



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
INGENIERÍA**

**INSTITUTO DE INGENIERÍA**

**BIODEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES  
EMERGENTES EN COLUMNAS EMPACADAS  
CON SUELOS DEL VALLE DE TULA**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN INGENIERÍA**

INGENIERÍA AMBIENTAL – SUELO-AGUAS SUBTERRÁNEAS

P R E S E N T A :

**I. Q. KARINA LETICIA ACOSTA HERNÁNDEZ**

TUTORA:

**DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS**

2010

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: M. I. ANA ELISA SILVA MARTÍNEZ  
Secretario: DRA. SUSANA SAVAL BOHÓRQUEZ  
Vocal: DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS  
1er. Suplente: DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO  
2do. Suplente: M. C. ROLANDO SALVADOR GARCÍA GÓMEZ

Lugar donde se realizó la tesis:

INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

**TUTOR DE TESIS:**

DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS

---

**FIRMA**

**A mis padres y a mis hermanos  
por su apoyo, comprensión, paciencia y amor**

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Ingeniería por darme la oportunidad de continuar mi desarrollo personal y profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca que hizo posible estudiar la maestría.

A la Dra. Blanca Elena Jiménez Cisneros por su apoyo, enseñanza y consejo.

A los miembros de mi jurado, M. en I. Ana Elisa Silva Martínez, Dra. Susana Saval Bohórquez, Dr. Víctor Manuel Luna Pabello y M. en C. Rolando Salvador García Gómez, por su valiosas observaciones y recomendaciones.

Al Dr. Richard Gibson por su asesoría en el montaje de la técnica analítica.

A la M. en C. Patricia Romero Mares por su apoyo en el análisis estadístico.

A los miembros del Grupo de Tratamiento y Reúso, Dra. Alma Concepción Chávez Mejía y M. en I. José Elías Becerril Bravo, por su apoyo y comentarios hacia mi trabajo, y especialmente a la M. en C. Catalina Maya Rendón por su ayuda en el laboratorio de microbiología.

A mis compañeros del Grupo de Tratamiento y Reúso, Anemir, Arnold, Eloina, Emilio, Fabián, Juan Carlos, Said, Víctor y Wendy.

A mis amigos del posgrado en ingeniería ambiental, en especial a Adrián, Andrés, Diana, Edson, Juan Antonio, Maria Eugenia, Oriana y Paulina.

A todas aquellas personas que me han apoyado con una pequeña acción, una palabra de aliento, un consejo o una llamada de atención.

# Índice

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>6</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>6</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>6</b>
<b>ALCANCES</b> .....	<b>6</b>
<b>1 ANTECEDENTES</b> .....	<b>8</b>
1.1 CARACTERÍSTICAS DEL VALLE DE TULA.....	8
1.2 CONSECUENCIAS DEL RIEGO EN LAS FUENTES DE ABASTECIMIENTO DEL VALLE DE TULA.....	10
<b>2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	<b>13</b>
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES.....	13
2.1.1 <i>4-Nonilfenol</i> .....	14
2.1.2 <i>Triclosán</i> .....	17
2.1.3 <i>Diclofenaco</i> .....	19
2.1.4 <i>Ibuprofeno</i> .....	21
2.1.5 <i>Naproxeno</i> .....	24
2.2 TRATAMIENTO SUELO-ACUÍFERO .....	26
2.3 BIODEGRADACIÓN EN SUELO .....	28
<b>3 METODOLOGÍA</b> .....	<b>31</b>
3.1 SELECCIÓN DE SUELOS Y CARACTERIZACIÓN .....	31
3.1.1 <i>Selección de sitios y recolección de suelo</i> .....	31
3.1.2 <i>Caracterización fisicoquímica del suelo y selección de horizontes</i> .....	33
3.1.3 <i>Cuantificación de contaminantes emergentes en suelo</i> .....	34
3.1.4 <i>Conteo inicial de bacterias aerobias</i> .....	35
3.1.5 <i>Conteo inicial de Pseudomonas aeruginosa</i> .....	35
3.1.6 <i>Determinación del género y especie mediante la prueba API 20 E</i> .....	36
3.1.7 <i>Determinación inicial de biomasa microbiana</i> .....	36
3.2 OPERACIÓN DE COLUMNAS .....	37
3.2.1 <i>Descripción de columnas empacadas</i> .....	37
3.2.2 <i>Diseño de experimento</i> .....	38
3.2.3 <i>Cuantificación de contaminantes emergentes en lixiviados</i> .....	40
3.3 ANÁLISIS FINAL DE SUELO .....	40
<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>41</b>
4.1 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL SUELO.....	41
4.2 CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN EL SUELO .....	43
4.3 CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN LIXIVIADOS.....	45
4.3.1 <i>4-Nonilfenol</i> .....	45

4.3.2	<i>Triclosán</i> .....	47
4.3.3	<i>Diclofenaco</i> .....	49
4.3.4	<i>Ibuprofeno</i> .....	52
4.3.5	<i>Naproxeno</i> .....	54
4.3.6	<i>Efecto de los horizontes en la lixiviación de contaminantes emergentes</i> .....	56
4.3.7	<i>Comparación de las remociones de los contaminantes emergentes</i> .....	57
4.4	CONTEO DE BACTERIAS AEROBIAS .....	58
4.5	CONTEO DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> .....	59
4.6	DETERMINACIÓN DE BIOMASA MICROBIANA .....	61
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>62</b>
5.1	CONCLUSIONES.....	62
5.2	RECOMENDACIONES .....	63
	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>64</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>76</b>
	ANEXO A. CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTE EMERGENTES .....	76
	ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN SUELO .....	77
	ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN LIXIVIADOS .....	83
	ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE BACTERIAS AEROBIAS .....	127
	ANEXO E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> .....	130
	ANEXO F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE BIOMASA MICROBIANA .....	132

## Índice de Tablas

TABLA 1.1 REMOCIÓN DE CONTAMINANTES PRESENTES EN EL AGUA RESIDUAL (PROMEDIOS).....	11
TABLA 1.2 CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS FARMACÉUTICOS Y POTENCIALES INTERRUPTORES ENDÓCRINOS EN AGUA DE MANANTIAL Y AGUA RESIDUAL.....	12
TABLA 2.1 ESTUDIOS REFERENTES A LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DEL NONILFENOL.....	15
TABLA 2.2 ESTUDIOS REFERENTES A LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DEL TRICLOSÁN .....	18
TABLA 2.3 ESTUDIOS REFERENTES A LA REMOCIÓN DEL DICLOFENACO .....	20
TABLA 2.4 ESTUDIOS REFERENTES A LA REMOCIÓN DEL IBUPROFENO.....	22
TABLA 2.5 ESTUDIOS REFERENTES A LA REMOCIÓN DEL NAPROXENO .....	25
TABLA 3.1 PARÁMETROS Y MÉTODOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE SUELO .....	33
TABLA 3.2 DISEÑO FACTORIAL 4×2 CON TRES RÉPLICAS COMPLETAMENTE AL AZAR .....	38
TABLA 3.3 CONDICIONES DE RIEGO PARA LAS COLUMNAS EMPACADAS .....	39
TABLA 4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PERFIL 1 .....	41
TABLA 4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PERFIL 2.....	41
TABLA 4.3 CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN SUELO (NG·G <sup>-1</sup> ) .....	43
TABLA 4.4 PORCENTAJES DE REMOCIÓN DEL 4-NONILFENOL EN COLUMNAS ESTÉRILES Y NO ESTÉRILES.....	47
TABLA 4.5 PORCENTAJES DE REMOCIÓN DEL TRICLOSÁN EN COLUMNAS ESTÉRILES Y NO ESTÉRILES .....	49
TABLA 4.6 PORCENTAJES DE REMOCIÓN DEL DICLOFENACO EN COLUMNAS ESTÉRILES Y NO ESTÉRILES.....	52
TABLA 4.7 PORCENTAJES DE REMOCIÓN DEL IBUPROFENO EN COLUMNAS ESTÉRILES Y NO ESTÉRILES .....	52
TABLA 4.8 PORCENTAJES DE REMOCIÓN DEL NAPROXENO EN COLUMNAS ESTÉRILES Y NO ESTÉRILES.....	54
TABLA 4.9 CARACTERÍSTICAS Y PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS .....	57
TABLA 4.10 ESPECIES IDENTIFICADAS DE ACUERDO CON EL PERFIL NUMÉRICO DE API 20 E .....	60

# Índice de Figuras

FIGURA 1.1 UBICACIÓN DEL VALLE DE TULA.....	9
FIGURA 2.1 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL 4- <i>N</i> -NONILFENOL.....	14
FIGURA 2.2 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL TRICLOSÁN .....	17
FIGURA 2.3 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL DICLOFENACO .....	19
FIGURA 2.4 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL IBUPROFENO .....	22
FIGURA 2.5 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL NAPROXENO.....	24
FIGURA 3.1 UBICACIÓN DEL MUNICIPIO DE TLAHUELILPAN, HIDALGO (CONAGUA <i>ET AL.</i> , 1998).....	32
FIGURA 3.2 RECOLECCIÓN DE SUELO (A) APERTURA DEL PERFIL (B) TOMA DE MUESTRA.....	33
FIGURA 3.3 MONTAJE DE COLUMNAS (A) COLUMNAS EMPACADAS CON MATERIAL DE SOPORTE Y SUELO TAMIZADO (B) COLUMNAS CUBIERTAS CON ALUMINIO.....	38
FIGURA 4.1 PORCENTAJE DE ARCILLA Y MATERIA ORGÁNICA EN LOS HORIZONTES SELECCIONADOS .....	42
FIGURA 4.2 CONCENTRACIÓN DE 4-NONILFENOL EN (A) RIEGO 1, (B) RIEGO 2, (C) RIEGO 3 Y (D) RIEGO 4..	46
FIGURA 4.3 CONCENTRACIÓN DE TRICLOSÁN EN (A) RIEGO 1, (B) RIEGO 2 Y (C) RIEGO 3 .....	48
FIGURA 4.4 CONCENTRACIÓN DE DICLOFENACO EN (A) RIEGO 1, (B) RIEGO 5 Y (C) RIEGO 6.....	50
FIGURA 4.5 CONCENTRACIÓN DE IBUPROFENO EN (A) RIEGO 2, (B) RIEGO 4 Y (C) RIEGO 5 .....	53
FIGURA 4.6 CONCENTRACIÓN DE NAPROXENO EN (A) RIEGO 1, (B) RIEGO 2, (C) RIEGO 4 Y (D) RIEGO 5 .....	55
FIGURA 4.7 CONTEO DE BACTERIAS AEROBIAS Y PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA .....	59
FIGURA 4.8 CONTEO DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> Y PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA .....	60
FIGURA 4.9 BIOMASA MICROBIANA Y PORCENTAJES DE MATERIA ORGÁNICA PARA CADA SUELO.....	61

## Resumen

El reúso de aguas negras para riego agrícola en el Valle de Tula ha ocasionado la recarga artificial del acuífero. Estos nuevos recursos de agua subterránea han cumplido con la norma mexicana de agua potable y han sido la única fuente de suministro público para la población del Valle. Debido a que las concentraciones de diversos contaminantes en las fuentes de abastecimiento, incluidos los denominados “emergentes”, son mucho menores a las determinadas en el agua residual, se ha considerado que la zona actúa como un sistema de tratamiento suelo-acuífero atípico. Durante la infiltración directa, la degradación biológica es el principal proceso de remoción para concentraciones trazas de sustancias orgánicas. Por lo anterior, esta tesis evaluó la contribución de la biodegradación en la remoción de cinco contaminantes emergentes (4-nonilfenol, triclosán, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) durante su infiltración en los suelos del Valle de Tula. Para ello, se utilizaron columnas no estériles empacadas con suelo Feozem de la región y agua sintética con los contaminantes seleccionados. Para discriminar la remoción por factores abióticos se utilizaron datos obtenidos de la operación de columnas estériles en condiciones similares. La cuantificación inicial de los contaminantes en los horizontes del suelo confirmó su presencia en concentraciones superiores al límite de detección, a excepción del diclofenaco. Durante la operación de las columnas, el contaminante que presentó la mayor remoción fue el triclosán (>99%), mientras que el diclofenaco mostró la menor remoción (64.8-96.6%). El horizonte con el valor de pH más alto fue más vulnerable a la lixiviación de los ácidos farmacéuticos estudiados, mientras que el horizonte de suelo con mayor contenido de materia orgánica y arcilla presentó una menor lixiviación de los fármacos. Además, los horizontes con mayor porcentaje de materia orgánica mostraron un conteo más alto de bacterias y una mayor cantidad de biomasa microbiana. La identificación de especies permitió confirmar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y determinar la existencia de *Acinetobacter calcoaceticus*. Finalmente, se determinó estadísticamente que las columnas no estériles lixiviaron una menor concentración de 4-nonilfenol, triclosán, ibuprofeno y naproxeno, que las columnas estériles, lo cual sugiere como principal proceso de eliminación de estos compuestos a la biodegradación.

## Abstract

The reuse of wastewater for irrigation in the Tula Valley has caused the artificial recharge of the aquifer. These new groundwater resources have met the Mexican standard for drinking water and have been the only public source of supply for the Valley's population. Because the concentrations of various pollutants in the water supply sources, including so-called "emerging", are much lower than those found in the wastewater, it was considered that the area acts as an atypical soil-aquifer treatment. During direct infiltration, biological degradation is the main removal process for trace concentrations of organic substances. Therefore, this thesis evaluated the contribution of biodegradation in the removal of five emerging contaminants (4-nonylphenol, triclosan, diclofenac, ibuprofen and naproxen) during their infiltration into the soil of the Tula Valley. To do this, we used columns packed with non-sterile regional Feozem soil and synthetic water with selected contaminants. To discriminate the removal by abiotic factors, data obtained from the sterile columns operating under similar conditions were used. The initial quantification of contaminants in soil horizons confirmed its presence in concentrations above the detection limit, except for diclofenac. During operation of the columns, the pollutant that presented the highest removal was triclosan (>99%), while diclofenac showed the lowest removal (64.8-96.6%). The horizon with the highest pH value was more vulnerable to leaching of acid pharmaceuticals studied, while the soil horizon with higher organic matter content and clay showed less leaching of drugs. In addition, the horizons with the highest percentage of organic matter showed a higher count of bacteria and an increased amount of microbial biomass. Species identification confirmed the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and determined the existence of *Acinetobacter calcoaceticus*. Finally, we found statistically non-sterile columns leached lower concentrations of 4-nonylphenol, triclosan, ibuprofen and naproxen, than the sterile columns, suggesting biodegradation as the main process of elimination of these compounds.

## Introducción

Desde hace más de 110 años, los excedentes de lluvia y las aguas negras de la Ciudad de México han sido enviados al Valle de Tula, donde se han reutilizado para el riego de tres distritos. En un principio, el empleo de aguas negras incrementó la productividad agrícola; posteriormente, el uso de elevadas láminas de riego, además del transporte y el almacenamiento de las aguas negras en infraestructura sin revestir, comenzaron a recargar el acuífero local (Jiménez *et al.*, 2005). De esta forma, la infiltración del agua residual proporcionó nuevos recursos de agua subterránea los cuales han cumplido con la norma mexicana de agua potable (Jiménez *et al.*, 1997). La depuración del agua residual en el Valle de Tula ocurre durante el transporte por los canales, el almacenamiento en presas y la infiltración de la misma a través de los suelos. Los procesos involucrados en la atenuación de los contaminantes son: fotólisis, desorción, adsorción, absorción, biodegradación e intercambio catiónico. Debido a que algunos de estos procesos son llevados a cabo por el suelo, se considera que éste actúa como un tratamiento suelo acuífero atípico (Jiménez y Chávez, 2004).

Estudios previos han determinado que las concentraciones de compuestos orgánicos en las fuentes de abastecimiento, originadas de la recarga artificial, son mucho menores a las observadas en el agua residual, lo cual sugiere que los contaminantes son removidos durante su paso a través del suelo (Murillo *et al.*, 2006; Gibson *et al.*, 2007). Muchos de estos contaminantes detectados, corresponden a los denominados “contaminantes emergentes”, los cuales son aquellos que no se encuentran regulados actualmente, pero son candidatos a serlo, debido a sus potenciales efectos en la salud y en el ambiente (Barceló, 2003).

Entre los contaminantes emergentes se encuentran surfactantes, antibacteriales y fármacos. Los surfactantes se utilizan para producir polímeros, pinturas, textiles, detergentes, insecticidas y cosméticos (Birkett y Lester, 2003; Ying, 2006). Por su parte, los antibacteriales se encuentran en jabones, desodorantes, cremas de piel, productos dentales, limpiadores e incluso en textiles (Singer *et al.*, 2002). Así, la introducción de

estos contaminantes al ambiente se realiza a través de los flujos de aguas residuales (Tanghe *et al.*, 1999; Singer *et al.*, 2002). En cuanto a los fármacos, estos llegan a las aguas residuales mediante descargas por vía urinaria o por excreciones fecales, así como por una inadecuada disposición de los medicamentos en sanitarios (González *et al.*, 2006).

Debido a que se ha reportado que la remoción de concentraciones trazas de sustancias orgánicas en los sistemas de tratamiento suelo-acuífero se lleva a cabo principalmente por degradación biológica (Moreno Merino *et al.*, 2003), la remoción de ciertos contaminantes emergentes podría llevarse a cabo mediante este proceso.

El objetivo de este trabajo fue determinar la contribución del proceso de biodegradación en la remoción de 4-nonilfenol, triclosán, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno. Para ello, se utilizaron columnas empacadas con suelos alterados del Valle de Tula, las cuales fueron irrigadas con una solución que contenía los contaminantes emergentes a evaluar.

Esta tesis se dividió en cinco capítulos para lograr el propósito mencionado. En el capítulo 1 se describen las características del Valle de Tula y las consecuencias que ha tenido el riego con aguas residuales sobre la calidad del agua de las fuentes de abastecimiento. El capítulo 2 presenta las características de los contaminantes emergentes evaluados, así como una revisión bibliográfica sobre su degradación biológica. Además, se describen aspectos generales del sistema de tratamiento suelo-acuífero y se abordan los factores que favorecen o limitan la biodegradación de los contaminantes en el suelo.

En el capítulo 3 se muestran las etapas llevadas a cabo para estimar la remoción y/o la degradación de los contaminantes emergentes en las columnas empacadas. En la primera etapa se seleccionaron los horizontes por utilizar, y se realizó el análisis microbiológico y la cuantificación de los contaminantes emergentes de los mismos. Posteriormente, en la segunda etapa se operaron las columnas empacadas y se hizo la cuantificación de los contaminantes emergentes en los lixiviados. En la tercera etapa se determinó la abundancia microbiana final de cada horizonte y se identificaron algunas especies.

En el capítulo 4 se encuentran los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de los suelos y las concentraciones de los contaminantes emergentes en los horizontes seleccionados. Asimismo, se muestran las remociones y las concentraciones de los contaminantes emergentes en los lixiviados, a partir de las cuales se determinó el compuesto con mayor remoción y el horizonte que fue más vulnerable. Además, en este capítulo se incluye el conteo de bacterias aerobias y de *Pseudomonas aeruginosa*, así como la identificación de *Acinetobacter calcoaceticus*. También se hallan los resultados de la determinación de biomasa microbiana.

Finalmente, el capítulo 5 contiene las conclusiones y las recomendaciones derivadas del presente trabajo.

## **Hipótesis**

La biodegradación de algunos contaminantes emergentes es mayor en suelos con un contenido medio de materia orgánica y un bajo contenido de arcilla, ya que en ellos se favorece una mayor abundancia microbiana.

## **Objetivo general**

Determinar si la biodegradación es un mecanismo importante en la remoción de cinco contaminantes emergentes durante su infiltración en columnas empacadas con suelos del Valle de Tula.

## **Objetivos específicos**

- Determinar la concentración de los contaminantes a evaluar en los suelos seleccionados según su caracterización fisicoquímica.
- Determinar la capacidad de remoción de los horizontes seleccionados.
- Evaluar la influencia de la materia orgánica y la arcilla en la remoción y/o la biodegradación de los contaminantes emergentes.
- Determinar la abundancia microbiana de los horizontes seleccionados.
- Identificar algunas especies capaces de degradar compuestos orgánicos.

## **Alcances**

- Se evaluaron únicamente tres compuestos farmacéuticos ácidos (ibuprofeno, naproxeno y diclofenaco) y dos compuestos fenólicos (4-nonilfenol y triclosán). Estos compuestos se seleccionaron debido a su alta concentración en el agua residual y a que representan un mayor riesgo para el ambiente.
- Sólo se utilizó suelo clase Feozem, debido a que es uno de los suelos predominantes en el Valle de Tula. Además, este suelo posee buen drenaje y una profundidad media.

- Sólo se operaron columnas no estériles; para discriminar los procesos de remoción abiótica se utilizaron los datos generados por Saucedo Hernández, 2009.
- El riego se realizó con agua sintética para mantener la misma concentración de contaminantes en la alimentación y para que los resultados obtenidos fueran comparables con los de Saucedo Hernández, 2009.

## 1 Antecedentes

Este capítulo tiene por objetivo describir las características de la zona de estudio, además de las consecuencias que el uso del agua residual ha tenido en la misma.

### 1.1 Características del Valle de Tula

El Valle de Tula (Figura 1.1) se localiza al sur del estado de Hidalgo, aproximadamente a 100 km al norte de la Ciudad de México, entre los paralelos 19° 54' y 20° 30' de latitud norte y los meridianos 99° 22' y 98° 56' de longitud oeste, a una altitud promedio de 1900 msnm (Jiménez *et. al.*, 2005). Limita al norte con el Valle de Ixmiquilpan, al este con el Valle y la sierra de Actopan, al oeste con la sierra Xinthe y al sur con el Estado de México (CONAGUA, 2002).

El clima de la zona se describe como seco semiárido. La temperatura media anual se estima en 18.3 °C, la precipitación media anual se calcula en 450 mm y la evapotranspiración en 2,087 mm (CONAGUA, 2002). La época de lluvias se limita a los meses de junio a septiembre (Jiménez *et. al.*, 2005). Debido a sus condiciones climatológicas, el Valle de Tula careció de agua hasta que en 1789 los excedentes de lluvia y las aguas negras de la Ciudad de México comenzaron a ser enviadas al Valle a través del Interceptor Poniente (Jiménez *et. al.*, 2005). Sin embargo, no fue sino hasta 1896 que el agua residual comenzó a reutilizarse en la agricultura (CONAGUA *et al.*, 1998). Actualmente se utilizan dos canales más para trasladar el agua residual, el Gran Canal y el Emisor Central (Jiménez *et. al.*, 2005).

El agua residual enviada se reusa en el riego de tres distritos: Tula (Distrito de Riego 03), Ajacuba (Distrito de Riego 112) y Alfajayucan (Distrito de Riego 100), que en conjunto representan más de 90,000 ha. De ellos, el más importante es el Distrito de Riego 03 con 51,825 ha (CONAGUA, 2008).

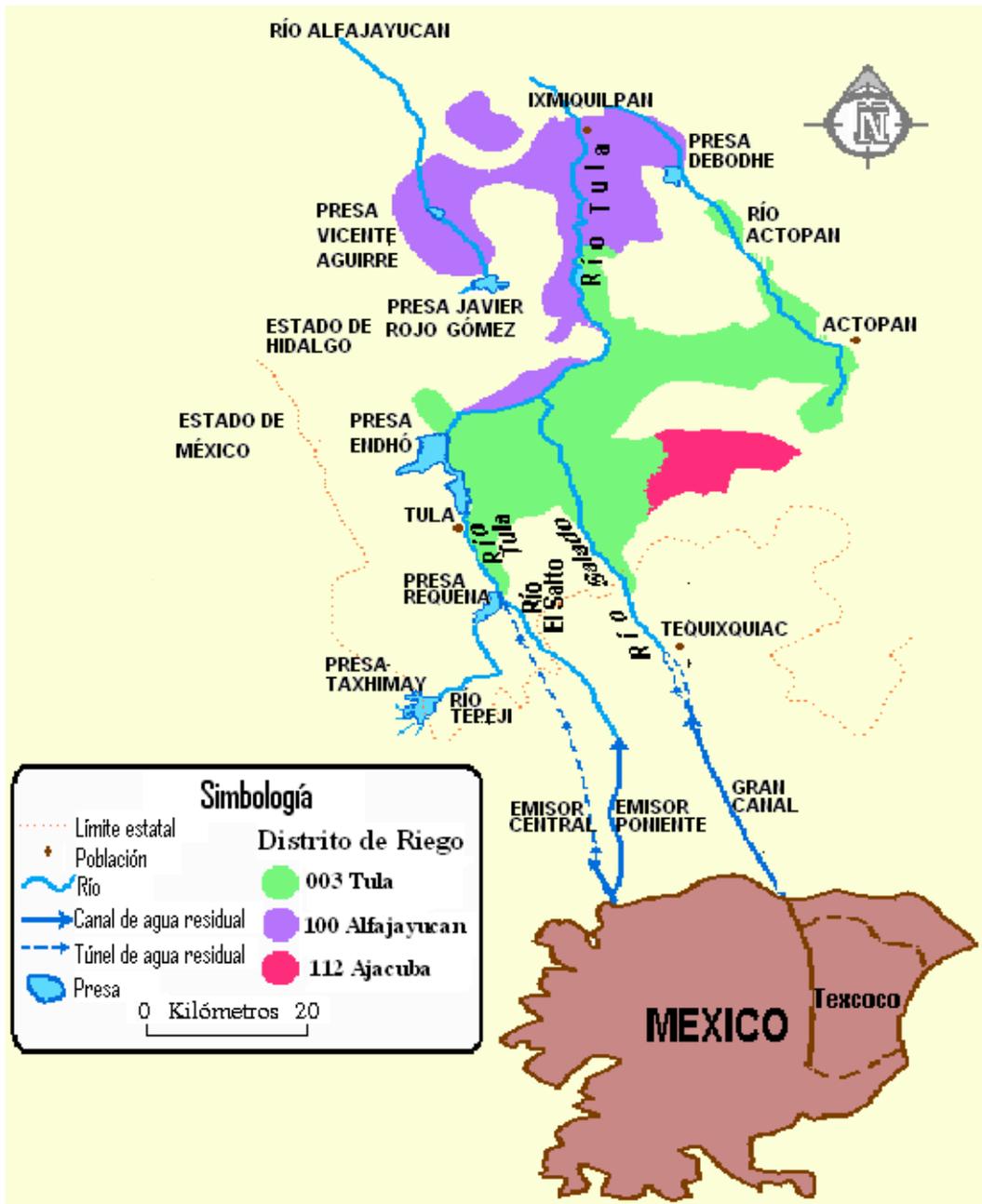


Figura 1.1 Ubicación del Valle de Tula

Los principales suelos de la región utilizados para la agricultura son el Leptosol mólico, el Feozem háplico y calcárico, y el Vertisol eútrico (Siebe, 1998), mientras que los cultivos dominantes en el área son la alfalfa y el maíz (Jiménez, 2005). Además se cultivan avena, cebada, trigo, frijoles, tomates, chiles y calabacita (CONAGUA *et al.*, 1998).

