



TÍTULO:

“Secuencia didáctica completa para enseñanza de contenidos sobre la evaluación de la remoción aerobia de fármacos en suelos, a partir de la determinación de la respiración microbiana, utilizando Oxitop®”.

Autores:

Dra. Lucy Natividad Mora Palomino, Dra. Blanca Lucia Prado Pano, Dra. Margarita Erna Caballero Miranda.

Entidades participantes: Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Instituto de Geofísica de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Esta obra está bajo una licencia Creative Commons

Creative Commons Atribución, No comercial Código Legal:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>. (CC-BY-NC)

D. R., ©, 2024, UNAM – CC-BY-NC

Asignaturas:

Degradación y contaminación de suelos, Posgrado en Ciencias de la Tierra. Semestre: primero/segundo. Clave: 64430

Química ambiental de suelos, Posgrado en Ciencias de la Tierra. Semestre: primero/segundo. Clave: 64541

Materia orgánica del suelo y sus funciones en el medio ambiente, Posgrado en Ciencias de la Tierra. Semestre: primero/segundo. Clave: 64497

Se agradece al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica. DGAPA PAPIIT. Clave BV200122. AELT – Efectos del cambio global y climático sobre la limnología y biodiversidad acuática.

Para citar el documento:

[Mora Palomino, L., Prado Pano, B., & Caballero Miranda, M. (2024). Secuencia didáctica completa para la enseñanza de contenidos sobre la evaluación de la remoción aerobia de fármacos en suelos, a partir de la determinación de la respiración microbiana, utilizando Oxitop®. Universidad Nacional Autónoma de México].

Justificación:

La evaluación de la remoción de fármacos en suelos es un tema crucial debido a su impacto en la **calidad ambiental** y la **salud pública**. Es fundamental que los estudiantes comprendan los procesos implicados en esta remoción, ya que ellos desempeñan un papel clave en la depuración natural de contaminantes. La utilización del OxiTop®, para medir la respiración del suelo, ofrece una herramienta práctica que permite a los estudiantes aplicar conceptos teóricos en un entorno experimental, **fortaleciendo sus competencias** en el conocimiento y la evaluación de la remoción aerobia de contaminantes.

Problema pedagógico:

Los fármacos se han detectado mayoritariamente en las aguas superficiales y efluentes sanitarios, pero también se han constatado en **aguas subterráneas, abonos, suelos y otras matrices medioambientales**. Se han detectado más de 600 sustancias farmacéuticas activas (o sus metabolitos y productos de transformación) en el medio ambiente que pertenecen a distintos grupos terapéuticos como: antibióticos, analgésicos, medicamentos para la reducción de lípidos, beta-bloqueadores, medios de contraste de rayos X, estrógenos sintéticos, etc.

En este contexto, es fundamental que los estudiantes comprendan los mecanismos de remoción de estos fármacos en el suelo, especialmente aquellos mediados por microorganismos y bajo condiciones aerobias, ya que el suelo actúa como un filtro natural. Para enfrentar este desafío, es necesario **capacitar a los estudiantes** en el uso de herramientas que permitan evaluar la remoción de estos contaminantes, como el **OxiTop®**, y fortalecer su capacidad para interpretar resultados que contribuyan a una mayor comprensión y manejo de este problema ambiental global.

Propuesta metodológica:

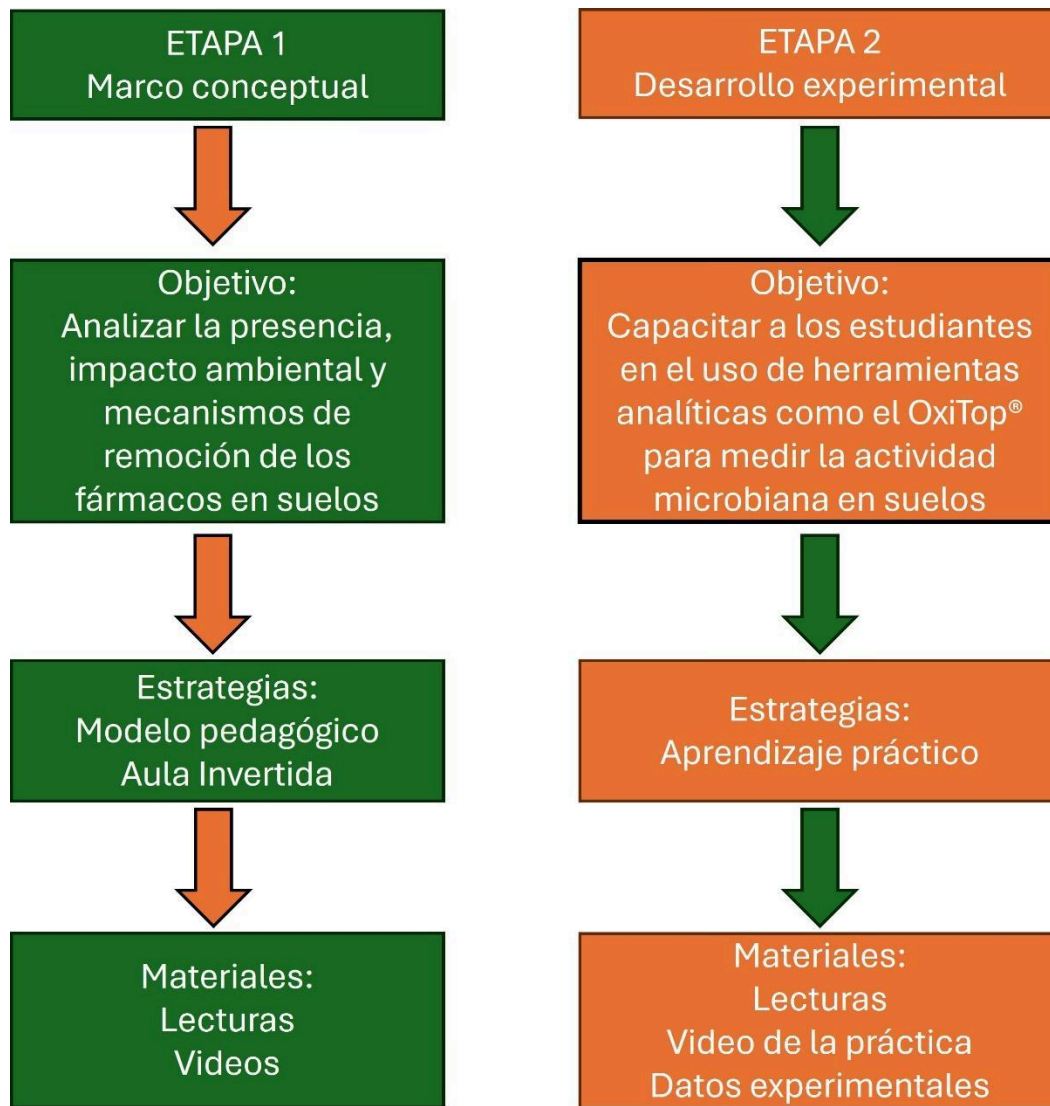


Figura 1. Lucy Mora Palomino. 2024. Tipo de figura: Diagrama. Propuesta metodológica.

Con esta propuesta didáctica, se espera que los estudiantes aprendan una aplicación metodológica para entender los procesos naturales que pueden explicar el destino de los fármacos en el ambiente, específicamente lo que sucede en el suelo con el uso del sistema **OxiTop®** (Figura 2). El sistema OxiTop® se usa para evaluar la remoción de fármacos en suelos midiendo

la variación de presión causada por la actividad microbiana. Es útil en estudios de contaminación y biorremediación de suelos.

Se espera que esta metodología no solo incremente el conocimiento técnico de los estudiantes, sino que también fomente su **capacidad crítica** para abordar problemas ambientales contemporáneos.

