad del contaminante. Por otro lado, el valor de CE se clasificó con efectos no apreciables de la salinidad conforme a lo descrito en la misma norma.

9.2.2 Parámetros de control

Se mantuvieron los parámetros de control de las unidades experimentales del tratamiento con suelo contaminado inicialmente en 30% de humedad. El comportamiento en el porcentaje de humedad de las tres réplicas (R1, R2 y R3) expuestas al tratamiento mantienen un comportamiento similar entre sí (figura 20).

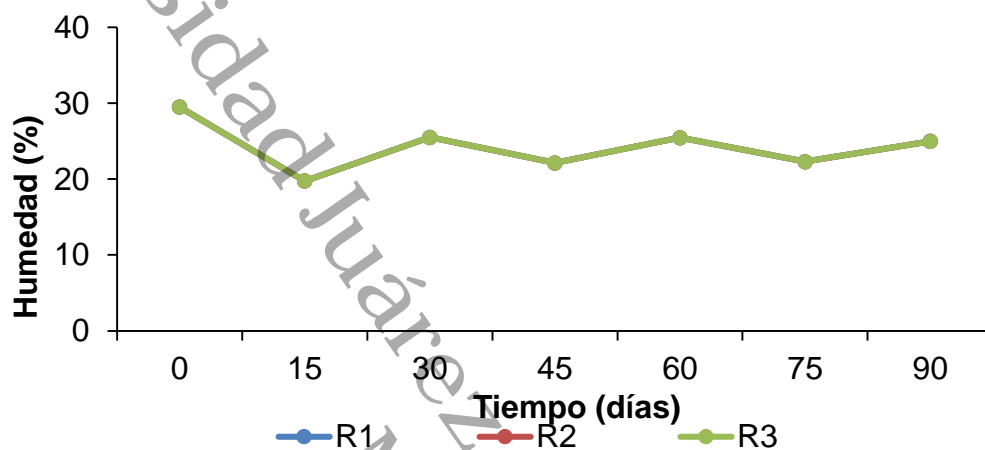


Figura 20 Gráfica de porcentaje de humedad

9.3 Monitoreos del suelo contaminado

En el monitoreo de las unidades experimentales, se observa la reducción de las absorbancias con respecto al tiempo (figura 21), esto se puede atribuir a la degradación por procesos del experimento de bioestimulación.

Gopinath et al. (2011) aplicó la misma tecnología de bioestimulación, más la adición de una enmienda orgánica a un suelo contaminado con herbicidas, donde las concentraciones se redujeron a niveles significativos más bajos en breves periodos de tiempos. Las enmiendas orgánicas son ricas en microorganismos que podrían participar en la remoción de contaminantes durante los tratamientos de biorremediación (**Raimondo et al.**, 2020) Por lo que para una próxima evaluación se podría considerar la aplicación de esta tecnología más la adición de alguna enmienda orgánica que potencialice la descomposición de compuestos tóxicos en sitios contaminados.

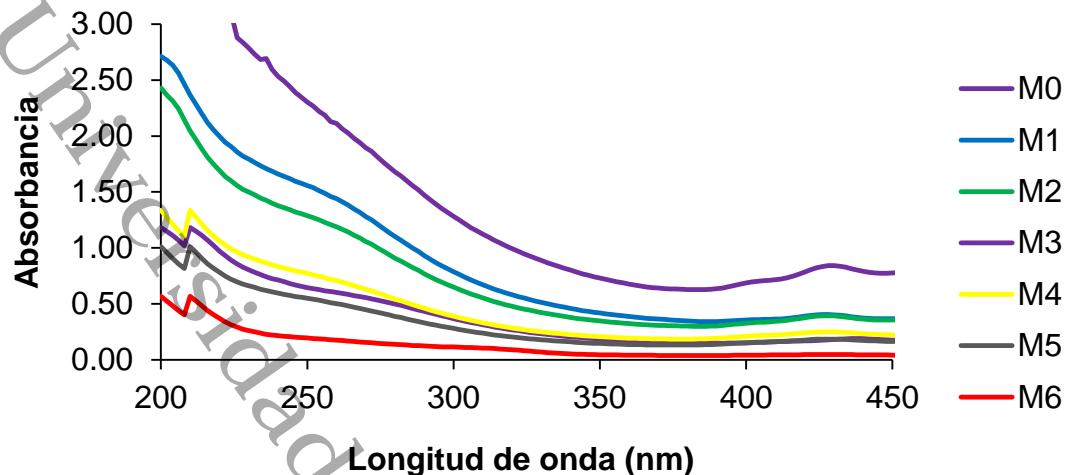


Figura 21 Espectro de absorción de los monitoresos

Nota: M0=Monitoreo 0 (0 día), M1=Monitoreo 1(15 días), M2=Monitoreo 2 (30 días), M3=Monitoreo 3 (45 días), M4=Monitoreo 4 (60 días), M5=Monitoreo 5 (75 días) & M6=Monitoreo 6 (90 días).

