
**Estudio del efecto de doce compuestos activos farmacéuticos
en el crecimiento radial de *Amylomyces rouxii***

Tesis que presenta:

Biól. Estefanía Paola Severo Martínez

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencias (Energía y Medio Ambiente)



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**“Estudio del efecto de doce compuestos activos
farmacéuticos en el crecimiento radial de *Amylomyces rouxii*”**

T E S I S

Para obtener el grado de:
**Maestra en Ciencias (Energía y Medio
Ambiente)**

P R E S E N T A:

Biól. Estefanía Paola Severo Martínez

Matrícula: 2191800390

Directora:

Dra. Araceli Tomasini Campocosio

Asesor:

Dr. Héctor Hugo León Santiesteban

Jurado:

Dra. Alba Mónica Montiel González

Dr. Octavio Loera Corral

AGRADECIMIENTOS

La maestría en Energía y Medio Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, con la referencia 003893, por lo que agradece la beca otorgada bajo el número de CVU 955686 para desarrollo de esta tesis.

Al comité de Posgrado en Energía y Medio Ambiente, a los maestros que integran el posgrado, al departamento de sistemas escolares por su apoyo durante los procesos académicos y administrativos, y al laboratorio W-002 del Departamento de biotecnología por acogerme en el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. Alba Mónica Montiel Gonzáles por sus comentarios y recomendaciones para que este trabajo mejorara. A la Dra. Araceli Tomasini Campocosio por darme la oportunidad de trabajar con ella, guiarme a lo largo de esta etapa y por el conocimiento brindado.

Al Dr. Héctor Hugo León Santiesteban por las enseñanzas compartidas, el asesoramiento y el apoyo otorgado a lo largo de este trabajo.

Al Dr. Octavio Loera Corral y a la Dra. Mónica Montiel por asesorarme y brindar su conocimiento para mejorar el presente trabajo.

DEDICATORIAS

A mi madre Patricia por siempre impulsar mis sueños, motivarme y enseñarme siempre a ser mejor cada día. Gracias por que por ti he llegado tan lejos.

A mis hermanos Samantha y Roberto por motivarme, creer en mis sueños y el apoyo brindado. Los quiero con todo el corazón.

A Omar por apoyarme en mis sueños, confiar en mí y apoyarme hasta al final.

A mis amigos por su apoyo y amistad brindada.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante mis estudios.

La gratitud es una cualidad similar a la electricidad: debe producirse, descargarse y agotarse para poder existir (William Faulkner)



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00081

Matrícula: 2191800390

Estudio del efecto de doce compuestos activos farmacéuticos en el crecimiento radial de *Amylomyces rouxii*



Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 10:00 horas del día 3 del mes de agosto del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:
DR. OCTAVIO LOERA CORRAL
DRA. ALBA MONICA MONTIEL GONZALEZ
DR. HECTOR HUGO LEON SANTIESTEBAN
Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS (ENERGIA Y MEDIO AMBIENTE) DE:
ESTEFANIA PAOLA SEVERO MARTINEZ
y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:
Aprobar
Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

ESTEFANIA PAOLA SEVERO MARTINEZ
ALUMNA

[Signature]

REVISÓ
MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

[Signature]

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI
DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

[Signature]

PRESIDENTE
DR. OCTAVIO LOERA CORRAL

[Signature]

VOCAL
DRA. ALBA MONICA MONTIEL GONZALEZ

[Signature]

SECRETARIO
DR. HECTOR HUGO LEON SANTIESTEBAN

[Signature]

El presente documento cuenta con la firma –autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta – Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella

Índice

Capítulo 1	22
1. Introducción	22
1.1. Presencia de contaminantes emergentes en el ambiente	22
1.2. Toxicidad de los compuestos farmacéuticos.....	24
1.3. Remoción de PhACs por hongos filamentosos.....	26
1.3.1 Biomasa fúngica como biosorbente de PhACs.....	27
1.3.2 Degradación de PhACs por hongos.....	29
1.4. Patrones de crecimiento fúngico.....	32
1.5. Patrones de crecimiento fúngico.....	34
Capítulo 2	36
2. Antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos.....	36
2.1. Antecedentes	36
2.2. Justificación	37
2.3. Hipótesis	37
2.4. Objetivos	38
Capítulo 3	39
3. Materiales y métodos.....	39
3.1. Microorganismo.....	39
3.2. Obtención de esporas de <i>A. rouxii</i>	39
3.2.1 Lavado, obtención y conteo de esporas de <i>A. rouxii</i>	39
3.3. Medio de cultivo Lee concentrado (2X) para crecimiento radial	40
3.4. Preparación de soluciones.....	40
3.5. Crecimiento radial y tolerancia de <i>A. rouxii</i> a compuestos farmacéuticos	42
3.5.1 Preparación del inóculo	42
3.5.2 Crecimiento radial	43
3.6. Análisis cualitativo	43
3.6.1 Modelamiento del crecimiento radial	43
Capítulo 4	47
4. Resultados	47
4.1. Cinética de crecimiento radial de <i>A. rouxii</i>	47
4.1.1 Descripción cualitativa del crecimiento radial	47
4.2. Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial	49

4.3. Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial y fase estacionaria	57
4.4. Inhibición del crecimiento radial a las 24 h de cultivo	78
Capítulo 5	92
5. Discusión.....	92
Capítulo 6	99
6. Conclusiones	99
6.1 Perspectivas	99
Capítulo 7	100
7. Referencias	100
Capítulo 8	109
8. Anexos.....	109

Índice de tablas

Tabla 1 Estructuras y acrónimos de los diferentes PhACs estudiados en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> .	42
Tabla 2 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para BSFA.	50
Tabla 3 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para DFC.	50
Tabla 4 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para NPX.	51
Tabla 5 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para TRC.	51
Tabla 6 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para CPFX.	52
Tabla 7 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para OFX.	53
Tabla 8 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para CBZ.	53
Tabla 9 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para TRP.	54
Tabla 10 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para SMX.	55
Tabla 11 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para PCT.	55
Tabla 12 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para IBP.	56
Tabla 13 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para β ETD.	57
Tabla 14 Parámetros cinéticos del modelo logístico del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para BSFA.	59
Tabla 15 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en	

medio Lee (2X) para DFC.....	61
Tabla 16 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para NPX.....	63
Tabla 17 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para TRC.....	65
Tabla 18 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para CPFX.....	67
Tabla 19 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para OFX.....	69
Tabla 20 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para CBZ.....	70
Tabla 21 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para TRP.	72
Tabla 22 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para SMX.	73
Tabla 23 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para PCT.	75
Tabla 24 . Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para IBP.....	76
Tabla 25 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) para β ETD.....	78
Tabla 26 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de TRC, a las 24 h de cultivo.	79
Tabla 27 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de NPX, a las 24 h de cultivo.	80
Tabla 28 Tabla 26. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de CPFX a las 24 h de cultivo.	81
Tabla 29 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de BSFA, a las 24 h de cultivo.	82
Tabla 30 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de SMX, a las 24 h de cultivo.....	83

Tabla 31 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de PCT, a las 24 h de cultivo.....	84
Tabla 32 Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de TRP, a las 24 h de cultivo.....	85
Tabla 33 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de DFC, a las 24 h de cultivo.	86
Tabla 34 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de IBP, a las 24 h de cultivo.	87
Tabla 35 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de β ETD, a las 24 h de cultivo.	88
Tabla 36 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de CBZ, a las 24 h de cultivo.	89
Tabla 37 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causado por la presencia de OFX, a las 24 h de cultivo.	90

Índice de figuras

Figura 1 Fases de crecimiento de una curva típica (tomado de (Shuler & Kargi, 2002)) ...	32
Figura 2 Diagrama de la comprobación del supuesto de normalidad y homogeneidad de varianza para los tratamientos con diferentes concentraciones de PhACs.....	46
Figura 3 Desarrollo del micelio a las 49 h de cultivo de <i>A. rouxii</i> ante la presencia de diferentes PhACs. 0* = control, BSFA = Bisfenol A, DFC = Diclofenaco, NPX = Naproxeno, TRC = Triclosán, CPMX = Ciprofloxacino, OFX = Ofloxacino, CBZ = Carbamazepina, PCT = Paracetamol, SMX = Sulfametoxazol, TRP = Trimetoprima, IBP = Ibuprofeno, β ETD = β -estradiol.....	49
Figura 4 Vmax obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).	50
Figura 5 Vmax obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de DFC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).	50
Figura 6 Vmax obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).	51
Figura 7 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).....	51
Figura 8 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPMX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).....	52
Figura 9 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).....	53
Figura 10 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).....	53