## 1.2 Consecuencias del riego en las fuentes de abastecimiento del Valle de Tula

El riego con agua residual en el Valle de Tula ha tenido diversos impactos en la zona. En un principio, el empleo de aguas negras mejoró la economía de la región, ya que la productividad agrícola se incrementó debido al aporte de materia orgánica, nitrógeno y fósforo. Posteriormente, el uso de elevadas láminas de riego para lavar las sales de los suelos, además del transporte y el almacenamiento de las aguas negras en infraestructura sin revestir, comenzaron a recargar el acuífero local e incluso formaron nuevos depósitos (Jiménez *et al.*, 2005). La infiltración del agua residual dominó el régimen del agua subterránea y se convirtió en la fuente principal de recarga en el Valle (CONAGUA *et al.*, 1998).

La recarga incidental provocó que los niveles piezométricos del subsuelo se elevaran considerablemente, de tal manera que en sitios donde el agua subterránea se encontraba a 50 m de profundidad afloraron manantiales con gastos de 40 a 600 L·s<sup>-1</sup> (Jiménez *et al.*, 2005). Así, la infiltración del agua residual proporcionó nuevos recursos de agua subterránea, los cuales han cumplido con la norma mexicana de agua potable y han sido la única fuente de suministro público para la población del Valle (Jiménez *et al.*, 1997; CONAGUA *et al.*, 1998).

La depuración del agua residual en el Valle de Tula ocurre durante el transporte y la infiltración de la misma. Los procesos involucrados son la fotólisis, la desorción, la adsorción, la absorción, la biodegradación y el intercambio catiónico. Algunos de ellos son llevados a cabo por las plantas y el suelo, que en conjunto actúan como un sistema de tratamiento suelo-acuífero atípico, mientras que otros ocurren por el movimiento del agua en los canales abiertos (Jiménez y Chávez, 2004).

La remoción de algunos contaminantes es similar o superior a la de una planta de tratamiento avanzado. Sin embargo, en el caso de sólidos disueltos, dureza y nitratos

existe un incremento en su concentración (Jiménez *et al.*, 2005). En la Tabla 1.1, se muestra la remoción de algunos contaminantes presentes en el agua residual.

**Tabla 1.1 Remoción de contaminantes presentes en el agua residual (promedios)**

Parámetros, mg·L <sup>-1</sup> a menos que se indique	Emisor Central	Pozo de Teocalco	% Remoción	Pozo de Tezontepec	% Remoción
Carbono Orgánico Total	112	18	84	28	75
Demanda Bioquímica de Oxígeno	450	4	99	23	95
Demanda Química de Oxígeno	476	11	99	8	98
Nitrógeno Amoniacal	28	0.7	98	0.08	100
Sustancias Activas al Azul de Metileno	6	0.2	97	0.15	98
<b>Sólidos Disueltos</b>	<b>850</b>	<b>945</b>	<b>-11</b>	<b>1040</b>	<b>-22</b>
Sólidos Suspendidos Totales	118	4	97	3	98
Arsénico	0.008	0.002	75	0.004	50
Boro	1.1	0.5	53	0.6	44
Cadmio	0.003	0.002	33	0.002	33
Cobre	0.07	0.015	77	0.02	69
Cromo Total	0.042	0.004	90	0.004	90
<b>Dureza Total</b>	<b>215</b>	<b>325</b>	<b>-51</b>	<b>455</b>	<b>-110</b>
Hierro	1	0.04	96	0.15	86
Fósforo	3	0.1	96	0.2	93
Manganeso	0.09	0.004	96	0.01	89
Níquel	0.1	0.02	85	0.01	80
Nitrógeno Total	37	1.5	96	1.6	96
Plomo	0.09	0.02	77	0.02	77
Zinc	0.22	0.04	82	0.05	77
Cianuros	0.009	0.008	11	0.006	33
<b>Nitratos</b>	<b>0.8</b>	<b>24</b>	<b>-2900</b>	<b>18</b>	<b>-2150</b>
Sulfuros	3.4	1.2	65	1	71
Coliformes fecales, NMP·100 mL <sup>-1</sup>	10 <sup>6</sup>	2	6 log	4	6 log
<i>E. histolytica</i> , quistes·L <sup>-1</sup>	0.6	ND	100	0	100
Huevos de Helminetos, HH·L <sup>-1</sup>	20	0	100	0	100
<i>Salmonella</i> spp., UFC·mL <sup>-1</sup>	Positivo	ND	100	0	100
<i>Shigella</i> spp., UFC·mL <sup>-1</sup>	Positivo	ND	100	0	100

ND: no determinado

Modificado de Jiménez *et al.*, 2005

Asimismo, Murillo *et al.*, 2006, reportaron que los suelos de la zona funcionan como un sistema de depuración natural, lo cual justificaron por la disminución en el número de compuestos orgánicos encontrados en las fuentes de abastecimiento, con respecto a los determinados en el agua residual. Los contaminantes emergentes se redujeron a nueve en uno de los manantiales, y a cero en uno de los pozos estudiados, mientras que en los canales que transportan agua residual se detectaron 33.

Además, Gibson *et al.*, 2007, determinaron que las concentraciones de ácidos farmacéuticos y potenciales interruptores endócrinos en los manantiales originados de la recarga artificial eran mucho menores a las observadas en el agua residual proveniente de la Ciudad de México (Tabla 1.2). Estos datos sugieren que muchos de estos contaminantes son removidos durante el paso del agua residual a través del suelo.

**Tabla 1.2 Concentraciones de ácidos farmacéuticos y potenciales interruptores endócrinos en agua de manantial y agua residual.**

Analito	Agua residual ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Agua de manantial ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	
	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 1	Muestreo 2
<b>Ibuprofeno</b>	<b>4.38</b>	<b>5.09</b>	<b>2.2</b>	<b>0.8</b>
Ácido salicílico	0.62	29.06	7.8	9.6
2,4 D	0.37	<0.1	<0.5	<0.5
Gemfibrozil	0.68	0.64	<0.5	<0.5
<b>Naproxeno</b>	<b>15.22</b>	<b>16.65</b>	<b>0.8</b>	<b>0.9</b>
Ketoprofeno	0.48	0.26	<0.25	<0.25
<b>Diclofenaco</b>	<b>1.72</b>	<b>6.36</b>	<b>&lt;1.00</b>	<b>&lt;1.00</b>
<b>4- Nonilfenol</b>	<b>22.4</b>	<b>11.0</b>	<b>8</b>	<b>1.8</b>
<b>Triclosán</b>	<b>2.04</b>	<b>0.66</b>	<b>1.3</b>	<b>1.12</b>
Bisfenol A	2.04	0.77	0.4	0.41
Butil bencil ftalato	1.24	0.71	2	1.7
Dietil hexil ftalato	702	356	25	6.6
Estrona	0.080	0.044	0.17	0.16
17 $\beta$ - estradiol	0.22	0.018	0.02	0.01

Fuente: Gibson *et al.*, 2007

## 2 Fundamentos teóricos

En este capítulo se presentan las características de los contaminantes emergentes estudiados y un resumen sobre su degradación biológica, la cual incluye los organismos degradadores y los metabolitos formados. Además, se describe brevemente el funcionamiento del sistema de tratamiento suelo-acuífero y se exponen los factores que condicionan la biodegradación de los contaminantes en suelo.

### 2.1 Contaminantes emergentes

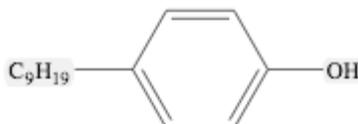
Los compuestos orgánicos presentes en el agua son de especial interés ya que pueden actuar como interruptores endócrinos, al interferir con el comportamiento natural de las hormonas en el cuerpo, o tener efectos carcinógenos sobre la población consumidora. Recientemente se ha puesto un mayor énfasis en el estudio de los llamados “contaminantes emergentes”, los cuales actualmente son contaminantes no regulados, pero que son candidatos a serlo debido a sus potenciales efectos en la salud y el ambiente (Barceló, 2003).

Estos contaminantes constituyen más de 70,000 compuestos orgánicos de uso diario, entre los que se encuentran compuestos o metabolitos de: esteroides, medicamentos, repelentes de insectos, detergentes, desinfectantes, retardantes de flama, plásticos que desprenden nonilfenol al agua, antibióticos, insecticidas, hormonas reproductivas, cafeína, antibacteriales, antioxidantes y fragancias (Murillo *et al.*, 2006).

Para este trabajo se seleccionaron cinco contaminantes emergentes: 4-nonilfenol, triclosán, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno. Estos contaminantes fueron seleccionados con base a sus altas concentraciones en el agua residual y/o a su presencia en el agua de manantial, además de los efectos que tienen sobre la salud y el ambiente. En el siguiente apartado se describen las características y efectos de estos compuestos, además de su remoción y/o degradación en distintos medios.

### 2.1.1 4-Nonilfenol

El nonilfenol es una mezcla de isómeros de cadenas ramificadas o lineales (*orto*-, *meta*-, *para*-). El más común de ellos es el isómero *para*-, el 4-*n*-nonilfenol (Stasinakis *et al.*, 2008). La Figura 2.1 muestra su estructura química.



**Figura 2.1 Estructura química del 4-*n*-nonilfenol**

La solubilidad máxima de este compuesto en agua es de  $4.9 \pm 0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a 25°C, por lo que es ligeramente soluble (Brix *et al.*, 2001); mientras que su coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{ow}$ ) es de 4.48, lo que lo identifica como lipofílico (Ahel y Giger, 1993).

La introducción del nonilfenol al medio ambiente se lleva a cabo por los flujos de aguas residuales que contienen nonilfenoles polietoxilados (Tanghe *et al.*, 1999), los cuales son un grupo de surfactantes no iónicos ampliamente usados en la producción de polímeros, pinturas y textiles, además de artículos domésticos como detergentes, insecticidas y cosméticos (Birkett y Lester, 2003; Ying, 2006). Estos surfactantes son parcialmente degradados a nonilfenol bajo condiciones anaerobias (Ying, 2006); y se ha determinado que se encuentran en concentraciones significativas en aguas residuales y en lodos digeridos anaerobiamente (Ahel *et al.*, 1994).

En cuanto a los efectos del nonilfenol, los estudios de Soto *et al.*, 1991, y Jobling y Sumpter, 1993, han mostrado que este compuesto posee la habilidad de imitar hormonas naturales, al interactuar con células sensibles a los estrógenos. Por ello, ha sido clasificado como interruptor endócrino por diversos organismos internacionales (Birkett y Lester, 2003).

La Tabla 2.1 muestra un resumen de algunos estudios que se han llevado a cabo con respecto a la degradación del nonilfenol por medios biológicos.

**Tabla 2.1 Estudios referentes a la degradación biológica del nonilfenol**

Estudio	Referencia
Se examinó la biodegradabilidad del nonilfenol mediante respirometría manométrica. El inóculo de siembra bacteriana provenía de lodos activados. Se estimó que el 62% del nonilfenol fue degradado en 28 días.	Staples <i>et al.</i> , 1999.
Se aisló una cepa de muestras de lodos activados, capaz de utilizar nonilfenol como única fuente de carbono y energía, tentativamente se identificó como <i>Sphingomonas</i> sp. Se determinó que la degradación del nonilfenol comenzó con la fisión del anillo fenólico.	Tanghe <i>et al.</i> , 1999.
Se evaluó la persistencia del 4-nonilfenol en diferentes suelos. Para ello, se utilizaron incubaciones de microcosmos. La vida media se estimó en un intervalo de 4.5 a 16.7 días y se determinó que el nonilfenol fue rápidamente mineralizado.	Topp y Starratt, 2000.
Se estudió una bacteria aislada de una planta de tratamiento de aguas residuales, capaz de utilizar nonilfenol como única fuente de carbono. La cepa era miembro del género <i>Sphingomonas</i> , y representaba una nueva especie: <i>Sphingomonas cloacae</i> .	Fujii <i>et al.</i> , 2001.
Se estudió la levadura <i>Candida aquatextoris</i> para determinar los productos de biodegradación del 4-1-nonilfenol como única fuente de carbono y energía. Los metabolitos identificados fueron el ácido <i>trans</i> -4-hidroxi-cinámico y el 4-hidroxi-acetofenona.	Vallini <i>et al.</i> , 2001.
Se evaluó la utilidad de <i>Sphingomonas cloacae</i> para tratar agua residual contaminada con nonilfenol en concentraciones de microgramos por litro. La remoción del nonilfenol fue mayor al 95%, aún sin la adición de nutrientes o control de temperatura en un intervalo de pH de 6 a 8.	Fujii <i>et al.</i> , 2003.
Se aislaron cepas bacterianas de una muestra contaminada de suelo, capaces de mineralizar nonilfenol como única fuente de carbono. Dos de las cepas fueron caracterizadas como <i>Pseudomonas</i> spp. y una como <i>Stenotrophomonas</i> sp. Una de las <i>Pseudomonas</i> spp. exhibió la mayor tasa de degradación	Soares <i>et al.</i> , 2003.

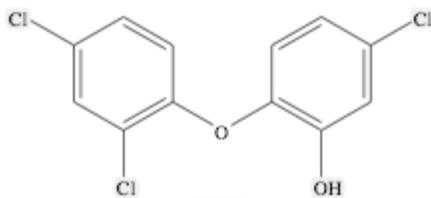
Tabla 2.1 (Continuación)

Estudio	Referencia
Se investigó la degradación del 4- <i>n</i> -nonilfenol en material de acuífero. La degradación se llevó a cabo rápidamente bajo condiciones aerobias y su vida media se calculó en 7 días.	Ying <i>et al.</i> , 2003.
Se estudió la degradación del nonilfenol en columnas de suelo con lodos digeridos incorporados y cebada sembrada. La vida media se estimó en 37 días y se obtuvo una constante de degradación de 0.00812 día <sup>-1</sup>	Jacobsen <i>et al.</i> , 2004.
Se observó la biodegradación aerobia del nonilfenol en muestras de sedimento de río. Las constantes de degradación variaron de 0.007 a 0.051 día <sup>-1</sup> y las vidas medias de 13.6 a 99 días. Se aisló una bacteria degradadora identificada como <i>Pseudomonas</i> sp. y se identificó un producto intermediario del nonilfenol, el 4'-amino-acetofenona.	Yuan <i>et al.</i> , 2004.
Se examinó la biodegradación del 4-nonilfenol en biosólidos aplicados a suelos. Las vidas medias del nonilfenol variaron de 7.2 a 19 días y las constantes de biodegradación de 0.035 a 0.096 día <sup>-1</sup> .	Hseu, 2006.
Se investigó el comportamiento y el destino del 4-nonilfenol en diversos suelos. La mineralización del nonilfenol dependió de la concentración y fue estimulada por la adición de residuos orgánicos, además fue más rápida en las capas superiores y disminuyó con respecto a la profundidad.	Roberts <i>et al.</i> , 2006.
Se estudió la degradación aerobia del nonilfenol en suelo y se caracterizó la estructura de la comunidad microbiana. Las bacterias dominantes fueron <i>Cytophaga</i> sp. y <i>Ochrobactrum</i> sp., esta última mostró el mayor potencial de degradación. La vida media fue de 13.1 días y la constante de degradación fue de 0.05291 día <sup>-1</sup> .	Chang <i>et al.</i> , 2007.
Se evaluó la biodegradabilidad del 4- <i>n</i> -nonilfenol por lodos activados, usando respirometría manométrica. La constante de degradación fue de 0.16 día <sup>-1</sup> y la vida media de 4.3±0.6 días. Se determinó que la biodegradación del 4- <i>n</i> -nonilfenol es un proceso de desintoxicación y que no existe cometabolismo.	Stasinakis <i>et al.</i> , 2008.
Se determinó el destino del 4-nonilfenol en un suelo agrícola mejorado con biosólidos. La vida media del nonilfenol varió de 16 a 23 días y se concluyó que la presencia de vegetación mejora su degradación.	Brown <i>et al.</i> , 2009
Se investigó la biodegradación aerobia del nonilfenol en sedimentos de río. La vida media fue de 1.5±0.4 días. Se identificaron <i>Nitrosomonas eutropha</i> , <i>Beta proteobacterium</i> , <i>Acidovorax</i> sp. y <i>Alicyclophillus</i> sp.	De Weert <i>et al.</i> , 2010.

De la Tabla 2.1 se resume que el 4-nonilfenol puede ser utilizado como única fuente de carbono y energía por varios microorganismos, los cuales son capaces de degradar este compuesto en condiciones aerobias en diversos medios, incluyendo el suelo.

### 2.1.2 Triclosán

El triclosán [5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)-fenol] es utilizado como conservador o como agente antiséptico en productos médicos y de uso doméstico. Puede ser encontrado como componente activo antimicrobiano en jabones, desodorantes, cremas de piel, productos dentales, así como en limpiadores e incluso en textiles (Singer *et al.*, 2002). En la Figura 2.2 se muestra la estructura química de este compuesto.



**Figura 2.2 Estructura química del triclosán**

Este compuesto es ligeramente soluble en agua ( $4.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ), presenta valores altos del coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{ow} = 4.7$ ) y del coeficiente de adsorción en suelo ( $\log K_{oc} = 4.3$ ) (Ying *et al.*, 2007).

La ruta primaria del triclosán para entrar al ambiente es a través de la descarga de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y la disposición de lodos en tierra (Singer *et al.*, 2002; Ying *et al.*, 2007).

En cuanto a los efectos del triclosán, Ishibashi *et al.*, 2004, observaron que este compuesto posee una alta toxicidad en las primeras etapas de vida del medaka (pez japonés), además de que su metabolito puede ser un compuesto estrogénico débil.

Asimismo, se ha demostrado que el triclosán puede ser precursor de dioxinas, ya que su fotólisis directa produce la 2,8-diclorodibenzo-*p*-dioxina (Latch *et al.*, 2003). Las dioxinas son compuestos hidrofóbicos y lipofílicos altamente resistentes a ser metabolizados por especies vertebradas, incluida la humana. Como resultado de estas propiedades, la biomagnificación se produce a través de la cadena alimentaria, y a menudo pueden producirse altas concentraciones en el tejido de las especies predatoras de mayor nivel (Van der Berg *et al.*, 2006).

La Tabla 2.2 muestra diversos estudios, en los cuales se indica que la biodegradación es un mecanismo importante en la eliminación de este contaminante.

**Tabla 2.2 Estudios referentes a la degradación biológica del triclosán**

Estudio	Referencia
Se evaluó la biodegradación del triclosán como única fuente de carbono y energía, por un consorcio bacteriano procedente de lodos activados. Se identificaron dos cepas de <i>Pseudomonas</i> spp., una de <i>Alcaligenes</i> sp., y otras semejantes a <i>Rhodanobacter</i> sp., <i>Agrobacterium</i> sp. y <i>Sphingomonas</i> sp. Esta última fue capaz de mineralizar parcialmente el triclosán.	Hay <i>et al.</i> , 2001.
Se determinó el destino del triclosán en experimentos en lote y en sistemas continuos de lodos activados. En el estudio de sistemas de lodos activados más del 94% del triclosán se sometió a biodegradación primaria. La mayor parte del triclosán se mineralizó o se incorporó a la biomasa.	Federle <i>et al.</i> , 2002.
Se observó en un estudio de campo la presencia y el destino del triclosán en una planta de tratamiento de aguas residuales. El 79% del triclosán fue degradado biológicamente.	Singer <i>et al.</i> , 2002.
Se realizaron experimentos de biodegradación aerobia en lote para conocer el comportamiento del triclosán. El inóculo microbiano utilizado procedía de lodos activados. Más del 99% del triclosán se biotransformó.	Yu <i>et al.</i> , 2006.
Se estudió el destino del triclosán en experimentos en lote y en sistemas continuos de lodos activados. En los experimentos en lote el 74% de triclosán fue biodegradado, mientras que en los continuos, la biodegradación media del triclosán fue de 97%.	Stasinakis <i>et al.</i> , 2007.

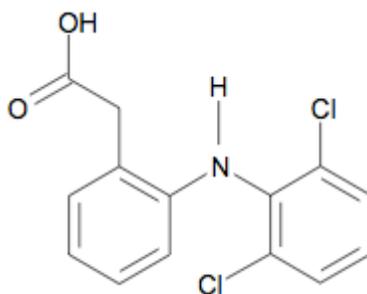
**Tabla 2.2 (Continuación)**

Estudio	Referencia
Se investigó la biodegradación del triclosán en suelo. Los experimentos mostraron que el triclosán se degradó en suelo aerobio con una vida media de 18 días.	Ying <i>et al.</i> , 2007.
Se evaluó la biodegradabilidad del triclosán con lodos activados, usando respirometría manométrica. La constante de degradación fue de $0.38 \text{ día}^{-1}$ y la vida media de $1.8 \pm 0.5$ días. Se determinó que la biodegradación del triclosán es un proceso de desintoxicación y que no existe cometabolismo.	Stasinakis <i>et al.</i> , 2008.
Se examinó la biodegradación del triclosán por <i>Nitrosomonas europaea</i> procedente de lodos activados. Aproximadamente el 70% del triclosán fue biodegradado, posiblemente mediante cometabolismo.	Roh <i>et al.</i> , 2009

De la Tabla 2.2 se resume que existen organismos capaces de degradar el triclosán, además de que su eliminación en el suelo puede llevarse a cabo por biodegradación aerobia y que en algunos casos el triclosán puede ser utilizado como única fuente de carbono y energía.

### 2.1.3 Diclofenaco

El diclofenaco [ácido acético 2-(2,6-diclorofenil)aminofenil] es uno de los analgésicos con mayor tasa de consumo. Su solubilidad en agua es de  $2.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$  y su constante de disociación  $\text{pK}_a$  es de 4.15 (SRC, 2010). La Figura 2.3 muestra la estructura química de este analgésico no esteroide.

**Figura 2.3 Estructura química del diclofenaco**

El diclofenaco es capaz de llegar a las plantas de tratamiento de aguas residuales mediante descargas por vía urinaria o por excreciones fecales, así como por una inadecuada disposición del medicamento no usado o caduco en sanitarios (González *et al.*, 2006).

Entre los efectos causados por este fármaco, se ha demostrado que la exposición de peces al diclofenaco altera el funcionamiento de los riñones, produce necrosis en las células de las branquias y se acumula en hígado, riñones, branquias y tejido muscular; además, estimula la teratogenicidad y muerte en embriones (Dietrich y Prietz, 1999; Schwaiger *et al.*, 2004). Asimismo, se han correlacionado fallas renales en buitres orientales de lomo blanco con su exposición a residuos de este fármaco anti-inflamatorio (Oaks *et al.*, 2004).

La Tabla 2.3 muestra un resumen de estudios sobre la remoción del diclofenaco.

**Tabla 2.3 Estudios referentes a la remoción del diclofenaco**

Estudio	Referencia
Se investigó la eliminación del diclofenaco de aguas residuales mediante su goteo a través de columnas de arena en condiciones anóxicas. La eliminación por adsorción y/o biodegradación fue de 64.5 a 71%.	Hua <i>et al.</i> , 2003.
Se estudió el destino del diclofenaco en experimentos en lote de lodos activados. La constante de degradación se estimó en 0.493 h <sup>-1</sup> a un pH neutro y con una cantidad baja de carbono orgánico disuelto.	Urase y Kikuta, 2005.
Se evaluó la biodegradación del diclofenaco en un biorreactor de membrana aerobio. La vida media de biodegradación primaria fue de un día. La degradación del diclofenaco fue de 44 a 85%.	González <i>et al.</i> , 2006.
Se analizó la remoción del diclofenaco en un humedal de flujo superficial. La eliminación del diclofenaco fue de 73 a 96%, lo cual se atribuyó al alto tiempo de retención hidráulica, que promovió las reacciones de biodegradación y fotodegradación.	Matamoros <i>et al.</i> , 2008 <sup>a</sup> .

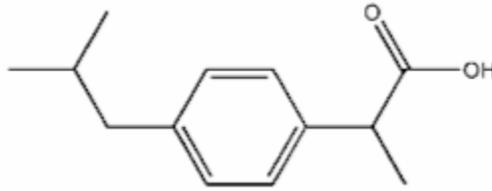
**Tabla 2.3 (Continuación)**

Estudio	Referencia
Se investigó la degradación del diclofenaco en cuatro suelos agrícolas. Las constantes de degradación en suelos no estériles se estimaron entre 0.0339 y 0.2256 día <sup>-1</sup> , y las vidas medias entre 3.07 y 20.44 días. La tasa de degradación en suelo no estéril fue 22.8 veces más rápida que en suelo estéril.	Xu <i>et al.</i> , 2009
Se estudió el destino del diclofenaco durante la infiltración de agua residual tratada, bajo condiciones aerobias y anóxicas, a través de columnas de medio poroso biológicamente activas. El diclofenaco fue mejor degradado durante la recarga anóxica.	Rauch-Williams <i>et al.</i> , 2010

Por lo expuesto en la Tabla 2.3, es posible que el proceso de biodegradación participe en la remoción del diclofenaco. Sin embargo, otros estudios señalan que el diclofenaco no se remueve fácilmente. Zwiener y Frimmel, 2003, determinaron que éste fármaco no se eliminó en una planta piloto de aguas residuales, ni en reactores aerobios de biopelícula. Asimismo, Yu *et al.*, 2006, clasificaron al diclofenaco como no fácilmente biodegradable, debido a que su biotransformación en pruebas en lote fue de tan sólo 30%. También señalaron que su remoción en algunas plantas de tratamiento de aguas residuales fue menor al 20%, lo cual sugiere su persistencia a través de los procesos de tratamiento.