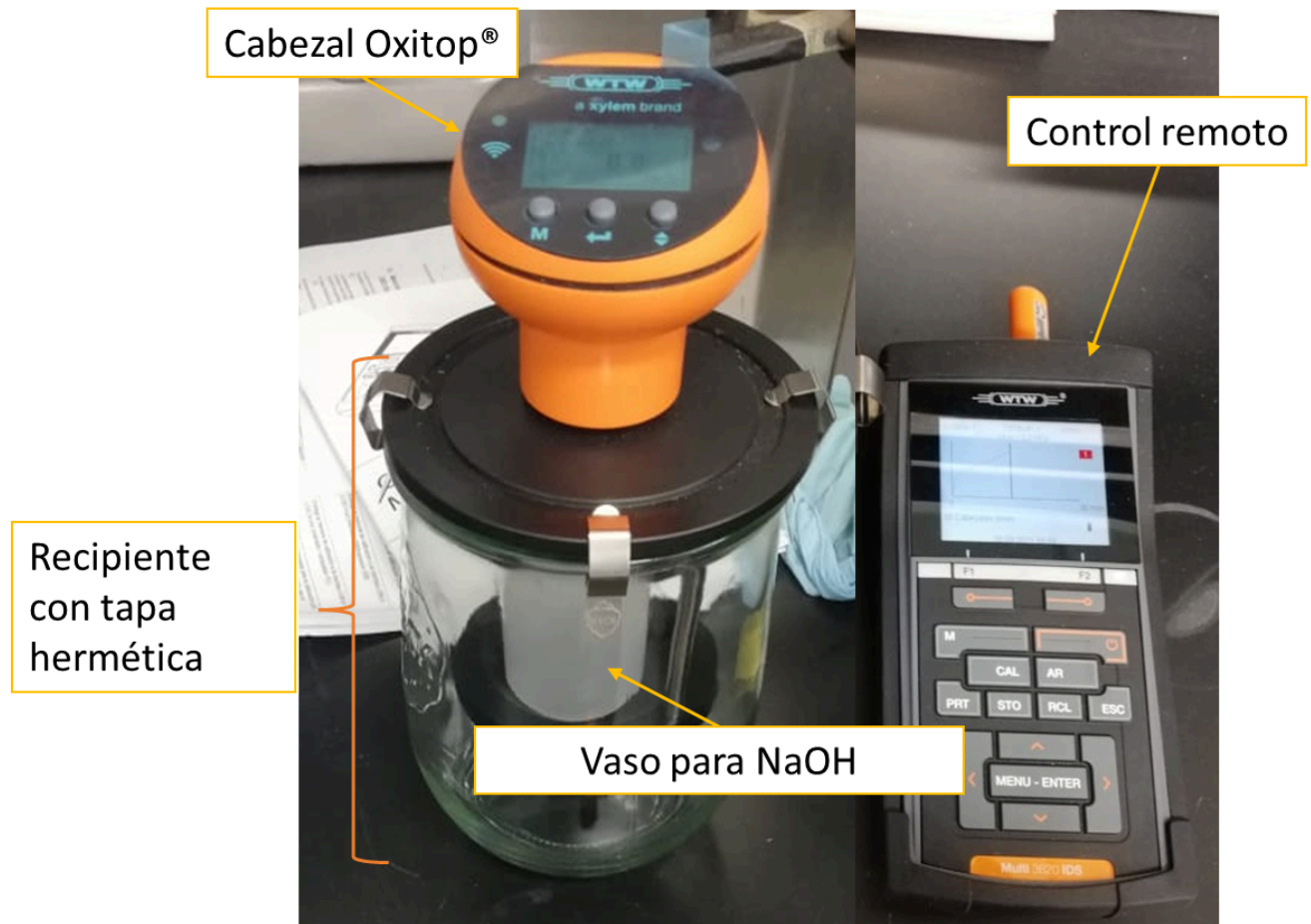


Figura 2. Suhaila E. Díaz Valencia. 2024. Imagen. Componentes del sistema Oxitop®.

Etapas 1: Marco conceptual

El suelo como lugar de llegada de los fármacos

El suelo es la capa superficial de la corteza terrestre compuesta por una mezcla de minerales, materia orgánica, aire, y agua. Es un medio dinámico que sirve como soporte para la vida vegetal, influenciado por diversos procesos físicos, químicos y biológicos. Su formación es el resultado de la descomposición de rocas y la acumulación de materia orgánica a lo largo del tiempo, y está dividido en diferentes horizontes que varían en composición y estructura (Sposito, 2016; Brady y Weil, 2017).

Los compuestos en el suelo sufren una serie de procesos físicos y químicos que influyen en su movilidad, biodisponibilidad y degradación. Entre los procesos físicos, la adsorción y desorción controlan cómo los compuestos se adhieren o liberan de las partículas del suelo, mientras que la filtración y dispersión determinan su movimiento a través de los poros del suelo. Además, algunos compuestos pueden evaporarse o volatilizarse en la superficie. En cuanto a los procesos químicos, las reacciones de oxidación y reducción cambian el estado químico de los compuestos, dependiendo de la presencia de oxígeno. La hidrólisis y las reacciones ácido-base afectan la descomposición y solubilidad de los compuestos, especialmente en suelos con pH extremos. Los procesos de complejación y precipitación pueden formar complejos con minerales o materia orgánica, reduciendo su movilidad. En conjunto, estos procesos físicos y químicos juegan un papel crucial en la degradación de contaminantes y nutrientes en el suelo, influyendo en la salud del ecosistema y la productividad agrícola (Nannipieri y Badalucco, 2003; Sparks, 2003).

Los fármacos llegan al suelo principalmente a través de fuentes como el uso de lodos de depuradora en la agricultura, el riego con aguas residuales tratadas o sin tratar (Figura 3), la aplicación de fertilizantes orgánicos y la disposición incorrecta de residuos farmacéuticos. De acuerdo con la literatura, los principales procesos que influyen en la movilidad de fármacos en el suelo son la adsorción-desorción y la degradación. La adsorción se ve favorecida cuando el suelo tiene una mayor capacidad de intercambio catiónico y mayor contenido de materia orgánica y arcillas

(Lees et al., 2016; Gworek et al., 2021), pero también puede verse afectada por la presencia de otros compuestos que compiten por los sitios de adsorción disponibles (Dalkmann et al., 2014). En el caso de la degradación, puede ocurrir por hidrólisis o fotólisis, pero el proceso que predomina es el de la biodegradación (Thiele-Bruhn, 2003; Gworek et al., 2021). Este proceso resulta más eficiente cuando ocurre en condiciones aerobias (Carr et al., 2011; Maier y Gentry, 2015).

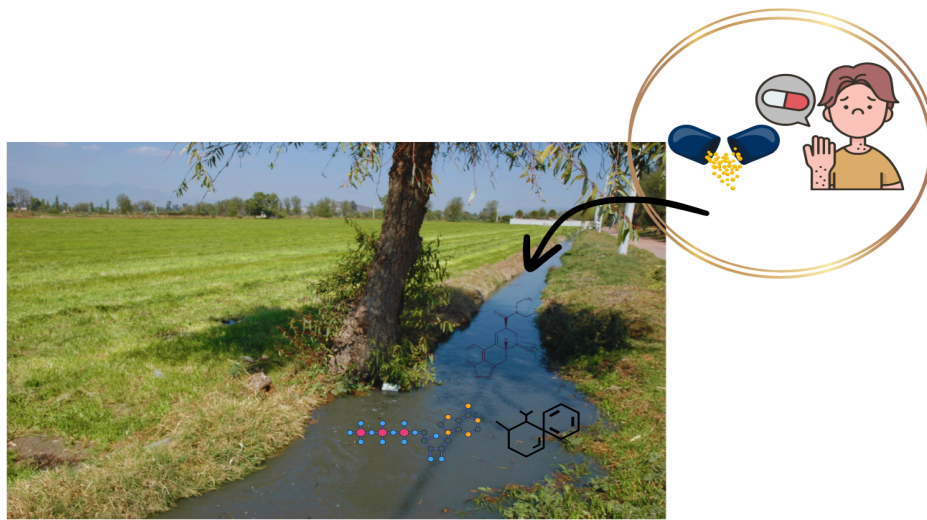


Figura 3. Lucy Mora Palomino. 2024. Llegada de fármacos a los suelos agrícolas por el riego con aguas residuales.