Figura 11 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05). 54

Figura 12 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05). 55

Figura 13 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de PCT. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05). 55

Figura 14 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05). 56

Figura 15 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de β ETD. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05). 57

Figura 16 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de BSFA, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 58

Figura 17 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05). 59

Figura 18 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones DFC, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 60

Figura 19 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico del crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) y con de diferentes concentraciones de DFC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p- valor > 0.05) 61

Figura 20 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones NPX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 62

Figura 21 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al ($p\text{-valor} > 0.05$)..... 63

Figura 22 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones TRC, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 64

Figura 23 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados ($p\text{-valor} > 0.05$)..... 65

Figura 24 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CPFX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales 66

Figura 25 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimado $p\text{-valor} > 0.05$)..... 67

Figura 26 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de OFX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 68

Figura 27 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza

estimados (p-valor > 0.05).....	69
Figura 28 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de <i>A. rouxii</i> en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CBZ, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.	69
Figura 29 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05).....	70
Figura 30 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de <i>A. rouxii</i> en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de TRP, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.	71
Figura 31 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05).....	72
Figura 32 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de <i>A. rouxii</i> en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de SMX $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.	72
Figura 33 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05).....	73
Figura 34 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de <i>A. rouxii</i> en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de PCT, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.	74
Figura 35 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes	

concentraciones de PCT Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05)..... 75

Figura 36 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de IBP, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 75

Figura 37 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05)..... 76

Figura 38 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de βETD , $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales. 77

Figura 39 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de βETD . Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p-valor > 0.05)..... 78

Figura 40 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos. 79

Figura 41 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos. 80

Figura 42 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPFY $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV:1500,

V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.
..... 81

Figura 43 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.
..... 82

Figura 44 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II:1000,1500, III:2500, 5000)) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares..... 83

Figura 45 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de PCT $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000, II:1500, III: 2500, 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares..... 84

Figura 46 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000, 1500, 2500, II:5000) los tratamientos con el mismo numero indica que son estadísticamente similares.
..... 85

Figura 47 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de DFC $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares..... 86

Figura 48 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente

similares.....	87
Figura 49 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de β ETD $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000,1500, 2500, 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.....	88
Figura 50 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.....	89
Figura 51 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.....	90
Figura 52 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>A. rouxii</i> causada por la presencia de diferentes concentraciones de los PhACs estudiados. El mismo número romano indica que la inhibición es estadísticamente similar.....	97

Acrónimos

HCl	Ácido clorhídrico
ATP	Adenosín trifosfato
H₂O	Agua
ANOVA	Análisis de varianza
βETD	β-estradiol
BSFA	Bisfenol A
CBZ	Carbamazepina
CPX	Ciprofloxacino
R²	Coefficiente de determinación no lineal
Cu	Cobre
PhACs	Compuestos farmacéuticos activos
X²	Chi-cuadrada
NaCl	Cloruro de sodio
CR_c	Crecimiento radial del control a las 24 h de cultivo
CR_f	Crecimiento radial con fármaco a las 24 h de cultivo
DFC	Diclofenaco
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DSA	Diseño Completamente al Azar
KH₂PO₄	Fosfato monopotásico
Glu	Glucosa
g L⁻¹	Gramo por litro
PHAs	Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos
NaOH	Hidróxido de sodio
h	Hora
IBP	Ibuprofeno
Lac	Lacasa
LiP	Lignina peroxidasa

MnP	Manganeso peroxidasa
µg L⁻¹	Microgramo por litro
µg mL⁻¹	Microgramo por mililitro
µM	Micromolar
mgL⁻¹	Miligramo por litro
mM	Milimolar
nM	Nanomolar
NPX	Naproxeno
OFX	Ofloxacino
PDA	Papa Dextrosa Agar
PCT	Paracetamol
PTAR	Plantas de tratamiento de aguas residuales
PCP	Pentaclorofenol
VP	Peroxidasa versátil
SMX	Sulfametoxazol
(NH₄)₂SO₄	Sulfato de amonio
MgSO₄	Sulfato de magnesio
TRC	Triclosán
TRP	Trimetoprima
LC₅₀	Valores de concentración letal
V_{max}	Velocidades máximas
µ_{max}	Velocidad específica de crecimiento máxima

Resumen

Actualmente existe la presencia de contaminantes emergentes en el medio ambiente, entre estos contaminantes se encuentran los compuestos farmacéuticos activos (PhACs) presentes en concentraciones de nanogramos por litro hasta microgramos por litro. La presencia de PhACs puede deberse a procesos de contaminación puntual o difusa y su transporte depende de las propiedades de cada compuesto. Los PhACs pueden llegar a las aguas superficiales, afectando a organismos acuáticos, a aguas subterráneas e inclusive al agua potable.

Dado el daño ecológico que causan los fármacos es importante investigar alternativas para su remoción y/o degradación. La remoción de PhACs del medio ambiente por procesos biológicos es una alternativa económica y amigable con la naturaleza; por ejemplo, el uso de hongos filamentosos como *A. rouxii*. En este trabajo se evaluó la capacidad de *A. rouxii* para crecer en presencia de doce fármacos: carbamazepina (CBZ), paracetamol (PCT), sulfametoxazol (SMX), trimetoprima (TRP), ibuprofeno (IBP), β -estradiol (β ETD), ciprofloxacino (CPX), ofloxacino (OFX), diclofenaco (DFC), naproxeno (NPX), triclosán (TRC) y bisfenol A (BSFA) a concentraciones entre 100 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. El hongo se creció en placas de agar Lee en presencia de las diferentes concentraciones de PhACs y se midió el crecimiento radial del micelio a diferentes tiempos.

La presencia de los PhACs a diferentes concentraciones modificó la morfología del hongo y el tiempo de esporulación. Los valores de las velocidades máximas (V_{max}) se obtuvieron mediante regresión lineal de los datos de la fase exponencial del crecimiento radial de *A. rouxii*. Con la ecuación logística se modeló el crecimiento exponencial y la fase estacionaria de *A. rouxii* y se determinó la velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) y el crecimiento máximo del hongo. El análisis de regresión lineal aplicado a los datos cinéticos de crecimiento indicó que la V_{max} de *A. rouxii* crecido en presencia de los PhACs no mostró diferencia significativa, excepto para los tratamientos con DCF, CBZ y β ETD. El análisis de regresión no lineal aplicado a los datos cinéticos de crecimiento indicó que no hubo diferencia significativa ($p\text{-valor} > 0.05$) en los valores de μ_{max} calculados para los cultivos control y en presencia de los PhACs; independientemente de la concentración probada.

El perfil de crecimiento de *A. rouxii* en los cultivos control presentó una curva de crecimiento sigmoideal con buen ajuste al modelo logístico ($R^2 > 0.975$). Los doce PhACs mostraron un buen ajuste al modelo logístico para los cultivos con 100, 250, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$, excepto para los cultivos con 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de IBP, donde los datos no se ajustaron bien al modelo dada la alta variación experimental. El crecimiento radial de *A. rouxii* presentó un buen ajuste al modelo logístico en presencia de 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$, excepto en los cultivos con CBZ y PCT donde se observó que el crecimiento radial del hongo no se ajustó bien al modelo logístico ($R^2 < 0.975$). El perfil del crecimiento de *A. rouxii* en presencia de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BSFA, CPFX, IBP, PCT, OFX y TRC presentó un buen ajuste al modelo logístico. Sin embargo, en presencia de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de β ETD, TRP, SMX, NPX y DFC los datos de crecimiento radial se ajustaron mal al modelo logístico ($R^2 < 0.975$). *A. rouxii* no creció en presencia de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ.

El perfil del crecimiento radial de *A. rouxii* mostró una fase lag en todos los cultivos. En el cultivo control tuvo una duración de 3 h, mientras que los cultivos con presencia de PhACs, la fase lag presentó una duración de 6 a 14 h, dependiendo del PhAC y la concentración del fármaco. *A. rouxii* alcanzó su crecimiento máximo. 45 mm. a las 44 h de cultivo, y éste no se vio afectado por la presencia de PhACs en ninguna concentración probada; excepto en los cultivos con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ.

La inhibición del crecimiento radial causada por la presencia de los PhACs se calculó con los datos de la fase exponencial a las 24 h. Se utilizó un diseño completamente al azar de un solo factor con pruebas Post Hoc de HDS de Tukey y Games-Howell para demostrar el efecto de la concentración de los PhACs sobre la inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*.