#### 2.1.4 Ibuprofeno

El ibuprofeno [ácido propiónico 2-(4-isobutilfenil)] es un medicamento ampliamente utilizado como anti-inflamatorio, analgésico y antipirético (Zwiener *et al.*, 2002). Su solubilidad en agua a 25°C es de 21 mg·L<sup>-1</sup> y su constante de disociación pK<sub>a</sub> es de 3.97 (SRC, 2010). La Figura 2.4 representa la estructura química de este medicamento.



**Figura 2.4 Estructura química del ibuprofeno**

Los fármacos como el ibuprofeno se introducen al ambiente por el uso de lodos de aguas residuales como fertilizantes, por la irrigación de campos con agua residual, o por fugas de drenaje (Oppel *et al.*, 2004).

Entre los efectos adversos de este medicamento, se ha determinado que inhibe el crecimiento de *Lemna minor*, un organismo fotosintético acuático, y provoca la producción de ácido abscísico, una hormona del estrés (Pomati *et al.*, 2004).

La Tabla 2.4 muestra un resumen de estudios relativos a la biodegradación y la remoción del ibuprofeno.

**Tabla 2.4 Estudios referentes a la remoción del ibuprofeno**

Estudio	Referencia
Se estudió el comportamiento del ibuprofeno en aguas superficiales y en agua residual. El ibuprofeno se degradado a más de 95% en las plantas de tratamiento de aguas residuales. La vida media de degradación del ibuprofeno en el agua del lago se estimó en 20 días.	Buser <i>et al.</i> , 1999.
Se evaluó la biodegradación del ibuprofeno en un reactor de biopelícula y en pruebas en lote con lodos activados. La degradación aerobia en las pruebas en lote fue de 75%, y en el reactor de 68%. En condiciones aerobias se detectó hidroxibuprofeno; en condiciones anóxicas, ácido carboxi-hidratrópico, y en ambas, carboxibuprofeno.	Zwiener <i>et al.</i> , 2002.
Se investigó la eliminación del ibuprofeno de aguas residuales mediante su goteo a través de columnas de arena en condiciones anóxicas. La eliminación por adsorción y/o biodegradación fue completa.	Hua <i>et al.</i> , 2003

Tabla 2.4 (Continuación)

Estudio	Referencia
Se examinó la biodegradación del ibuprofeno en pruebas a corto plazo en una planta piloto de aguas residuales y en un reactor aerobio de biopelícula. El ibuprofeno se degradó a un intervalo de 40 a 43% de su concentración inicial en la planta, y de 30 a 36% en el reactor.	Zwiener y Frimmel, 2003.
Se aisló una cepa de <i>Sphingomonas</i> sp de una planta de tratamiento de aguas residuales capaz de utilizar ibuprofeno como única fuente de carbono y energía. Se detectaron tres metabolitos: isobutylcatecol, ácido 5-formil-2-hidroxi-7-metilocta-2, 4-dienoico, y ácido 2-hidroxi-5-isobutilhexa-2, 4-dienedioico.	Murdoch y Hay, 2005.
Se estudió la biodegradación del ibuprofeno mediante pruebas en lote, utilizando lodos activados como inóculo. El ibuprofeno se degradó sólo por cometabolismo y se detectaron dos isómeros de hidroxi-ibuprofeno como intermediarios en la mineralización. La biodegradación se completó después de 22 días.	Quintana <i>et al.</i> , 2005.
Se investigó el destino del ibuprofeno en experimentos en lote de lodos activados. La constante de degradación se estimó en $0.352 \text{ h}^{-1}$ a un pH ácido.	Uruse y Kikuta, 2005.
Se realizaron experimentos de biodegradación aerobia en lote para conocer el comportamiento del ibuprofeno. El inóculo microbiano utilizado procedía de lodos activados. Más del 99% del ibuprofeno se biotransformó.	Yu <i>et al.</i> , 2006.
Se evaluó la remoción del ibuprofeno en humedales de flujo horizontal subsuperficial. La degradación del ibuprofeno fue mayor al 51%. La predominancia de hidroxi-ibuprofeno sobre carboxi-ibuprofeno permitió asumir que la principal vía de eliminación ocurre bajo condiciones aerobias.	Matamoros <i>et al.</i> , 2008.
Se determinó la remoción del ibuprofeno en un humedal de flujo superficial. La remoción del ibuprofeno fue mayor a 95%, lo cual se atribuyó al alto tiempo de retención hidráulica, que promovió las reacciones de biodegradación.	Matamoros <i>et al.</i> , 2008 <sup>a</sup> .
Se investigó la degradación del ibuprofeno en cuatro suelos agrícolas. Las constantes de degradación en suelos no estériles se estimaron entre $0.1138$ y $0.7655 \text{ día}^{-1}$ , y las vidas medias entre 0.91 y 6.09 días. La tasa de degradación en suelo no estéril fue 34.5 veces más rápida que en suelo estéril.	Xu <i>et al.</i> , 2009

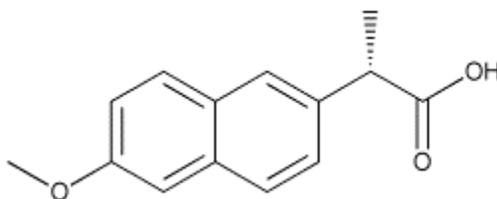
**Tabla 2.4 (Continuación)**

Estudio	Referencia
Se estudió el destino del ibuprofeno durante la infiltración de agua residual tratada, bajo condiciones aerobias y anóxicas, a través de columnas de medio poroso biológicamente activas. El ibuprofeno fue degradado a más del 85% bajo ambas condiciones.	Rauch-Williams <i>et al.</i> , 2010

De acuerdo con la Tabla 2.4, puede concluirse que la eliminación del ibuprofeno se lleva a cabo en gran medida por biodegradación aerobia. Además, se señala que existen bacterias capaces de degradar este compuesto, ya sea utilizándolo como única fuente de carbono y energía o por cometabolismo.

### 2.1.5 Naproxeno

El naproxeno (ácido acético 2-naftaleno) es un analgésico no esterooidal que, al igual que otros ácidos farmacéuticos, ingresa a las aguas superficiales debido a que sólo es parcialmente eliminado por las plantas de tratamiento de aguas residuales (Tixier *et al.*, 2003). Su solubilidad en agua a 25°C es de 15.9 mg·L<sup>-1</sup> y su constante de disociación pK<sub>a</sub> es de 4.15 (SRC, 2010). La Figura 2.5 muestra la estructura química de este fármaco.

**Figura 2.5 Estructura química del naproxeno**

En cuanto a sus efectos adversos, se ha determinado que actúa como un indicador de toxicidad y que su concentración en agua residual cruda puede representar un riesgo ecológico para organismos acuáticos (Farré *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2007).

En la Tabla 2.5 se presenta un resumen de estudios relativos a la degradación biológica y la remoción del naproxeno.

**Tabla 2.5 Estudios referentes a la remoción del naproxeno**

Estudio	Referencia
Se estudió la biotransformación del naproxeno por <i>Aspergillus niger</i> . El naproxeno se metabolizó por completo a las 36 horas. Se identificó O-desmetil-naproxeno, 7-hidroxi-naproxeno, 7-hidroxi-O-desmetil-naproxeno.	He y Rosazza, 2003.
Se investigó la eliminación del naproxeno de aguas residuales mediante su goteo a través de columnas de arena en condiciones anóxicas. La eliminación por adsorción y/o biodegradación fue completa.	Hua <i>et al.</i> 2003.
Se identificaron los metabolitos del naproxeno producidos por hongos del género <i>Cunninghamella</i> . <i>C. elegans</i> transformó al naproxeno en desmetilnaproxeno, mientras que <i>C. blakesleana</i> y <i>C. echinulata</i> lo transformaron además en desmetilnaproxeno-6-O-sulfato.	Zhong <i>et al.</i> , 2003.
Se determinó la biodegradación del naproxeno mediante pruebas en lote, utilizando lodos activados como inóculo. El naproxeno se degradó sólo por cometabolismo y se detectó desmetilnaproxeno como intermediario en la mineralización. El 60% del naproxeno se degradó en 28 días.	Quintana <i>et al.</i> , 2005.
Se investigó el destino del naproxeno en experimentos en lote de lodos activados. La constante de degradación se estimó en $0.389 \text{ h}^{-1}$ a un pH neutro y con una cantidad baja de carbono orgánico disuelto.	Urase y Kikuta, 2005.
Se realizaron experimentos de biodegradación aerobia en lote para conocer el comportamiento del naproxeno. El inóculo microbiano utilizado procedía de lodos activados. El 80% del naproxeno se biotransformó.	Yu <i>et al.</i> , 2006.
Se evaluó la remoción del naproxeno en un humedal de flujo superficial. La eliminación del diclofenaco fue de 52 a 92%, lo cual se atribuyó al alto tiempo de retención hidráulica, que promovió las reacciones de biodegradación y fotodegradación.	Matamoros <i>et al.</i> , 2008 <sup>a</sup> .

**Tabla 2.5 (Continuación)**

Estudio	Referencia
Se estudió la degradación del naproxeno en cuatro tipos de suelos, en biosólidos y en sistemas de suelo-biosólidos. Las vidas medias en los suelos fueron de 3.1 a 6.9 días , de 10.2 días en los biosólidos y de 3.9 a 15.1 días en los sistemas.	Monteiro y Boxall, 2009.
Se investigó el destino del naproxeno durante la infiltración de agua residual tratada, bajo condiciones aerobia y anóxicas, a través de columnas de medio poroso biológicamente activas. El naproxeno fue mejor degradado durante la recarga aerobia.	Rauch-Williams <i>et al.</i> , 2010

De la Tabla 2.5, se puede concluir que existen varios organismos capaces de degradar el naproxeno en condiciones aerobias. Asimismo, se indica que su degradación puede llevarse a cabo por cometabolismo.

## 2.2 Tratamiento suelo-acuífero

La aplicación del agua residual sobre el terreno es una técnica de depuración natural. La eliminación de las sustancias contaminantes presentes en el agua se debe a la acción combinada de la vegetación, de la superficie y de la matriz del suelo, además de los microorganismos presentes (Álvarez Bernal *et al.*, 2002; Moreno Merino *et al.*, 2003). Los principales procesos para depurar el agua una vez infiltrada en el suelo, son: filtración, intercambio iónico, adsorción, reacciones químicas, precipitación, mezcla y dilución, cambio de pH, hidrólisis, volatilización, asimilación biológica, reacciones microbiológicas y desintegración radioactiva (Moreno Merino *et al.*, 2003).

En la infiltración directa sobre el terreno, el elemento depurador principal es la zona no saturada del suelo. Sin embargo, es necesario que además se produzca un importante movimiento del agua en el acuífero para completar la eliminación de bacterias y virus, la precipitación de fosfatos, la descomposición de compuestos orgánicos y la eliminación del sabor y el olor (Moreno Merino *et al.*, 2003).

Debido a que el agua infiltrada mejora durante su percolación a través de los sedimentos de la zona vadosa y su posterior flujo y almacenamiento en el acuífero, a la infiltración directa se le conoce también como tratamiento suelo-acuífero (Akber *et al.*, 2003; Moreno Merino *et al.*, 2003; Quanrud *et al.*, 2003).

En un principio, la finalidad de este método era la eliminación de efluentes mediante un sistema barato y técnicamente simple, o el aprovechamiento de los mismos para irrigación. Posteriormente, esta técnica se comenzó a aplicar como sistema alternativo de depuración y como un mecanismo eficaz de regulación de los recursos hídricos en zonas altamente deficitarias. Actualmente, este tipo de instalaciones persiguen múltiples objetivos: depurar el agua residual, recargar el acuífero subyacente, reutilizar el agua en agricultura, evitar la intrusión salina, mejorar la calidad de acuíferos altamente degradados, e incrementar el caudal de ríos o manantiales relacionados con el acuífero recargado (Moreno Merino *et al.*, 2003).

A continuación, se describen los tres procesos principales de aplicación al terreno (Metcalf y Eddy, 1996; Álvarez Bernal *et al.*, 2002; Moreno Merino *et al.*, 2003).

**La irrigación** es un tratamiento que a la vez proporciona ciertos compuestos para el crecimiento de las plantas. El efluente aplicado sufre una modificación por medios físicos, químicos y biológicos al filtrarse en el suelo. La irrigación puede realizarse por aspersión, inundación o surcos. Con este sistema se consiguen reducciones de DBO<sub>5</sub> del orden del 90% y de sólidos suspendidos del 95%, destaca además la alta remoción de microorganismos patógenos, fósforo y compuestos nitrogenados (más del 80%).

**La infiltración rápida** es un tratamiento que se produce cuando el agua atraviesa rápidamente la matriz del suelo. Los objetivos del sistema pueden incluir la recarga de acuíferos, el tratamiento natural seguido de la extracción por bombeo o por drenaje para su recuperación y el tratamiento natural con agua renovada que se desplaza vertical y lateralmente en el suelo recargando una corriente de agua superficial. Se alcanzan

reducciones medias de DBO<sub>5</sub> y de sólidos suspendidos alrededor del 90% y una elevada eliminación de patógenos, entre el 70% y el 95%.

**La escorrentía superficial** es esencialmente un proceso de tratamiento biológico en el cual se aplica el agua residual sobre las zonas de un terreno dispuesto en pendiente desde donde fluye a través de la superficie vegetal hasta unas zanjas de recolección. La renovación del agua se lleva a cabo por medios físicos, químicos y biológicos al fluir el agua residual en una delgada lámina sobre la pendiente relativamente impermeable. El grado de tratamiento alcanzable es equivalente a uno secundario, generalmente con buena reducción de nitrógeno y un menor rendimiento en fósforo, los rendimientos alcanzados para la DBO<sub>5</sub> y los sólidos en suspensión están alrededor del 90 y 70%, respectivamente.

Finalmente, cabe señalar que entre las ventajas de estos tratamientos se encuentran el costo bajo de construcción, un funcionamiento económico, los costos bajos energéticos, el uso de equipamiento sencillo, la escasa necesidad de personal de mantenimiento, la eliminación eficaz de patógenos y la confiabilidad del sistema. Sin embargo, las desventajas aparecen cuando estos sistemas no son aplicados en forma apropiada y se generan riesgos para la salud pública: se ha observado que se contaminan los cultivos, o se eutrofican ríos, lagos y estanques. Además, estos sistemas requieren mayor superficie de terreno disponible que los métodos convencionales.

### **2.3 Biodegradación en suelo**

En el sistema de tratamiento suelo-acuífero, la remoción de concentraciones trazas de sustancias orgánicas pueden llevarse a cabo por procesos de volatilización, sorción y principalmente por degradación biológica (Moreno Merino *et al.*, 2003).

La biodegradación involucra el rompimiento de compuestos orgánicos, ya sea a través de la biotransformación en metabolitos menos complejos, o a través de la mineralización a productos inorgánicos. Los factores ambientales que influyen en el crecimiento y la

bioactividad microbianos responsables de la biodegradación incluyen: el contenido de humedad, la temperatura, el pH, el tipo de suelo, la concentración de los contaminantes y, en el caso de la degradación aerobia, la concentración de oxígeno (Singh y Ward, 2004).

Cabe destacar que la concentración del contaminante es un factor importante para la degradación debido a dos razones principales: su toxicidad y su capacidad de inducción. Si el contaminante posee propiedades tóxicas, entre mayor sea la concentración del contaminante, mayor será la incapacidad del organismo para defenderse de sus efectos. Respecto de la inducción, numerosas enzimas involucradas en la biodegradación sólo se manifiestan cuando el contaminante, y en algunos casos el cosustrato, tienen un nivel mayor a ciertas concentraciones (Van Hamme, 2004).

Además de los factores ambientales, existen otros elementos de los que depende el alcance y la velocidad de biodegradación: la población microbiana, el grado de aclimatación, la accesibilidad de los nutrientes, la estructura química del compuesto, las propiedades del transporte celular y la partición química en el medio de crecimiento (Singh y Ward, 2004).

En cuanto a los impedimentos para la biodegradación, éstos son múltiples y se encuentran íntimamente relacionados, siendo generalmente causados por fenómenos físicos que limitan la biodisponibilidad del sustrato y el cosustrato. Aunque en algunos casos, puede deberse a la falta de mecanismos bioquímicos apropiados para la biodegradación (Van Hamme, 2004).

Kwok y Loh, 2003, afirman que la biodisponibilidad del contaminante depende del área superficial externa de las partículas del suelo, ya que sólo las superficie externas son accesibles para los microorganismos. Singh y Ward, 2004, aseguran que la estructura molecular del contaminante y su hidrofobicidad pueden provocar su asociación con componentes hidrofóbicos en el suelo, evitando que el contaminante sea absorbido por los microorganismos. En el caso de la materia orgánica, ésta juega un papel fundamental

en la biodisponibilidad de compuestos orgánicos poco solubles, debido a que actúa como el principal adsorbente en el suelo (Pignatello, 1998).

Por su parte, Rittmann y McCarty, 2001, sugieren que una proporción baja de materia orgánica y de arcilla promueve la biodisponibilidad, y por lo tanto mejora la biodegradación, ya que la retención y el intercambio de compuestos orgánicos e inorgánicos en el suelo se deben principalmente a la presencia de estos elementos. Sin embargo, Xu *et al.*, 2008, afirman que en suelos naturales, un mayor contenido de materia orgánica se encuentra asociado a una mayor actividad biológica, lo cual incrementa la tasa de degradación de los contaminantes. Además, Mrozik *et al.*, 2008, aseguran que entre mayor sea el contenido de materia orgánica en el suelo, más rápido se llevará a cabo el proceso de biodegradación de sustancias tóxicas, ya que la materia orgánica protege a los microorganismos de los efectos negativos del contaminante, al reducir su biodisponibilidad.

Igualmente, Dictor *et al.*, 2008, proponen que en procesos cometabólicos una mayor cantidad de carbono orgánico favorece la degradación de los contaminantes. De esta forma, la degradación de xenobióticos por cometabolismo puede beneficiarse al proveerse una mayor fuente de carbono (Evans y Furlong, 2003).

Finalmente, Wick *et al.*, 2001, indican que la utilización simultánea de fuentes naturales de carbono puede ser de extrema importancia para la degradación de un contaminante pobremente biodisponible, ya que independiza parcialmente el crecimiento y la conservación de la población degradadora del flujo del contaminante.

Por el contexto anteriormente señalado, es probable que la biodegradación de los denominados contaminantes emergentes se lleve a cabo en los suelos del Valle de Tula, ya que al irrigarse con aguas residuales, se proporciona un gran cantidad de nutrientes y se incrementa la concentración de carbono orgánico disuelto (Herre *et al.*, 2004), lo cual podría favorecer la actividad microbiana y el cometabolismo.

### 3 Metodología

En este capítulo se describen las etapas llevadas a cabo para estimar la remoción y/o la degradación de tres ácidos farmacéuticos (diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) y dos fenoles (4- nonilfenol y tricosán) en columnas empacadas con suelos del Valle de Tula. La primera etapa consistió en la selección de los suelos por utilizar, su caracterización fisicoquímica y análisis microbiológico, además de la cuantificación de los contaminantes emergentes en los mismos. La segunda fase correspondió a la operación de las columnas empacadas y la cuantificación de contaminantes emergentes en los lixiviados obtenidos. En la tercera etapa, se determinó la abundancia microbiana final de cada horizonte.

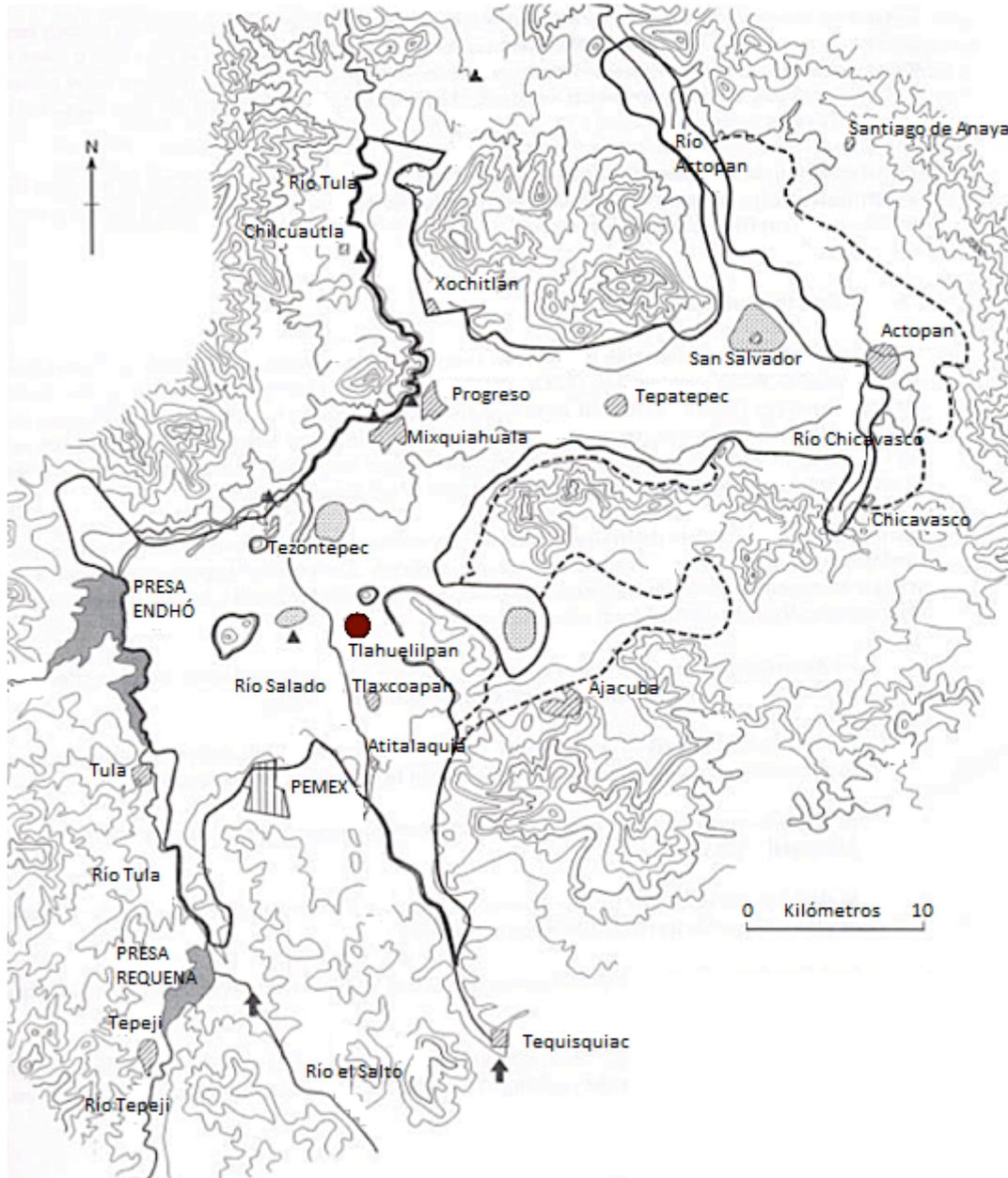
#### 3.1 Selección de suelos y caracterización

##### 3.1.1 Selección de sitios y recolección de suelo

Para llevar a cabo este estudio se seleccionó suelo clase Feozem, debido a que es uno de los suelos predominantes del Valle de Tula. Este suelo es de profundidad media, con capacidad productiva de media a alta y posee un buen drenaje interno (Jiménez *et al.*, 2005). Asimismo, se eligió el municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo como sitio para coleccionar las muestras de suelo, debido a que es uno de los sitios de mayor antigüedad en el uso de aguas residuales para riego agrícola, desde 1896, de acuerdo con Jiménez *et al.*, 2005. En la Figura 3.1 se observa la ubicación del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo.

Dentro del municipio de Tlahuelilpan se seleccionaron dos perfiles. El primero, se ubicó en terrenos aledaños al pozo 9 de la Comisión Federal de Electricidad (20° 7' 46.94'' de latitud Norte y 98° 47' 7.07'' de longitud Oeste). En este sitio, el perfil del suelo cuenta con un porcentaje medio de arcilla, pero de medio a muy bajo de materia orgánica, de acuerdo con la clasificación de la NOM-021-RECNAT-2000. El segundo perfil se ubicó en un sitio aledaño al pozo San Primitivo (20° 6' 39.98'' de latitud Norte y 98° 44' 59.8'' de longitud Oeste). Este perfil posee un porcentaje alto de arcilla, con un contenido de

bajo a muy bajo de materia orgánica, según la clasificación de la NOM-021-RECNAT-2000. (Jiménez *et al.*, 2008).



**Figura 3.1 Ubicación del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo (CONAGUA *et al.*, 1998)**

Para la recolección del suelo, se excavaron los perfiles y se delimitaron sus respectivos horizontes. Posteriormente se tomaron aproximadamente dos kilogramos de suelo de cada

horizonte (Figura 3.2), los cuales se colocaron en frascos secos de vidrio, previamente lavados con acetona. Finalmente, el suelo se transportó al laboratorio, donde se conservó a una temperatura de 4°C hasta el momento de su uso.



**Figura 3.2 Recolección de suelo (a) apertura del perfil (b) toma de muestra**

### 3.1.2 Caracterización fisicoquímica del suelo y selección de horizontes

La caracterización fisicoquímica se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioprocesos e Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM. Los horizontes de suelo recolectados se caracterizaron para determinar cuáles eran los más apropiados para ser utilizados en el empaque de las columnas, ya que se consideró necesario emplear aquellos con contenido de materia orgánica y de arcilla contrastantes. La Tabla 3.1 muestra los parámetros medidos y los métodos utilizados para caracterizar los diferentes perfiles.