Importancia de los fármacos

Los fármacos representan un avance importante en la medicina moderna como apoyo a diferentes problemas que son de interés de salud pública. Se conocen más de 4000 compuestos fármacos sintéticos que son prescritos con y sin receta médica en humanos y animales. Los fármacos son utilizados para control de diferentes enfermedades en los seres vivos, y ya que son diseñados para causar efectos farmacológicos en ellos, es de esperarse que su diseminación pueda impactar diferentes sistemas vivos en el ambiente. Esta es una de las razones por las cuales cada vez se incrementan los estudios de presencia de estos compuestos en matrices como agua y suelo.

El estudio de la presencia de fármacos tanto en el agua como en el suelo representa un gran reto, ya que se enfrentan a miles de tipos de

compuestos químicos y un espectro de condiciones en donde estos se movilizan. En este sentido, conocer la interacción entre el fármaco y el medio ambiente es una tarea importante que atender para poder evaluar los riesgos potenciales a largo plazo de la presencia de estos compuestos.

Se conocen diferentes rutas de movilidad de los fármacos. La más reconocida es a través del agua residual en los sitios urbanos. Después de pasar por el cuerpo, los fármacos son eliminados en su forma activa o forma metabolizada para después migrar a diferentes lugares del medio ambiente a través de las aguas residuales municipales que recogen una gran cantidad de fármacos que son eliminados en hogares y hospitales. Otra ruta es a través de los abonos orgánicos o estiércoles que se elaboran de áreas pecuarias que utilizan gran cantidad de fármacos veterinarios y que son dispersados a través del suelo.

Identificar las rutas de movilidad de los fármacos en el medio ambiente es muy complejo, en ese sentido es necesario identificar fármacos de mayor demanda y evaluar la interacción con los diferentes compartimentos. La pandemia del Covid-19 fue una oportunidad de trabajar en esta dirección, ya que los tratamientos involucraron de manera generalizada el uso de la ivermectina (IVE), azitromicina (AZI) y dexametasona (DEX), compuestos que llegan al sistema de alcantarillado a través de las deposiciones de los pacientes (Durán-Álvarez et al., 2023).

Determinación de la respiración del suelo

La determinación de la respiración del suelo es un atributo valioso, ya que la actividad biológica del suelo es sensible al manejo, contaminación o cualquier perturbación externa.

La respiración del suelo está controlada por la actividad de las comunidades biológicas del suelo. En este sentido, la actividad depende de cada tipo de suelo, y también, se ve limitada por la disponibilidad de las fuentes de C lábil (Aldén et al., 2001), que normalmente se relaciona con compuestos fácilmente degradables que llegan al suelo.

El método para evaluar la respiración de suelo consiste en cuantificar el CO₂ generado en frascos cerrados durante diferentes períodos de tiempo, ya sea por cromatografía de gases (Dutta et al., 2015), o mediante un equipo especial para medir el intercambio de gases (Mazzetto et al., 2016)

o el método Isemeyer (Anderson, 1982), en donde el CO₂ se absorbe en una solución de NaOH, que posteriormente es valorada con BaCl₂.

Procedimiento

Realizar las siguientes lecturas:

Gworek, B., Kijeńska, M., Wrzosek, J., Graniewska, M. (2021). Pharmaceuticals in the soil and plant environment: a review. Water, Air, & Soil Pollution, 232(4), 145. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04954-8>

Frank Andreas, W., Beek, T., Bergmann, A., Carius, A., Grüttner, G., Hickmann, S. (2014). Fármacos en el medio ambiente-la perspectiva global: incidencia, efectos y acción cooperativa potencial bajo el SAICM [Internet]. Wörlitzer Platz: German Environment Agency. https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikation/en/farmacos_en_el_medio_ambiente.pdf

Ver el siguiente video relacionado con la presencia de fármacos en el ambiente:

Safer Pharma, Health Care Without Harm Europe (2017). Pharmaceuticals in the environment. <https://www.youtube.com/watch?v=IAc4qExVGNg>

Desarrollar un informe de dos o tres cuartillas que aborde las siguientes preguntas:

- ¿Cuáles son las principales fuentes de contaminación de fármacos en el ambiente del suelo y cómo se liberan estas sustancias?
- ¿Por qué existe una creciente presencia de los fármacos en el medio ambiente?
- ¿Qué riesgos implican a los seres humanos la llegada de fármacos al medio ambiente?
- ¿Qué factores afectan la movilidad y la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos en los suelos?
- ¿Qué estrategias de remediación se mencionan en las lecturas para reducir la presencia de productos farmacéuticos en el suelo y agua?

- ¿Cuáles son las medidas mencionadas en el video que permitirían a las industrias farmacéuticas reducir la problemática actual?

Resultados a entregar de la actividad

1. Entrega de informe con las respuestas a las preguntas.

Referencias

Gworek, B., Kijeńska, M., Wrzosek, J., Graniewska, M. (2021). Pharmaceuticals in the soil and plant environment: a review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(4), 145.

Frank Andreas, W., Beek, T., Bergmann, A., Carius, A., Grüttner, G., Hickmann, S. (2014). *Fármacos en el medio ambiente-la perspectiva global: incidencia, efectos y acción cooperativa potencial bajo el SAICM* [Internet]. Wörlitzer Platz: German Environment Agency.

Etapas 2: Desarrollo experimental

Se evaluará la respiración del suelo como un indicador de la remoción de los fármacos del suelo. De esta manera, se trata de entender la dinámica de los fármacos en este sistema.

Se propone conocer la metodología para evaluar el proceso de respiración en el suelo utilizando un dispositivo OxiTop®. A partir de los datos experimentales obtenidos con esta metodología, el estudiante será capaz de calcular la respiración del suelo y con esto poder inferir los procesos relacionados con la degradación de los fármacos en el suelo.

Principio de funcionamiento del OxiTop®. Análisis instrumental

El análisis de la respiración utilizando el OxiTop® se basa en el principio de que todos los compuestos orgánicos (materia orgánica) se degradan gracias a la presencia de organismos. En el proceso de respiración se consume O_2 y se libera CO_2 .

En el suelo el proceso de degradación se lleva a cabo por acción de las bacterias principalmente, por lo tanto, la degradabilidad de un compuesto y el impacto de este sobre la actividad microbiana en el suelo se puede determinar mediante los cambios en la respiración del suelo. Este proceso se refiere a los procesos metabólicos que realizan los organismos del suelo bajo condiciones aerobias, en donde van consumiendo oxígeno (O_2) y van produciendo dióxido de carbono (CO_2) durante la descomposición y mineralización de la materia orgánica.

Una forma de evaluar este proceso es mediante los cambios de presión en la atmósfera de un recipiente herméticamente cerrado, así como también, mediante la captura de dióxido de carbono en una solución alcalina (Maier y Gentry, 2015).

El efecto de los fármacos en la respiración del suelo se propone evaluar utilizando un sistema OxiTop®, el cual está conformado por un cabezal de medición de presión, un recipiente hermético con accesorios y un control remoto (se describe a continuación).

El principio de la determinación manométrica de oxígeno se basa en que los microorganismos consumen oxígeno (O_2) y al mismo tiempo van produciendo dióxido de carbono (CO_2). Cuando esto ocurre en un recipiente herméticamente sellado a una temperatura constante, el CO_2 producido queda atrapado en una solución básica (hidróxido de sodio) y en paralelo se genera una presión negativa, la cual es medida y almacenada por el cabezal de medición del dispositivo OxiTop® durante el periodo de medición programado (Platen y Wirtz, 1999).

Descripción del dispositivo de medición

¿Qué es un dispositivo OxiTop®?

Es un sistema moderno de medición respirométrica, que permite medir el cambio de presión dentro del sistema, debido al cambio de contenido de oxígeno y la absorción simultánea del CO_2 producido por la respiración con tableta de NaOH.

Componentes del sistema

- Cabezales o medidores de presión.