El hongo mostró sensibilidad por la presencia de DFC, TRC y NPX. En estos cultivos se observó una relación lineal entre la concentración y la inhibición de crecimiento radial; a mayor concentración de DFC, TRC y NPX, mayor porcentaje de inhibición se observó. En contraste, las diferentes concentraciones de IBP, TRP y β ETD no causaron un efecto en la inhibición del crecimiento radial, no hubo diferencia significativa en el porcentaje de inhibición con todas las concentraciones probadas. Para los cultivos con CPFX, BSFA, OFX, SMX y PCT no se observó una relación entre la concentración del fármaco y la inhibición;

es decir, no en todas las concentraciones probadas de fármacos se observaron diferencias significativas en los porcentajes de inhibición. *A. rouxii* mostró una alta sensibilidad a $5000\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ, ya que, a dicha concentración, el crecimiento radial de *A. rouxii* se inhibió completamente.

Abstract

Emergent pollutants are present in the environment, between these are the pharmaceutical active compounds (PhACs) found at concentrations of nanograms to milligrams per liter. The presence of PhACs may be due to point or diffuse contamination and their transport depends on the properties of each compound. The occurrence of PhACs is into the superficial water, affecting aquatic organisms, the ground water and drinking water.

Due to the ecologic damage caused by the pharmaceuticals, it is important propose removal and degradation processes. Biological process to remove PhACs is an economic and environment friendly alternative, by example the use of filamentous fungi. In this work it was evaluated the capacity of *Amylomyces rouxii* to grow in presence of twelve pharmaceuticals at concentrations between 100 to $5000\mu\text{g L}^{-1}$. The PhCAS were carbamazepine (CBZ), paracetamol (PCT), sulfamethoxazole (SMX), trimethoprim (TRP), ibuprofen (IBP), β -estradiol (β ETD), ciprofloxacin (CPX), ofloxacin (OFX), diclofenac (DFC), naproxen (NPX), triclosan (TRC) and bisphenol A (BSFA). The fungus was grown on Lee-agar medium containing the different concentrations of PhACs. The plates were incubated at 30°C for 48 h. Fungal radial growth were measured at different times.

The presence of PhACs in medium culture modified the morphology and sporulation time of fungus. The values of the maximum velocities (V_{max}) were obtained by linear regression of the data of the exponential phase of the radial growth of *A. rouxii*. The data of *A. rouxii* radial growth were modeled with the logistic equation and were obtained the exponential and stationary phases, the specific growth maximal rate (μ_{max}) and de maximal growth. The linear regression analysis applied to the growth kinetic data indicated that the V_{max} of *A. rouxii* cultivated in the presence of the PhACs did not show a significant difference, except for the treatments with DCF, CBZ and β ETD. Nonlinear regression analysis applied to

growth kinetic data indicated that μ_{max} values calculated did not presented significant difference (p- value > 0.05) between the control culture and the cultures with PhACs, independently of their assayed concentrations.

The profile growth of *A. rouxii* in control cultures presented a sigmoidal curve and data fitted good at logistic model ($R^2 > 0.975$). The data of radial growth from the cultures with the twelve PhACs at 100, 250, 1000 and 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ fitted good at logistic model, except the culture with IBP because the experimental variation of data was too high. In cultures with 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ of PhACs the *A. rouxii* radial growth fitted good to the logistic model except the growth in presence of CBZ and PCT where growth was not fitted ($R^2 < 0.975$). The profile growth of *A. rouxii* with 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ of BSFA, CPFX, IBP, PCT, OFX and TRC presented a sigmoidal growth curve and data fitted good with logistic equation. In contrast, in presence of 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ of β ETD, TRP, SMX, NPX and DFC the data of radial growth did not fit at logistic model ($R^2 < 0.975$). Finally, in cultures with 5000 $\mu\text{g CBZ L}^{-1}$ *A. rouxii* did not grow.

A. rouxii presented a lag phase in all cultures. In the control the lag phase was 3 h, while in cultures with PhACs lag phase was between 6 to 14 h according to the type and concentration of the compound. The maximal growth was achieved at 44 h, $CR_{max} = 45$ mm in cultures with or without PhACs, except with 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ of CBZ.

The presence of PhACs affected the radial growth of *A. rouxii* at the exponential phase, 24h, the inhibition was calculated with the data of exponential phase at this time. A one-factor completely randomized design was used with Tukey and Games-Howell HDS Post Hoc test to show the inhibitory effect of *A. rouxii* growth due to the PhACs concentration. Fungus was sensible to DFC, TRC and NPX, there was observed a linear relation between concentration and inhibition of radial growth. At higher DFC, TRC and NPX concentration, the inhibition was greater. In contrast, there was not found significant difference in the radial growth inhibition at the different essayed concentrations of IBP, TRP y β ETD. In the cultures with CPFX, BSFA, OFX, SMX and PCT there was not observed a relation between the pharmaceutical concentration and the radial growth inhibition. Only with some concentrations was observed significant difference in the percent of inhibition. The higher sensibility of *A. rouxii* was to the presence of CBZ, at 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ the growth of fungus was completely inhibited.

Capítulo 1

1. Introducción

1.1. Presencia de contaminantes emergentes en el ambiente

Desde la década de 1980 se ha observado la presencia creciente de contaminantes emergentes en el medio ambiente (Daughton, 2003). En la actualidad más de 700 contaminantes emergentes, sus metabolitos y productos de transformación se encuentran presentes en el medio acuático (Geissen *et al.*, 2015). Los contaminantes emergentes son aquellos productos sintéticos o naturales que se encuentran en el medio ambiente y que poseen el potencial de causar efectos ecológicos adversos como toxicidad a diversos organismos y toxicidad sospechosa para la salud humana. Generalmente se encuentran en concentraciones del orden de nanogramos a microgramos por litro. Los contaminantes emergentes se clasifican en: productos farmacéuticos, productos del cuidado personal, plaguicidas, subproductos de desinfección por mencionar algunos. Estos contaminantes pueden ser liberados de fuentes puntuales de contaminación como las PTAR de áreas urbanas o industriales o de fuentes difusas a través de la deposición atmosférica o de cultivos y producción animal (Joss *et al.*, 2006; Verlicchi *et al.*, 2012).

Existen diferentes tipos de contaminantes emergentes con propiedades fisicoquímicas muy variadas: sustancias orgánicas que pueden subdividirse en sustancias bioacumulables y tóxicas persistentes; y sustancias más polares como los plaguicidas, productos farmacéuticos y productos químicos industriales.

Actualmente se ha observado un incremento de compuestos farmacéuticos activos (PhACs) en el medio ambiente (Fürhacker, 2008; Ternes *et al.*, 2007). Debido a las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los PhACs existe la preocupación sobre el potencial de su impacto ambiental; ya que los principales problemas asociados con su origen y aparición se presentan en las aguas superficiales, subsuperficiales y agua potable (Daughton, 2003); además de que los compuestos activos son moléculas estables y poco degradables. A pesar de que ya se han detectado una gran variedad de estos compuestos químicos a veces altamente bioactivos en el medio ambiente, poco se sabe sobre las consecuencias para la salud ecológica o humana

(Daughton, 2003; Hata *et al.*, 2010; Ji *et al.*, 2016).

La presencia de los PhACs en agua residual urbana, industrial, o agrícola, se debe a las propiedades de cada compuesto, la volatilidad, la polaridad, las propiedades de adsorción, la persistencia y las propiedades de los compartimentos interactivos (Geissen *et al.*, 2015).

Existen diversas fuentes que contribuyen a la introducción de los PhACs en el medio ambiente, las principales son las rutas de excreción urinarias y fecales de los humanos y los animales, además del lavado y eliminación intencional de los compuestos (Daughton, 2003; Daughton & Ruhoy, 2009). Estas fuentes muy probablemente alimentan a los sistemas de desechos municipales y la escorrentía de tormentas como las alcantarillas sanitarias o combinadas y en menor grado se descargan directamente a las aguas superficiales a través de tuberías rectas (Daughton, 2003). Se ha observado que durante el tratamiento de las aguas residuales los PhACs no se remueven o se eliminan parcialmente, por lo que se introducen en las aguas superficiales con los efluentes y se encuentran presentes en las aguas receptoras a concentraciones de nanogramos a microgramos por litro (Joss *et al.*, 2006; Naghdi *et al.*, 2018). Los PhACs quedan presentes en los efluentes de las PTAR y son descargados directamente a diversas fuentes de agua donde su destino ambiental es preocupante debido a que los compuestos pueden sufrir una biodegradación y transformación significativa en las aguas superficiales y subterráneas (Geissen *et al.*, 2015). Estos contaminantes llegan al agua superficial (afectando la vida de organismos acuáticos), al agua subterránea o inclusive al agua potable (Cunningham *et al.*, 2009; Joss *et al.*, 2006). Se han reportado efectos endocrinos de los estrógenos, a concentraciones del orden de nanogramos por litro, en organismos acuáticos que viven en aguas superficiales. Debido a la cantidad y la diversidad de los PhACs existe la preocupación de que reduzcan la calidad del medio ambiente acuático y del agua potable (Joss *et al.*, 2006). Así mismo es preocupante que la presencia de varios PhACs presentes en la biota fluvial se encuentren a niveles altos, lo que evidencia un riesgo de que sus concentraciones ambientales puedan ser más altas que sus concentraciones previstas sin efectos, especialmente en ríos con efluentes dominantes cuya dilución en los procesos de auto purificación son insuficientes para atenuar el riesgo de la vida acuática (Daughton, 2003; Daughton & Ruhoy, 2009)

Algunos de los PhACs que se encuentra con mayor frecuencia en las aguas superficiales y subterráneas impactadas por efluentes de aguas residuales son la carbamazepina (CBZ),

diclofenaco (DFC), ibuprofeno (IBP), los antibióticos, estos fármacos viajan a través del efluente tratado y llega a las diversas fuentes de agua. (Naghdi *et al.*, 2018).