**Tabla 3.1 Parámetros y métodos para la caracterización de suelo**

Parámetro	Método	Referencia
Textura	Bouyoucos	NOM- 021- RECNAT- 2000
Materia orgánica	Walkley y Black	
pH	Electrométrico	
Densidad aparente	Cilindro	Siebe <i>et al.</i> , 1996

### 3.1.3 Cuantificación de contaminantes emergentes en suelo

A partir de la selección de los horizontes, se realizó una cuantificación inicial de los contaminantes de interés para determinar si se encontraban presentes o no en los suelos, así como su posible influencia en los resultados. Para ello, se llevó a cabo una extracción acelerada con disolvente de la muestra, seguida de una extracción en fase sólida, limpieza, derivatización y cuantificación, para la cual se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Durán-Álvarez *et al.*, 2009). Cabe mencionar que debido a que se analizaron sólo cinco compuestos, se realizaron algunas modificaciones a la técnica reportada. Estas modificaciones se refieren al uso de estándares internos y de recuperación, así como a la forma de eluir los compuestos y la derivatización (Anexo A).

Los cambios en esencia consistieron en sustituir el ácido 3,4- diclorofenoxiacético por el ácido clofibrico y el 4-*n*-nonilfenol por el d<sub>16</sub> bisfenol A, como estándares de recuperación. Igualmente, se sustituyó el ácido 2,3-diclorofenoxiacético por el gemfibrozil, como estándar interno para los ácidos farmacéuticos. Asimismo, se prescindió del uso de la 10,11-dihidrocarbamazepina, la d<sub>4</sub>-estrone, el d<sub>3</sub>-β-estradiol y el d<sub>4</sub>-DEHF, ya que no se determinaron carbamazepina, hormonas, ni ftalatos.

En cuanto a la elución, ésta se llevó a cabo en sólo un paso, en lugar de realizar una elución para los ácidos y otra para los fenoles, ya que los contaminantes emergentes seleccionados en este estudio son eluidos con acetona.

Respecto de la derivatización de los compuestos, ésta se llevó a cabo añadiendo piridina y N-terbutildimetilsilil-N-metiltrifluoracetamida (MTBSTFA), en lugar de utilizar sólo MTBSTFA para la fracción ácida, o piridina y N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoracetamida (BSTFA) para los fenoles.

Por otra parte, es importante mencionar que los límites de detección empleados fueron los mismos reportados por Durán-Álvarez *et al.*, 2009.

### 3.1.4 **Conteo inicial de bacterias aerobias**

Antes de iniciar la operación de las columnas, se realizó la cuenta en placa de bacterias aerobias para cada uno de los suelos. Para ello, se utilizó la metodología descrita por la NOM-092-SSA-1994. Debido a que la temperatura media anual del Valle de Tula es de 18.3°C (CONAGUA *et al.*, 1998), se realizó el conteo de bacterias psicrotróficas a 20±2°C. Además, se llevó a cabo el conteo de bacterias mesofílicas (35±2°C), ya que éstas tienen requerimientos aproximados a los de los seres humanos en términos de temperatura, presión, demanda de agua y oxigenación relativa (Evans y Furlong, 2003).

### 3.1.5 **Conteo inicial de *Pseudomonas aeruginosa***

El género *Pseudomonas* parece tener la habilidad más altamente desarrollada para adaptarse rápidamente a nuevas fuentes de carbono (Evans y Furlong, 2003), y la especie *Pseudomonas aeruginosa* ha mostrado la habilidad de degradar compuestos orgánicos, tales como hexadecano, pireno, fenantreno y fenol (Chayabutra y Ju, 2000; Hwang y Cutright, 2002; Noordman *et al.*, 2002; El-Sayed *et al.*, 2003), por ello, se determinó realizar el conteo de *Pseudomonas aeruginosa* en cada horizonte, utilizando la técnica del número más probable (NMP).

El conteo se determinó mediante una prueba presuntiva con medio líquido de asparagina (APHA *et al.*, 1998) y una prueba confirmativa con Agar P, también conocido como Agar King A (Hoadley, 1977). Como control se utilizó la cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25619. Esta cepa cuenta con un nivel de bioseguridad 2, el cual es apropiado para agentes patógenos, pero cuyo potencial para la transmisión es limitado.

Para la prueba presuntiva se prepararon tres diluciones de cada suelo, las cuales se utilizaron para inocular tres series de tres tubos, que contenían el medio líquido de asparagina. Los tubos inoculados se incubaron a 35°C de 24 a 48 horas. Transcurrido este tiempo, los tubos se examinaron bajo luz ultravioleta en una habitación a oscuras. La

producción de pigmento verdoso fluorescente se consideró como positivo para la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

En la prueba confirmativa, los tubos positivos se utilizaron para sembrar el cultivo en cajas de petri con medio Agar P, por medio de la técnica de estría cruzada. Las cajas se incubaron a 35°C por 24 h. La producción de un pigmento azul-verdoso se consideró como un resultado positivo. Posteriormente, se calculó el número presente de *Pseudomonas aeruginosa* mediante la Tablas del número más probable por gramo, diseñadas para series de diluciones decimales.

### **3.1.6 Determinación del género y especie mediante la prueba API 20 E**

Posterior a la prueba confirmativa, se seleccionaron colonias perfectamente aisladas del Agar P para resembrarlas en agar nutritivo. Una vez que se realizó el aislamiento de cada colonia se llevó a cabo la prueba API 20 E, la cual permitió determinar en 24 horas el género y la especie de la colonia aislada.

La prueba API 20 E es un sistema estandarizado que permite la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros Gram negativos no exigentes, que incluye 21 pruebas bioquímicas miniaturizadas, así como una base de datos. La galería del sistema API 20 E se compone de 20 microtubos que contienen los sustratos deshidratados. Los microtubos se inoculan con una suspensión bacteriana que reconstituye las pruebas. Las reacciones producidas durante la incubación se traducen en cambios de color espontáneos o revelados mediante la adición de reactivos. La lectura de estas reacciones se lleva a cabo utilizando la Tabla de Lectura, y la identificación se obtiene con la ayuda del Catálogo Analítico (BioMérieux SA, 2006).

### **3.1.7 Determinación inicial de biomasa microbiana**

Debido a que sólo una pequeña proporción de la comunidad microbiana puede ser cultivada en placa, también se determinó la abundancia de microorganismos en términos

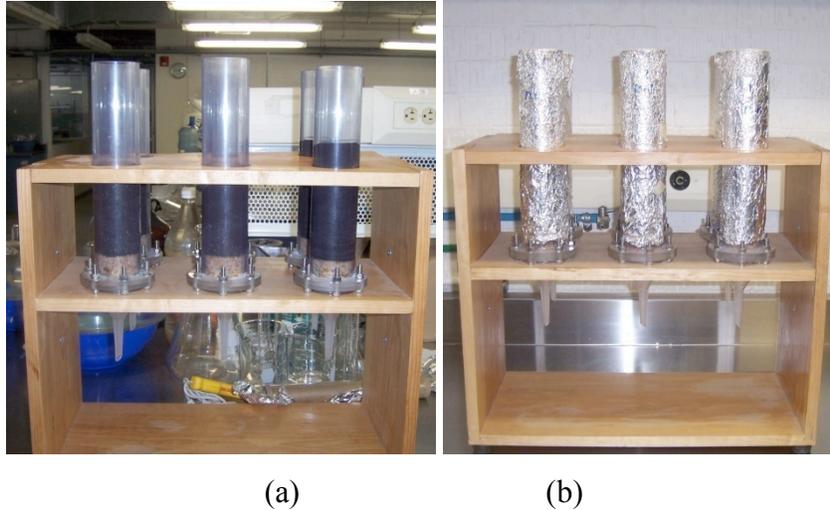
de biomasa microbiana medida como carbono, para ello, se utilizó el método de fumigación-extracción descrito por Siebe y Herre, 2003. Las muestras de suelo fueron fumigadas con cloroformo libre de etanol por 24 horas. Posteriormente, el carbono de la biomasa microbiana del suelo se extrajo con una solución de sulfato de potasio 0.5 M tanto para el suelo fumigado como para el suelo no fumigado. El carbono orgánico en el extracto se sometió a digestión con dicromato de potasio y posteriormente se midió su absorbancia a 578 nm. La biomasa se cálculo por la diferencia entre el contenido de carbono del suelo fumigado y el suelo no fumigado.

## **3.2 Operación de columnas**

### **3.2.1 Descripción de columnas empacadas**

Las columnas que se utilizaron fueron tubos de PVC de 5.08 cm de diámetro interno y 30 cm de altura total. En el fondo de cada columna, se colocó una malla de acero inoxidable de 2 mm para soportar el suelo, además se instaló un embudo para la recolección de lixiviados.

Las columnas se empacaron con 3 cm de arena y gravilla sílica de 5 y 1 mm de diámetro, la cuales se acondicionaron con lavados ácidos (1% de HCl) y acetona, para eliminar los posibles contaminantes emergentes presentes. Previo al empaque de suelo, éste se trituroó con un mortero y se pasó por un tamiz de malla número 10 (2 mm). Cada uno de los horizontes se empacó en una columna diferente. El empaque se realizó manualmente hasta aproximadamente 10 cm de altura de acuerdo con la densidad aparente de cada horizonte. Para obtener un empaque uniforme, el suelo se adicionó en pequeñas porciones y la columna se sacudió ligeramente. Finalmente, las columnas se cubrieron con papel aluminio para evitar la posible degradación fotoquímica de los compuestos. La Figura 3.3 muestra el montaje de las columnas empacadas con suelo.



**Figura 3.3 Montaje de columnas (a) columnas empacadas con material de soporte y suelo tamizado (b) columnas cubiertas con aluminio**

### 3.2.2 Diseño de experimento

En este experimento se utilizaron cuatro horizontes y se empacaron tres columnas por cada uno de ellos. En total se operaron 12 columnas. Para poder discriminar la remoción de los contaminantes por adsorción, se utilizaron los datos obtenidos por Saucedo Hernández, 2009, (Anexo C) quien utilizó columnas esterilizadas con rayos gamma a 25 Kgray. Debido a que se hicieron seis riegos, se realizaron seis análisis estadísticos para cada compuesto. En la Tabla 3.2 se muestra el diseño factorial 4×2 completamente al azar, a partir del cual se desarrollaron en tiempo y forma las corridas experimentales.

**Tabla 3.2 Diseño factorial 4×2 con tres réplicas completamente al azar**

Horizonte	Columna	
	N	E
A	$X_{AN1}, X_{AN2}, X_{AN3}$	$X_{AE1}, X_{AE2}, X_{AE3}$
B	$X_{BN1}, X_{BN2}, X_{BN3}$	$X_{BE1}, X_{BE2}, X_{BE3}$
C	$X_{CN1}, X_{CN2}, X_{CN3}$	$X_{CE1}, X_{CE2}, X_{CE3}$
D	$X_{DN1}, X_{DN2}, X_{DN3}$	$X_{DE1}, X_{DE2}, X_{DE3}$

A, B, C, D: horizontes de suelo

N: columna no estéril

E: columna estéril

X: concentración de contaminantes

1, 2, 3: réplicas

Las condiciones de riego se señalan en la Tabla 3.3. En cada irrigación se utilizó una lámina y un intervalo de riego equivalentes a las empleadas para la alfalfa y el maíz, los cuales se determinaron a partir de los datos de CONAGUA *et al.*, 1998.

La solución de alimentación consistió en agua destilada adicionada de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), además de los cinco contaminantes en estudio. Cabe destacar que la adición de cloruro de amonio y fosfato monobásico de potasio, simuló el contenido de nitrógeno y fosfatos en el agua residual que se envía al Valle de Tula, de acuerdo con lo reportado con Jiménez *et al.*, 2005.

**Tabla 3.3 Condiciones de riego para las columnas empacadas**

Condiciones		
Número de riegos	6	
Intervalo entre riegos	21 días	
Lámina de riego	13.6 cm	
Composición del agua de riego	Nitrógeno	29 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
	Fosfatos	39 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
	4-Nonilfenol	36350 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
	Triclosán	3300 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
	Diclofenaco	2700 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
	Ibuprofeno	6550 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
	Naproxeno	25400 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$

Previo al primer riego, las columnas de suelo fueron saturadas con un volumen de agua destilada equivalente a la lámina de riego (275 mL). La alimentación de las columnas se llevó a cabo manualmente mediante pipetas Pasteur. Los lixiviados se recolectaron en vasos de precipitados de vidrio y posteriormente se determinaron las concentraciones de los contaminantes emergentes. Los riegos se llevaron a cabo a una temperatura aproximada de 21°C. En total se analizaron 72 muestras de lixiviados.

El análisis estadístico para evaluar el efecto entre los horizontes de suelo y las columnas estériles y no estériles, se realizó mediante un análisis de varianza. Las medias fueron comparadas por medio de la prueba de Tukey y se definió un nivel estadístico de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05. El programa utilizado fue SAS JMP 7.0.

### **3.2.3 Cuantificación de contaminantes emergentes en lixiviados**

Para determinar la concentración de los contaminantes de interés en las muestras de lixiviado se utilizó la técnica de elución selectiva y análisis por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas descrito por Gibson *et al.*, 2007. Es importante mencionar que las modificaciones hechas para la cuantificación de contaminantes emergentes en suelos fueron las mismas que se emplearon para la determinación de contaminantes en los lixiviados (Anexo A).

### **3.3 Análisis final de suelo**

Al término de la operación de las columnas, éstas se desarmaron bajo condiciones asépticas. El suelo de cada columna se mezcló de forma homogénea y se dividió en dos porciones para ser utilizado en tres diferentes análisis. La porción destinada para el conteo de bacterias aerobias y *Pseudomonas aeruginosa* se colocó en viales estériles de 15 mL y las muestras para la determinación de biomasa microbiana se depositaron en bolsas de plástico cerradas herméticamente. Las muestras para el conteo de bacterias se almacenaron a 4°C, y las destinadas a la determinación de biomasa se almacenaron a -18°C. Las determinaciones se realizaron según lo descrito en las secciones 3.1.4 a 3.1.7.

## 4 Resultados y discusión

### 4.1 Caracterización fisicoquímica del suelo

Las Tablas 4.1 y 4.2 muestran los resultados obtenidos de tres réplicas, durante la caracterización fisicoquímica de cada perfil recolectado.

**Tabla 4.1 Caracterización fisicoquímica del Perfil 1**

Horizonte (cm)	% Arena	% Arcilla	% Limo	% Materia orgánica	% C orgánico	pH	Densidad aparente (g·cm <sup>-3</sup> )
H1 (0-10)	49±2	32±1	19±1	7.3±0.4	4.3±0.3	7.3	0.94
H2 (10-20)	52±1	31	17±1	6.2±0.2	3.6±0.1	7.5	0.99
H3 (20-32)	54±1	28±1	18	4.3±0.4	2.5±0.2	7.8	0.96
H4 (32-45)	55	32±2	13±1	4.1±0.1	2.4	7.7	1.18

**Tabla 4.2 Caracterización fisicoquímica del Perfil 2**

Horizonte (cm)	% Arena	% Arcilla	% Limo	% Materia orgánica	% C orgánico	pH	Densidad aparente (g·cm <sup>-3</sup> )
H1 (0-40)	26±2	49±1	25±1	6.4±0.8	3.7±0.4	7.5	1.16
H2 (40-50)	34±1	46±2	20±3	2.7±0.7	1.6±0.4	7.6	1.09

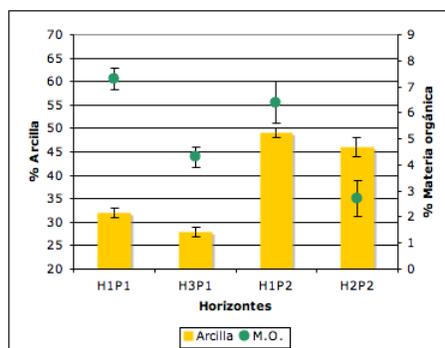
Puede observarse que la fracción predominante en el Perfil 1 es la de arena, con valores que varían del 49 al 55%, mientras que la fracción de arcilla oscila entre el 28 y el 32%, por lo que su textura corresponde a la clase franco arcillo arenosa. Por su parte, los horizontes del Perfil 2 presentan una textura arcillosa, debido a que la fracción predominante es de arcilla, con proporciones de 46 y 49%. Estos valores son similares a los porcentajes de distribución de arena (40-70%) y arcilla (20-40%) reportados por Palacio-Prieto y Siebe-Grabach, 1994, en la zona de estudio.

En cuanto a la materia orgánica, se observa que su contenido disminuye a lo largo de cada perfil. Los porcentajes de materia orgánica de los horizontes H1P1 (7.3%), H2P2

(6.2%) y H1P2 (6.4%) se clasifican como medios. Los porcentajes de los horizontes H3P1 (4.3%) y H4P1 (4.1%), se catalogan como bajos. Finalmente, el contenido de materia orgánica en el horizonte H2P2 (2.7%) es muy bajo, de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000. Por su parte, los valores de carbono orgánico obtenidos en este estudio variaron de 1.6 a 4.3%, los cuales se asemejan a los reportados por Siemens *et al.*, 2008, para suelo Feozem (1.1-3.2%). En general, el contenido de materia orgánica en los primeros horizontes podría relacionarse con los aportes de materia orgánica presente en el agua residual y con los residuos vegetales de los cultivos.

En la caracterización se advierte también que, de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000, los horizontes de ambos perfiles se clasifican como medianamente alcalinos, ya que los valores de pH medidos fueron de 7.5 a 7.8; con excepción del horizonte H1P1, el cual se clasifica como neutro, debido a que presenta un pH de 7.3. Dichos valores de pH concuerdan con lo reportado por Palacio-Prieto y Siebe-Grabach, 1994, quienes determinaron que los valores de pH son moderadamente alcalinos a todo lo largo del Distrito de Riego 03.

A partir de los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica se observan diferencias marcadas en el contenido de arcilla y de materia orgánica de algunos horizontes, los cuales se seleccionaron para ser utilizados en el empaque de las columnas (Figura 4.1).



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1      H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1  
 H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2      H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.1 Porcentaje de arcilla y materia orgánica en los horizontes seleccionados**

## 4.2 Cuantificación de contaminantes emergentes en el suelo

La Tabla 4.3 muestra las concentraciones de los contaminantes emergentes estudiados en los horizontes seleccionados y su comparación con los datos reportados en la literatura para suelo Feozem del Valle de Tula irrigado con agua residual. En ella, se aprecia una mayor concentración de fenoles en el suelo que de ácidos farmacéuticos. A su vez, se encontró que el 4-nonilfenol presentó una concentración más alta que el triclosán. En cuanto a los ácidos farmacéuticos, la concentración más elevada se observó para el ibuprofeno, seguida del naproxeno, mientras que el diclofenaco se encontró por debajo del límite de detección en todos los casos.

**Tabla 4.3 Concentración de contaminantes emergentes en suelo ( $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ )**

Horizonte	4-Nonilfenol	Triclosán	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno
Feozem*	41±6	4.4±0.1	<LDM	0.25±0.04	0.55±0.01
H1P1	174±46	12±6	<LDM	0.16±0.03	1.8±1.2
H3P1	82±21	<LDM	<LDM	3.2±0.1	1.6±0.8
H1P2	62±26	<LDM	<LDM	2.1±0.2	1.6±0.9
H2P2	44±13	<LDM	<LDM	2.0±0.2	2.0±0.9

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

LDM: límite de detección del método

\*Durán-Álvarez *et al.*, 2009

Por otra parte, la concentración de 4-nonilfenol en el horizonte H2P2 se asemeja a la reportada en la literatura para el mismo sitio. Se observa que la concentración de este contaminante en el horizonte H1P1 ( $174 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) es superior a la del horizonte H3P1 ( $82 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Igualmente, la concentración del horizonte H1P2 ( $62 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) es mayor a la del horizonte H2P2 ( $44 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Este comportamiento podría explicarse debido al carácter lipofílico del nonilfenol (Ahel y Giger, 1993), el cual permitiría la asociación de este contaminante con los horizontes superiores, aquellos con mayor contenido de materia orgánica. Sin embargo, el análisis estadístico (Anexo B) indica que las concentraciones en los horizontes H3P1, H1P2 y H2P2 son semejantes, mientras que sólo la concentración

en el horizonte H1P1 es estadísticamente mayor a un nivel de significancia de 0.05. El hecho de que las concentraciones del 4-nonilfenol en estos horizontes sean estadísticamente iguales, aunque su contenido de materia orgánica sea diferente, podría deberse a que la sorción de este compuesto es afectada por el pH y posiblemente por el tipo de materia orgánica presente en los horizontes del suelo (Krahe *et al.*, 2006).

En el caso del triclosán, se observa que la concentración en el horizonte H1P1 fue de  $12 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , mientras que en el horizonte H3P1 se encontró por debajo del límite de detección del método ( $1.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ). El valor alto del coeficiente de partición octanol-agua (Ying *et al.*, 2007) podría explicar este fenómeno, mediante la asociación del contaminante con la materia orgánica del horizonte superior. Con respecto a los horizontes del Perfil 2, la concentración del triclosán se encontró por debajo del límite de detección, lo cual posiblemente se deba a su degradación biológica o fotolítica, ya que éstos, son los principales procesos de remoción del triclosán (Hay *et al.*, 2001; Federle *et al.*, 2002; Singer *et al.*, 2002; Latch *et al.*, 2003; Morrall *et al.*, 2004; Ying *et al.*, 2007; Stasinakis *et al.*, 2007 y 2008).

En cuanto al diclofenaco, en todos los horizontes se encontró una concentración por debajo del límite de detección ( $1.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Posiblemente debido a la baja tendencia a la adsorción en los suelos del Valle de Tula que presenta este ácido, ya que a valores de pH neutro, o mayores, se encuentra ionizado (Urase y Kikuta, 2005; Siemens *et al.*, 2008). Asimismo, podría atribuirse a su fototransformación, ya que de acuerdo con Tixier *et al.*, 2003, ésta es la principal vía de eliminación del diclofenaco.

La concentración del ibuprofeno fue de  $3.2 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  en el horizonte H3P1, mientras que en el horizonte H1P1 se encontró a una concentración de  $0.16 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . La diferencia de concentración entre estos horizontes podría deberse a la existencia de una mayor oxigenación en el horizonte superior, lo cual incrementaría la degradación, ya que se ha reportado que bajo condiciones aerobias ocurre una mayor transformación del ibuprofeno (Rauch-Williams *et al.*, 2010). En relación con el Perfil 2, no se encontraron diferencias entre las concentraciones de los horizontes H1P2 ( $2.1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y H2P2 ( $2.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ), lo cual

podría indicar migración del fármaco debido a su poca sorción al suelo, causada por la ionización de ibuprofeno en condiciones neutras o ligeramente alcalinas de pH (Urase y Kikuta, 2005; Siemens *et al.*, 2008; Rauch-Williams *et al.*, 2010).

En el caso del naproxeno, no se encontraron diferencias a un nivel de significancia de 0.05, entre las concentraciones de cada horizonte (Anexo B) a pesar del contraste en el contenido de materia orgánica, lo cual, al igual que para el ibuprofeno, podría indicar movilidad de este fármaco a través de los perfiles debido a su carácter aniónico a valores de pH cercanos a la neutralidad.

### **4.3 Cuantificación de contaminantes emergentes en lixiviados**

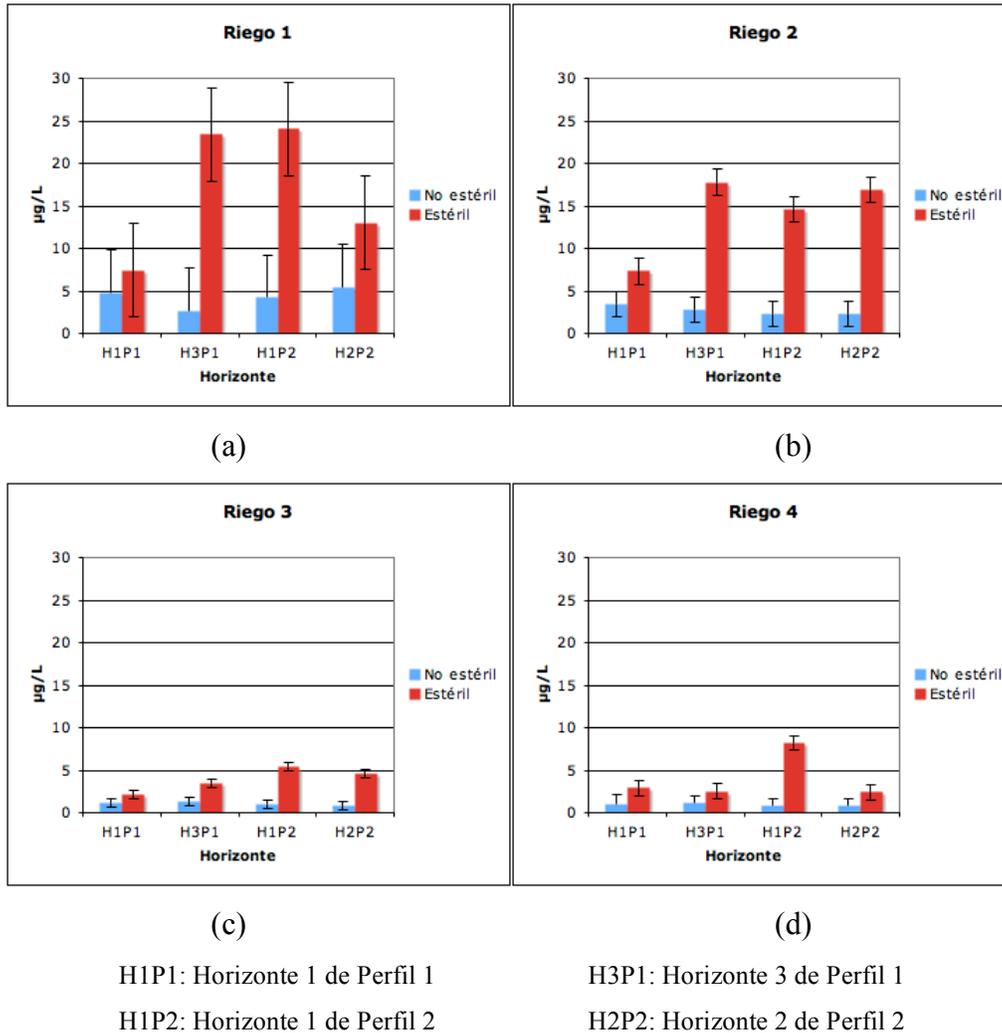
La cuantificación de contaminantes emergentes en los lixiviados se llevó a cabo con dos objetivos. El primero fue conocer la remoción de los compuestos añadidos durante su paso a través de los horizontes estériles y no estériles. El segundo fue determinar si existía diferencia estadística, a un nivel de significancia de 0.05, entre los diferentes tratamientos, es decir, si los horizontes y/o la esterilidad, o no, de las columnas tenían algún efecto en las concentraciones obtenidas. A continuación se muestran las remociones y los resultados obtenidos del análisis estadístico (Anexo C) para cada compuesto.