Los cabezales representan el corazón del sistema, ya que integran el sensor de medición de cambio de presión debido al consumo de O_2 en el sistema. Existen diferentes tipos de cabezales, de acuerdo con el modelo y la aplicación.



Figura 4. Manual de operación del OxiTop®. 2024. Imagen. Cabezal para medir respiración de suelo (izquierda) y cabezal para medir demanda química de oxígeno (DQO) en agua (derecha).

- Contenedores de la muestra

Existen diferentes tamaños y calidades de contenedores, cuya selección depende del tipo de aplicación.



Figura 5. Manual de operación del OxiTop®. 2024. Imagen. Contenedores para medir respiración de suelo (izquierda) y contenedores para medir DQO en agua (derecha).

- Controlador del sistema

El controlador es el dispositivo que permite recibir la información que obtiene el cabezal y evaluar su comportamiento a través del tiempo.



Figura 6. Manual de operación del OxiTop®. 2024. Imagen. Controlador electrónico del cabezal del sistema.

Ecuaciones representativas para la evaluación de la respiración y remoción aerobia de contaminantes del suelo

La correlación entre el cambio de presión y el oxígeno consumido se basa en la ecuación general de los gases (Ecuación 1), demostrando que, con el volumen del recipiente y la temperatura constantes, un cambio en la presión registrada se puede atribuir a un cambio en la cantidad de oxígeno presente en el aire del recipiente:

$$\Delta p = \frac{\Delta n R' T}{V} \quad [\text{Ecuación 1}]$$

Donde:

" Δp " es la variación de presión (hPa),

" Δn " es la variación de oxígeno (mol),

" R' " es una constante de los gases ideales (hPa · L / mol · K),

" T " es la temperatura (K) y

" V " es el volumen del recipiente (L).

Posteriormente, la respiración del suelo en términos de oxígeno consumido se calcula aplicando la siguiente ecuación:

$$BA = \frac{M_{O_2} V_L p}{RT m_s} \text{ [Ecuación 2]}$$

Donde:

“BA” es la respiración del suelo (mgO₂/kg de suelo seco),

“MO₂” es la masa molar del oxígeno (32000 mg/mol),

“VL” es el volumen de aire (L) contenido en el frasco (Ecuación 3),

“Δp” es el cambio de presión medido (mbar),

“R” es la constante del gas (83.14 L*mbar/mol*K),

“T” es la temperatura (K), y

“ms” es la masa de suelo seco utilizada en el experimento (kg).

Para determinar el volumen de aire disponible en el frasco se aplica la ecuación 3:

$$V_L = V_b - V_{va} - V_{NaOH} - V_{suelo} \text{ [Ecuación 3]}$$

Donde:

“VL” es el volumen de aire disponible (L),

“Vb” es el volumen del frasco (~0.96 L),

“Vva” es el volumen característico del vaso contenedor de absorbente (0.01 L),

“VNaOH” es el volumen de hidróxido de sodio utilizado (0.05 L) y

“Vsuelo” es el volumen del suelo utilizado.

Procedimiento para determinar la respiración de la actividad microbiana en suelos utilizando un OxiTop®

El análisis se lleva a cabo en un sistema cerrado, con una muestra de suelo biológicamente activa. Dentro del sistema el O₂ es consumido, lo que

genera una presión negativa, la cual es medida por el cabezal del OxiTop®. En paralelo, el CO₂ generado es secuestrado en un absorbente de NaOH.

El sensor del OxiTop® permite registrar y almacenar el cambio de presión durante todo el proceso, de tal manera que se puede conocer el consumo de oxígeno por la actividad microbiana.

Requerimientos para determinar la respiración:

- 1- Una muestra de suelo biológicamente activa, es decir, con humedad de campo y almacenada a 4°C para detener la actividad de los microorganismos.
- 2- Un contenedor con un volumen suficiente para satisfacer la cantidad de CO₂ generado en el proceso.
- 3- El absorbente del NaOH que debe colocarse separado de la muestra de suelo.
- 4- En caso de emisión de N₂O se puede interferir, para lo cual se recomienda utilizar un inhibidor de la desnitrificación (AllylThiolyurea).
- 5- El vaso almacenador debe mantenerse a temperatura constante durante la prueba.

Procedimiento

Realizar la siguiente lectura:

Malińska, K. (2016). Application of a modified OxiTop® respirometer for laboratory composting studies. Archives of Environmental Protection. <https://doi.org/10.1515/aep-2016-0007>

Desarrollar un informe de una cuartilla donde responda las siguientes preguntas:

- Explique cómo la modificación del respirometro OxiTop® mejora la medición de la tasa de consumo de oxígeno en estudios de laboratorio.
- ¿Cuáles son las limitaciones del uso de un sistema de respirometría cerrado como el OxiTop® en comparación con otros métodos respirométricos?

- Identifica posibles áreas de investigación futura que podrían derivarse de este estudio. ¿Qué preguntas quedaron sin respuesta y cómo podrían abordarse en estudios futuros?
- ¿De qué otra manera se puede realizar un experimento de respiración en el suelo?

Resultados a entregar de la actividad

1. Entrega de informe con las respuestas a las preguntas.
2. Discutir en clase los principales aspectos del uso del OxiTop®

Experimento de respiración utilizando fármacos

Práctica: Estudio de la influencia de fármacos en la respiración del suelo

Objetivos

General:

- Comprender la importancia que tienen los suelos en la degradación de contaminantes.

Particulares:

- Analizar el impacto de contaminantes emergentes en la actividad microbiana del suelo.
- Desarrollar habilidades para el montaje y seguimiento de experimentos de laboratorio.
- Aplicar principios de química del suelo y microbiología a problemas de contaminación ambiental.

Procedimiento

1. Ver el video del experimento para conocer el uso del OxiTop®
<https://www.youtube.com/watch?v=7yaDd9DmYwg>

2. Ver el siguiente video para configurar el OxiTop®

<https://youtu.be/7DqzVzKeXtQ?si=kpHuO5o0Nn9zr3jq>

3. Realizar las siguientes lecturas:

Nippes, R. P., Macruz, P. D., da Silva, G. N., Scaliante, M. H. N. O. (2021). A critical review on environmental presence of pharmaceutical drugs tested for the covid-19 treatment. Process Safety and Environmental Protection, 152, 568-582. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.06.040>

Morales-Paredes, C. A., Rodríguez-Díaz, J. M., Boluda-Botella, N. (2022). Pharmaceutical compounds used in the COVID-19 pandemic: A review of their presence in water and treatment techniques for their elimination. Science of the Total Environment, 814, 152691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152691>

Desarrollar un informe de tres cuartillas donde discuta los siguientes puntos:

- Resuma en un cuadro sinóptico el uso del OxiTop® de acuerdo con el video del experimento.
- ¿Cómo influye la presencia de fármacos usados en el tratamiento del COVID-19 en la calidad del suelo?
- Con base en las propiedades fisicoquímicas (como solubilidad, persistencia, volatilidad y estructura molecular) de los fármacos utilizados en el tratamiento del COVID-19, ¿cuál de ellos consideras que se degrada más rápidamente en suelos? Justifica tu respuesta considerando los principales procesos de degradación en suelos.
- ¿Qué riesgos presentan los residuos de fármacos de COVID-19 para la salud humana y los organismos del suelo si no se degradan completamente?

Resultados a entregar de la actividad

1. Entrega de informe con las respuestas a las preguntas.

Montaje y seguimiento del experimento

Se utilizan 100 g de suelo previamente tamizado por malla de 2 mm y se preparan 25 mL de una solución concentrada de fármacos de interés (azitromicina, ivermectina y dexametasona) en metanol, y posteriormente se forman cinco soluciones con concentraciones diferentes (50, 500, 1000, 1500 y 2000 $\mu\text{g/kg}$) preparadas en cloruro de calcio (CaCl_2) 10 mM. Se prepara una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M para la captura del CO_2 producido durante el periodo de incubación. Posteriormente se acomodan las muestras de suelo en frascos herméticos (unidades experimentales) y se humedecen hasta capacidad de campo teórica con la cantidad de solución de fármacos correspondiente y registrándose el peso de cada unidad experimental. En seguida, se coloca un vaso de precipitado con 50 mL de la solución de NaOH 1M dentro de cada recipiente, se cierra y se instala el cabezal de medición, previamente programados la cantidad de datos a guardar y el periodo de medición.