9.4 Resultados de absorbancias y concentraciones

La curva de calibración obtenida a partir de la lectura de absorbancias asociadas a diferentes diluciones del estándar de FZD grado HPLC, resulta en una ecuación lineal que explica en un 99.6% que los valores de las absorbancias se deben a las concentraciones de FZD (figura 22).

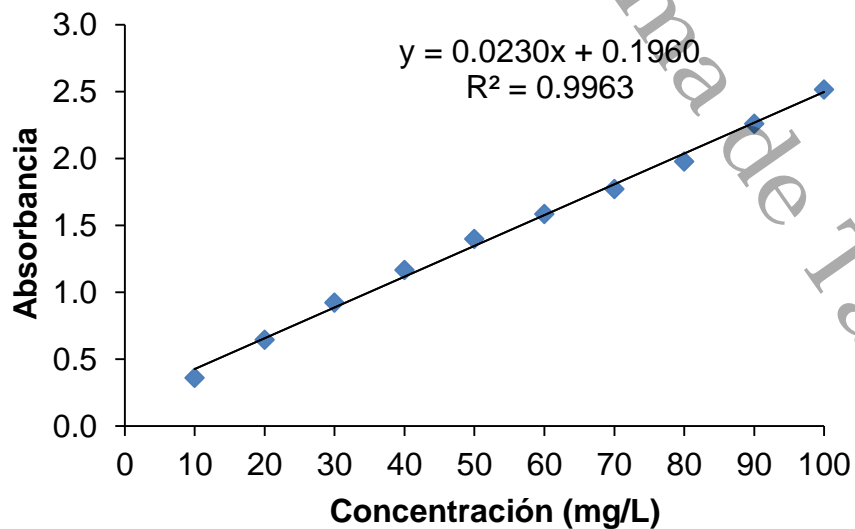


Figura 22 Curva de calibración de FZD grado HPLC

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

A partir de la ecuación $y=0.0230x + 0.1960$, se estimó la concentración de FZD (mg/kg) en el suelo contaminado y con esto poder evaluar la disminución de esta concentración a través de los tiempos seleccionados.

Con los resultados del monitoreo de la concentración de Furazolidona cada quince días, se comprobó la normalidad de los datos ($P \geq 0.05$) utilizando la prueba de Shapiro-Wilk, posteriormente se obtuvo una correlación lineal inversa ($R^2= 0.8622$) (figura 23) que explica la reducción de FZD en las unidades experimentales con respecto al tiempo de tratamiento (Ver en anexo Prueba).