1.2. Toxicidad de los compuestos farmacéuticos

Actualmente ha surgido la preocupación sobre la entrada continua de productos farmacéuticos humanos y/o animales en el medio ambiente acuático. Desde años atrás los PhACs han sido detectados en aguas superficiales a concentraciones que van desde nanogramos por litro hasta miligramos por litro a través de métodos de medición más sensibles como las tecnologías de espectrometría de masas (Marco-Urrea *et al.*, 2009).

Cuando los PhACs ingresan al medio ambiente, estos pueden afectar tejidos, órganos, células y biomoléculas diana. En los últimos años el diclofenaco (DFC) ha aumentado su frecuencia en las fuentes de agua potable y sus efectos nocivos en diferentes organismos. Cleuvers (2004), realizó estudios de ecotoxicidad en algas y *Daphnia* revelando que la presencia de DFC en las aguas es potencialmente dañino para los organismos acuáticos. Asimismo, observó que a concentraciones de campo o ambientales los efectos adversos son menores y que una mezcla de PhACs puede ser considerablemente tóxica incluso a concentraciones menores. En *Daphnia magna* sp, la presencia de DFC a la concentración de 68.0 mgL⁻¹ indujo una alta tasa de mortalidad; la exposición de este compuesto durante 48 h produjo una mayor mortalidad y se informó que los valores de CE50 de 22.4 mgL⁻¹- 39.9 mgL⁻¹. *Ceriodaphnia dubia* sp mostró una mortalidad y los valores de CE50 fue de 22.7 mgL⁻¹.

Letzel *et al.*, (2009) encontraron que a concentraciones ambientalmente de 2200 ngL⁻¹ el DFC puede causar efectos adversos crónicos en las poblaciones de peces, en la especie *Oryzias latipes* se afectó negativamente el crecimiento en la fase de huevo y resultó en una reducción significativa de la incubabilidad y retraso en la eclosión.

Kim *et al.*, (2009) observaron que *Thamnocephalus platyrus* presentó toxicidad para triclosán (TRC) a concentraciones entre 0.47- 94.23 mgL⁻¹. Sin embargo, no se observaron efectos tóxicos agudos por CBZ, atenolol, disopiramida, famotidina, fluconazol, eritromicina y levofloxacino a las concentraciones probadas en dicho estudio (>100 mgL⁻¹). Las especies acuáticas, *T. platyrus* y *Oryzias latipes* exhibieron respuestas tóxicas similares para TRC y propanolol con valores de concentración letal (LC₅₀) de 0.47 y 10.3 mgL⁻¹ para *T. platyrus* y de 0.60 y 11.4 mgL⁻¹ para *O. latipes*. Kim *et al.*, (2007) encontraron que la CBZ fue más tóxica en *O. latipes* que en *D. magna*

esto puede deberse a que la CBZ actúa en el sistema nervioso al disminuir la actividad neuronal general.

Contardo-Jara *et al.*, (2011) evaluaron el potencial de bioacumulación y los cambios moleculares en *Dreissena polymorpha* provocados por CBZ, ibuprofeno (IBP) y benzafibrato. Observaron que los cambios producidos por los fármacos en el ARNm de las enzimas y otras proteínas implicadas en la prevención del daño proteico, estrés oxidativo, biotransformación, eliminación y modificación postraduccional sirvieron como biomarcadores moleculares. Así mismo se observó que al exponer a *D. polymorpha* en un sistema de flujo continuo a concentraciones crecientes de 1,10,100,1000 nM y al medir la concentración de CBZ e IBP en tejido después de 1, 4 y 7 días se demostró la absorción de CBZ e IBP por el organismo mientras que para benzofibrato no se pudieron obtener datos de acumulación. Además, se demostró que la CBZ fue la única sustancia que causó un aumento significativo en el nivel de ARNm (hsp70) en las branquias del organismo después de un solo día de exposición lo que evidencia el potencial de la CBZ para provocar de inmediato una condición de estrés y daños a las proteínas de las branquias.

Se ha demostrado que CBZ presenta efectos tóxicos fisiológicos y morfológicos en organismos acuáticos a concentraciones de nanogramos por litro; existe una fuerte modulación de las actividades de la enzima de biotransformación y la peroxidación lipídica en tres organismos, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Thamnocephalus platyurus* y *Hydra attenuata*, después de la exposición directa o la ingestión de alimentos contaminados con CBZ lo que indica una sensibilidad a la toxicidad de este compuesto (Vernouillet *et al.*, 2010) Jos *et al.*, (2003) evaluaron diferentes alteraciones morfológicas ante la presencia de CBZ en una variedad de organismos (plantas, bacterias, un crustáceo y cultivos de células de peces en diferentes periodos de exposición). Se observó que la proliferación del alga *Chlorella vulgaris* en placas de microtitulación se inhibió de forma dependiente a la concentración de CBZ. Se reportó que a concentraciones (>100 µM de CBZ) se observaron efectos en el crecimiento de la raíz y la inhibición del índice mitótico en células meristemáticas de *Allium cepa*. La bacteria *Vibrio fischeri* presentó inhibición de la bioluminiscencia a partir de los 5 min y hasta los 60 min. En *Daphnia magna* se observó una sensibilidad intermedia a las 48 h de exposición. Además, se observó que la proliferación celular se inhibió con valores EC₅₀ de entre 34 y 76 µM de CBZ.

Quinn *et al.*, (2008), evaluaron la toxicidad aguda y crónica de IBP, naproxeno (NPX), gemfibrozil, benzofibrato, CBZ, sulfametoxazol (SMX), sulfapiridina, oxiteratracciclina, novobiocina, trimetoprima (TRP) y cafeína en *Hydra attenuata*. Los compuestos se probaron individualmente y todos mostraron valores de LC₅₀ relativamente altos, a excepción de gemfibrozil, IBP y NPX que presentaron los valores más bajos (22.36 mgL⁻¹)

En cuanto a los posibles efectos en la salud humana ante una exposición a largo plazo a diferentes productos farmacéuticos se encuentran la disrupción endocrina, reacciones alérgicas y efectos reproductivos y/o desarrollo. Además del problema de inducción de resistencia a antibióticos de patógenos humanos debido a la constante presencia de antibióticos en el ambiente (Snyder, 2008).

Por esta razón es importante estudiar la remoción de los PhACs del medio ambiente, principalmente del agua. Estos compuestos se están acumulando y podrían llegar a concentraciones que representen un daño al organismo humano, sin dejar de observar que, a mayor concentración, el efecto de toxicidad es mayor en los organismos acuáticos.

La remoción puede ser por procesos físicos-químicos como los procesos avanzados de oxidación, ozonización, degradación fotolítica inducida, etc., y biológicos, a través del uso de organismos vivos y/o sus compuestos. Los procesos biológicos son los más económicos y amigables con el ambiente, ya que se utilizan sustratos de desechos naturales (agroindustriales y microbianos) y no genera desechos tóxicos como epóxidos, hidróxidos o ácidos fuertes.

La remoción por procesos biológicos implica la biodegradación y la biosorción de los compuestos a remover. El uso de los hongos filamentosos con este fin ha sido estudiado y pueden ser una alternativa para la remoción de los PhACs del medio ambiente.