Las unidades experimentales se colocan dentro de una incubadora a una temperatura constante (25 °C), y se ajusta periódicamente el contenido de agua del suelo en cada una de las unidades experimentales utilizando la solución de CaCl_2 10 mM. Este proceso se realiza con muestras de suelo de profundidades de 0 a 10 cm con y sin cultivo, y de 20 a 30 cm con cultivo, de acuerdo con la siguiente tabla.

Tabla 1. Tratamientos evaluados en los ensayos de respiración de suelo y degradación de fármacos bajo condiciones controladas.

Tratamiento	[DAI]* ($\mu\text{g/kg}$)
C0 (Tratamiento control)	Sin adición de fármacos
C1	20
C2	200
C3	400
C4	600
C5	800

*[DAI]= Concentraciones de dexametasona (D), azitromicina (A) e ivermectina (I) añadidas al suelo

Tomando en cuenta los tiempos de vida media ($t_{1/2}$) de la carga para los compuestos evaluados, se considera un periodo de incubación de 30 días con eventos de muestreo periódicos durante los experimentos. Los frascos

permanecen cerrados entre los eventos de muestreo, y a los días 0 (tiempo cero), 1, 2, 3, 7, 10, 14, 20, 25 y 30 de incubación se realiza lo siguiente:

- Extracción de los datos recabados por cada OxiTop® correspondientes a los cambios en la presión de la atmósfera de cada unidad experimental durante el periodo de medición.
- Reemplazo de las trampas alcalinas de todos los frascos y determinación del CO_2 generado durante el periodo de medición mediante titulación de la solución de NaOH (trampas alcalinas contenidas en cada unidad experimental) con ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M y de todos los frascos en cada evento de muestreo. Para realizar la titulación leer el siguiente paso:

Preparación de la titulación:

- Transfiere la solución de NaOH (que ahora contiene carbonato de sodio, Na_2CO_3 , tras haber absorbido el CO_2) a un vaso de precipitados o matraz Erlenmeyer.
- Añade unas gotas de fenolftaleína como indicador. La solución será de color rosa si hay exceso de NaOH (básico).

Titulación con HCl:

- Utilizando una bureta, añade lentamente HCl 0.1 M a la solución de NaOH, agitando continuamente el vaso o matraz.
- La fenolftaleína cambiará de color de rosa a incolora cuando la base haya sido neutralizada (punto final).
- Registra el volumen de HCl utilizado en la titulación.

Cálculo del CO_2 :

- La cantidad de HCl necesaria para neutralizar el NaOH restante es proporcional a la cantidad de CO_2 que se absorbió durante la incubación.
- El volumen de HCl utilizado permitirá calcular la cantidad de CO_2 presente.

Al final del documento (Anexo) se muestran las gráficas de los resultados, junto con las características de los suelos utilizados para el experimento, en el ejemplo se refieren a suelos agrícolas del Valle del Mezquital muestreados a dos profundidades de 0 a 10 cm y 20 a 30 cm. (2) Los resultados de la presión del cabezal del OxiTop® y (3) los resultados del volumen de NaOH utilizado en las trampas de captura de CO₂ de cada día, en donde se incluye el volumen de BaCl₂ y HCl (0.1M) utilizados para valorar el CO₂ capturado en las trampas.

Con la base de datos determinar:

- 1- Con los datos de presión del OxiTop® obtenidos del experimento, calcular la respiración del suelo (mgO₂/kg de suelo seco) utilizando la Ecuación 2. Obtener el valor para cada tratamiento en los tiempos 0, 1, 2, 3, 7, 10, 14, 20, 25 y 30 días.
- 2- Con los datos de las trampas de NaOH, calcular la concentración de CO₂ liberado utilizando la ecuación 4:

$$CO_2 \left(\frac{mmol}{g} de\ suelo \right) = \frac{(ml\ HCl_{blanco} - ml\ HCl_{muestra})}{peso\ muestra\ de\ suelo\ (g)} * \frac{N(\frac{mmol}{ml})}{2} \quad [Ecuación\ 4]$$

Con la obtención de los resultados del consumo de oxígeno y generación de CO₂ evaluaremos el impacto que tiene la presencia de estos fármacos sobre la respiración de las comunidades microbianas del suelo. Asimismo, se determinará la tasa de degradación de los compuestos en suelos del Valle de Mezquital con los resultados de la base de datos.

La tasa de degradación de los fármacos puede expresarse a través de la gráfica Ct/C0, donde:

- Ct es la concentración del fármaco en el tiempo t.
- C0 es la concentración inicial.

Esta gráfica muestra cómo disminuye la concentración del fármaco con el tiempo, lo que permite calcular la tasa de remoción (utilizando un modelo de cinética de primer orden).

Para determinar Ct se utiliza la ecuación 5:

$$C_t = C_0 \cdot e^{-kt} \quad [Ecuación\ 5]$$

Donde:

- “Ct” es la concentración del fármaco en el tiempo t,
- “C0” es la concentración inicial del fármaco (µg/kg),
- “k” es la constante de velocidad de remoción (un parámetro que indica la rapidez con que el fármaco se degrada) (1/día),
- “t” es el tiempo (días) y
- “e” es la base del logaritmo natural (aproximadamente 2.718).

Para calcular la constante de velocidad de remoción k, utilizamos como base la ecuación de cinética de primer orden (ecuación 5).

Primero, tomamos el logaritmo natural de ambos lados de la ecuación, obteniendo: $\ln(Ct)=\ln(C0)-k \cdot t$, lo que permite linealizar los datos.

Luego, graficamos $\ln(Ct)$ en función del tiempo t y ajustamos una línea recta a los datos experimentales. La pendiente de esta recta es igual a $-k$, por lo que el valor de k se calcula como:

$$k = - \frac{\Delta \ln(Ct)}{\Delta t} \text{ [Ecuación 6]}$$

siendo $\Delta \ln(Ct)$ el cambio en el logaritmo natural de la concentración y Δt el intervalo de tiempo correspondiente.

Procedimiento

Con la información presentada en la base de datos calcular:

1. La respiración del suelo.
2. Concentración liberada de CO₂
3. Tasa de remoción de los fármacos utilizados.

Mencionar en qué casos se lleva a cabo mayor remoción de fármacos, fundamente sus afirmaciones.

Entregar un reporte de dos cuartillas con esta información.

Intervención del docente

El docente facilitará la reflexión, fomentará la búsqueda de soluciones, promoverá el intercambio de ideas, estimulará el trabajo colaborativo y guiará a los estudiantes en el logro de los objetivos de aprendizaje planteados.

Productos para entregar por parte de los estudiantes

1. Informe de las lecturas y video del marco conceptual dando respuesta a las preguntas planteadas.
2. Reporte de la lectura sobre el uso práctico del OxiTop® dando respuesta a las preguntas.
3. Cuadro sinóptico del video experimental de la práctica de laboratorio y el informe de los fármacos utilizados en el tratamiento del COVID-19 dando respuesta a las preguntas planteadas.
4. Presentación de resultados de la práctica sobre el uso del OxiTop® utilizando la base de datos proporcionada.

Evaluación de las actividades

Tabla 2. Evaluación de las actividades a realizar por los estudiantes.