#### **4.3.1 4-Nonilfenol**

El análisis estadístico de los primeros cuatro riegos señala que la lixiviación del 4-nonilfenol depende de la interacción entre los horizontes del suelo y el tipo de columna, mientras que en los Riegos 5 y 6, la lixiviación del contaminante sólo depende de las columnas, siendo menor en aquellas no estériles (Anexo C).

En general, las columnas no estériles lixiviaron una menor cantidad de 4-nonilfenol, lo cual podría indicar la existencia del mecanismo de biodegradación. Sin embargo, en los Riegos 1, 3 y 4 se aprecia que el horizonte estéril H1P1 lixivió una cantidad semejante a

su homólogo no estéril (Figura 4.2), lo cual podría deberse a que este horizonte posee el porcentaje más alto de materia orgánica y por lo tanto permitiría una mayor sorción de 4-nonilfenol a la fase sólida del suelo (Ying *et al.*, 2003; Jacobsen *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2006).



**Figura 4.2** Concentración de 4-nonilfenol en (a) Riego 1, (b) Riego 2, (c) Riego 3 y (d) Riego 4

Por otra parte, en las columnas no estériles se observa que las características fisicoquímicas de los suelos no afectan la concentración de 4-nonilfenol en los lixiviados, lo cual podría indicar que a pesar de las diferencias en los suelos, en ellos se han desarrollado microorganismos capaces de degradar 4-nonilfenol.

Por último, la Tabla 4.4 muestra los porcentajes de remoción de 4-nonilfenol en las columnas estériles y no estériles. Los resultados de las columnas no estériles demuestran que la lixiviación del 4-nonilfenol es relativamente baja (1-15%) en comparación con la cantidad aplicada. Lo anterior concuerda con los estudios de Jacobsen *et al.*, 2004, quienes investigaron la degradación y movilidad del nonilfenol mediante la irrigación de columnas de suelo a las cuales se les adicionó en la parte superior lodo digerido que contenía al contaminante. Como resultado, no detectaron nonilfenol en los lixiviados, lo cual atribuyeron a la degradación y fuerte sorción del nonilfenol al suelo y al lodo. Por su parte, Roberts *et al.*, 2006, estudiaron la lixiviación del 4-nonilfenol en suelo mediante la adición de agua destilada a columnas de suelo contaminado con nonilfenol. Los resultados mostraron que las cantidades lixiviadas correspondían a valores menores al 5% del nonilfenol adicionado.

**Tabla 4.4 Porcentajes de remoción del 4-nonilfenol en columnas estériles y no estériles**

Horizonte	% Remoción	
	Columna estéril	Columna no estéril
H1P1	79-98	87-99
H3P1	36-97	92-98
H1P2	34-95	88-98
H2P2	53-95	85-99

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

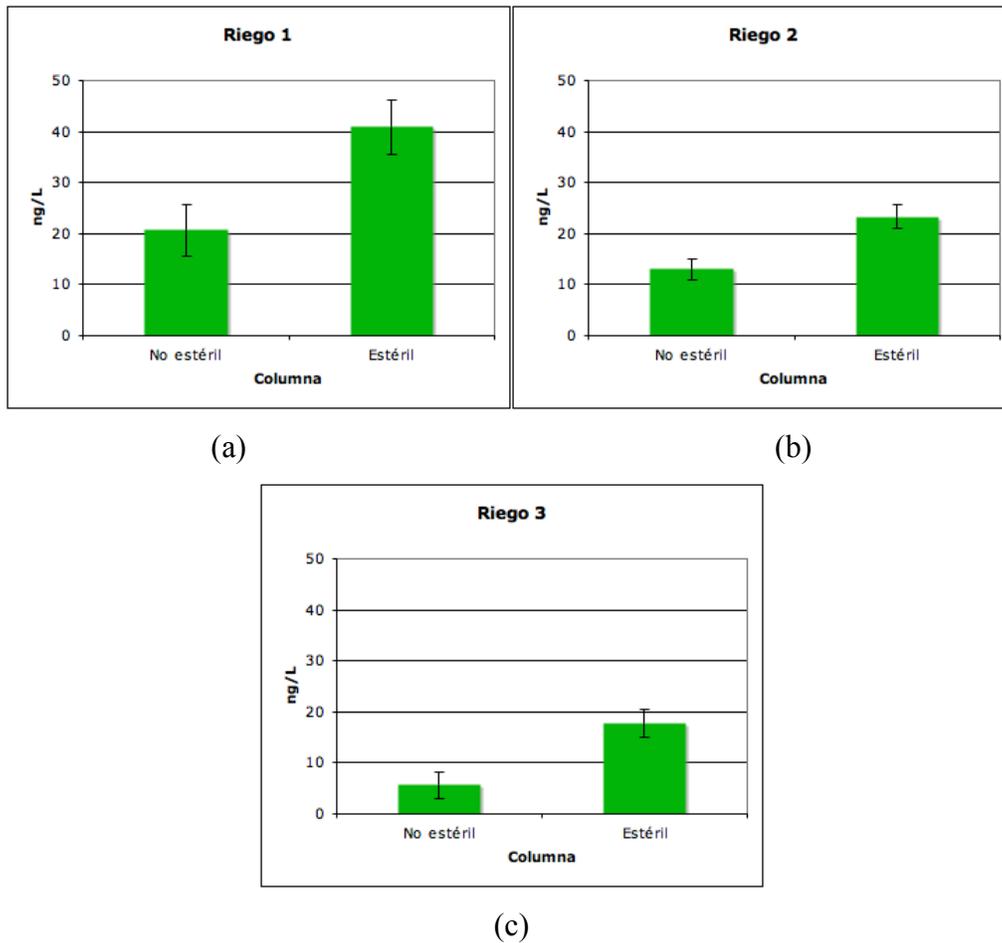
H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

### 4.3.2 Triclosán

El análisis estadístico de los Riegos 1, 2 y 3 señala que la lixiviación del triclosán depende sólo del tipo de columna (Anexo C). En la Figura 4.3 se aprecia que las concentraciones de los lixiviados de las columnas estériles fueron estadísticamente mayores a las de las columnas no estériles, lo cual podría indicar que la remoción del triclosán en estas últimas se habría favorecido por el mecanismo de biodegradación.



**Figura 4.3** Concentración de triclosán en (a) Riego 1, (b) Riego 2 y (c) Riego 3

Por su parte, el análisis estadístico de los Riegos 4, 5 y 6 señala que no existen efectos por el tipo de columna, ni por los horizontes, es decir, las concentraciones en los lixiviados fueron iguales.

Ahora bien, en la Tabla 4.5 se observa que durante los seis riegos realizados el porcentaje de remoción en las columnas no estériles fue igual o superior al 99%, mientras que en las columnas estériles varió de 95.8 a 99.9%. La alta remoción de triclosán en ambos tipos de columnas podría atribuirse a su alto coeficiente de adsorción en suelo (Ying *et al.*, 2007).

**Tabla 4.5 Porcentajes de remoción del triclosán en columnas estériles y no estériles**

Horizonte	% Remoción	
	Columna estéril	Columna no estéril
H1P1	98.7-99.9	99.3-99.9
H3P1	96.4-99.6	99.5-99.8
H1P2	97.6-99.4	99.0-99.9
H2P2	98.9-99.4	99.1-99.9

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

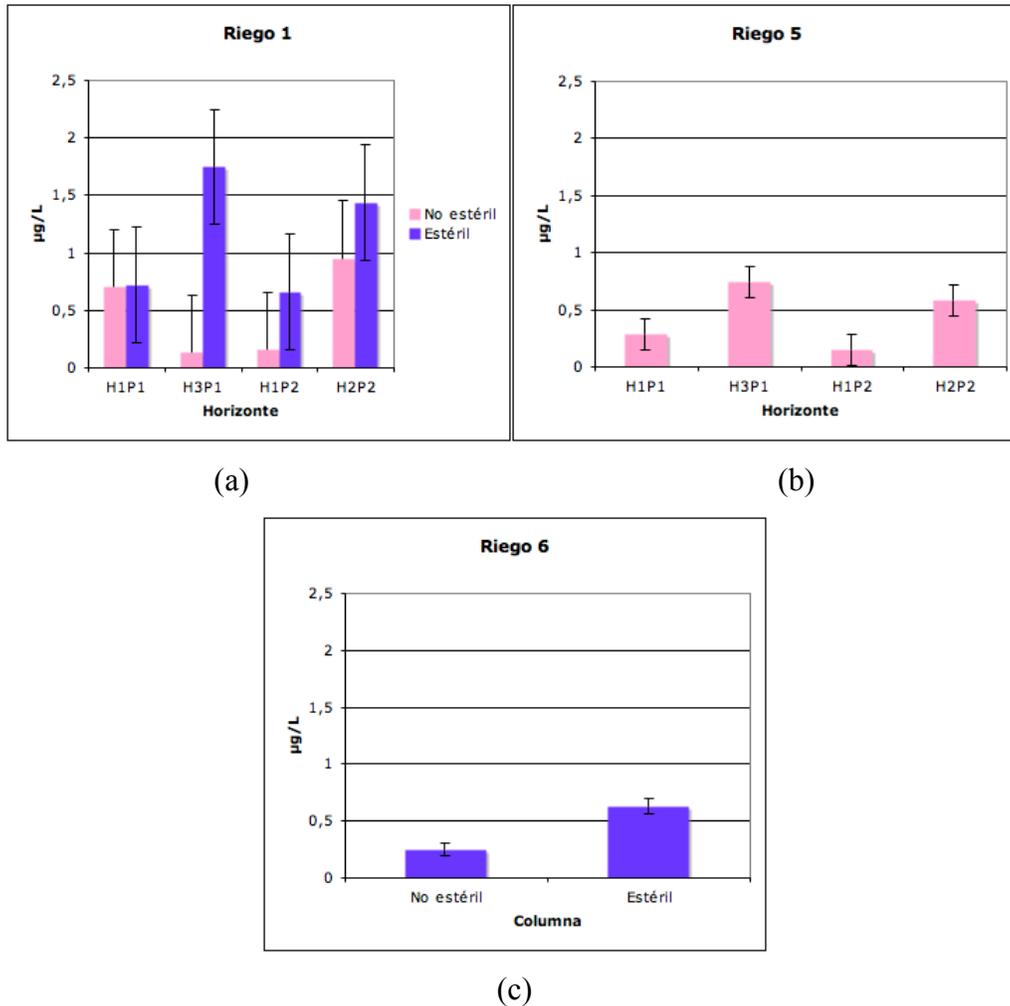
Las remociones del triclosán en ambos tipos de columnas son semejantes a algunas reportadas en tratamientos de aguas residuales. Federle *et al.*, 2002, determinaron que la remoción de este contaminante en lodos activados fue superior al 98.5%. Por su parte, Singer *et al.*, 2002, realizaron mediciones de campo en plantas de tratamiento de aguas residuales y determinaron una remoción de 94%. Asimismo, Stasinakis *et al.*, 2007, utilizaron sistemas de lodos activados de flujo continuo y determinaron una remoción superior al 90%. En estos estudios, las concentraciones iniciales variaron de nanogramos a miligramos.

### 4.3.3 Diclofenaco

El análisis estadístico para el diclofenaco sólo se llevó a cabo para los Riegos 1, 5 y 6, debido a que contaban con el mayor número de datos. En el primer riego se observa que la lixiviación del contaminante depende de la interacción entre los horizontes y el tipo de columna, mientras que en el Riego 5 se observa que sólo es influenciado por el horizonte. Finalmente, en el Riego 6, la lixiviación de este compuesto sólo es afectado por la esterilidad o no de las columnas (Anexo C).

En el Riego 1, el tipo de columna sólo afectó la concentración de los lixiviados procedentes del horizonte H3P1, ya que en los otros horizontes las concentraciones fueron similares [Figura 4.4 (a)]. El hecho de que los lixiviados del horizonte no estéril presentaran una concentración menor a la de su homólogo estéril, podría ser debido a que

el horizonte H3P1 posee un contenido bajo de materia orgánica y medio de arcilla, lo cual promovería la biodisponibilidad en la columna no estéril, pero a su vez permitiría una mayor lixiviación en la columna estéril. También es importante mencionar que las concentraciones de los lixiviados de columnas no estériles fueron similares para los diferentes horizontes, es decir, presentaron la misma capacidad de remoción.



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.4 Concentración de diclofenaco en (a) Riego 1, (b) Riego 5 y (c) Riego 6**

En el Riego 5, las concentraciones de los lixiviados de los horizontes H1P1 y H1P2 fueron estadísticamente menores a las de los lixiviados del horizonte H3P1 [Figura 4.4 (b)]. Ello podría deberse a que el horizonte H3P1 posee un pH mayor, lo cual causaría

que el diclofenaco se encontrará más ionizado, por lo que tendría una menor asociación con los componentes del suelo cargados negativamente. Además, los horizontes H1P1 y H1P2 poseen los porcentajes más altos de materia orgánica, lo cual posiblemente favorecería la remoción de diclofenaco, ya que el contaminante podría asociarse al suelo gracias a la formación de puentes con cationes de calcio y magnesio que se encuentran en suelos alcalinos (Lützow *et al.*, 2006).

En cuanto al Riego 6, las concentraciones en los lixiviados de columnas no estériles fueron estadísticamente menores a las de lixiviados de columnas estériles, lo cual podría atribuirse a la biodegradación del diclofenaco [Figura 4.4 (c)].

En resumen, es difícil asegurar que en las columnas no estériles se promueva la remoción del diclofenaco, pues sólo en dos riegos se apreció un efecto positivo. Ello posiblemente se deba a la baja biodegradabilidad del contaminante que reportan algunos autores (Zwiener y Frimmel, 2003; Yu *et al.*, 2006). Igualmente, es difícil asegurar que la concentración de diclofenaco es afectada por los diferentes horizontes, ya que sólo en un riego, los horizontes H1P1 y H1P2 lixiviaron una menor cantidad de diclofenaco que el horizonte H3P1.

Finalmente, cabe destacar que los porcentajes de remoción (Tabla 4.6) fueron superiores a los reportados por Hua *et al.*, 2003, quienes estudiaron la eliminación del diclofenaco en agua residual mediante su infiltración en columnas de suelo arenoso y determinaron una eficiencia de remoción del 64.5 al 71%. Asimismo, Scheytt *et al.*, 2006, estudiaron la movilidad del diclofenaco en columnas de arena y determinaron una eliminación del 35%. El hecho de que la remoción haya sido superior en este estudio podría atribuirse a que el suelo utilizado contenía porcentajes considerables de arcilla y materia orgánica, lo cual permitiría una menor lixiviación del contaminante.

**Tabla 4.6 Porcentajes de remoción del diclofenaco en columnas estériles y no estériles**

Horizonte	% Remoción	
	Columna estéril	Columna no estéril
H1P1	73-89	74-91
H3P1	35-70	77-95
H1P2	76-94	94-97
H2P2	47-73	65-86

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

#### 4.3.4 Ibuprofeno

El análisis estadístico de los seis riegos señaló que el tipo de columna tiene efecto en la lixiviación del ibuprofeno (Anexo C). Las concentraciones de los lixiviados de las columnas no estériles fueron estadísticamente menores a las de los lixiviados de las columnas estériles, lo cual podría atribuirse a la degradación biológica de este compuesto. La Tabla 4.7 muestra los porcentajes de remoción del ibuprofeno en las columnas estériles y no estériles.

**Tabla 4.7 Porcentajes de remoción del ibuprofeno en columnas estériles y no estériles**

Horizonte	% Remoción	
	Columna estéril	Columna no estéril
H1P1	58.1-74.0	77.3-93.3
H3P1	48.7-65.7	73.5-85.8
H1P2	51.4-86.0	94.9-99.8
H2P2	60.0-72.2	72.3-92.6

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

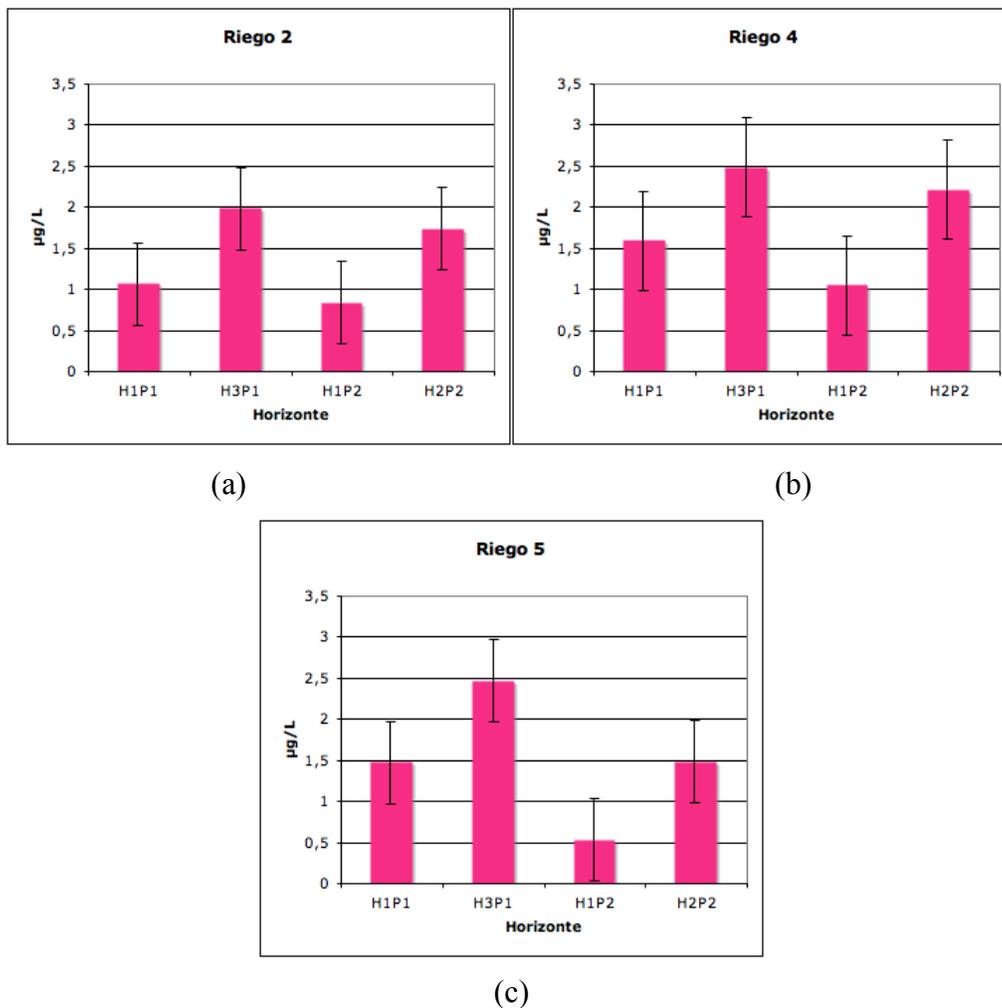
H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

Respecto de la influencia de los horizontes en la concentración, ésta se apreció en los Riegos 2, 4 y 5, donde las concentraciones de los lixiviados procedentes del horizonte

H1P2 fueron estadísticamente menores a las de los lixiviados del horizonte H3P1 (Figura 4.5). Lo anterior podría atribuirse a que el horizonte H1P2 posee un alto porcentaje de materia orgánica y de arcilla, lo que permitiría una asociación superior del contaminante con el suelo. Además, el horizonte H3P1 posee el pH más alto, lo cual promovería una mayor ionización del compuesto y por lo tanto, un menor asociación del mismo con el suelo (Uruse y Kikuta, 2005; Siemens *et al.*, 2008; Rauch-Williams *et al.*, 2010).



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.5 Concentración de ibuprofeno en (a) Riego 2, (b) Riego 4 y (c) Riego 5**

Por último, vale la pena mencionar que la remoción de este compuesto en las columnas no estériles (73.5-99.8) fue similar a la reportada por Hua *et al.*, 2003, quienes estimaron

una remoción de ibuprofeno mayor a 96.3% durante la infiltración de agua residual en columnas de suelo arenoso. Asimismo, Oppel *et al.*, 2003, estudiaron la lixiviación del ibuprofeno en columnas empacadas con suelo y no detectaron al contaminante en los lixiviados, lo cual atribuyeron a la sorción y/o degradación microbológica del compuesto. Igualmente, Scheytt *et al.*, 2006, estudiaron la movilidad del ibuprofeno mediante el uso de columnas de arena y observaron una remoción de 54%. Finalmente, Rauch-Williams *et al.*, 2010, determinaron una remoción del ibuprofeno superior al 85%, durante la infiltración de agua residual en columnas biológicamente activas.

### 4.3.5 Naproxeno

El análisis estadístico determinó que la lixiviación del naproxeno depende del tipo de columna y/o de los diferentes horizontes. En los seis riegos realizados, las concentraciones de naproxeno en los lixiviados de las columnas no estériles fueron estadísticamente menores a las de los lixiviados de columnas estériles (Anexo C), es decir, existió una mayor remoción en las columnas biológicamente activas, lo cual podría atribuirse a la degradación biológica de este contaminante. La Tabla 4.8 muestra los porcentajes de remoción en ambos tipos de columnas.

**Tabla 4.8 Porcentajes de remoción del naproxeno en columnas estériles y no estériles**

Horizonte	% Remoción	
	Columna estéril	Columna no estéril
H1P1	36-68	56-84
H3P1	48-72	81-89
H1P2	53-85	78-97
H2P2	44-59	63-84

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

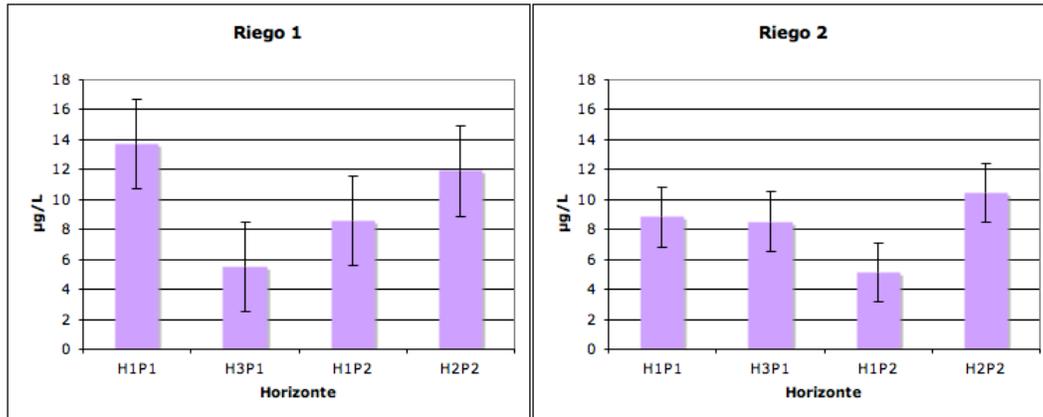
H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

Por su parte, los horizontes tuvieron efecto en las concentraciones de los lixiviados durante los Riegos 1, 2, 4 y 5. En el Riego 1, las concentraciones de los lixiviados del

horizonte H3P1 fueron estadísticamente menores a las de los lixiviados del horizonte H1P1 [Figura 4.6 (a)], lo cual resulta inexplicable, ya que por las características del horizonte H1P1 (pH más bajo y mayor contenido de materia orgánica) se habría esperado una mayor remoción del contaminante por este horizonte.



(a)

(b)

(c)

(d)

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.6 Concentración de naproxeno en (a) Riego 1, (b) Riego 2, (c) Riego 4 y (d) Riego 5**

En cuanto a los riegos posteriores, el horizonte H1P2 lixivió una cantidad estadísticamente menor de naproxeno que al menos uno de los demás horizontes [Figura 4.6 (b), (c) y (d)]. Este comportamiento podría atribuirse a su alto contenido de carbono

orgánico y de arcilla lo cual probablemente incrementaría la sorción del naproxeno al suelo (Monteiro y Boxall, 2009).

Finalmente, cabe mencionar que las remociones de las columnas no estériles (56-97%) fueron semejantes a las reportadas en la literatura. Hua *et al.*, 2003, evaluaron la eliminación del naproxeno en agua residual mediante su infiltración en columnas de arena y determinaron que la eliminación de este compuesto varió de 75.9% a una eliminación completa. Por su parte, Rauch-Williams *et al.*, 2010, estudiaron la remoción del naproxeno durante su infiltración en columnas biológicamente activas, y determinaron que la remoción del compuesto fue superior al 90%.

### **4.3.6 Efecto de los horizontes en la lixiviación de contaminantes emergentes**

A pesar de las diferencias fisicoquímicas, los horizontes no estériles lixiviaron una cantidad similar de 4-nonilfenol. Situación semejante ocurrió para el triclosán, ya que la concentración en los lixiviados no fue afectada por los diferentes horizontes. Sin embargo, para los fármacos se apreció que el horizonte H1P2 permitió una menor lixiviación, mientras que en el horizonte H3P1 lixivió una mayor cantidad de los medicamentos estudiados.

Por lo anterior, podría concluirse que el horizonte H1P2 presentó la mayor protección contra la lixiviación de los contaminantes, mientras que el horizonte H3P1, resultó ser el más vulnerable. Lo anterior podría atribuirse al contenido de materia orgánica y de arcilla, y a los valores de pH. El horizonte H1P2 posee uno de los porcentajes más altos de materia orgánica y de arcilla, lo cual permitiría una menor lixiviación de los contaminantes emergentes. Por su parte, el horizonte H3P1, además de poseer un porcentaje bajo de materia orgánica, cuenta con el pH más alcalino, lo cual provocaría una mayor ionización de los fármacos ácidos, y por lo tanto una menor retención de los mismos.