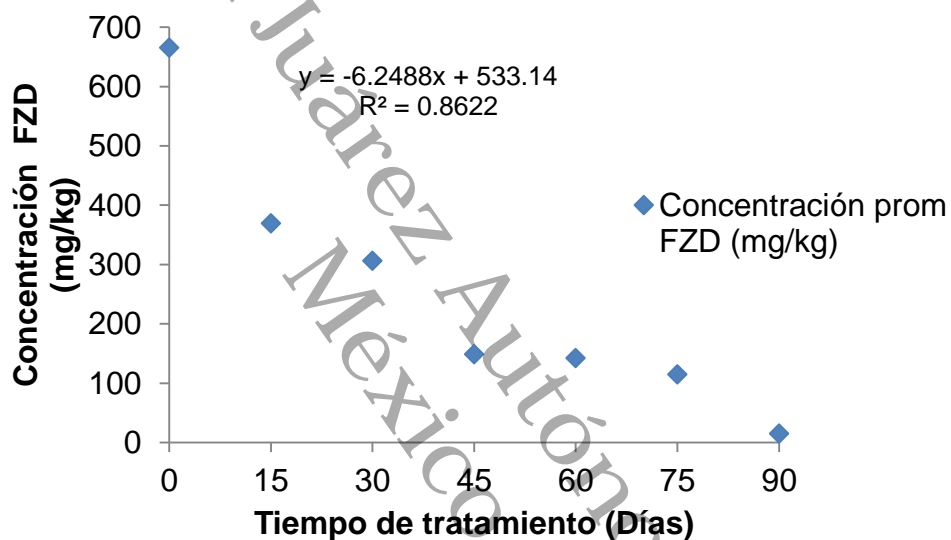


Figura 23 Monitoreos de las concentraciones de suelo contaminado con FZD

9.5 Resultados de toxicidad

Entre los resultados observados al inicio del tratamiento aplicado al suelo estudiado, se obtuvieron resultados promedios al inicio y al final, donde hubo pérdida de peso en los organismos del 4.07% y se observó presencia de líquido celómico del 8.33% total de las réplicas expuestas, sin embargo, los organismos no sufrieron alteraciones en su respuesta al estímulo y movimientos, así como no se obtuvo modificación en el color (figura 24).

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”



Figura 24 Organismos expuestos al inicio del tratamiento

En la segunda prueba de toxicidad (al finalizar el tratamiento) se obtuvo como resultado un incremento del 18.51% en la pérdida de peso entre los organismos y la presencia de líquido celómico al 15% (figura 26) en el total de las réplicas, como también, se observó pérdida en las respuestas a estímulos y movimientos con 60.3% y 60%, respectivamente. Durante el pesaje de algunos organismos se percibió un cambio en su estructura física, dando lugar a una inflamación en su clitelo (figura 25).



Figura 25 Organismo con inflamación en su clitelo



Figura 26 Organismo con presencia de líquido celómico y adelgazamiento

Loayza Pérez (2008), mencionó que se han realizado estudios experimentales donde se ha demostrado que los Nitrofuranos y sus metabolitos tienen efectos tóxicos, por lo que este cambio en la estructura del organismo (inflamación del clitelo) se puede atribuir a los efectos tóxicos de algunos productos secundarios de los Nitrofuranos. Entre los resultados de la prueba de toxicidad final, se registró también, un aumento en la mortandad de los organismos expuestos. Los organismos afectados por la toxicidad del contaminante sufrieron rupturas en su estructura física, así como también la desintegración de partes de su cuerpo como se muestra en la figura 27 respectivamente.

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”



Figura 27 Organismos afectados por la toxicidad

A partir de los datos obtenidos de las pruebas de toxicidad (Inicial y final) y las absorbancias registradas en los monitoreos se construyó la tabla 3, donde se identificó si existía alguna relación entre estos 2 parámetros.

Tabla 3 Tabla del grado de toxicidad inicial y final

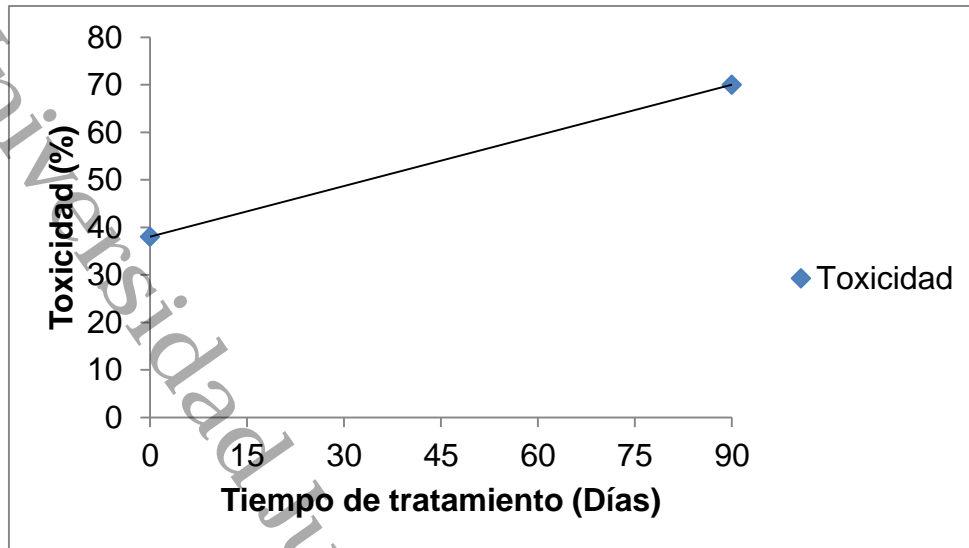
ID Muestra	Absorción (L. onda 360nm)	Mortalidad por contacto directo	*Clasificación de toxicidad
M0 (Inicial)	0.6753	38.46 %	Muy tóxica
M1	0.3853	No Determinado	No Determinado
M2	0.3233	No Determinado	No Determinado
M3	0.1577	No Determinado	No Determinado
M4	0.1857	No Determinado	No Determinado
M5	0.1310	No Determinado	No Determinado
M6 (Final)	0.0380	70%	Muy tóxica