Actividades	Aspectos para evaluar	Puntos de la evaluación	¿Cumplió con la actividad?		Observaciones
			Si	No	
1	Entregó informe del marco conceptual dando respuesta a todas las preguntas	15			
2	Realizó la lectura y el informe sobre el uso del OxiTop®	15			
3	Discutió en clase y aportó ideas sobre la importancia del uso del OxiTop®	15			
4	Vio el video del experimento de laboratorio y entregó el reporte	15			
5	Entregó el informe del experimento de laboratorio usando la base de datos	40			

Referencias

Aldén, L., Demoling, F., Baath, E. (2001). Rapid method of determining factors limiting bacterial growth in soil. *Applied and environmental microbiology*, 67(4), 1830-1838.
<https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1830-1838.2001>

Anderson, J. P. (1982). Soil respiration. *Methods of soil analysis: part 2 chemical and microbiological properties*, 9, 831-871.
<https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c41>

Brady, N. C., Weil, R. R. (2017). *The Nature and Properties of Soils* (15th ed.). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall. <https://doi.org/10.2136/sssaj2016.0005br>

Carr, D. L., Morse, A. N., Zak, J. C., & Anderson, T. A. (2011). Biological degradation of common pharmaceuticals and personal care products in soils with high water content. *Water, Air, & Soil Pollution*, 217, 127-134.
<https://doi.org/10.1007/s11270-010-0573-z>

Dalkmann, P., Siebe, C., Amelung, W., Schlöter, M., Siemens, J. (2014). Does long-term irrigation with untreated wastewater accelerate the dissipation of pharmaceuticals in soil?. *Environmental science & technology*, 48(9), 4963-4970.
<https://doi.org/10.1021/es501180x>

Durán-Álvarez, J. C., Prado, B., Zanella, R., Rodríguez, M., Díaz, S. (2023). Wastewater surveillance of pharmaceuticals during the COVID-19 pandemic in Mexico City and the Mezquital Valley: A comprehensive environmental risk assessment. *Science of The Total Environment*, 900, 165886. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165886>

Dutta, T., Stehouwer, R. C., Dell, C. J. (2015). Linking organic carbon, water content, and nitrous oxide emission in a reclaimed coal mine soil. *Land Degradation & Development*, 26(6), 620-628. <https://doi.org/10.1002/ldr.2333>

Frank Andreas, W., Beek, T., Bergmann, A., Carius, A., Grüttner, G., Hickmann, S. (2014). Fármacos en el medio ambiente-la perspectiva global: incidencia, efectos y acción cooperativa potencial bajo el SAICM [Internet]. Wörlitzer Platz: German Environment Agency. https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/farmacos_en_el_medio_ambiente.pdf

Gworek, B., Kijeńska, M., Wrzosek, J., Graniewska, M. (2021). Pharmaceuticals in the soil and plant environment: a review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(4), 145. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04954-8>

Lees, K., Fitzsimons, M., Snape, J., Tappin, A., Comber, S. (2016). Pharmaceuticals in soils of lower income countries: Physico-chemical fate and risks from wastewater irrigation. *Environment International*, 94, 712-723. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.06.018>

Platen, H., & Wirtz, A. (1999). Application report soil respiration in carbonate-rich soils.

Maier, R. M., Gentry, T. J. (2015). Microorganisms and organic pollutants. In *Environmental microbiology*. 377-413. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00017-X>

Malińska, K. (2016). Application of a modified OxiTop® respirometer for laboratory composting studies. *Archives of Environmental Protection*. <https://doi.org/10.1515/aep-2016-0007>

Mazzetto, A. M., Feigl, B. J., Cerri, C. E. P., Cerri, C. C. (2016). Comparing how land use change impacts soil microbial catabolic respiration in Southwestern Amazon. *Brazilian journal of microbiology*, 47(1), 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.025>

Morales-Paredes, C. A., Rodríguez-Díaz, J. M., Boluda-Botella, N. (2022). Pharmaceutical compounds used in the COVID-19 pandemic: A review of their presence in water and treatment techniques for their elimination. *Science of the Total Environment*, 814, 152691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152691>

Nannipieri, P., Badalucco, L. (2003). Processes in the soil-plant system: modelling concepts and applications. *Eur J Soil Sci* 54:655–670.

Nippes, R. P., Macruz, P. D., da Silva, G. N., Scaliante, M. H. N. O. (2021). A critical review on environmental presence of pharmaceutical drugs tested for the covid-19 treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, 152, 568-582. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.06.040>

Sparks, D.L. (2003). Environmental soil chemistry: An overview. *Environmental soil chemistry*, 2, 1-42. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02455-6>

Sposito, G. (2016). *The Chemistry of Soils* (3rd.). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780190630881.001.0001>

Thiele-Bruhn, S. (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review. *Journal of plant nutrition and soil science*, 166(2), 145-167. <https://doi.org/10.1002/jpln.200390023>

Xylem Analytics Germany GmbH. (2019). OxiTop®-i / OxiTop®-IDS: Manual de operación. Cabezales de medición para la determinación de DBO (procedimiento de prueba respirométrica) (Versión ba77059e01, marzo 2019). <https://www.manualslib.com/manual/2599727/Xylem-Wtw-Oxitop-I.html>

Esta obra está bajo una licencia Creative Commons Attribution, CC-BY-NC



Secuencia didáctica completa para enseñanza de contenidos sobre la evaluación de la remoción aerobia de fármacos en suelos, a partir de la determinación de la respiración microbiana, utilizando Oxitop®. © 2024 by Lucy Mora Palomino, Blanca Prado Pano, Margarita Caballero Miranda.

Agradecimientos

Agradecemos a la M.I. Suhaila E. Díaz Valencia, por proveer contenido para la realización de este material.

Al Dr. en C.T. Francisco Robert Alexander Ziegler Rivera, por la revisión de este material.

Se agradece a la unidad de comunicación del Instituto de Geología de la UNAM a cargo del Mtro. Jesús Aceves Romero, y al Lic. Alfredo Miguel Sánchez, por la grabación y edición del video de la práctica para el uso del Oxitop®.

Al proyecto CF-2023-I-1846 del CONAHCYT

ANEXO

Características de los suelos

Parámetro	Profundidad (cm)		
	0 – 10 cm (PARIO)	0 – 10 (PIPETA)	20 – 30 (PIPETA)
Fecha de toma	sep-21	ene-22	
Cultivo	Sin cultivo	Alfalfa establecida	
Textura	Arcillosa		
Arcilla (%)	10.3	43.9	43.9
Limo (%)	72.9	38.1	37.8
Arena (%)	16.7	18.0	18.3
Carbono Total (%)	2.3	2	2
Carbono orgánico (%)	2.23	2.06	1.98
Nitrógeno total (%)	0.2	0.2	0.2

pH	6.8	6.8	6.9
Conductividad Eléctrica (mS/cm)	575	556	415
CEC (cmol/kg)	34.13	29.63	29.61
Ca	18.8	16.2	16.1
Mg	10.4	9.2	9.7
K	2.1	1.9	1.7
Na	2.4	2	2
Al	0.1	0.02	0.04
Ca	23.2	21.7	23.3
Mg	11.2	9.9	10.3
K	2.7	2.3	2.1
Na	2.3	2.7	2.7

Datos de las trampas de NaOH

ID	Día	Vol NaOH (mL)	BaCl2 añadido (mL)	Vol HCl añadido (mL)	Manual (mg CO2/gss*día)
Blanco	NA	50	20	52.06	
C0	1	50	20	54.37	0.150
C1	1	50	20	51.22	0.055
C2	1	50	20	51.52	0.035
C3	1	50	20	51.22	0.055
C4	1	50	20	51.02	0.068
C5	1	50	20	51.42	0.042
C0	2	50	20	52.13	0.005
C1	2	50	20	51.82	0.016
C2	2	50	20	51.68	0.025
C3	2	50	20	52.04	0.001
C4	2	50	20	51.86	0.014
C5	2	50	20	51.91	0.010
Blanco	3	50	20	50.79	
C0	3	50	20	51.43	0.045
C1	3	50	20	50.39	0.028
C2	3	50	20	50.45	0.024
C3	3	50	20	50.5	0.021
C4	3	50	20	50.53	0.018
C5	3	50	20	50.39	0.028
Blanco	7	50	20	50.93	
C0	7	50	20	50.7	0.004
C1	7	50	20	50.77	0.003
C2	7	50	20	50.29	0.012
C3	7	50	20	50.54	0.007
C4	7	50	20	50.23	0.013
C5	7	50	20	49.95	0.018
Blanco	10	50	20	51.36	
C0	10	50	20	52.01	0.016
C1	10	50	20	52.26	0.023
C2	10	50	20	50.98	0.010
C3	10	50	20	51.33	0.001
C4	10	50	20	50.95	0.010
C5	10	50	20	51.47	0.003
Blanco	14	50	20	50.56	
C0	14	50	20	50.67	0.002
C1	14	50	20	50.85	0.006
C2	14	50	20	50.33	0.005
C3	14	50	20	50.66	0.002
C4	14	50	20	50.56	0.000
C5	14	50	20	50.7	0.003
Blanco	20	50	20	51.39	
C0	20	50	20	50.03	0.017
C1	20	50	20	50.49	0.012
C2	20	50	20	50.65	0.009
C3	20	50	20	50.07	0.017
C4	20	50	20	50.3	0.014
C5	20	50	20	50.17	0.016