### 4.3.7 Comparación de las remociones de los contaminantes emergentes

En las columnas no estériles, el triclosán fue el contaminante mayormente removido, lo cual podría atribuirse a su asociación con el suelo, ya que este compuesto posee altos coeficientes de partición octanol-agua y de adsorción al suelo (Ying *et al.*, 2007). Posteriormente, la mayor remoción se produjo para el ibuprofeno, seguido del 4-nonilfenol y el naproxeno, mientras que el diclofenaco presentó la menor remoción (Tabla 4.9).

**Tabla 4.9 Características y porcentajes de remoción de los compuestos estudiados**

Compuesto	Características		% Remoción
4-Nonilfenol	Solubilidad en agua <sup>a</sup>	4.9 mg·L <sup>-1</sup>	85.1-98.8
	Log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>	4.48	
Triclosán	Solubilidad en agua <sup>c</sup>	4.6 mg·L <sup>-1</sup>	99.0-99.9
	Log K <sub>ow</sub> <sup>c</sup>	4.7	
Diclofenaco	Solubilidad en agua <sup>d</sup>	2.37 mg·L <sup>-1</sup>	64.8-96.6
	pK <sub>a</sub> <sup>d</sup>	4.15	
Ibuprofeno	Solubilidad en agua <sup>d</sup>	21 mg·L <sup>-1</sup>	72.3-99.8
	pK <sub>a</sub> <sup>d</sup>	3.97	
Naproxeno	Solubilidad en agua <sup>d</sup>	15.9 mg·L <sup>-1</sup>	55.8-97.0
	pK <sub>a</sub> <sup>d</sup>	4.15	

<sup>a</sup> Brix *et al.*, 2001.

<sup>b</sup> Ahel y Giger, 1993.

<sup>c</sup> Ying *et al.*, 2007.

<sup>d</sup> SRC, 2010

El hecho de que en las columnas no estériles, el ibuprofeno presentara una mayor remoción que el 4-nonilfenol podría atribuirse a la presencia de este último en los disolventes y los cartuchos con los que se realizó el análisis (Durán- Álvarez *et al.*, 2009), además de la alta biodegradabilidad del ibuprofeno (Buser *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2006). Asimismo, la mayor remoción del ibuprofeno con respecto al naproxeno y al diclofenaco podría deberse a una mayor biodisponibilidad del primero, ya que posee una mayor solubilidad. Por su parte, la mayor remoción del 4-nonilfenol con respecto al naproxeno y al diclofenaco podría ser consecuencia de la alta asociación del compuesto fenólico con el suelo (Ying *et al.*, 2003; Jacobsen *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2006).

Por lo anterior, se observa que los contaminantes estudiados fueron altamente removidos por el suelo. Además, se en general se aprecia que los compuestos fenólicos tuvieron una mayor remoción que los fármacos ácidos, atribuible al carácter aniónico de estos últimos en suelos alcalinos, que impediría su sorción a los minerales de arcilla y a la fracción de materia orgánica cargados negativamente (Siemens *et al.*, 2008).

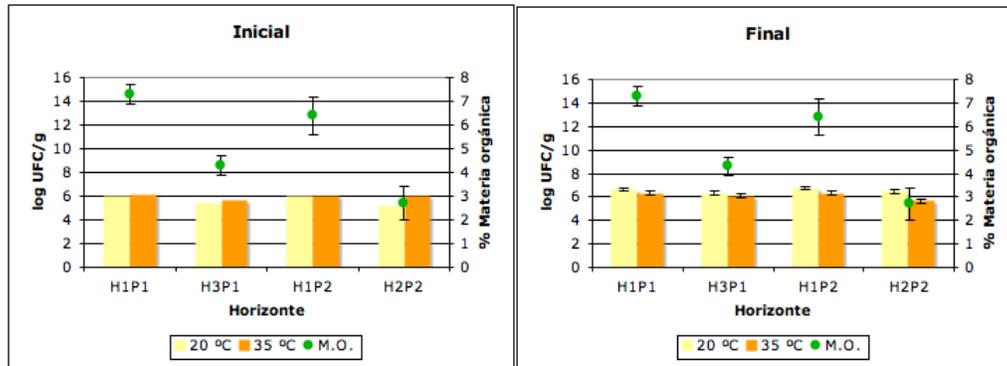
#### 4.4 Conteo de bacterias aerobias

El conteo inicial de bacterias aerobias a 20°C osciló entre  $1.5 \times 10^5$  y  $9.3 \times 10^5$  UFC·g<sup>-1</sup>. El valor más bajo correspondió al horizonte H2P2, mientras que el más alto fue para el H1P1. Lo anterior podría atribuirse a que el horizonte H1P1 posee el porcentaje más alto de materia orgánica, mientras que el horizonte H2P2 posee el más bajo, ya que la materia orgánica incrementa la habilidad del suelo para retener nutrimentos y agua, además mejora la capacidad tampón del suelo y es una fuente de energía para los microorganismos (Espinosa, 1996). Por su parte, el conteo de bacterias aerobias a 35°C varió de  $5 \times 10^5$  a  $1.5 \times 10^6$  UFC·g<sup>-1</sup>. Nuevamente, el mayor conteo se registró para el H1P1, mientras que el más bajo esta vez se presentó en el horizonte H3P1, el cual posee un porcentaje bajo de materia orgánica.

Ahora bien, el conteo final de bacterias aerobias osciló entre  $2.7 \times 10^6$  y  $8.1 \times 10^6$  UFC·g<sup>-1</sup> a 20°C, mientras que a 35°C varió de  $5.1 \times 10^5$  y  $2.1 \times 10^6$  UFC·g<sup>-1</sup>. En general, se observa que la densidad bacteriana aumentó en los horizontes, lo cual podría atribuirse al uso de los contaminantes como sustrato por los microorganismos.

A 20°C se observa que el conteo final de bacterias fue estadísticamente mayor que a 35°C, lo cual podría atribuirse a que el riego de columnas se llevó a cabo a aproximadamente a 21°C. Sin embargo, sólo se observaron diferencias estadísticas entre los horizontes H1P2 y H2P2 (Anexo D), los cuales tienen porcentajes similares de arcilla, pero difieren en su contenido de materia orgánica.

La Figura 4.7 muestra los conteos de bacterias aerobias a 20 y 35°C y el contenido de materia orgánica en cada suelo.



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

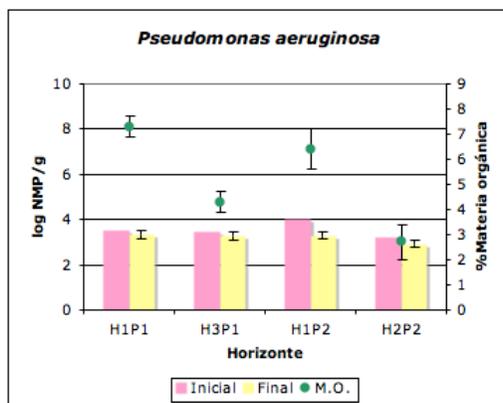
H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.7** Conteo de bacterias aerobias y porcentaje de materia orgánica

#### 4.5 Conteo de *Pseudomonas aeruginosa*

El conteo inicial de *Pseudomonas aeruginosa* osciló entre  $1.7 \times 10^3$  y  $1.1 \times 10^4$  NMP·g<sup>-1</sup>. El horizonte H1P2 tuvo el mayor conteo, mientras que el horizonte H2P2 tuvo el menor (Figura 4.8). En cuanto al conteo final, se observa que existe un decremento en todos los horizontes, ya que los valores oscilaron entre  $9.2 \times 10^2$  y  $2.9 \times 10^3$  NMP·g<sup>-1</sup>, los cuales además resultaron estadísticamente iguales (Anexo E). La disminución en el conteo podría indicar que *Pseudomonas aeruginosa* no se encontraba en un medio propicio para desarrollarse.

Posterior al conteo de *Pseudomonas aeruginosa* se utilizó la prueba API 20 E para comprobar el género y la especie de las colonias aisladas. De la Tabla 4.10 se observa que además de *Pseudomonas aeruginosa*, se identificó *Acinetobacter calcoaceticus*.



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.8** Conteo de *Pseudomonas aeruginosa* y porcentaje de materia orgánica

**Tabla 4.10** Especies identificadas de acuerdo con el perfil numérico de API 20 E

Origen	Perfil numérico	Especie
Cepa control	2217004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
H1P1	2207006	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	0003000	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
H3P1	2207004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	0003000	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
H1P2	2207004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	0003000	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
H2P2	0003000	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

El género *Pseudomonas* ha demostrado ser capaz de degradar nonilfenol y en algunos casos hasta mineralizarlo (Soares *et al.*, 2003; Yuan *et al.*, 2004). Además, ha formado parte de consorcios microbianos capaces de degradar triclosán (Hay *et al.*, 2001) y se ha comprobado que *Pseudomonas aeruginosa* es altamente resistente a este antibacterial (Russell, 2004).

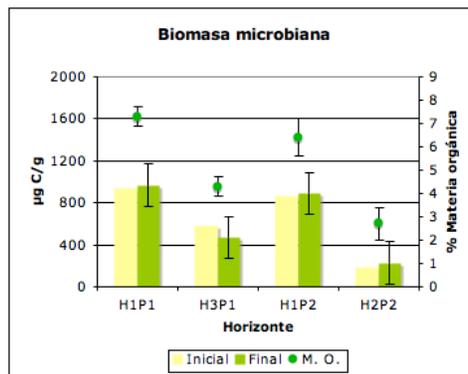
Por su parte, *Acinetobacter calcoaceticus* ha mostrado la habilidad de degradar fenol, monohidroxibenzoato, diesel, colorantes textiles industriales, fenantreno, pireno y

benzo(a)pireno (Adav y Lee, 2008; Prathibha y Sumathi, 2008; Singh y Lin, 2008; Ghodake *et al.*, 2009; Zhao y Wong, 2009), por lo que es probable que sea capaz de degradar alguno de los compuestos estudiados, o al menos tolerarlos.

#### 4.6 Determinación de biomasa microbiana

El carbono de la biomasa microbiana inicial varió de 181 a 944  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Al igual que para las bacterias aerobias, el valor más alto correspondió al horizonte H1P1, mientras que el más bajo perteneció al horizonte H2P2. En la Figura 4.9 se aprecia que entre más elevado es el contenido de materia orgánica, mayor es la concentración de biomasa microbiana, lo cual podría atribuirse a que en suelos donde la materia orgánica se acumula, existe una mayor disponibilidad de sustrato de carbono para los microorganismos (Friedel *et al.*, 2000).

Por su parte, los valores finales de carbono microbiano oscilaron entre 226 y 968  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , es decir, ocurrió un pequeño incremento en la mayoría de los suelos. Estadísticamente, los horizontes H1P1 y H1P2 tuvieron una mayor cantidad de biomasa microbiana que el horizonte H2P2 (Anexo F). Cabe mencionar que estos valores de carbono fueron similares a los reportados por Friedel *et al.*, 2000, para suelos del Distrito de Riego 03, pues sus valores fluctuaron entre 124 y 742  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .



H1P1: Horizonte 1 de Perfil 1

H3P1: Horizonte 3 de Perfil 1

H1P2: Horizonte 1 de Perfil 2

H2P2: Horizonte 2 de Perfil 2

**Figura 4.9** Biomasa microbiana y porcentajes de materia orgánica para cada suelo

## 5 Conclusiones y recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

Se observó que las diferencias fisicoquímicas de los horizontes no afectaron la remoción del 4-nonilfenol, ni del triclosán en las columnas no estériles. Sin embargo, el contenido de materia orgánica y de arcilla sí afectó la eliminación del ibuprofeno y naproxeno; mientras que estos factores tuvieron poca influencia en la remoción del diclofenaco. Un mayor contenido de materia orgánica y de arcilla permitió una menor lixiviación de los fármacos. Igualmente, se determinó que en el horizonte con mayor alcalinidad existía una mayor movilidad de estos medicamentos.

Se observó que los horizontes con mayor contenido de materia orgánica tenían un número superior de microorganismos, tal como indican el conteo de bacterias aerobias y la determinación de biomasa microbiana. Además en casi la totalidad de los horizontes se determinó un incremento en el conteo bacteriano final de 0.2 a 1.3 unidades logarítmicas, mientras que el carbono microbiano se incrementó entre 2.6 y 25%. Por su parte, el conteo final de *Pseudomonas aeruginosa* disminuyó con respecto al valor inicial de 0.2 a 0.7 unidades logarítmicas. Además, se logró comprobar el género y la especie de *Pseudomonas aeruginosa*, e identificar *Acinetobacter calcoaceticus*.

Por otra parte, se determinó que en los horizontes, los compuestos fenólicos presentaban mayor concentración que los fármacos ácidos. El 4-nonilfenol mostró la mayor cantidad, seguido del triclosán, el ibuprofeno y el naproxeno, mientras que el diclofenaco no se encontró presente.

Finalmente, se estableció estadísticamente que en las columnas no estériles se lixivió una menor cantidad de 4-nonilfenol, triclosán, ibuprofeno y naproxeno, que en las columnas estériles, lo cual podría indicar que parte de su remoción fue llevada a cabo por degradación biológica. Asimismo, el uso de columnas empacadas permitió establecer que

durante la infiltración de los contaminantes en el suelo, se llevó a cabo una eficiente remoción de los mismos. La mayor eliminación se presentó para los compuestos fenólicos, ya que el 4-nonilfenol y el triclosán alcanzaron eficiencias superiores al 98 y 99%, respectivamente. Entre los fármacos ácidos, el ibuprofeno presentó la remoción más alta (99.8%), seguido del naproxeno (97%) y el diclofenaco (96.6%).

## 5.2 Recomendaciones

Es recomendable estudiar si *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter calcoeticus* son capaces de degradar estos u otros contaminantes emergentes. Para ello, podrían llevarse a cabo experimentos en condiciones aerobias o anóxicas en donde se utilicen los contaminantes como única fuente de carbono o como cosustrato, y donde sean determinados los metabolitos formados. Por otra parte, se aconseja investigar las cinéticas de biodegradación de estos contaminantes y la cinética microbiana durante la degradación de los mismos en el suelo. Por igual, es recomendable utilizar otras clases de suelos presentes en el Valle de Tula, y de ser posible aislar otros microorganismos capaces de degradar compuestos orgánicos.

## Referencias

1. Adav S.S. y Lee D.-J. (2008). Single-culture aerobic granules with *Acinetobacter calcoaceticus*. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, **78**(3):551-557.
2. Ahel M. y Giger W. (1993). Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic solvents. *Chemosphere.*, 26:1471-8.
3. Ahel M., Scully F. E., Hoigné J., Giger W. (1994). Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural waters. *Chemosphere.*, 28:1361-1368.
4. Akber A., Al-Awadi E. y Rashid T. (2003). Assessment of the use of soil aquifer treatment (SAT) technology in improving the quality of tertiary treated wastewater in Kuwait. *Emirates Journal for Engineering Research.*, **8**(2):25-31.
5. Álvarez Bernal D., Contreras Ramos S. M. y Poggi Varaldo H. M. (2002). Sistemas de tratamiento de aguas residuales por aplicación al suelo. *Avance y Perspectiva* 21,333-340.
6. APHA, AWWA y WEF (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation. Washington D. C. USA. 20 Ed.
7. Barceló D. (2003). Emerging pollutants in water analysis. *Trends in Analytical Chemistry.*, **22**(10):xiv-xvi.
8. BioMérieux SA (2006) API 20 E Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. Francia.
9. Birkett, J. W. y Lester, J. N. (2003). *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. CRC Press LLC, Florida.
10. Brix R., Hvidt S. y Carlsen L. (2001). Solubility of nonylphenol and nonylphenolethoxylates: on the possible role of micelles. *Chemosphere.*, 44:759-763.
11. Brown S., Devin-Clarke D., Doubrava M. y O'Connor G. (2009). Fate of 4-nonylphenol in a biosolids amended soil. *Chemosphere.*, 75:549-554

12. Buser H-R., Poiger T. y Müller M. D. (1999). Occurrence and Environmental Behavior of the Chiral Pharmaceutical Drug Ibuprofen in Surface Waters and in Wastewater. *Environmental Science and Technology.*, **33**(15):2529 -2535.
13. Chang B. V., Chiang B. W. y Yuan S. Y. (2007). Biodegradation of nonylphenol in soil. *Chemosphere.*, **66**:1857-1862.
14. Chayabutra Ch. y Ju L.-K. (2000). Degradation of n-hexadecane and its metabolites by *Pseudomonas aeruginosa* under microaerobic and anaerobic denitrifying conditions. *Applied and Environmental Microbiology.*, **66**(2):493-498.
15. CONAGUA (2002). Determinación de la disponibilidad de agua en el acuífero Valle del Mezquital, estado de Hidalgo. Subdirección General Técnica, Gerencia de Aguas Subterráneas, Subgerencia de Evaluación y Modelación Hidrogeológica.
16. CONAGUA. (2008). Estadísticas del Agua en México 2008. SEMARNAT. México.
17. CONAGUA, BGS, LSHTM y UB. (1998). Effects of Wastewater Reuse on Groundwater in the Mezquital Valley, Hidalgo State, Mexico. Final Report. British Geological Survey Technical Report WC/98/42, Keyworth, Nottingham.
18. De Weert J., Viñas M., Grotenhuis T., Rijnaarts H. y Langenhoff A. (2010). Aerobic nonylphenol degradation and nitro-nonylphenol formation by microbial cultures from sediments. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, **86**:761-771.
19. Dictor M-C., Baran N., Gautier A. y Mouvet C. (2008). Acetochlor mineralization and fate of its two major metabolites in two soils under laboratory conditions. *Chemosphere.*, **71**:663-670.
20. Dietrich D. R. y Prietz A. (1999). Fish embryotoxicity and teratogenicity of pharmaceuticals, detergents and pesticides regularly detected in sewage treatment plant effluents and surface waters. *Toxicologist.*, **48**(1-S):151.
21. Durán-Álvarez J. C., Becerril-Bravo E., Silva Castro V., Jiménez B. y Gibson R. (2009). The analysis of a group of acidic pharmaceuticals, carbamazepine, and potential endocrine disrupting compounds in wastewater irrigated soils by gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta.*, **78**:1159–1166.

22. El-Sayed W. S, Ibrahim M. K., Abu-Shady M., El-Beih F., Ohmura N., Saiki H., Ando A. (2003). Isolation and characterization of phenol-catabolizing bacteria from a coking plant. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.*, **67**(9):2026-2029.
23. Espinosa J. (1996). Relación entre la fertilización mineral, la materia orgánica y los microorganismos del suelo. X Congreso Nacional Agronómico / II Congreso de Suelos. Quito, Ecuador.
24. Evans G. M. y Furlong J. C. (2003). *Environmental biotechnology. Theory and application.* John Wiley and Sons, LTD, England.
25. Farré M., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M. y Barceló D. (2001). Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography.*, A 938:187-197.
26. Federle T. W., Kaiser S. K. y Nuck B. A. (2002). Fate and effects of triclosan in activated sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 21:1330-1337.
27. Friedel J. K., Langer T., Siebe C. y Stahr K. (2000). Effects of long-term waste water irrigation on soil organic matter, soil microbial biomass and its activities in central Mexico. *Biology and Fertility of Soils.*, 31:414-421.
28. Fujii K., Urano N., Ushio H., Satomi M. y Kimura S. (2001). *Sphingomonas cloacae* sp. nov., a nonylphenol-degrading bacterium isolated from wastewater of a sewage-treatment plant in Tokyo. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.*, 51:603-610.
29. Fujii K., Yamamoto R., Tanaka T., Hirakawa T. y Kikuchi S. (2003). Potential of a new biotreatment: *Sphingomonas cloacae* S-3<sup>T</sup> degrades nonylphenol in industrial wastewater. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.*, 30:531-535.
30. Gibson R., Becerril-Bravo E., Silva-Castro V. y Jiménez B. (2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography.*, A:1169 31-39.

31. Ghodake G., Jadhav S., Dawkar V. y Govindwar S. (2009). Biodegradation of diazo dye Direct brown MR by *Acinetobacter calcoaceticus* NCIM 2890. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, **63**(4):433-439.
32. González S., Müller J., Petrovic M., Barceló D. y Knepper T. P. (2006). Biodegradation studies of selected priority acidic pesticides and diclofenac in different bioreactors. *Environmental Pollution.*, 144:926-932.
33. Hay A. H., Dees P. M. y Sayler G. S. (2001). Growth of a bacterial consortium on triclosan. *FEMS Microbiology Ecology.*, 36:105-112.
34. He A. y Rosazza J. P. N. (2003). Microbial transformations of S-naproxen by *Aspergillus niger* ATCC 9142. *Pharmazie.*, **58**(6):420-422.
35. Herre A., Siebe C. y Kaupenjohann M. (2004). Effect of irrigation water quality on organic matter, Cd and Cu mobility in soils of central Mexico. *Water Science and Technology.*, **50**(2):277-284.
36. Hoadley A. W. (1977) Potential health hazards associated with *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Bacterial Indicators/Health Hazards Associated with Waters.* American Society for Testing Materials, Philadelphia., 80-114.
37. Hseu Z. Y. (2006). Response of microbial activities in two contrasting soils to 4-nonylphenol treated with biosolids. *Chemosphere.*, 64:1769-1776.
38. Hua J., An P., Winter J. y Gallert C. (2003). Elimination of COD, microorganisms and pharmaceuticals from sewage by trickling through sandy soil below leaking sewers. *Water Research.*, 37:4395-4404.
39. Hwang S. y Cutright T. J. (2002). Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil. *Chemosphere.*, 47:891-899.
40. Ishibashi H., Matsumura N., Hirano M., Matsuoka M., Shiratsuchi H., Ishibashi Y., Takao Y. y Arizono K. (2004). Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquatic Toxicology.*, 67:167.
41. Jacobsen A. M., Krog Mortensen G. y Bruun Hansen H. C. (2004). Degradation and mobility of linear alkylbenzene sulfonate and nonylphenol in sludge-amended soil. *Journal of Environmental Quality.*, 33:232-240.

42. Jiménez B. y Chávez A. (2004). Quality assessment of an aquifer recharged with wastewater for its potential use as drinking source: "El Mezquital Valley" case. *Water Science and Technology*., **50**(2):269-276.
43. Jiménez B., Chávez A., Gibson R., Maya C. y Becerril J. E. (2008). RECLAIM WATER Work Package 4 Technical water reclamation and aquifer recharge case studies Mezquital Valley. Proyecto 7314. Final Deliverable. 25 p. 5 de diciembre de 2008.
44. Jiménez B., López N. y Sotomayor C. (1997). Estudio de la calidad y suministro del agua para consumo doméstico en el Valle del Mezquital, elaborado para la Comisión Nacional del Agua por el Instituto de Ingeniería, UNAM, Proyecto 5322, 269 p.
45. Jiménez B., Siebe C. y Cifuentes E. (2005). El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula. El agua en México vista desde la Academia. Academia Mexicana de Ciencias. Edición Digital 33-55.
46. Jobling S. y Sumpter J. P. (1993). Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*., **27**:361-72.
47. Krahe S., Düring R. A., Huisman J. A., Horn A. L. y Gäth S. (2006). Statistical modeling of the partitioning of nonylphenol in soil. *Water, Air, and Soil Pollution*., **172**:221-237.
48. Kwok C. K. y Loh K. C. (2003). Effects of Singapore soil type on bioavailability of nutrients in soil bioremediation. *Advances in Environmental Research*., **7**:889-900.
49. Latch D. E., Packer J. L., Arnold W. A. y McNeill K. (2003). Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-*p*-dioxin in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*., **158**:6366.
50. Lützw M. V., Kögel-Knabner I., Ekschmitt K., Matzner E., Guggenberger G., Marschner B. y Flessa H. (2006). Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions-a review. *European Journal of Soil Science*., **57**:426-445.

51. Matamoros V., Caselles-Osorio A., García J. y Bayona J. M. (2008). Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A Microcosm Experiment. *Science of the Total Environment.*, 394:171-176.
52. Matamoros V., García J. y Bayona J. M. (2008a). Organic micropollutant removal in a full-scale surface flow constructed wetland fed with secondary effluent. *Water Research.*, 42:653-660.
53. Metcalf & Eddy. (1996). Ingeniería de aguas residuales. Vol. 2. Tratamiento de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. McGraw Hill, México.
54. Monteiro S. C. y Boxall A. B. A. (2009). Factors affecting the degradation of pharmaceuticals in agricultural soils. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, **28**(12):2546-2554.
55. Moreno Merino L., Fernández Jurado M. A., Rubio Campos J. C., Calaforra Chordi J. M., López Geta J. A., Beas Torroba J., Alcaín Martínez G., Murillo Díaz J. M. y Gómez López J. A. (2003). La depuración de aguas residuales urbanas de pequeñas poblaciones mediante infiltración directa en el terreno: fundamentos y casos prácticos. Insituto Geológico y Minero de España.
56. Morrall D., McAvoy D., Schatowitz B., Inauen J., Jacob M., Hauk A. y Eckhoff W. (2004). A field study of triclosan loss rates in river water (Cibolo Creek, TX). *Chemosphere.*, 54:653-660.
57. Mrozik A., Piotrowska-Seget Z. y Labuzek S. (2008). FAMES profiles of phenol-degrading *Pseudomonas stutzeri* introduced into soil. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, 62:319-324.
58. Murdoch R. W. y Hay A. G. (2005). Formation of Catechols via Removal of Acid Side Chains from Ibuprofen and Related Aromatic Acids. *Applied and Environmental Microbiology.*, **71**(10):6121-6125.
59. Murillo R., Silva V., Jiménez B. y Chávez A. (2006). Detección de compuestos orgánicos en el *Soil Aquifer Treatment (SAT)* del Valle de Tula. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, A.C. (FEMISCA). Memorias Guadalajara, Jal. (24 al 26 de mayo de 2006).