1.3. Remoción de PhACs por hongos filamentosos

Diversos estudios han promovido los tratamientos biológicos, como el uso de hongos, para la remoción de PhACs. La eficacia para la remoción de dichos compuestos depende de las especies de hongos, sus sistemas enzimáticos específicos, la estructura molecular de los compuestos diana, la composición del medio de cultivo y las características de los PhACs (Naghdi *et al.*, 2018; Rodarte-Morales *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2010).

Li *et al.*, (2016) evaluaron como mejorar la remoción de CBZ mediante *Phanerochaete chrysosporium* inmovilizado en un reactor. Observaron que CBZ se removió casi por completo

en condiciones optimizadas del influente con 10 g L^{-1} de glucosa en el reactor fúngico. La adsorción representó alrededor de 7.7% de la remoción total y la biodegradación se consideró como el principal mecanismo de eliminación de CBZ.

Li *et al.*, (2015) evaluaron la capacidad *P. chrysosporium* inmovilizado con para una eliminación mejorada de NPX y CBZ de aguas residuales, en un biorreactor de filtración a contracorriente. NPX presentó una eliminación a un nivel indetectable, mientras que CBZ mostró una eficiencia de eliminación de aproximadamente el 80%. El gran porcentaje de eliminación se atribuyó a la aplicación de la filtración contra corriente y a una alta eficiencia en la transferencia de oxígeno y nutrientes dentro del biorreactor.

Vasiliadou *et al.*, (2016) estudiaron la capacidad de dos cepas de hongos de podredumbre *T. versicolor* y *Ganderma lucidum* de manera individual y combinadas para eliminar trece PhACs. Observaron que cinco fármacos se eliminaron completamente (DFC, IBP, ranitidina, gemfibrozil y progesterona) con las cepas individuales y combinadas. Además, los compuestos menos biodegradables (acetaminofeno, antipirina, ácido clofíbrico, atenolol, cafeína, CBZ, hidroclotiazida, SMX y sulpirida) mostraron un aumento significativo de remoción (41%) mediante el uso simultáneo de ambas cepas.

Dalecka *et al.*, (2020) evaluaron la eficiencia de remoción de PhACs mediante el uso de hongos como *Aspergillus luchuensis*. Observaron que *A. luchuensis* puede eliminar completamente al DFC de un medio sintético, además las pruebas de biosorción indicaron que el hongo utiliza el mecanismo de biosorción como estrategia para eliminar al DFC.

1.3.1 Biomasa fúngica como biosorbente de PhACs

Los hongos son un grupo grande y diverso de microorganismos eucariotas, tres grupos de hongos presentan una importancia práctica importante en procesos de remoción de tóxicos: los mohos, las levaduras y los hongos. Algunos hongos son patógenos, otros son ubicuos en ambientes naturales y también algunos son importantes en procesos industriales. Tienen una función importante en la naturaleza como descomponedores de materia orgánica, y como simbioses de animales y plantas (Gadd, 1994).

Los microorganismos vivos o no vivos y desechos agroindustriales (biosorbentes) han sido utilizados como adsorbentes para la eliminación y recuperación de sustancias presentes en soluciones acuosas (Park *et al.*, 2010)

Se ha definido a la biosorción como la eliminación de especies metales o metaloides, y otros

compuestos de la solución mediante material biológico. El proceso de biosorción es conveniente por los bajos costos de operación ya que generalmente los biosorbentes tienen poco o ningún costo. Los biosorbentes son sorbentes renovables de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal los cuales se clasifican en sorbentes de bajo y alto costo.

En el campo de la biosorción se han empleado los hongos y levaduras ya que son fáciles de cultivar, producen altos rendimientos de biomasa y pueden manipularse genética y morfológicamente. La biomasa puede obtenerse de forma económica y fácil, también como un subproducto de los procesos de fermentación industrial establecidos. Por lo tanto, la biomasa fúngica es de interés como una fuente de materia prima la cual sirve como base para formular biosorbentes adecuados (Sağ, 2001).

El uso de biomasa como adsorbente para el control de contaminantes orgánicos y metales pesados puede generar ingresos para las industrias que actualmente desperdician la biomasa y al mismo tiempo aliviar la carga de los costos de eliminación asociados con la biomasa residual producida. Además, la biomasa fúngica residual es susceptible de manipulaciones genéticas y morfológicas que pueden dar como resultado una alta capacidad de sorber compuestos específicos (Wang & Chen, 2009).

De acuerdo con los mecanismos de biosorción se pueden clasificar por el metabolismo celular por la localización de sorbato en la biomasa. La clasificación en función del estado metabólico celular se clasifica en dependiente del metabolismo y como no dependiente del metabolismo. Con base en la localización del sorbato se clasifica en acumulación extracelular, acumulación intracelular y sorción en la superficie celular (Veglio & Beolchini, 1997).

Existen trabajos que reportan la biosorción de metales pesados utilizando biomasa fúngica (Bai & Abraham, 2002; Calderón *et al.*, 2019; Dhankhar & Hooda, 2011; Kapoor & Viraraghavan, 1995). Los estudios de biosorción de PhACs utilizando biomasa fúngica son pocos.

Algunos autores reportan la sorción de PhACs por lodos activados, por ejemplo, Swarczewicz *et al.*, (2013) reportaron que la CBZ se puede biosorber por el suelo y lodos activados, a través de una serie de experimentos de adsorción y desorción en suelos irrigados. La fuerza de sorción estaba relacionada con el contenido orgánico de la fase sólida. Los resultados mostraron que la CBZ es un compuesto xenobiótico muy persistente. Huang *et al.*, (2019) evaluaron el comportamiento de sorción y desorción de cuatro PhACs, SMX, CBZ, bisfenol A (BSFA) y 17 α -etinilestradiol, por lodos activados. Se observó que el proceso de sorción fue espontáneo y

exotérmico. La mayor cantidad de sorción fue para 17 α -etinilestradiol, se eliminó el 60.9% en fase líquida, seguido de BSFA y SMX que presentaron una eliminación de 49.4% y 35.8% respectivamente, mientras que CBZ solo se adsorbió en un 19.5%. La sorción de CBZ, 17 α -etinilestradiol y SMX fue principalmente por un proceso físico dominado por la función de partición.

Lucas *et al.*, (2018) evaluaron la contribución de los procesos de sorción en la eliminación de PhACs durante el tratamiento fúngico de las aguas residuales. Estudiaron la sorción de CBZ, diclofenaco, iopromida y venlafaxina por seis hongos diferentes, *T. versicolor*, *Irpex lacteus* y *Ganoderma lucidum* *Stropharia rugosoannulata*, *Gymnopilus luteofolius* y *Agrocybe erobia*. Se observó que la contribución de la sorción a la eliminación total de contaminantes varió entre 3% y 13 % en relación con la cantidad inicial. Melgoza *et al.*, (2020) reportaron el uso de la biomasa activa e inactiva de *Rhizopus oryzae* para remover NPX. Demostraron que la biomasa inactiva seca sorbió 1027 μ g NPX por gramo de biomasa seca a pH 4.7.

Al utilizar la biomasa como biosorbente se está reutilizando un desecho de la industria biotecnológica. La biomasa que contiene los contaminantes es de más fácil manejo, por ejemplo:

Los contaminantes presentes en las aguas residuales que son sorbidos por la biomasa quedan concentrados en ésta y pueden manejarse o trasladarse fácilmente.

Los compuestos tóxicos pueden ser de-sorbidos de la biomasa y recuperados en un volumen menor.

1.3.2 Degradación de PhACs por hongos

Los hongos también se han empleado para degradar una amplia gama de xenobióticos y contaminantes recalcitrantes debido a la diversidad de su sistema enzimático producido (Rodarte-Morales *et al.*, 2011; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2010). Las enzimas ligninolíticas producidas por esta clase de hongos, lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) lacasa (Lac) y peroxidasa versátil (VP) son altamente inespecíficas y algunas son extracelulares, por lo que son capaces de actuar sobre diversos sustratos como la lignina (Eibes *et al.*, 2005; Feijoo *et al.*, 2008; López *et al.*, 2004; Marco-Urrea *et al.*, 2009; Rodarte-Morales *et al.*, 2011). Todas estas enzimas de origen fúngico generalmente presentan baja especificidad por el sustrato por lo que son capaces de degradar una amplia variedad de compuestos xenobióticos, como hidrocarburos policíclicos aromáticos, bifenilospoliclorados,

y clorofenoles entre otros (Cabana *et al.*, 2007; Zhang & Geiben, 2010) Marco- Urrea *et al.*, (2009) evaluaron la capacidad de cuatro hongos de podredumbre blanca, *Trametes versicolor*, *Irpex lacteus*, *Ganoderma lucidum* y *Phanerochaete chrysosporium*, para degradar CBZ, ibuprofeno y ácido clofíbrico. En este estudio se observó que después de 7 días de incubación las cuatro cepas de los hongos degradaron ibuprofeno, mientras que CBZ y el ácido clofíbrico presentaron recalcitrancia. Se observó que *T. versicolor* fue la única cepa que logró una degradación del 58% de CBZ y el ácido clofíbrico.