Nota: *La clasificación de toxicidad obtenida se basó en la tabla de clasificación de acuerdo al % de mortalidad presentada por **Acosta de la Rosa et al.**, (revisión).

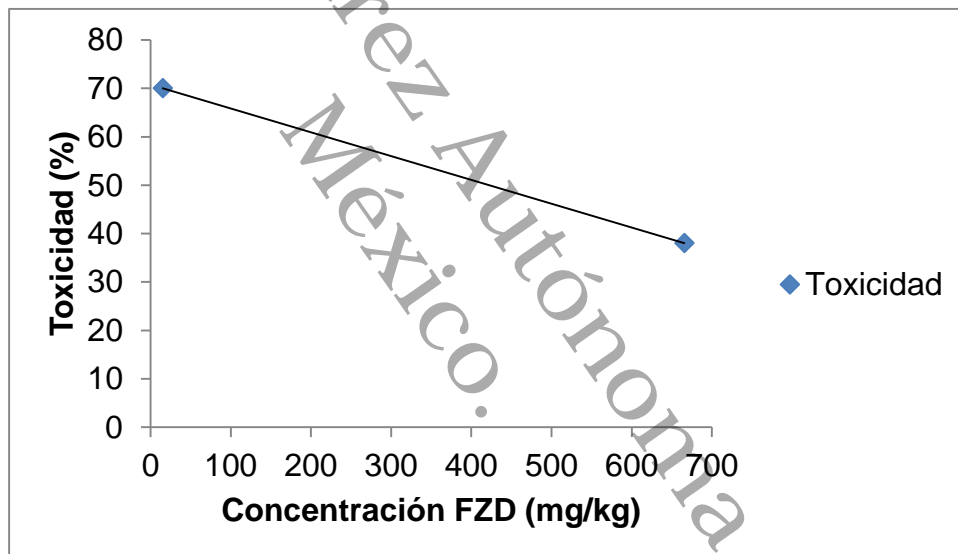
La toxicidad reflejada al inicio del tratamiento y al final, puede atribuirse a la degradación de los productos de FZD, mediante un proceso de hidrólisis debido a la adición de agua en los monitoreos para el control del % de humedad, donde la FZD al reaccionar con el agua genera productos secundarios como metabolitos de 5-nitro-2-furaldehído y 3-amino-2-oxazolidinona (AOZ) (**Hunder**, 1987). Hay estudios de experimentación que indicaron las características mutagénicas, *“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”*

genotóxicas y potencialmente cancerígenas de FZD y su metabolito AOZ, principalmente; por lo que el aumento de la toxicidad en el suelo estudiado con los residuos de FZD y su metabolito biológico altamente tóxico AOZ (**Kong et al.**, 2015) puede ser debido a que mediante la aplicación de la tecnología de bioestimulación pueden haberse generado productos secundarios, antes mencionados. Sin embargo, se requieren más datos para poder precisar que este sea el mecanismo, pudiendo haber sido la producción de otros intermediarios por medio de otros procesos como la fotooxidación, oxidación química o la manipulación física de las muestras, cambiando la manera en que se presenta el contaminante.

Finalmente, en los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad por bioensayos con lombrices de tierra por contacto directo (OCDE, protocolo 207, mod. **Domínguez-Rodríguez et al.** 2020) al final de la aplicación del tratamiento, se encontró un aumento en la toxicidad de los productos de Furazolidona en el suelo, para determinar la correlación entre los valores de absorbancia y la toxicidad, primero se estimaron las concentraciones de Furazolidona (figura 22), por lo que se establece que la toxicidad tiene una respuesta opuesta a la concentración estimada que se encontró en las muestras estudiadas en este periodo de tiempo (figura 28), según los resultados obtenidos en este experimento (tabla 4).