60. Noordman W. H. y Janssen D. B. (2002). Rhamnolipid stimulates uptake of hydrophobic compounds by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology.*, **68**(9):4502-8.
61. Norma Oficial Mexicana. NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México, D. F.
62. Norma Oficial Mexicana. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D. F.
63. Oaks J. L., Gilbert M., Virani M. Z., Watson R. T., Meteyer C. U., Rideout B. A., Shivaprasad H. L., Ahmed S., Chaudhry M. J. I., Arshad M., Mahmood S., Ali A. y Khan A. A. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature.*, **427**:630-633.
64. Opiel J., Broll G., Löffler D., Meller M., Römbke J. y Ternes T. (2004). Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing-systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. *Science of the Total Environment.*, **328**:265-273.
65. Palacio-Prieto J. L y Siebe-Grabach C. (1994). Variabilidad y distribución espaciales de algunos parámetros físicos y químicos del suelo en el Distrito de Riego 03, Estado de Hidalgo, México; parte 2, cartografía. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas.*, **11**(1):68-78.
66. Pignatello J. J. (1998). Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Advances in Colloid and Interface Science.*, **76-77**:445-467.
67. Pomati F., Netting A. G., Calamari D. y Neilana B. A. (2004). Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology.*, **67**:387-396.
68. Prathibha K. y Sumathi S. (2008). Biodegradation of mixture containing monohydroxybenzoate isomers by *Acinetobacter calcoaceticus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.*, **24**(6):813-823.
69. Quanrud D. M., Hafer J., Karpiscak M. M., Zhang J., Lanseya K. E. y Arnold R. G. (2003). Fate of organics during soil-aquifer treatment: sustainability of removals in the field. *Water Research.*, **37**:3401-3411.

70. Quintana J. B., Weiss S. y Reemtsma T. (2005). Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research.*, 39:2654-2664.
71. Rauch-Williams T., Hoppe-Jones C. y Drewes J. E. (2010). The role of organic matter in the removal of emerging trace organic chemicals during managed aquifer recharge. *Water Research.*, 44:449-460.
72. Rittmann B. E. y McCarty P. L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. McGraw Hill, USA.
73. Roberts P., Roberts J. P. y Jones D. L. (2006). Behavior of the endocrine disrupting chemical nonylphenol in soil: Assessing the risk associated with spreading contaminated waste to land. *Soil Biology & Biochemistry.*, 38:1812-1822.
74. Roh H., Subramanya N., Zhao F., Yu C.-P., Sandt J., Chu K.-H. (2009). Biodegradation potential of wastewater micropollutants by ammonia-oxidizing bacteria. *Chemosphere.*, 77:1084-1089
75. Russell A. D. (2004). Whither triclosan?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.*, 53:693-695.
76. Santos J. L., Aparicio I., Alonso E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville City (Spain). *Environment International.*, 33:596-601
77. Saucedo Hernández V. D. (2009). Tesis de maestría en desarrollo. Adsorción de contaminantes emergentes en columnas empacadas con suelos del Valle de Tula. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería, UNAM.
78. Scheytt T. J., Mersmann P. y Heberer T. (2006). Mobility of pharmaceuticals carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone in miscible-displacement experiments. *Journal of Contaminant Hydrology.*, 83:53-69.
79. Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H. y Negele R. D. (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology.*, 68:141-150.

80. Siebe C. (1998). Nutrient inputs to soil and their uptake by alfalfa through long-term irrigation with untreated sewage effluent in Mexico. *Soil Use and Management.*, 14:119-122.
81. Siebe C. y Herre A. (2003). Determinación de la biomasa microbiana a través del método de fumigación-extracción. Procedimiento estandarizado. Laboratorio de Edafología Ambiental. UNAM.
82. Siebe C., Jahn R. y Stahr K. (1996). Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo. Serie de Publicaciones Especiales de la Sociedad Mexicana de Ciencia del Suelo 4:57.
83. Siemens J., Huschek G., Siebe C. y Kaupenjohann M. (2008). Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City–Mezquital Valley. *Water Research.*, 42:2124-2134.
84. Singer H., Muller S., Tixier C. y Pillonel L. (2002). Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology.*, 36:4998-5004.
85. Singh A. y Ward O. P. (2004). *Biotechnology and Bioremediation-An Overview. Soil biology, Biodegradation and Bioremediation*, Springer-Verlag, Germany., 2:1-17.
86. Singh C. y Lin J. (2008). Isolation and characterization of diesel oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa. *African Journal of Biotechnology.*, 7(12):1927-1932.
87. Soares A., Guieysse B., Delgado O. y Mattiasson B. (2003). Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria. *Biotechnology Letters* 25:731-738.
88. Soto A. M., Justicia H., Wray J. W. y Sonnenschein C. (1991). *p*-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from 'modified' polystyrene. *Environmental Health Perspectives.*, 92:167-73.
89. SRC (2010). Environmental science database Syracuse Research Corporation physical properties database. <http://www.syrres.com/esc/physprop.htm>.

90. Staples C. A., Williams J. B., Blessing R. L. y Varineau P. T. (1999). Measuring the biodegradability of nonylphenol ether carboxylates, octylphenol ether carboxylates, and nonylphenol. *Chemosphere.*, **38**(9):2029-2039.
91. Stasinakis A. S., Petalas A. V., Mamais D. y Thomaidis N. S. (2008). Application of the OECD 301F respirometric test for the biodegradability assessment of various potential endocrine disrupting chemicals. *Bioresource Technology.*, **99**:3458-3467.
92. Stasinakis A. S., Petalas A. V., Mamais D., Thomaidis N. S., Gatidou G. y Lekkas T. D. (2007). Investigation of triclosan fate and toxicity in continuous-flow activated sludge systems. *Chemosphere.*, **68**:375-381.
93. Tanghe T., Dhooge W. y Verstraete W. (1999). Isolation of a bacterial strain able to degrade branched nonylphenol. *Applied and Environmental Microbiology.*, **65**:746-51.
94. Tixier C., Singer H. P., Oellers S. y Müller S. R. (2003). Occurrence and Fate of Carbamazepine, Clofibrac Acid, Diclofenac, Ibuprofen, Ketoprofen, and Naproxen in Surface Waters. *Environmental Science and Technology.*, **37**(6):1061-1068.
95. Topp E. y Starratt A. (2000). Rapid mineralization of the endocrine disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, **19**:313-318.
96. Urase T. y Kikuta T. (2005). Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Research.*, **39**:1289-1300.
97. Vallini G., Frassinetti S., D'Andrea F., Catelani G. y Agnolucci M. (2001). Biodegradation of 4-(1-nonyl) phenol by axenic cultures of the yeast *Candida aquatextoris*: identification and proposal of a possible metabolic pathway. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, **47**:133-140.
98. Van den Berg M., Birnbaum L. S., Denison M., De Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto J., Tysklind M., Walker N., y Peterson R. E. (2006). The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and

- Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds. *Toxicological Sciences.*, **93**(2):223-241.
99. Van Hamme J. D. (2004). Bioavailability and Biodegradation of Organic Pollutants-A Microbial Perspective. *Soil biology, Biodegradation and Bioremediation*, Springer-Verlag, Germany., 2:37-56.
100. Wick L. Y., Springael D. y Harms H. (2001). Bacterial Strategies to Improve the Bioavailability of Hydrophobic Organic Pollutants. *Treatment of contaminated soil: fundamentals, analysis, applications*. Springer, Germany, 203-218.
101. Xu G., Li F. y Wang Q. (2008). Occurrence and degradation characteristics of dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in typical agricultural soils of China. *Science of the Total Environment.*, 393:333 - 340.
102. Xu J., Wu L. y Chang A. C. (2009). Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere.*, 77:1299-1305.
103. Ying G.-G. (2006). Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environment International.*, 32:417-431.
104. Ying G.-G., Kookana R. S. y Dillon P. (2003). Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water Research.*, 37:3785-3791.
105. Ying G.-G., Yu X. Y. y Kookana R. S. (2007). Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modeling. *Environmental Pollution.*, 150:300-305.
106. Yu J. T., Bouwer E. J. y Coelhan M. (2006). Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural water management.*, 86:72-80.
107. Yuan S. Y., Yu C. H. y Chang, B. V. (2004). Biodegradation of nonylphenol in river sediment. *Environmental Pollution.*, 127:425-430.

- 
108. Zhao Z. y Wong J. W. C. (2009). Biosurfactants from *Acinetobacter calcoaceticus* BU03 enhance the solubility and biodegradation of phenanthrene. *Environmental Technology.*, **30**(3):291-299.
  109. Zhong D. F., Sun L., Ei L. y Huang H-H. (2003). Microbial transformation of naproxen by *Cunninghamella* species. *Acta Pharmacologica Sinica.*, 24:442-447.
  110. Zwiener C. y Frimmel F. H. (2003). Short-term tests with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen, and diclofenac. *The Science of the Total Environment.*, 309:201-211.
  111. Zwiener C., Seeger S., Glauner T. y Frimmel F. H. (2002). Metabolites from the biodegradation of pharmaceutical residues of ibuprofen in biofilm reactors and batch experiments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.*, 372:569-575.

## Anexos

### Anexo A. Cuantificación de contaminante emergentes

**Tabla A.1 Estándares internos y de recuperación, cantidad agregada, tiempos de retención e iones característicos**

Analito	Uso	Cantidad (ng) Suelo/lixiados	Tiempo de retención (min.)	Iones característicos
Ácido clofibrico	Estándar de recuperación	1000/1000	7.59	143, 243, 271
Gemfibrozil	Estándar interno	1000/1000	9.38	179, 243, 307
d <sub>16</sub> -bisfenol -A	Estándar de recuperación	500/100	12.05	452, 470, 217
d <sub>4</sub> -4- <i>n</i> -nonilfenol	Estándar interno	500/500	9.30	281, 338

**Tabla A.2 Elución de contaminantes emergentes seleccionados**

Eluyente	Volumen
Acetona	5.5 mL

**Tabla A.3 Derivatización de contaminantes emergentes seleccionados**

Derivatizantes	Volumen
MTBSTFA	50 µL
Piridina	50 µL

## Anexo B. Análisis estadísticos de los contaminantes emergentes en suelo

### B.1 4-Nonilfenol

Se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existían diferencias entre las medias de la concentración de 4-nonilfenol en los horizontes de suelo ( $\mu_i$ ). En la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) se planteó que al menos una media de la concentración de 4-nonilfenol era distinta.

$$H_0 = \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_a = \mu_i \neq \mu_j$$

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla B.1, se rechaza la hipótesis nula para un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05, es decir, al menos una media de la concentración de 4-nonilfenol es diferente.

**Tabla B.1 Análisis de varianza para los datos de concentración de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Horizonte	3	29761,182	9920,39	11,5465
Error	8	6873,379	859,17	<b>Valor p</b>
Total	11	36634,561		0.0028

La Tabla B.2 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a un  $\alpha = 0.05$ , es decir, la concentración de 4-nonilfenol en el H1P1 es distinta a la de los demás horizontes.

**Tabla B.2 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para los datos de concentración de 4-nonilfenol**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H1P1	A	173,60480
H3P1	B	81,60193
H1P2	B	62,40160
H2P2	B	44,18260

Para que las conclusiones derivadas del análisis de varianza sean válidas debe comprobarse que los errores del modelo se distribuyan normal e independientemente, con una media cero y varianza homogénea. Por ello, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla B.3) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla B.4). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

La prueba O'Brien establece como hipótesis nula la igualdad de varianzas. Debido a que el valor p (0.4267) es mayor al  $\alpha = 0.05$ , esta suposición no se rechaza, es decir, las varianzas son homogéneas.

**Tabla B.3 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de la concentración de 4-nonilfenol**

Prueba	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	1,0374	3	8	0,4267

La prueba Shapiro-Wilk plantea la hipótesis nula de que los datos proceden de una distribución normal. Dado que valor p (0.7232) es mayor al  $\alpha = 0.05$ , esta hipótesis no se rechaza, por lo que se asume que los errores se distribuyen normalmente, con media cercana a cero y varianza cercana a 25.

**Tabla B.4 Ajuste de los residuales de la concentración de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	1,184e-14		
Varianza	24,997052	0.955838	0.7232

## B.2 Ibuprofeno

Se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existían diferencias entre las medias de la concentración de ibuprofeno en los horizontes de suelo ( $\mu_i$ ). En la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) se propuso que al menos una media de la concentración de triclosán era distinta.

$$H_0 = \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_a = \mu_i \neq \mu_j$$

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla B.5, se rechaza la hipótesis nula para  $\alpha=0.05$ , es decir, al menos una media de la concentración de ibuprofeno es diferente.

**Tabla B.5 Análisis de varianza para los datos de concentración de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Horizonte	3	14,018480	4,67283	211,6846
Error	8	0,176596	0,02207	<b>Valor p</b>
Total	11	14,195076		<,0001

La Tabla B.6 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a un  $\alpha=0.05$ .

**Tabla B.6 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para los datos de concentración de ibuprofeno**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A		3,1672333
H1P2		B	2,0750333
H2P2		B	2,0405667
H1P1		C	0,1614333

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla B.7) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla B.8). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que el valor p (0.4813) de la prueba O'Brien es mayor al  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis nula no se rechaza, es decir, las varianzas son homogéneas.

**Tabla B.7 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de la concentración de ibuprofeno**

Prueba	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	0,9024	3	8	0,4813

La prueba Shapiro-Wilk plantea la hipótesis nula de que los datos proceden de una distribución normal. Dado que el valor p (0.5811) es mayor al  $\alpha = 0.05$ , esta hipótesis no se rechaza.

**Tabla B.8 Ajuste de los residuales de la concentración de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-1,99e-16		
Varianza	0,126705	0,946116	0,5811

### B.3 Naproxeno

Se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existían diferencias entre las medias de la concentración de naproxeno en los horizontes de suelo ( $\mu_i$ ). En la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) se propuso que al menos una media de la concentración de naproxeno era distinta.

$$H_0 = \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_a = \mu_i \neq \mu_j$$

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla B.9, no se rechaza la hipótesis nula para un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ , es decir, las medias de las concentraciones de naproxeno son iguales.

**Tabla B.9 Análisis de varianza para los datos de concentración de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Horizonte	3	0,3382538	0,112751	0,1235
Error	7	6,3916133	0,913088	<b>Valor p</b>
Total	10	6,7298671		0,9433

La Tabla B.10 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey.

**Tabla B.10 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para los datos de concentración de naproxeno**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H1P1	A	1,9735000
H3P1	A	1,8205500
H1P2	A	1,5821667
H2P2	A	1,5683000

Asimismo, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla B.11) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla B.12). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p (0.9775) de la prueba O'Brien es mayor al  $\alpha = 0.05$ , así que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, las varianzas son homogéneas.

**Tabla B.11 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de la concentración de naproxeno**

Prueba	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	0,0229	2	6	0,9775

El valor p (0.1170) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis nula no se rechaza, los datos proceden de una distribución normal.

**Tabla B.12 Ajuste de los residuales de la concentración de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-2,62e-16		
Varianza	0,7994757	0,884037	0,1170

## Anexo C. Análisis estadísticos de los contaminantes emergentes en lixiviados

La Tabla C.1 muestra las concentraciones de los contaminantes emergentes seleccionados, en los lixiviados obtenidos de columnas no estériles, durante los seis riegos realizados.

**Tabla C.1 Resumen de las concentraciones de contaminantes emergentes en lixiviados de columnas no estériles**

Riego	Horizonte	4- Nonilfenol ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Triclosán ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Diclofenaco ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ibuprofeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Naproxeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	H1P1	4.76±0.66	21.7±5.2	0.70±0.40	1.49±0.70	11.2±4.0
	H3P1	2.69±0.84	12.4±4.1	0.13±0.10	0.94±0.02	3.7±1.1
	H1P2	4.22±1.02	20.0±0.2	0.16±0.03	0.33±0.14	5.2±0.8
	H2P2	5.43±0.96	28.5±7.5	0.95±0.15	1.17±0.05	9.5±1.3
2	H1P1	3.39±1.33	16.3±4.9	-	0.44±0.38	6.2±1.6
	H3P1	2.84±0.27	10.7±1.9	-	1.27±0.03	4.8±1.4
	H1P2	2.33±0.49	11.3±2.3	-	0.01±0.01	1.6±1.4
	H2P2	2.25±0.22	14.0±1.7	0.58	0.48±0.09	6.6±0.2
3	H1P1	1.09±0.15	9.1±1.3	-	1.18±0.48	5.4±0.9
	H3P1	1.29±0.22	5.5±0.9	-	1.21±0.64	4.1±0.8
	H1P2	1.05	4.2±0.8	-	0.26±0.26	5.7±1.5
	H2P2	0.84±0.22	4.0±2.2	0.05±0.04	1.54±0.87	7.4±2.4
4	H1P1	1.05±0.17	3.1±1.1	-	0.96±0.11	4.6±1.2
	H3P1	1.09±0.03	14.9±11.2	-	1.61±1.08	3.6±1.6
	H1P2	0.76±0.21	9.3±5.8	-	0.30±0.21	0.8±0.3
	H2P2	0.85±0.22	14.3±3.6	-	1.81	5.0±3.6
5	H1P1	0.70±0.25	10.5±3.8	0.27±0.10	0.79±0.22	4.0±2.0
	H3P1	0.80±0.16	16.2±2.4	0.61±0.04	1.73±0.17	4.5±0.4
	H1P2	0.55±0.21	31.5±23.9	0.14±0.12	0.14±0.11	1.8±1.4
	H2P2	0.73±0.18	16.8±4.7	0.45±0.30	1.12±0.91	4.1±2.4

Tabla C.1 (Continuación)

Riego	Horizonte	4-Nonilfenol ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Triclosán ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Diclofenaco ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ibuprofeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Naproxeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
6	H1P1	0.50±0.08	23.1±12.1	0.24±0.16	0.51±0.28	4.3±2.0
	H3P1	0.67±0.08	12.5±3.1	0.30±0.17	0.93±0.55	2.9±0.7
	H1P2	0.61±0.04	10.6±2.0	0.09±0.09	0.12±0.10	1.8±1.3
	H2P2	0.42±0.06	11.6±2.1	0.37±0.13	0.82±0.27	4.0±1.1

La Tabla C.2 muestra las concentraciones de los contaminantes emergentes seleccionados, en los lixiviados obtenidos de columnas estériles, durante los seis riegos realizados.

**Tabla C.2 Resumen de las concentraciones de contaminantes emergentes en lixiviados de columnas estériles (Saucedo Hernández, 2009)**

Riego	Horizonte	4-Nonilfenol ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Triclosán ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Diclofenaco ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ibuprofeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Naproxeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	H1P1	7.46±1.85	41.5±2.5	0.72±0.11	2.48±0.09	16.2±4.0
	H3P1	23.36±14.79	35.3±14.8	1.75±0.58	2.25±0.67	7.2±5.0
	H1P2	24.09±8.23	67.2±45.2	0.65	2.67±1.56	11.9±9.0
	H2P2	12.97±1.31	19.4±3.1	1.44±0.64	2.35±0.08	14.3±0.7
2	H1P1	7.31±0.71	16.7±5.8	0.59±0.14	1.71±0.65	11.5±1.6
	H3P1	17.78±0.86	32.3±12.4	1.16±0.21	3.10±0.17	12.3±5.4
	H1P2	14.61	18.8±12.6	-	1.75±0.21	8.6±2.2
	H2P2	16.92±0.85	25.5±9.3	-	2.58±0.06	14.3±3.2
3	H1P1	2.09±0.03	4.0±0.7	0.02±0.01	2.75±1.11	8.8±2.2
	H3P1	3.46±0.57	19.1±16.8	0.02±0.01	2.86±0.65	9.6±2.1
	H1P2	5.45±0.10	26.6±0.7	0.08±0.08	3.18±0.59	9.9±2.2
	H2P2	4.59±0.37	21.5±12.0	0.05±0.01	1.82±0.58	10.4±3.0
4	H1P1	2.88±0.94	11.9±0.4	-	2.22±0.28	9.9±2.2
	H3P1	2.51±0.66	72.9±100.0	0.04±0.04	3.36±0.26	12.9±3.1
	H1P2	8.21±3.59	48.7±7.8	-	1.80±0.99	7.5±3.0
	H2P2	2.40±1.48	19.3±10.5	0.18±0.15	2.62±0.26	13.5±2.3

Tabla C.2 (Continuación)

Riego	Horizonte	4-Nonilfenol ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Triclosán ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Diclofenaco ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ibuprofeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Naproxeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
5	H1P1	2.20±1.36	8.6±2.7	0.31±0.21	2.16±0.26	8.8±2.2
	H3P1	2.30±0.91	14.8±7.7	0.88±0.15	3.20±0.28	11.6±0.2
	H1P2	3.96±3.69	34.0±25.4	0.15±0.12	0.92±0.54	3.8±2.2
	H2P2	4.43±2.17	31.9±18.3	0.72±0.14	1.84±1.01	11.0±2.1
6	H1P1	0.70±0.34	10.2±3.0	0.30±0.05	2.04±0.31	8.2±1.2
	H3P1	1.09±0.24	17.6±7.5	0.81±0.14	2.49±0.47	13.1±1.3
	H1P2	1.94±1.15	77.7±89.5	0.64±0.52	2.13±1.73	7.6±5.6
	H2P2	1.90±0.05	36.8±6.3	0.76	1.98	11.8

Para determinar si existían diferencias estadísticas en cada riego, se plantearon tres hipótesis nulas para cada compuesto. La primera ( $H_{01}$ ) establecía que no existe interacción entre el factor horizonte ( $\tau_i$ ) y el factor esterilidad ( $\beta_j$ ). La segunda ( $H_{02}$ ), que no existe efecto por el factor horizonte, y la tercera ( $H_{03}$ ), que no existe efecto por el factor esterilidad. La primera hipótesis alternativa ( $H_{a1}$ ) planteó que existe interacción entre el factor horizonte y el factor esterilidad. La segunda ( $H_{a2}$ ) establecía que existe efecto por horizonte, y la tercera ( $H_{a3}$ ), que existe efecto por esterilidad.

$$H_{01}: (\tau\beta)_{ij}=0$$

$$H_{a1}: (\tau\beta)_{ij}\neq 0$$

$$H_{02}: \tau_i=0$$

$$H_{a2}: \tau_i\neq 0$$

$$H_{03}: \beta_j=0$$

$$H_{a3}: \beta_j\neq 0$$

## C.1 Riego 1

### C1.1 4-Nonilfenol

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla C.3, se rechaza la hipótesis nula de no interacción para un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ . Debido a que la primera hipótesis nula se rechaza, ya no es necesario probar las demás.

**Tabla C.3 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	218,03664	3,1355	0,0621
Esterilidad	1	814,12528	35,1228	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	318,23426	4,5764	0,0213

La Tabla C.4 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.4 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para 4-nonilfenol (Interacción)**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H1P2, Estéril	A	24,086200
H3P1, Estéril	A	23,360850
H2P2, Estéril	A B	12,965050
H1P1, Estéril	B	7,456767
H2P2, No estéril	B	5,428533
H1P1, No estéril	B	4,760067
H1P2, No estéril	B	4,216400
H3P1, No estéril	B	2,689233

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.5) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.6). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p de la prueba O'Brien para el factor esterilidad fue menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis de homogeneidad de varianzas se rechaza. Así, los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución.

**Tabla C.5 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,7026	3	17	0,2043
	Esterilidad	5,3524	1	19	0,0321

Por su parte, el valor p (0.0015) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.6 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	1,269e-15		
Varianza	3,8815713	0,822987	0,0015

### C.1.2 Triclosán

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.7, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia del efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.7 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,00150498	1,5855	0,2345
Esterilidad	1	0,00230233	7,2766	0,0165
Horizonte*Esterilidad	3	0,00212409	2,2378	0,1259

La Tabla C.8 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.8 Medias de mínimos cuadrados de triclosán (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,02065833	0,00513487	0,020658
Estéril	0,04085000	0,00544635	0,042800

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.9) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.10). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.9 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,6371	3	19	0,2142
	Esterilidad	2,5962	1	21	0,1220

Por su parte, el valor p ( $<0.0001$ ) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.10 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-3,92e-18		
Varianza	0,0146877	0,760092	<,0001

### C.1.3 Diclofenaco

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla C.11, se rechaza la hipótesis nula de no interacción para un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . Debido a que la primera hipótesis nula se rechaza, ya no es necesario probar las demás.

**Tabla C.11 Análisis de varianza de diclofenaco**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	1,3136110	3,7957	0,0373
Esterilidad	1	1,9704003	17,0805	0,0012
Horizonte*Esterilidad	3	2,0446189	5,9079	0,0090

La Tabla C.12 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.12 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para diclofenaco (Interacción)**

Nivel				Medias de mínimos cuadrados
H3P1, Estéril	A			1,7500667
H2P2, Estéril	A	B		1,4371000
H2P2, No estéril	A	B	C	0,9502667
H1P1, Estéril		B	C	0,7206000
H1P1, No estéril		B	C	0,6996333
H1P2, Estéril	A	B	C	0,6595000
H1P2, No estéril			C	0,1608000
H3P1, No estéril			C	0,1304667

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.13) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.14). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha=0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.13 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de diclofenaco**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,7083	3	17	0,5602
	Esterilidad	3,4768	1	19	0,0778

Por su parte, el valor p (0.1249) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.14 Ajuste de los residuales de diclofenaco a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	6,344e-17		
Varianza	0,273832	0,927895	0,1249

### C.1.4 Ibuprofeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.15, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia del efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.15 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,808248	0,5928	0,6293
Esterilidad	1	11,971883	26,3403	0,0001
Horizonte*Esterilidad	3	1,618511	1,1870	0,3481

La Tabla C.16 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.16 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,9822917	0,19461694	0,98229
Estéril	2,4383208	0,20642244	2,44658

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.17) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.18). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.17 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,3674	3	19	0,2829
	Esterilidad	2,2118	1	21	0,1518

Por su parte, el valor p (0.0010) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.18 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	2,655e-16		
Varianza	0,5566799	0,824207	0,0010

### C.1.5 Naproxeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.19, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto por ambos factores para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.19 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	235,31583	4,1510	0,0250
Esterilidad	1	140,86864	7,4548	0,0155
Horizonte*Esterilidad	3	8,36208	0,1475	0,9297

Las Tabla C.20 y C.21 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha= 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.20 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para naproxeno (Horizonte)**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H1P1	A	13,731783
H2P2	A B	11,891742
H1P2	A B	8,561300
H3P1	B	5,472633

**Tabla C.21 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	7,417092	1,2548692	7,4171
Estéril	12,411638	1,3309898	12,2428

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.22) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.23). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha= 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.22 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,0536	3	19	0,3919
	Esterilidad	3,9725	1	21	0,0594

Por su parte, el valor p (0.1482) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.23 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-7,72e-16		
Varianza	3,5894125	0,936115	0,1482

## C.2 Riego 2

### C.2.1 4-Nonilfenol

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla C.24, se rechaza la hipótesis nula de no interacción para un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ . Debido a que la primera hipótesis nula se rechaza, ya no es necesario probar las demás.