Rodarte- Morales *et al.*, (2011) evaluaron la capacidad potencial de tres cepas de hongos de podredumbre blanca: un anamorfo de *Bjerkandera* sp., *Bjerkandera adusta* y *P. chrysosporium* para degradar una amplia gama de compuestos farmacéuticos (citalopram, fluoxetina, SMX, DFC, ibuprofeno (IBP), NPX, CBZ, diazepam) y fragancias (celestolida, galaxolida y tanalida). Los autores reportaron 100% de degradación de citalopram, SMX, DFC, IBP, NPX y CBZ después de 14 días de incubación con las tres cepas de hongos. Para diazepam y fluoxetina se observó una degradación del 23- 57%.

Santosa *et al.*, (2012) evaluaron la capacidad de *Pleurotus* sp. , *Pleurotus ostreatus* BS y un basidiomiceto no identificado para degradar CBZ y 17 α - etinilestradiol. Los resultados mostraron que 17 α - etinilestradiol se eliminó por completo con las tres cepas evaluadas tanto en condiciones catabólicas como co-metabólicas. Reportaron actividades enzimáticas de Lac, LiP y MnP en cultivos de *Pleurotus* sp. P1 en presencia de 17 α - etinilestradiol. CBZ solo fue removido por la cepa de basidiomiceto en condiciones co-metabólicas y en este caso se produjo una reducción máxima del 47 % después de 28 días de incubación. También reportaron actividad enzimática significativa de Lac, LiP y MnP en cultivos con esta cepa durante la degradación co-metabólica de CBZ.

Li *et al.*, (2016) reportaron la capacidad de *Phanerochaete chrysosporium* inmovilizado en un reactor de suspensión giratoria en condiciones no estériles para remover CBZ (1000 $\mu\text{g CBZ L}^{-1}$). Se observó que el reactor funcionó continuamente durante 160 días en condiciones no estériles; después de un mes de adaptación fúngica la eficiencia de eliminación de CBZ alcanzó más del 90%. Los autores reportaron además que la adsorción representó alrededor del 7.7% de la eliminación total, se consideró que la degradación fue el mecanismo principal para la eliminación de CBZ en el reactor.

Jelic *et al.*, (2012) evaluaron la degradación aeróbica de la CBZ por el hongo de podredumbre

blanca *T. versicolor* en matraz Erlenmeyer como en biorreactor. Los autores observaron que en matraz Erlenmeyer con aproximadamente 9 mg de CBZ L⁻¹ se eliminó alrededor del 94% después de 6 días, así mismo se observó que a concentraciones cercanas de 50 µg L⁻¹ solo el 61 % del compuesto se degradó en 7 días. Se identificaron como metabolitos de degradación la acridona, acridina 10,11-dihydro-10,11-dihydroxy- CBZ y 10,11-epoxy- CBZ. El estudio de la degradación de CBZ en el biorreactor fluidizado pulsado por aire en modo discontinuo mostró que alrededor del 96% de CBZ se eliminó después de 2 días y reportaron la presencia 10,11-dihydro-10,11-epoxycarbamazepina como metabolito único. En el biorreactor operado en modo continuo con un tiempo de retención hidráulica de 3 días se obtuvo 54% de remoción de CBZ inicial (200 µg CBZ L⁻¹) en 25 días, no se detectó la presencia de metabolitos producidos por la degradación en el caldo de cultivo.

Son pocos los estudios de remoción de PhACs publicados y casi todos ellos utilizan a los hongos de pudrición. Por esta razón es importante proponer hongos diferentes a los basidiomicetos, como los ascomicetos o zigomicetos que tienen características diferentes, como crecimiento más rápido, son de crecimiento más invasor y presentan diferentes sistemas enzimáticos, para degradar y/o sorber PhACs. Para una posible utilización de estos hongos es importante conocer su capacidad para crecer en presencia de PhACs. Hay muchos estudios que han reportado los mecanismos utilizados por los hongos para remover (sorción y/o degradación) compuestos tóxicos. Con apoyo de la bioquímica y de las ciencias se ha logrado identificar complejos enzimáticos involucrados en la degradación de compuestos tóxicos, así como también conocer algunos de los mecanismos empleados por los hongos en los procesos de remoción. Sin embargo, en cuanto a la remoción de fármacos hay menos estudios. Los hongos con potencial para remover los fármacos deben de cumplir ciertas características, una de las primeras es ser capaces de crecer en presencia de estos compuestos. La tolerancia se define como la capacidad que presenta un organismo para sobrevivir en presencia de tóxicos mediante la activación de mecanismos directos e indirectos que pueden ser inmediatos o progresivos como respuesta a la exposición de compuestos tóxicos (Zafar *et al.*, 2007). Algunas de las ventajas de usar hongos para los procesos de biorremediación incluyen la tolerancia a altas concentraciones de metales potencialmente tóxicos y la capacidad de lixiviar metales en ambiente de pH bajo o alto. (Sayer *et al.*, 1995). Algunos autores han evaluado el crecimiento radial y el peso seco de la biomasa de algunos hongos para determinar la tolerancia que

presentan dichas especies ante la presencia de metales (Fomina *et al.*, 2005). Por lo cual en este estudio se medirá el crecimiento radial de *A. rouxii* para determinar cuál es su tolerancia ante la presencia de diferentes PhACs.

1.4. Patrones de crecimiento fúngico

El crecimiento de los hongos filamentosos, a pesar de ser pluricelulares, presentan el mismo perfil de crecimiento que los organismos unicelulares. Una curva de crecimiento microbiano típica presenta las siguientes fases:

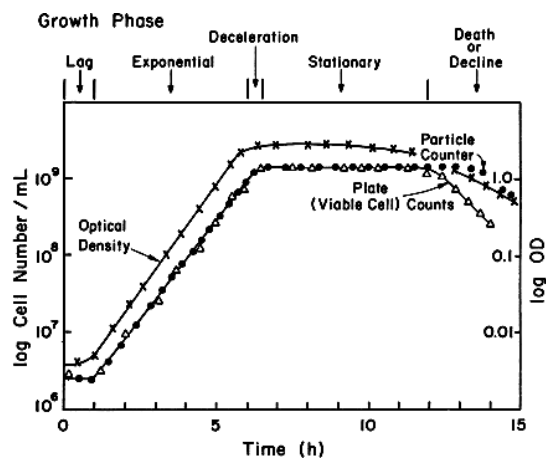


Figura 1 Fases de crecimiento de una curva típica (tomado de (Shuler & Kargi, 2002))

- Fase lag es un periodo de adaptación de las células a un nuevo entorno. El microorganismo reorganiza sus constituyentes moleculares cuando se transfieren a un nuevo medio, durante esta fase la masa celular puede presentar un aumento, sin un aumento en la densidad del número de células. Se considera que la baja concentración de algunos nutrientes y factores de crecimiento pueden provocar una fase lag prolongada.

Pueden observarse múltiples fases lag cuando el medio contiene más de una fuente de carbono; este fenómeno se conoce como crecimiento diaúxico el cual es causado por un cambio en las vías metabólicas en medio de un ciclo de crecimiento. Después de que se agota una fuente de carbono, las células adaptan sus actividades metabólicas para utilizar la segunda fuente de carbono; la primera fuente de carbono es

más fácil de utilizar que la segunda y la presencia de una fuente de carbono más fácilmente disponible reprime las síntesis de enzimas necesarias para el metabolismo del segundo sustrato.

- Fase de crecimiento exponencial, después del periodo de adaptación las células pueden multiplicarse rápidamente y la masa celular y la densidad del número de células aumentan exponencialmente a través del tiempo. Este periodo de crecimiento es equilibrado y todos los componentes de una célula crecen al mismo tiempo. Cuando la concentración de nutrientes está en exceso (no hay deficiencia) en esta fase la tasa de crecimiento es independiente de la concentración de nutrientes.
- Fase de desaceleración muestra que el crecimiento se desacelera debido al agotamiento de uno o más nutrientes esenciales o por la acumulación de subproductos tóxicos del crecimiento. Las tensiones inducidas por el agotamiento de nutrientes o la acumulación de desechos provocan una reestructuración de la célula para aumentar las perspectivas de supervivencia celular en un entorno hostil; estos cambios de reestructuración observables son el resultado de los mecanismos moleculares de represión e inducción.
- Fase estacionaria comienza cuando la tasa de crecimiento neto es cero o cuando la tasa de crecimiento es igual a la tasa de muerte. Aunque la tasa de crecimiento neto es cero durante esta fase las células siguen siendo metabólicamente activas y producen metabolitos secundarios, los metabolitos primarios son productos relacionados con el crecimiento y los metabolitos secundarios no están relacionados con este; se considera que la producción de ciertos metabolitos aumenta durante la fase.
- Fase de muerte comienza al final de la fase estacionaria. Se presenta lisis celular debido al agotamiento de nutrientes o a la acumulación de productos tóxicos (Shuler & Kargi, 2002).