a) Toxicidad con respecto al tiempo de tratamiento



b) Correlación existente entre la concentración de FZD y la toxicidad

Figura 28 Correlación de toxicidad

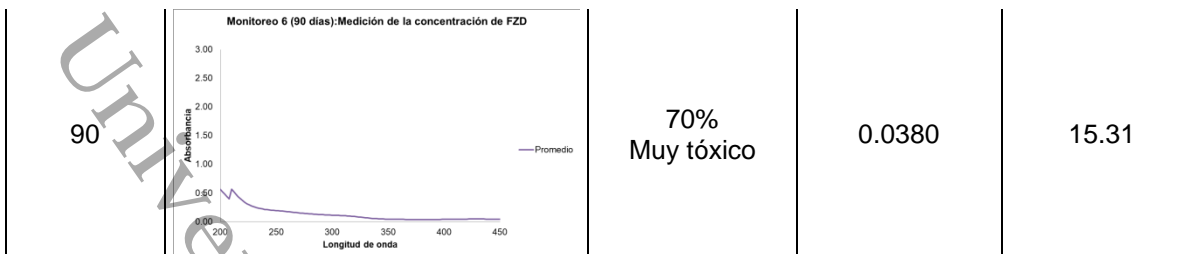
Estos tipos de cambios en la toxicidad, en donde se incrementa la toxicidad durante la descomposición de algún contaminante, se ha observado en otros trabajos. Por ejemplo, en **Adams et al.**, (2011), durante la descomposición de un suelo contaminado con petróleo crudo se incrementaba la toxicidad. Los autores mencionan que puede ser debido a la producción de intermediarios de la descomposición que son más tóxicos que los contaminantes originales, y/o se incrementa la biodisponibilidad del contaminante por la manipulación mecánica. De igual manera, **Domínguez-Rodríguez et al.**, (2021) encontraron en un periodo intermedio de tratamiento del plaguicida Mancozeb, en un tratamiento se incrementó la toxicidad tres veces por arriba de la toxicidad inicial, antes de bajar, varios meses después al nivel de fondo. Los autores mencionan la posibilidad de que esto tuvo que ver con la biodisponibilidad del contaminante (o intermediarios de la descomposición). Este efecto también fue observado por **López Padrón** (2018) durante el tratamiento de suelo contaminado con petróleo crudo en biopilas. En dicho trabajo se duplicó la toxicidad en un periodo intermedio hasta bajar al nivel umbral al final del tratamiento.

Esta tendencia a incrementar la toxicidad en un periodo intermedio para después bajar a un nivel no tóxico, es algo común en la descomposición de contaminantes en suelo o materiales semejantes al suelo. Los datos del presente estudio son insuficientes para precisar la causa de este fenómeno, sin embargo, es probable que ampliando el tiempo de tratamiento se reduzca la toxicidad al nivel umbral. En trabajos en el futuro será importante dar seguimiento a esto por un periodo más extendido, enfocando en la toxicidad por contacto directo como el indicador de un tratamiento exitoso.

Tabla 4 Relación de resultados de espectrofotometría UV-VIS y toxicidad

Monitoreos (Días)	Espectros de absorción	Toxicidad/ Contacto directo	Absorbancias λ (360 nm)	Concentración estimada (mg/kg)
Inicial (0)	<p>Monitoreo 0 (Día 0): Medición de la concentración de FZD</p>	38%	0.67533	665.65
15	<p>Monitoreo 1 (15 días): Medición de la concentración de FZD</p>	No Determinado	0.38533	369.73
30	<p>Monitoreo 2 (30 días): Medición de la concentración de FZD</p>	No Determinado	0.32333	306.46
45	<p>Monitoreo 3 (45 días): Medición de la concentración de FZD</p>	No Determinado	0.16900	148.98
60	<p>Monitoreo 4 (60 días): Medición de la concentración de FZD</p>	No Determinado	0.16267	142.52
75	<p>Monitoreo 5 (75 días): Medición de la concentración de FZD</p>	No Determinado	0.13100	114.97

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”



10. Conclusiones

La Furazolidona puede identificarse de forma precisa mediante espectrofotometría UV-VIS a un máximo de absorción de 360 nm.

Las absorbancias registradas que permitieron estimar las concentraciones en los monitoreos a lo largo del experimento, tienen una correlación directa ($R^2=0.9963$); a medida que las absorbancias disminuyen, las concentraciones son menores, lo que indica la degradación de la Furazolidona, por lo que los espectros de absorción pueden reflejar la concentración de Furazolidona en una muestra de campo.