**Tabla C.24 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	78,01062	42,9754	<,0001
Esterilidad	1	547,37294	904,6304	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	108,22235	59,6188	<,0001

La Tabla C.25 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.25 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para 4-nonilfenol (Interacción)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H3P1, Estéril	A		17,776850
H2P2, Estéril	A		16,924800
H1P2, Estéril	A		14,607200
H1P1, Estéril		B	7,307133
H1P1, No estéril		C	3,390800
H3P1, No estéril		C	2,839400
H1P2, No estéril		C	2,325733
H2P2, No estéril		C	2,253250

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.26) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.27). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.26 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,4625	3	15	0,2646
	Esterilidad	0,0579	1	17	0,8128

Por su parte, el valor p (0.4791) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.27 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	1,005e-15		
Varianza	0,6080876	0,955041	0,4791

## C.2.2 Triclosán

Los valores p de la Tabla C.28 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia del efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.28 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,00012425	0,9295	0,4564
Esterilidad	1	0,00050512	11,3361	0,0056
Horizonte*Esterilidad	3	0,00030950	2,3153	0,1276

La Tabla C.29 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.29 Medias de mínimos cuadrados de triclosán (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,01306667	0,00204386	0,012982
Estéril	0,02332500	0,00225957	0,022589

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.30) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.31). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p de la prueba O'Brien para el factor esterilidad fue menor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis de homogeneidad de varianzas se rechaza. Así, los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución.

**Tabla C.30 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,1929	3	16	0,8997
	Esterilidad	22,9213	1	18	0,0001

Por su parte, el valor p (0.6550) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.31 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-1,13e-18		
Varianza	0,0053049	0,965337	0,6550

### C.2.3 Ibuprofeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.32, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto por ambos factores, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.32 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	4,150903	4,9724	0,0203
Esterilidad	1	10,337207	37,1489	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	0,135074	0,1618	0,9198

Las Tabla C.33 y C.34 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha = 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.33 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para ibuprofeno (Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A		1,9866500
H2P2	A	B	1,7397583
H1P1	A	B	1,0647500
H1P2		B	0,8400917

**Tabla C.34 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,6559375	0,17025231	0,61600
Estéril	2,1596875	0,17856213	2,21999

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.35) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.36). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.35 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,8744	3	15	0,4762
	Esterilidad	0,6113	1	17	0,4451

Por su parte, el valor p (0.5759) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.36 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	1,169e-16		
Varianza	0,4123716	0,960180	0,5759

## C.2.4 Naproxeno

Los valores p de la Tabla C.37 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto por ambos factores, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.37 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	68,54059	4,3880	0,0265
Esterilidad	1	224,41031	43,1003	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	4,73040	0,3028	0,8228

Las Tabla C.38 y C.39 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha= 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.38 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para naproxeno  
(Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H2P2	A		10,449150
H1P1	A	B	8,832683
H3P1	A	B	8,528317
H1P2		B	5,124742

**Tabla C.39 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	4,814946	0,69866126	4,6494
Estéril	11,652500	0,77239909	11,6323

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.40) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.41). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p de la prueba O'Brien para el factor esterilidad fue menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis de homogeneidad de varianzas se rechaza. Así, los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución.

**Tabla C.40 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,2687	3	16	0,3186
	Esterilidad	6,0072	1	18	0,0247

Por su parte, el valor p (0.5641) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.41 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	2,931e-15		
Varianza	1,8134052	0,961003	0,5641

### C.3 Riego 3

#### C.3.1 4-Nonilfenol

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla C.42, se rechaza la hipótesis nula de no interacción para un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ . Debido a que la primera hipótesis nula se rechaza, ya no es necesario probar las demás.

**Tabla C.42 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	6,467402	24,0717	<,0001
Esterilidad	1	36,701435	409,8085	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	7,977969	29,6940	<,0001

La Tabla C.43 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.43 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para 4-nonilfenol (Interacción)**

Nivel				Medias de mínimos cuadrados
H1P2, Estéril	A			5,4462500
H2P2, Estéril	A			4,5918500
H3P1, Estéril		B		3,4615333
H1P1, Estéril			C	2,0907500
H3P1, No estéril			C D	1,2861500
H1P1, No estéril			D	1,0854667
H1P2, No estéril			C D	1,0463000
H2P2, No estéril			D	0,8386667

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.44) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.45). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.44 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,7978	3	15	0,1908
	Esterilidad	2,2570	1	17	0,1514

Por su parte, el valor p (0.3424) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.45 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	2,337e-17		
Varianza	0,2339436	0,946387	0,3424

### C.3.2 Triclosán

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.46, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el factor esterilidad, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.46 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,00018955	0,9614	0,4451
Esterilidad	1	0,00067716	10,3035	0,0083
Horizonte*Esterilidad	3	0,00049970	2,5344	0,1106

La Tabla C.47 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.47 Medias de mínimos cuadrados de triclosán (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,00565833	0,00261648	0,005830
Estéril	0,01782917	0,00274419	0,017978

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.48) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.49). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.48 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,4906	3	15	0,2574
	Esterilidad	3,7010	1	17	0,0713

Por su parte, el valor p (0.0016) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.49 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-2,74e-19		
Varianza	0,0063374	0,810557	0,0016

### C.3.3 Ibuprofeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.50, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.50 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,432806	0,3037	0,8222
Esterilidad	1	11,769573	24,7730	0,0004
Horizonte*Esterilidad	3	3,850649	2,7017	0,0968

La Tabla C.51 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.51 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	1,0482750	0,22246171	1,11069
Estéril	2,6528292	0,23331980	2,67596

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.52) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla B.53). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha=0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.52 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,6774	3	15	0,5793
	Esterilidad	0,2876	1	17	0,5987

Por su parte, el valor p (0.4316) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.53 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-6,43e-17		
Varianza	0,538829	0,952271	0,4316

### C.3.4 Naproxeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.54, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.54 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	12,460569	1,0724	0,4005
Esterilidad	1	74,821561	19,3177	0,0011
Horizonte*Esterilidad	3	4,285160	0,3688	0,7771

La Tabla C.55 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.55 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	5,6482333	0,63518494	5,79868
Estéril	9,6938750	0,66618758	9,68310

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.56) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.57). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.56 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,6508	3	15	0,2200
	Esterilidad	2,5474	1	17	0,1289

Por su parte, el valor p (0.2545) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.57 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-5,38e-16		
Varianza	1,5384943	0,939146	0,2545

## C.4 Riego 4

### C.4.1 4-Nonilfenol

El valor p obtenido de la Tabla C.58 indica que se rechaza la hipótesis nula de no interacción para un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ . Debido a que la primera hipótesis nula se rechaza, ya no es necesario probar las demás.

**Tabla C.58 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	32,562995	4,9264	0,0141
Esterilidad	1	52,892353	24,0058	0,0002
Horizonte*Esterilidad	3	38,214885	5,7814	0,0078

La Tabla C.59 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.59 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para 4-nonilfenol (Interacción)**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H1P2, Estéril	A	8,2121333
H1P1, Estéril	B	2,8831333
H3P1, Estéril	B	2,5072333
H2P2, Estéril	B	2,3979333
H3P1, No estéril	B	1,0909000
H1P1, No estéril	B	1,0489000
H2P2, No estéril	B	0,8575667
H1P2, No estéril	B	0,7612667

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.60) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.61). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.60 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,4925	3	19	0,2486
	Esterilidad	3,1669	1	21	0,0896

Por su parte, el valor p (0.0016) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.61 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-1,26e-16		
Varianza	1,2256667	0,837326	0,0016

### C.4.2 Triclosán

Los valores p de la Tabla C.62 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, ni efecto por ambos factores para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.62 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,00410502	0,9915	0,4235
Esterilidad	1	0,00436035	3,1595	0,0958
Horizonte*Esterilidad	3	0,00276975	0,6690	0,5841

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.63) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.64). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.63 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,8908	3	19	0,1654
	Esterilidad	1,8276	1	21	0,1908

Por su parte, el valor p ( $<0.0001$ ) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.64 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-1,28e-18		
Varianza	0,0306751	0,642605	$<,0001$

### C.4.3 Ibuprofeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.65, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia de efecto tanto por el factor horizonte como por el factor esterilidad, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.65 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	6,9650783	6,2128	0,0075
Esterilidad	1	8,0556240	21,5568	0,0005
Horizonte*Esterilidad	3	0,4865498	0,4340	0,7323

Las Tabla C.66 y C.67 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.66 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para ibuprofeno (Horizonte)**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A	2,4878333
H2P2	A B	2,2156333
H1P1	A B	1,5909000
H1P2	B	1,0473000

**Tabla C.67 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	1,1716833	0,22495405	1,05224
Estéril	2,4991500	0,17646848	2,49915

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.68) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.69). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.68 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,9271	3	17	0,4490
	Esterilidad	0,1520	1	19	0,7010

Por su parte, el valor p (0.0653) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.69 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-2,54e-16		
Varianza	0,4928496	0,913810	0,0653

#### C.4.4 Naproxeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.70, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto de ambos factores, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.70 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	71,61993	4,0192	0,0316
Esterilidad	1	280,99954	47,3076	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	12,57641	0,7058	0,5654

Las Tabla C.71 y C.72 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, mientras que la segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.71 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para naproxeno (Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H2P2	A		9,2618083
H3P1	A	B	8,2201167
H1P1	A	B	7,2598833
H1P2		B	4,1354667

**Tabla C.72 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	3,490563	0,82498908	3,5010
Estéril	10,948075	0,70355305	10,9481

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.73) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.74). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.73 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,2530	3	17	0,8581
	Esterilidad	2,4821	1	19	0,1317

Por su parte, el valor p (0.2600) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.74 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	2,538e-16		
Varianza	1,9649167	0,943899	0,2600

## C.5 Riego 5

### C.5.1 4-Nonilfenol

Los valores p de la Tabla C.75 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.75 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	4,740306	0,7689	0,5303
Esterilidad	1	33,450659	16,2775	0,0012
Horizonte*Esterilidad	3	6,128228	0,9940	0,4242

La Tabla C.76 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.76 Medias de mínimos cuadrados de 4-nonilfenol (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,7175458	0,43892831	0,71895
Estéril	3,2219417	0,43892831	3,15480

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.77) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.78). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p de la prueba O'Brien para el factor esterilidad fue menor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis de homogeneidad de varianzas se rechaza. Así, los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución.

**Tabla C.77 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	0,9535	3	18	0,4358
	Esterilidad	8,9530	1	20	0,0072

Por su parte, el valor p ( $<0.0401$ ) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.78 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	3,432e-16		
Varianza	1,1704755	0,906439	0,0401

## C.5.2 Triclosán

Los valores p de la Tabla C.79 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, ni efecto por ambos factores para,  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.79 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,00176205	2,5030	0,1017
Esterilidad	1	0,00010015	0,4268	0,5242
Horizonte*Esterilidad	3	0,00022842	0,3245	0,8077

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.80) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.81). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

El valor p de la prueba O'Brien para el factor horizonte fue menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis de homogeneidad de varianzas se rechaza. Así, los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución.

**Tabla C.80 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	4,2877	3	18	0,0189
	Esterilidad	0,4187	1	20	0,5249

Por su parte, el valor p (0.1912) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.81 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-3,78e-18		
Varianza	0,0125076	0,939277	0,1912

### C.5.3 Diclofenaco

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.82, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se sólo aprecia la existencia del efecto por el primero, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.82 Análisis de varianza de diclofenaco**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	1,2016390	13,3649	0,0002
Esterilidad	1	0,1131539	3,7756	0,0724
Horizonte*Esterilidad	3	0,0826091	0,9188	0,4571

La Tabla C.83 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.83 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para diclofenaco (Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A		0,74761667
H2P2	A	B	0,58363333
H1P1		B	0,28903333
H1P2		C	0,14696667

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.84) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.85). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha=0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.84 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de diclofenaco**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,1217	3	18	0,3665
	Esterilidad	0,2928	1	20	0,5944

Por su parte, el valor p (0.6901) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha= 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.85 Ajuste de los residuales de diclofenaco a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	5,046e-17		
Varianza	0,1413507	0,969092	0,6901

### C.5.4 Ibuprofeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.86, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto por ambos factores, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.86 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	10,072335	10,0253	0,0009
Esterilidad	1	6,232325	18,6097	0,0007
Horizonte*Esterilidad	3	0,610260	0,6074	0,6211

Las Tabla C.87 y C.88 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha= 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.87 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para ibuprofeno (Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A		2,4675917
H2P2	A	B	1,4820000
H1P1	A	B	1,4761083
H1P2		B	0,5282667

**Tabla C.88 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,9479917	0,18677537	0,88490
Estéril	2,0289917	0,16705697	2,02899

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.89) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.90). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

De la prueba O'Brien se observa que sólo existe homogeneidad de varianzas para el factor esterilidad, por lo que los resultados del análisis de varianza deben tomarse con precaución. Cabe mencionar que no se presentan datos transformados debido a que ellos tampoco presentaban homogeneidad.

**Tabla C.89 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	4,9644	3	18	0,0110
	Esterilidad	0,1543	1	20	0,6986

Por su parte, el valor p (0.1325) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.90 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro- Willk	
		W	Valor p
Media	-5,45e-16		
Varianza	0,4725085	0,931607	0,1325

### C.5.5 Naproxeno

De acuerdo a los valores p de la Tabla C.91, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que se aprecia la existencia del efecto de ambos factores, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.91 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	96,71058	9,3177	0,0012
Esterilidad	1	143,97308	41,6136	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	24,48868	2,3594	0,1156

Las Tabla C.92 y C.93 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha= 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor esterilidad.

**Tabla C.92 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para naproxeno (Horizonte)**

Nivel		Medias de mínimos cuadrados
H3P1	A	8,0599917
H2P2	A	7,5345167
H1P1	A	6,3811750
H1P2	B	2,7945833

**Tabla C.93 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	3,5947333	0,60032642	3,46892
Estéril	8,7904000	0,53694828	8,79040

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.94) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.95). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.94 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,9366	3	18	0,1599
	Esterilidad	0,0817	1	20	0,7779

Por su parte, el valor p (0. 5026) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.95 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-3,03e-15		
Varianza	1,5187191	0,960656	0,5026

## C.6 Riego 6

### C.6.1 4-Nonilfenol

Los valores p de la Tabla C.96 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.96 Análisis de varianza de 4-nonilfenol**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	4,450580	0,5905	0,6313
Esterilidad	1	27,445523	10,9243	0,0052
Horizonte*Esterilidad	3	4,454454	0,5910	0,6310

La Tabla C.97 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.97 Medias de mínimos cuadrados de 4-nonilfenol (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,6941458	0,51156871	0,68322
Estéril	2,9626333	0,45756096	2,96263

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.98) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.99). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha=0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.98 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de 4-nonilfenol**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,8999	3	18	0,1658
	Esterilidad	4,1600	1	20	0,0548

Por su parte, el valor p (0.0011) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.99 Ajuste de los residuales de 4-nonilfenol a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
media	1,161e-16		
varianza	0,2855655	0,820397	0,0011

## C.6.2 Triclosán

Los valores p de la Tabla C.100 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, ni efecto por ambos factores, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.100 Análisis de varianza de triclosán**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,01240153	0,6104	0,6193
Esterilidad	1	0,00633880	0,9359	0,3497
Horizonte*Esterilidad	3	0,01288738	0,6343	0,6051

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.101) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.102). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.101 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de triclosán**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,2855	3	18	0,3096
	Esterilidad	3,2873	1	20	0,0849

Por su parte, el valor p ( $<0.0001$ ) de la prueba Shapiro-Wilk es menor a  $\alpha=0.05$ , por lo que la hipótesis nula se rechaza, lo cual podría deberse a que el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla C.102 Ajuste de los residuales de triclosán a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	-3,15e-19		
Varianza	0,0579378	0,684494	$<,0001$

### C.6.3 Diclofenaco

Los valores p de la Tabla C.103 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.103 Análisis de varianza de diclofenaco**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,31863107	2,9316	0,0733
Esterilidad	1	0,66349155	18,3135	0,0009
Horizonte*Esterilidad	3	0,20748782	1,9090	0,1780

La Tabla C.104 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.104 Medias de mínimos cuadrados de diclofenaco (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,24949167	0,05494671	0,249492
Estéril	0,63046250	0,07004359	0,599144

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.105) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.106). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.105 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de diclofenaco**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,5485	3	17	0,2384
	Esterilidad	1,4930	1	19	0,2367

Por su parte, el valor p (0.7799) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.106 Ajuste de los residuales de diclofenaco a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	-1,59e-17		
Varianza	0,1534578	0,972143	0,7799

## C.6.4 Ibuprofeno

Los valores p de la Tabla C.107 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia de efecto por el segundo factor, para  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla C.107 Análisis de varianza de ibuprofeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,965839	0,8481	0,4938
Esterilidad	1	10,670746	28,1106	0,0002
Horizonte*Esterilidad	3	0,316808	0,2782	0,8401

La Tabla C.108 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.108 Medias de mínimos cuadrados de ibuprofeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	0,5953083	2,1590792	0,18864612
Estéril	0,63827	0,22672442	2,20247

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.109) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.110). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.109 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de ibuprofeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	2,1469	3	16	0,1344
	Esterilidad	2,4738	1	18	0,1332

Por su parte, el valor p (0.2696) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.110 Ajuste de los residuales de ibuprofeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro- Willk	
		W	Valor p
Media	6,661e-17		
Varianza	0,4896391	0,942704	0,2696

### C.6.5 Naproxeno

Los valores p de la Tabla C.111 muestran que no existe interacción entre los factores horizonte y esterilidad, mientras que sólo se aprecia la existencia del efecto por el segundo factor, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla C.111 Análisis de varianza de naproxeno**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	34,76883	2,8481	0,0785
Esterilidad	1	219,45898	53,9309	<,0001
Horizonte*Esterilidad	3	32,26160	2,6427	0,0932

La Tabla C.112 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas para el factor esterilidad.

**Tabla C.112 Medias de mínimos cuadrados de naproxeno (Esterilidad)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
No estéril	3,229175	10,157858	0,58232762
Estéril	3,2292	0,74232498	10,0888

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla C.113) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla C.114). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha= 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla C.113 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de naproxeno**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	2,0268	3	17	0,1483
	Esterilidad	2,0458	1	19	0,1689

Por su parte, el valor p (0.4752) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla C.114 Ajuste de los residuales de naproxeno a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Willk	
		W	Valor p
Media	6,344e-17		
Varianza	1,6263525	0,957918	0,4752

## Anexo D. Análisis estadísticos de bacterias aerobias

Para determinar si existían diferencias estadísticas entre los conteos de bacterias, se plantearon tres hipótesis nulas. La primera ( $H_{01}$ ) establecía que no existe interacción entre el factor horizonte ( $\tau_i$ ) y el factor temperatura ( $\beta_j$ ). La segunda ( $H_{02}$ ) establecía que no existe efecto por el factor horizonte, y la tercera ( $H_{03}$ ), que no existe efecto por el factor temperatura. Como primera hipótesis alternativa ( $H_{a1}$ ) se planteó que existe interacción entre el factor horizonte y el factor temperatura. La segunda hipótesis alternativa ( $H_{a2}$ ) establecía que existe efecto por horizonte, y la tercera, que existe efecto por temperatura.

$$\begin{array}{ll} H_{01}: (\tau\beta)_{ij}=0 & H_{a1}: (\tau\beta)_{ij}\neq 0 \\ H_{02}: \tau_i=0 & H_{a2}: \tau_i\neq 0 \\ H_{03}: \beta_j=0 & H_{a3}: \beta_j\neq 0 \end{array}$$

De acuerdo a los valores p de la Tabla D.1, se observa que no existe interacción entre los factores horizonte y temperatura, mientras que se aprecia la existencia de efectos por ambos factores, para  $\alpha=0.05$ .

**Tabla D.1 Análisis de varianza de bacterias**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	F	Valor p
Horizonte	3	0,8816667	3,7921	0,0314
Temperatura	1	1,2150000	15,6774	0,0011
Horizonte*Esterilidad	3	0,2883333	1,2401	0,3279

Las Tabla D.2 y D.3 muestran las medias de mínimos cuadrados obtenidas. La primera corresponde a las medias de los horizontes de suelo, los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a  $\alpha= 0.05$ . La segunda, corresponde a las medias del factor temperatura.

**Tabla D.2 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para bacterias (Horizonte)**

Nivel			Medias de mínimos cuadrados
H1P2	A		6,5333333
H1P1	A	B	6,4833333
H3P1	A	B	6,2166667
H2P2		B	6,0666667

**Tabla D.3 Medias de mínimos cuadrados de bacterias (Temperatura)**

Nivel	Medias de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
20°C	6,5500000	0,08036376	6,55000
35°C	6,1000000	0,08036376	6,10000

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla D.4) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla D.5). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que los valores p de la prueba O'Brien son mayores a  $\alpha = 0.05$ , la hipótesis de homogeneidad de varianzas no se rechaza.

**Tabla D.4 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de bacterias**

Prueba	Factor	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	Horizonte	1,0993	3	20	0,3725
	Temperatura	0,1104	1	22	0,7428

Por su parte, el valor p (0.4311) de la prueba Shapiro-Wilk es mayor a  $\alpha = 0.05$ , por lo que la hipótesis nula no se rechaza, es decir, los datos pertenecen a una distribución normal.

**Tabla D.5 Ajuste de los residuales de bacterias a una normal**

<b>Parámetro</b>	<b>Estimado</b>	<b>Prueba Shapiro-Wilk</b>	
		<b>W</b>	<b>Valor p</b>
Media	-1,11e-15		
Varianza	0,2321918	0,959633	0,4311

### Anexo E. Análisis estadísticos de *Pseudomonas aeruginosa*

Se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existían diferencias entre las medias del conteo de *Pseudomonas aeruginosa* en los horizontes de suelo ( $\mu_i$ ). En la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) se planteó que al menos una media del conteo de *Pseudomonas aeruginosa* era diferente.

$$H_0 = \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_a = \mu_i \neq \mu_j$$

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla E.1, no se rechaza la hipótesis nula para  $\alpha=0.05$ , es decir, las medias son estadísticamente iguales.

**Tabla E.1 Análisis de varianza para los datos de concentración de carbono**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Horizonte	3	0,22000000	0,073333	0,8889
Error	8	0,66000000	0,082500	<b>Valor p</b>
Total	11	0,88000000		0,4872

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla E.2) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla E.3). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que el valor p (0.3905) de la prueba O'Brien es mayor al  $\alpha=0.05$ , la hipótesis nula no se rechaza, es decir, las varianzas son homogéneas.

**Tabla E.2 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de la concentración de carbono**

Prueba	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	1,1380	3	8	0,3905

La prueba Shapiro-Wilk plantea la hipótesis nula de que los datos proceden de una distribución normal. Dado que valor p (0.1045) es mayor al  $\alpha= 0.05$ , esta hipótesis no se rechaza.

**Tabla E.3 Ajuste de los residuales de la concentración de carbono a una normal**

<b>Parámetro</b>	<b>Estimado</b>	<b>Prueba Shapiro-Wilk</b>	
		<b>W</b>	<b>Valor p</b>
media	-2,22e-16		
varianza	0,244949	0,885954	0,1045

## Anexo F. Análisis estadísticos de biomasa microbiana

Se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existían diferencias entre las medias de la concentración de carbono microbiano en los horizontes de suelo ( $\mu_i$ ). En la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) se propuso que al menos una media de la concentración de carbono microbiano era diferente.

$$H_0 = \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_a = \mu_i \neq \mu_j$$

De acuerdo al valor p obtenido de la Tabla F.1, se rechaza la hipótesis nula para  $\alpha=0.05$ , es decir, al menos una media de la concentración de carbono microbiano es diferente.

**Tabla F.1 Análisis de varianza para los datos de concentración de carbono**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Horizonte	3	1,0420617	0,347354	15,7678
Error	7	0,1542050	0,022029	<b>Valor p</b>
Total	10	1,1962667		0,0017

La Tabla F.2 muestra las medias de mínimos cuadrados obtenidas de la prueba de Tukey. Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes a un  $\alpha=0.05$ .

**Tabla F.2 Medias de mínimos cuadrados de la prueba de Tukey para los datos de concentración de carbono**

Nivel				Medias de mínimos cuadrados
H1P1	A			0,96826667
H1P2	A	B		0,88750000
H3P1		B	C	0,46626667
H2P2			C	0,22650000

Además, se probaron la igualdad de varianzas (Tabla F.3) y el ajuste de los residuales a una normal (Tabla F.4). La independencia se asume debido a la aleatorización de las mediciones.

Debido a que el valor p (0.4456) de la prueba O'Brien es mayor al  $\alpha=0.05$ , la hipótesis nula no se rechaza, es decir, las varianzas son homogéneas.

**Tabla F.3 Prueba de igualdad de varianzas de los residuales de la concentración de carbono**

Prueba	F	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor p
O'Brien	0,9277	2	6	0,4456

La prueba Shapiro-Wilk plantea la hipótesis nula de que los datos proceden de una distribución normal. Dado que valor p (0.3852) es mayor al  $\alpha=0.05$ , esta hipótesis no se rechaza.

**Tabla F.4 Ajuste de los residuales de la concentración de carbono a una normal**

Parámetro	Estimado	Prueba Shapiro-Wilk	
		W	Valor p
Media	7,57e-18		
Varianza	0,1241793	0,927405	0,3852