1.5. Patrones de crecimiento fúngico

El modelamiento de los cultivos fúngicos se ha empleado a través de diversos enfoques, dichos enfoques dependen de si toman la biomasa como objetivo o describen la biomasa hifal de manera individual, o si es para un cultivo sumergido o superficial; por lo que se considera generalmente que los modelos cinéticos se basan en parámetros de concentración en el medio. Con base en lo anterior se pueden identificar dos tipos principales de modelos cinéticos de crecimiento para microorganismos:

- Estructurado: estos modelos toman en cuenta los aspectos básicos de la célula y su especie química, agrupando los demás componentes en grupos generalizados.
- No estructurado: estos modelos describen el desarrollo del proceso, tomando en consideración que los microorganismos y/o células poseen una composición fija. Dichos modelos desestiman los cambios en el medio de cultivo producto de la concentración de la biomasa.

Algunos de los modelos cinéticos no estructurados del crecimiento usan la ecuación de Malthus y la ecuación logística.

1.5.1. Regresión lineal

La fase del crecimiento exponencial puede ser modelada mediante regresión lineal. La velocidad máxima del crecimiento radial se calcula por regresión lineal del radio de la colonia frente al tiempo durante la fase exponencial del crecimiento. La velocidad máxima del crecimiento radial (V_{max}) se define como (Baldrian & Gabriel, 2002):

$$V_{max} = \frac{CR_1 - CR_0}{t_1 - t_0} \quad (1)$$

Donde:

CR_0 : crecimiento inicial del crecimiento radial durante la fase exponencial (mm)

CR_1 : crecimiento final del crecimiento radial durante la fase exponencial (mm)

t_0 : tiempo inicial del crecimiento radial (h^{-1})

t_1 : tiempo de retardo del crecimiento radial (h^{-1})

V_{max} : Velocidad de crecimiento máximo

1.5.2. Ecuación logística

La ecuación logística caracteriza el crecimiento en términos de capacidad de carga, ecuación(2). Se basa en una formulación en la que la tasa de crecimiento específica está relacionada con la cantidad de carga.

El comportamiento de la biomasa se presenta mediante la siguiente ecuación

$$\mu_g = \mu_{max} \left(1 - \frac{CR}{CR_{max}} \right) \quad (2)$$

Al integrar la ecuación se obtiene:

$$\frac{dCR}{dt} = \mu_{max} CR \left(1 - \frac{CR}{CR_{max}} \right) \quad (3)$$

$$CR = \frac{CR_0 e^{\mu_{max} t}}{1 - \frac{CR_0}{CR_{max}} (1 - e^{\mu_{max} t})} \quad (4)$$

Donde:

CR = crecimiento radial (extensión del micelio en mm)

CR_0 = crecimiento radial al tiempo cero (extensión del micelio en mm)

CR_{max} = máximo crecimiento radial (extensión del micelio en mm)

μ_{max} = tasa específica máxima de crecimiento radial (h^{-1})

Capítulo 2

2. Antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos

2.1. Antecedentes

A partir de un efluente de fábrica de papel se aisló un zigomiceto capaz de degradar pentaclorofenol (PCP), en un principio el microorganismo fue identificado como *Rhizopus nigricans*, posteriormente a través de la secuencia de rDNA 18S se observó una proximidad cercana con cepas de *Amylomyces rouxii* con un 99.5-99.8% de identidad a partir de 1,537 nucleótidos comparados. Anteriormente *A. rouxii* fue nombrado como *Rhizopus arrhizus* var. *rouxii* (Montiel *et al.*, 2004).

Cortes *et al.*, (2002) evaluaron la tolerancia y eliminación de PCP por *R. nigricans* en cultivo en estado sólido y obtuvieron como resultados que PCP no inhibe la germinación de esporas de *R. nigricans* en cultivo en estado sólido, mientras que en cultivo sumergido la germinación se inhibe.

Montiel *et al.*, (2004) evaluaron la actividad fenoloxidasas producidas por *A. rouxii* en cultivos con PCP. Se concluyó que la actividad fenoloxidasas provenía de una tirosinasa. Los autores propusieron que probablemente una tirosinasa podría estar involucrada en la degradación de PCP por este microorganismo. Los resultados de este estudio demostraron que *A. rouxii* eliminó el 55% p/v de la concentración inicial de PCP en cultivo sin tirosina, mientras que el 85% p/v se eliminó en cultivo adicionado con 0.1 g de tirosina. La actividad de la monofenolasa determinada fue 1.7 veces mayor en cultivo con tirosina que sin tirosinasa.

Calderón *et al.*, (2019) reportaron la presencia de 14 PhACs en aguas residuales urbanas y de un hospital de la Ciudad de México. De los 14 compuestos detectados, 6 pertenecen al grupo de los analgésicos-antiinflamatorios, 4 a los antibióticos, 1 antiepiléptico, 1 esteroide, 1 antimicrobiano, estos dos últimos son disruptores endócrinos y un compuesto usado para la fabricación de plásticos. Dos de los analgésicos, aspirina y ácido salicílico, presentaron problemas de extracción y cuantificación por lo que no se incluyeron en este estudio. Los otros doce PhACs se utilizaron en este estudio, con el fin de determinar si *A. rouxii* crece en presencia de estos fármacos y determinar la inhibición del crecimiento radial causada por la presencia de estos compuestos.

2.2. Justificación

A través de diversos estudios que se han llevado a cabo en las aguas residuales se ha encontrado la presencia de PhACs, donde se han identificado diversos tipos de fármacos de distinta composición. Su presencia se debe al consumo humano y animal de estos fármacos además de los desechos de productos farmacéuticos con caducidad vencida. Así mismo, se ha detectado la presencia de metabolitos de algunos de los PhACs en aguas residuales. Por lo que los PhACs y sus metabolitos se introducen continuamente en el medio ambiente a través las aguas residuales, tratadas o no. La persistencia de estos compuestos provoca una acumulación en las diversas fuentes de aguas y llegan incluso a detectarse en el agua potable, y en suelo.

Debido a la toxicidad que causan estos compuestos a los organismos acuáticos es importante implementar procesos amigables con el medio ambiente para su eliminación, como la biorremediación. Una alternativa económica es el uso de hongos filamentosos, por lo que es importante poder proponer diversos tipos de hongos, como ascomicetos y zigomicetos, capaces de degradar estos fármacos. Una característica de los hongos a utilizar en procesos de degradación es que tienen que ser capaces de crecer en presencia de dichos compuestos. Una vez determinado que el hongo presenta tolerancia a la presencia de PhACs se procede a estudiar la capacidad del hongo para degradar de dichos compuestos.

Por lo tanto, en este trabajo se estudiará la tolerancia de *A. rouxii* ante la presencia de diferentes 12 PhACs, presentes en las aguas residuales de la ciudad de México.

2.3. Hipótesis

El hongo filamentoso *A. rouxii* es capaz de tolerar y crecer en presencia de diferentes PhACs en un medio de cultivo sólido. Sin embargo, la concentración y el tipo de PhAC podría afectar negativamente el crecimiento radial del hongo.

2.4. Objetivos

Objetivos generales

- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de PhACs sobre el crecimiento radial de *A. rouxii*.

Objetivos específicos

- Determinar la tolerancia y el efecto inhibitorio del crecimiento radial de *A. rouxii* ante la presencia de diferentes compuestos activos farmacéuticos.
- Modelar el crecimiento radial de *A. rouxii* a diferentes concentraciones de los PhACs utilizando modelos no estructurados, para conocer los parámetros cinéticos.

Capítulo 3

3. Materiales y métodos

3.1. Microorganismo

Se utilizó una cepa de *Amyloces rouxii* aislada en el laboratorio de Ingeniería Genética y Metabolitos Secundarios, a partir de suelo contaminado con pentaclorofenol (Tomasini *et al.*, 2001)

3.2. Obtención de esporas de *A. rouxii*

Se prepararon matraces Erlenmeyer de 250 mL que contenían 40 mL de Agar Papa Dextrosa (PDA). Una vez solidificado el medio se inoculó con 0.5 mL de la suspensión de esporas que fueron distribuidas homogéneamente en toda la superficie del medio. Posteriormente los cultivos fueron incubados a 30°C durante tres días o hasta su esporulación.