En este estudio no se encontró una correlación directa entre los valores de absorbancia de Furazolidona y la toxicidad (a menor absorbancia menor toxicidad) en las muestras; esto puede deberse a diversos factores (transformación de la FZD a otros metabolitos más tóxicos en este tiempo de experimentación).

11. Recomendaciones

Realizar estudios por periodos más largos, y ampliar los análisis químicos de identificación, considerando subproductos de degradación de FZD. Posiblemente, esto se podría hacer en otros rangos de espectro UV-VIS, o por métodos alternos (Infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR), Cromatografía de gases/ Espectrometría de masas (GC/MS), Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), etc.).

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

12. Literatura citada

- Acosta De La Rosa, N. D., Adams, R. H., Hernández Acosta, L., Guzmán Osorio, F. J., Domínguez Rodríguez, V. I. Detoxification of Oil-Based Drilling Cuttings by Soil Washing and Cation Exchange. *Egyptian Journal of Petroleum*. (en revisión).
- Acousticbiotech. (2020, 22 de noviembre). Evaluación de los efectos carcinogénicos de la Furazolidona y sus metabolitos en dos especies. Acousticbiotech. <https://spa.acousticbiotech.com/evaluation-carcinogenic-effects-furazolidone-288931>
- Adams, R. H., & Guzmán-Osorio, F. J. (2008). Evaluation of land farming and chemico-biological stabilization for treatment of heavily contaminated sediments in a tropical environment. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 5(2), 169-178.
- Adams, R.H., Kanga-Leyva K., Guzmán-Osorio F.J., Escalante-Espinoza E. (2011). Comparison of moisture management methods for the bioremediation of hydrocarbon contaminated soil. *Afr. J. Biotech.* 10(3):394-404.
- Avilés Flores, M., Sánchez Zarza, M., Ramírez Salinas, N. (2015). Proyecto “Métodos analíticos para determinación de compuestos emergentes. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Barragán Hernández, E. A., Herrera Montalvo, L. A., Ocampo Camberos, L., Sumano López, H. (2011). Genotoxicidad de la Furazolidona y la forma libre de su metabolito 3-amino-2-oxazolidona, mediante la prueba de micronúcleos en linfocitos humanos. *Vet. Mex*, 42 (4), 290-298.
- Biosic, M., Skoric, I., Beganovic, J., Babic, S. (2017). Nitrofurantoin hydrolytic degradation in the environment. *Chemosphere*, 186 (1), 660-668. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.011>
- Castellanos Cuéllar, I. C., Velandia Cabra, J. R., González Curbelo, M. A., Varela Martínez, D. A. & Ramírez Valencia, E. (2018). Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro UV-VIS UV-1800 de Shimadzu. Universidad EAN.

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

Chiaia Hernández, A., Scheringer, M., Muller, A., Stieger, G., Wachter, D., Keller, A., Pintado Herrera, M. G., Lara Martin, P. A., Bucheli, T. D. & Hollender, J. (2020). Target and suspect screening analysis reveals persistent emerging organic contaminants in soils and sediments. *Journal Pre-proof*, 1(1) 1-30. <https://doi.org/10.1016/.scitotenv.2020.140181>

Cotler, H., Sotelo, E., Domínguez., Zorrilla, M., Cortina, S., Quiñones, L. (2007). La conservación de suelos: Un asunto de interés público. *Gaceta Ecológica*, 1 (83), 5-71.

Díaz Cruz, M. S., López de Alda, M. J. & Barceló, D. (2003). Comportamiento ambiental y análisis de medicamentos veterinarios y humanos en suelos, sedimentos y lodos. *Tendencias de TrAC en química analítica*, 22 (6), 340-351. <https://doi.org/10.1016/s0165-9936103100603-4>

Diario Oficial de la Federación [DOF] (2005). NOM-052-SEMARNAT-2005, Norma Oficial Mexicana, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos, Ciudad de México.

Diario Oficial de la Federación [DOF] (2006). NOM-053-SEMARNAT-1993, Norma Oficial Mexicana, Que establece el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinar los constituyentes que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. p. 24, Ciudad de México.

Diario Oficial de la Federación [DOF] (2000). NOM-021-RECNAT-2000, Norma Oficial Mexicana, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. p. 73, Ciudad de México.