Emisión acumulada de CO₂

Emisión acumulada de CO ₂ (mgsuelo g ⁻¹)						
Día	C0	C1	C2	C3	C4	C5
0	0	0	0	0	0	0
1	0.487	0.501	0.583	0.516	0.572	0.505
2	0.655	0.527	0.633	0.652	0.581	0.635
3	0.699	0.529	0.677	0.791	1.016	1.405
7	0.771	0.592	0.798	0.936	1.117	1.574
10	0.793	0.693	0.904	1.019	1.231	1.713
14	0.805	0.703	0.933	1.027	1.243	1.726
21	0.872	0.706	0.950	1.027	1.265	1.892
24	0.902	0.750	0.980	1.082	1.397	1.913
30	0.940	0.778	1.001	1.084	1.442	1.934

Consumo acumulado de O₂

Consumo acumulado de O ₂ (mgsuelo g ⁻¹)						
Día	C0	C1	C2	C3	C4	C5
0	0	0	0	0	0	0
1	0.018	0.065	0.079	0.027	0.071	0.075
2	0.072	0.093	0.389	0.55	0.477	0.708
3	0.252	0.183	0.471	0.609	0.85	1.337
7	0.265	0.202	0.496	0.662	0.91	1.366
10	0.28	0.217	0.521	0.695	0.931	1.402
14	0.317	0.256	0.545	0.747	0.964	1.422
20	0.337	0.264	0.554	0.761	0.974	1.434
24	0.384	0.281	0.57	0.8	1	1.448
30	0.422	0.301	0.589	0.833	1.028	1.463

Tasa de remoción de fármacos en el suelo

							Cinéticas						Cinéticas					
							Concentración añadida						Concentración medida en el suelo para el tiempo 0					
Azitromicina	NA	50	500	1000	1500	2000												
Tiempo (días)	C0	C1	C2	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5
0	0	0	28.098	93.603	381.07	476.34	0	0.0936	0.2540	0.2382	0	1	1	1	0	0.37114796	0.36906502	0.59802226
3	0	0	0	34.741	140.64	284.86	3	0.0347	0.0938	0.1424	3	0	0.21126984	0.28905101	7	0	0.0275832	0.15445862
7	0	0	0	0	80.509	137.69	7	0.0000	0.0537	0.0688	7	0	0	0	14	0	0	0.0944833
10	0	0	0	0	10.511	73.576	10	0.0000	0.0070	0.0368	10	0	0	0	21	0	0	0
14	0	0	0	0	0	45.007	14	0.0000	0.0000	0.0225	14	0	0	0	30	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	21	0.0000	0.0000	0.0000	21	0	0	0				
30	0	0	0	0	0	0	30	0.0000	0.0000	0.0000	30	0	0	0				
Ivermectina																		
Tiempo (días)	C0	C1	C2	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5
0	0	0	0	105.06	244.61	433.58	0	0.2446	0.2891	0.2922	0	1	1	1	0	0.37243615	0.25304013	0.49069596
3	0	0	0	9.679	91.103	109.71	3	0.0911	0.0731	0.1434	3	0	0.07965602	0.11912292	7	0	0.08155579	0.12841973
7	0	0	0	0	19.485	51.649	7	0.0195	0.0344	0.0775	7	0	0	0	14	0	0.03171071	0.08445714
10	0	0	0	0	35.361	75.036	10	0.0000	0.0236	0.0375	10	0	0	0	21	0	0	0.03348465
14	0	0	0	0	13.749	49.349	14	0.0000	0.0092	0.0247	14	0	0	0	30	0	0	0
21	0	0	0	0	0	19.565	21	0.0000	0.0000	0.0098	21	0	0	0				
30	0	0	0	0	0	0	30	0.0000	0.0000	0.0000	30	0	0	0				
Dexametasona																		
Tiempo (días)	C0	C1	C2	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5	Tiempo (días)	C3	C4	C5
0	0	0	0	85.012	229.77	394.73	0	0.2298	0.2632	0.3036	0	1	1	1	0	0.04504777	0.23467281	0.43117488
3	0	0	0	0	10.351	92.633	3	0.0104	0.0618	0.1309	3	0	0.03158088	0.3379699	7	0	0	0.19860216
7	0	0	0	0	12.466	205.2	7	0.0000	0.0083	0.1026	7	0	0	0	14	0	0	0.08601947
10	0	0	0	0	0	120.58	10	0.0000	0.0000	0.0603	10	0	0	0	21	0	0	0
14	0	0	0	0	0	52.226	14	0.0000	0.0000	0.0261	14	0	0	0	30	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	21	0.0000	0.0000	0.0000	21	0	0	0				
30	0	0	0	0	0	0	30	0.0000	0.0000	0.0000	30	0	0	0				

Resultados del experimento

Se presentan estos gráficos para apoyo al docente, corresponden a la información presentada en el anexo.