Domínguez Rodríguez, V. I., Adams, R. H., Sánchez Madrigal, F., Pascual Chablé, J. D. L. S. & Gómez Cruz, R. (2020). Soil contact bioassay for rapid determination of acute toxicity with *Eisenia foetida*. *Heliyon*, 6(1), e03131.

Domínguez Rodríguez, V. I., Obrador Olán, J. J., Zavala Cruz, J., Baltierra Trejo, E., Ramos Herrera, S., Rosique Gil, J. E. & Howard Adams, R. (2021). Substrate *“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”*

evaluation for biobeds in the degradation of ethylene bis-dithiocarbamate in wastewater from pesticide application in banana. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 1(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s40201-020-00595-5>

Douny, C., Widart, J., De Pauw, E., Silvestre, F., Kestemont, P., Thi Tu, H., Thanh Phuong, N., Maghuin-Rogister, G., Scippo, M. L. (2013). Development of an analytical method to detect metabolites of nitrofurans Application to the study of furazolidone elimination in Vietnamese black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 376–379 (1) 54–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.001>

Du, L., Liu, W. (2012). Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review. *Agronomy for sustainable Development*, 32(2), 309-327. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0062-9>.

García Amador, E. M. (2013). Técnicas de remediación de suelos (Vol. 1. Tratamientos físicos químicos y térmicos). Ciudad de México, UNAM, FES Zaragoza

García Amador, E. M. (2014). Técnicas de remediación de suelos (Vol. 2. Tratamientos biológicos: Biorremediación y fitorremediación). Ciudad de México, UNAM, FES Zaragoza.

García Gómez, C., Gortares Moroyoqui, P., Drogui, P. (2011). Contaminantes emergentes: Efectos y tratamientos de remoción. *Química viva*, 10 (2), 96-105.

Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. L., Gutiérrez, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción más limpia*, 7(2), 52-77. <https://doi.org/scielo.org.co/pdf/pml/v7n2/v7n2905.pdf>

Graciani, F. S. & Vidrih-Ferreira, L. B. (2014). Impacto ambiental y su regulación en Brasil. *Salud Publica*, 40(2), 268-273.

Hunder, G., Schmid, A. & Mayring, L. (1987). Investigation on the metabolic degradation of the side chain of furazolidone. Short communication, 61(1), 161-163.

Kong, D., Liang, B., Yun, H., Ma, J., Li, Z., Wang, A. & Re, N. (2015). Electrochemical degradation of nitrofurans furazolidone by cathode: Characterization, pathway and antibacterial activity analysis. Chemical Engineering Journal, 262(1), 1244-1251. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.10.094>

La Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L. & Barceló, D. (2008). Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. Trends in analytical chemistry, 27(11), 991-1007. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>

Lewkowski, J., Rogacz, D., Rychter, P. (2019). Hazardous ecotoxicological impact of two commonly used nitrofurans derived antibacterial drugs: Furazolidone and Nitrofurantoin. Chemosphere 222 (2019) 381-390. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.144>

López Padrón, M. A. (2018) Biopilas para remediar un sitio contaminado con petróleo crudo ligero en Cunduacán, Tabasco [Tesis de licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco].

Kross BC, Cherryholmes K (1993) Toxicity screening of sanitary landfill leachates: a comparative evaluation with Microtox analyses, chemical, and other toxicity screening methods. In: Richardson ML (ed) Ecotoxicology monitoring. VCH Publishers, Weinheim, Germany and New York City, pp 225–249.

Kumara, M., Jaiswal, S., Kaur Sodhia, K, Shreea, P., Kumar Singha, D., Kumar Agrawal, P., Shukla, P. (2019) Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. Environment International, 124 (2019) 448–461. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.065>

Moreno Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzorjinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonnet, C., Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta
“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. Revista Mexicana de Ciencias farmacéuticas, 44(4), 17-29.
<https://doi.org/scielo.org.mx/pdf/rmcf/v44n4/v44n4a3.pdf>

OCDE, 1984. Guideline for Testing of Chemicals, No. 207, Earthworm Acute Toxicity. OCDE, Paris, France.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2021, 06 de abril). Portal de suelos de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>

Parthasarathy, R., Monette, C. E., Bracero, S., Saha, M. S. (2018). Methods for field measurement of antibiotic concentrations: Limitations and Outlook. FEMS Microbiology Ecology, 94 (8), 105. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy105>

Peralta, M. F., Miazzi, R. D., Koncurat, M. A., Vivas, A. B. (2002). Estudio anatómo-histopatológico y ultraestructural de testículos de pavos (*Meleagris gallopavo*) que recibieron Furazolidona en sus dietas. Arch. Latinoam. Prod. Anim., 10 (2) 77-80.