Gráfico de emisión acumulada de CO₂

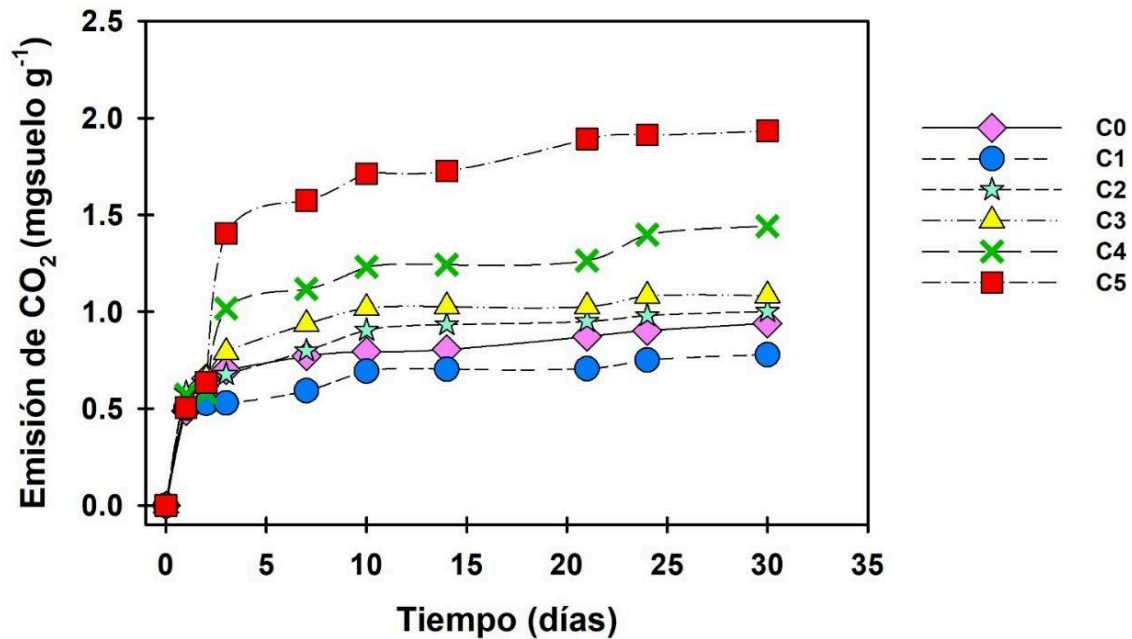


Gráfico de consumo acumulado de O₂

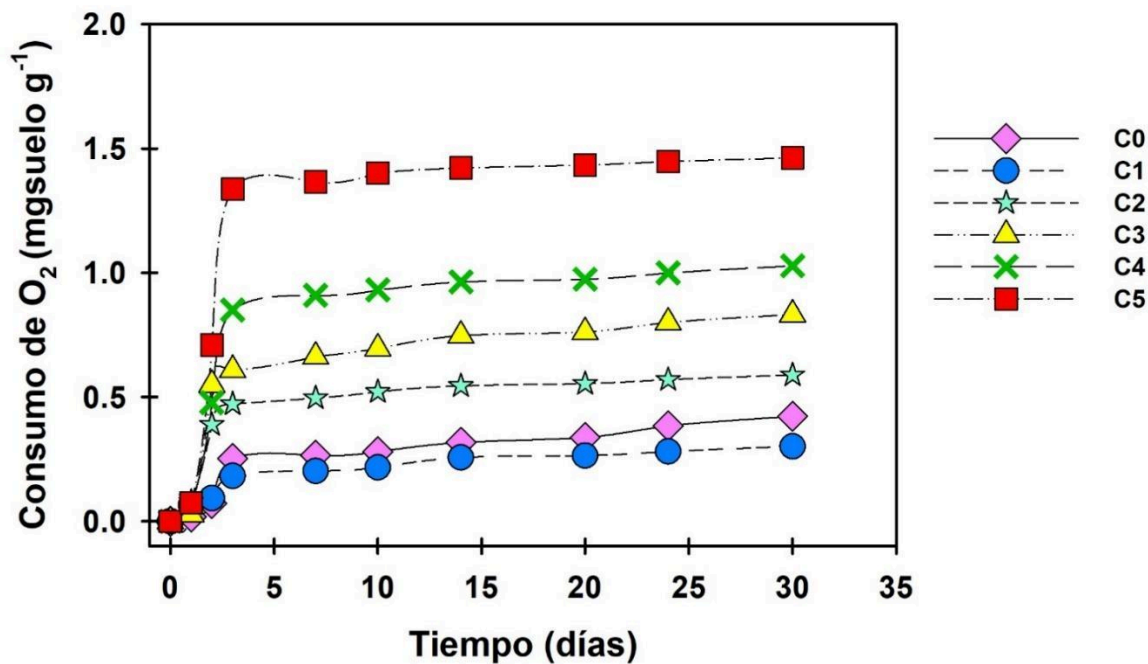


Gráfico de tasa de remoción de azitromicina en el suelo

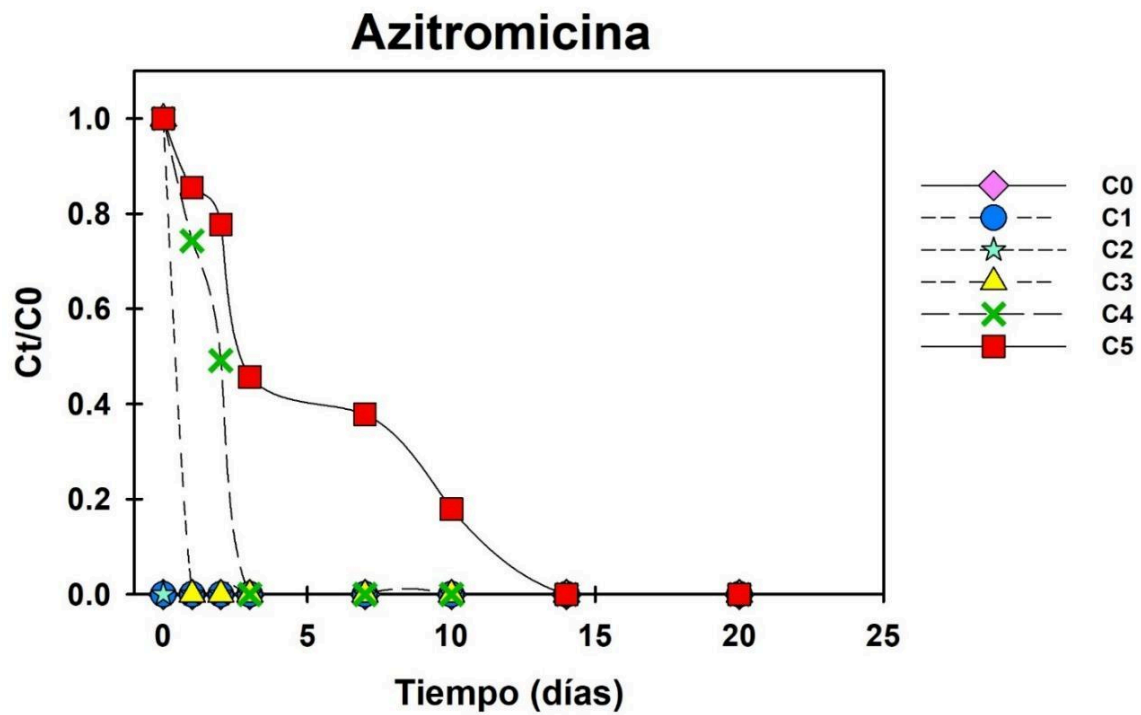


Gráfico de tasa de remoción de ivermectina en el suelo

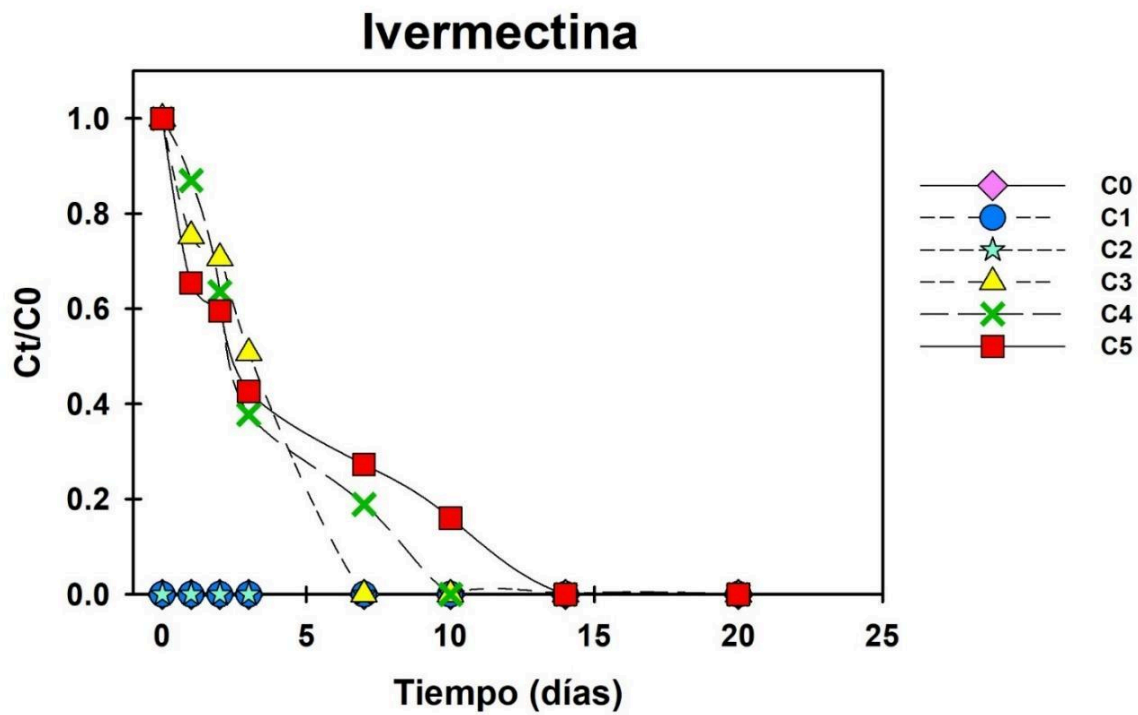


Gráfico de tasa de remoción de dexametasona en el suelo