Raimondo, E. E., Saenz, J. M., Aparicio, J. D., Fuentes, M. S. & Benimeli, C. S. (2020). Coupling of bioaugmentation and biostimulation to improve lindane removal from different soil types. Chemosphere, 238(1), 1-11.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124512>

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT] (2021, Junio). Residuos (Sitios contaminados).
https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/07_residuos/7_4_1.html

SIGMA ALDRICH (2021, 05 de octubre). Furazolidone.
<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/search/furazolidone?focus=products&page=1&perPage=30&sort=relevance&term=furazolidone&type=product>

“Espectrofotometría UV-VIS para estimar la degradación de la Furazolidona y sus efectos tóxicos en un sitio industrial”

- Tolić, K., Pavlović, D., Židanić, D., Runje, M. (2019). Nitrofurantoin in sediments and soils: Sorption, isotherms and kinetics. *Science of the Total Environment*, 681 (1) 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.054>
- Tom, J. (2021, 30 de junio). Espectroscopía UV-Vis: Principio, fortalezas, limitaciones y aplicaciones. *Análisis y separaciones*. <https://www.news-courier.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>
- Vass, M., Hruska, K., Franek, M. (2008). Nitrofurantoin antibiotics: a review on the application, prohibition and residual analysis. *Veterinarni Medicina*, 53 (9): 469-500.
- Wang, J. R. & Zhang, L. Y. (2006). Simultaneous determination and identification of furazolidone, furaltadone, nitrofurazone and nitrovin in feeds by HPLC and LC-MS. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 29 (3), 377-390. <https://doi.org/10.1080/10826070500451962>
- White, A. H. (1989). Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion of Furazolidone. *A Review of the Literature*, 1(1), 4-10.
- Williams Nguyen, J., Brett Sallach, J., Bartelt-Hunt, S., Boxall, A. B., Durso, L. M. *Science. Journal* (2016). Antibiotics and Antibiotic Resistance in Agroecosystems: State of the of Environmental Quality, 394-406. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.07.0336>
- Wen-Hui, Y., Tzong-Shean, C., Hong-Thih L. (2013). Detection of nitrofurans and their metabolites in pond water and sediments by liquid chromatography (LC)-photodiode array detection and LC-ion spray tandem mass spectrometry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85 (2013) 517-526. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.03.015>

13. Anexos

Prueba de Shapiro-Wilk realizada mediante el programa STATGRAPHICS Centurion

Pruebas de Normalidad para Concentración FZD		
Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.935706	0.272535

El StatAdvisor

Esta ventana muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Concentración FZD puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuantiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Concentración FZD proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Escala de toxicidad-bioensayo de contacto con el suelo para la determinación rápida de la toxicidad aguda.

Este bioensayo fue desarrollado por **Domínguez-Rodríguez et al.** (2020), basado en una modificación del Protocolo 207 de la OCDE, que combina un bioensayo agudo, rápido, con contacto directo con el material sólido a ensayar. En el Protocolo 207, en el blanco de prueba (10 repeticiones), una lombriz de tierra muerta se considera aceptable para que el blanco (y las pruebas correspondientes) sean válidos. Se interpreta como un nivel indeterminado, comparable al utilizado previamente por Kross & Cherryholmes (1993) & **Adams & Guzmán Osorio** (2008). Este nivel de mortalidad ($1/10 = 0,1$) se interpretó en la escala logarítmica como $\log(0,1) = -1$. A partir de aquí, a las reducciones posteriores según la escala Quarter-Log de Kross y Cherryholmes se les dio la clasificación de levemente tóxicos, tóxicos y muy tóxicos, según la Tabla 5:

Tabla 5 Clasificación de Toxicidad para el Bioensayo de Contacto con el Suelo de Determinación Rapida

Mortalidad (%)	Mortalidad (Proporción)	Mortalidad (Escala logarítmica)	Clasificación	Rango (Mortalidad, %)
0.0	0.00	---	No tóxico	0
10.0	0.100	-1.00	Indeterminado	0 – 10
17.8	0.178	-0.75	Ligeramente tóxico	10 - 17.8
31.6	0.316	-0.50	Tóxico	17,8 - 31.6
>31.6	>0.316	<-0.50	Muy tóxico	>31.6