3.2.1 Lavado, obtención y conteo de esporas de *A. rouxii*

Se concentraron las esporas en una solución de Tween al 1% mediante agitación manual. La solución de esporas obtenidas se lavó de la siguiente manera:

1. La solución con el concentrado de esporas se centrifugó a 12,000 $x g$ durante 5 minutos, posteriormente se eliminó el sobrenadante.
2. Se adicionaron 1.5 mL de H₂O estéril y se resuspendieron las esporas mediante agitación con un vórtex. El proceso se llevó a cabo tres veces, en el último proceso de centrifugación fue eliminado el 50% del sobrenadante posteriormente se concentró la suspensión disminuyendo su volumen a la mitad.
3. A la suspensión de esporas se le adicionó glicerol al 60% y se conservó en viales de 1.5 mL a -20 °C.
4. El conteo del número de esporas obtenidas se hizo usando una cámara de Neubauer y se calculó la concentración de esporas en la solución

3.3. Medio de cultivo Lee concentrado (2X) para crecimiento radial

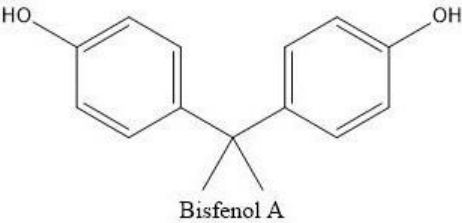
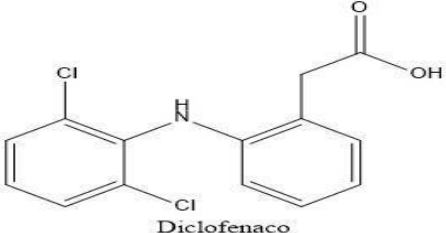
La composición del medio Lee, 2 veces concentrado, utilizado por litro fue:

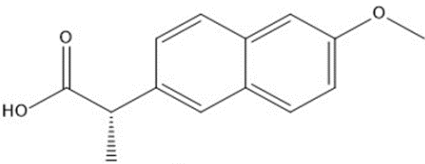
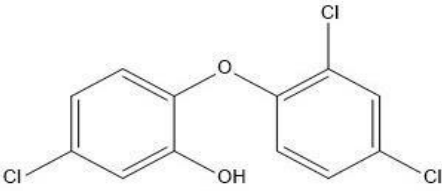
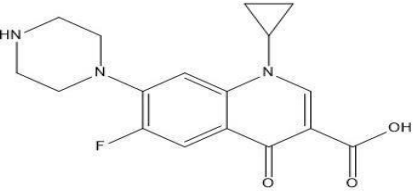
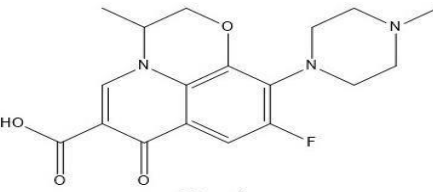

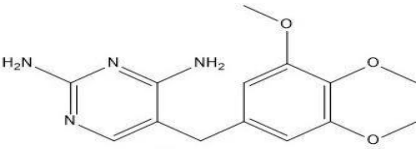
- Glu 5g (fuente de carbono).
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.5g (fuente de nitrógeno).
- KH_2PO_4 5g
- MgSO_4 4g
- NaCl 10g

Una vez disueltos los compuestos químicos del medio de cultivo el pH se ajustó a 5.3 con NaOH 0.1M y HCl 0.1M. Posteriormente se adiciono 15 g de agar bacteriológico.

3.4. Preparación de soluciones

El nombre y la estructura química de los PhACs estudiados en este trabajo se muestran en la tabla 1. Se prepararon soluciones de los diferentes fármacos ensayados; BSFA, DFC, NPX, CBZ, TRC, SMX, PCT, TRP, IBP, β ETD, CPFX y OFX a una concentración de 100 mg L⁻¹ en agua/etanol (50:50). A partir de las diferentes soluciones preparadas de los diferentes compuestos se tomaron 15, 37.5, 150, 225, 375 y 750 $\mu\text{g L}^{-1}$ y se adicionaron a 15 ml medio Lee (2X) con agar, para obtener las concentraciones de 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de los doce PhACs.

Compuesto	Acrónimo	Estructura química
Bisfenol A	BSFA	 <p style="text-align: center;">Bisfenol A</p>
Diclofenaco	DFC	 <p style="text-align: center;">Diclofenaco</p>

Naproxeno	NPX	 <p>Naproxeno</p>
Triclosán	TRC	 <p>Triclosán</p>
Ciprofloxacino	CPF	 <p>Ciprofloxacino</p>
Ofloxacino	OFX	 <p>Ofloxacino</p>
Carbamazepina	CBZ	 <p>Carbamazepina</p>
Trimetoprima	TRP	 <p>Trimetoprima</p>


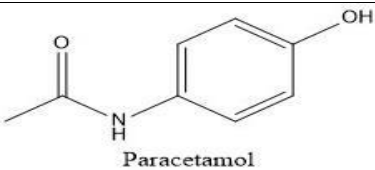

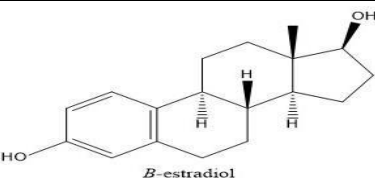
Sulfametoxazol	SMX	 <p>Sulfametoxazol</p>
Paracetamol	PCT	 <p>Paracetamol</p>
Ibuprofeno	IBP	 <p>Ibuprofeno</p>
β -estradiol	βETD	 <p><i>B</i>-estradiol</p>

Tabla I Estructuras y acrónimos de los diferentes PhACs estudiados en el crecimiento radial de *A. rouxii*.

3.5. Crecimiento radial y tolerancia de *A. rouxii* a compuestos farmacéuticos

3.5.1 Preparación del inóculo

El inóculo para realizar los experimentos de tolerancia del hongo a los fármacos se preparó en placas Petri de 9 cm de diámetro, conteniendo 15 mL de medio PDA. Cada matraz fue inoculado con 0.25 mL de suspensión de esporas de *A. rouxii* (1×10^6 esporas mL⁻¹), tomadas de un vial conservado. Las placas inoculadas se incubaron a 30 °C durante 24 h. Se preparó el inóculo (micelio) para cada uno de los experimentos realizados para medir el crecimiento radial del hongo crecido con las diferentes concentraciones de fármacos.

3.5.2 Crecimiento radial

1. Se prepararon placas Petri con 15 mL de medio Lee concentrado adicionadas con la solución de los diferentes fármacos para llegar a las concentraciones estudiadas, 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada uno de los PhACs. Los cultivos control fueron sin la presencia del fármaco. Cada tratamiento se realizó por cuatuplicado, incluyendo el control.
2. Las placas de Petri, conteniendo el medio Lee con las diferentes concentraciones del fármaco, así como el control, sin fármaco, se inocularon con micelio del hongo (obtenido como se explica en 3.5.1). Cada placa se inoculó con cilindros de 1cm de micelio de *A. rouxii* de 24 h, colocado en medio de la placa.
3. Las placas inoculadas se incubaron a 30° C.
4. Se midió el crecimiento radial de *A. rouxii* (dividiendo la placa Petri en cuatro) a las 3, 6, 8, 12, 24, 30 y 44 h de incubación.

3.6. Análisis cualitativo

Se llevaron a cabo observaciones durante el crecimiento radial de *A. rouxii*. Con base a estose realizó una caracterización del micelio, forma y tamaño del rizoide y tiempo de esporulación de los diferentes tratamientos estudiados.

3.6.1 Modelamiento del crecimiento radial

3.6.1.1 Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial

El análisis del crecimiento durante la fase exponencial permitió calcular la velocidad máxima de crecimiento (V_{max}) de *A. rouxii* en los diferentes tratamientos, dicho análisis se llevó a cabo con el programa OriginPro 2017, aplicando la regresión lineal:

$$V_{max} = \frac{CR_1 - CR_0}{t_1 - t_0} \quad (1)$$

A través de una metodología por regresión lineal y utilizando el algoritmo de interacción de Levenberg-Marquardt se llevó a cabo un ajuste de los resultados experimentales con un nivel de confianza del 95 %. A través del modelamiento de la fase exponencial para las diferentes

concentraciones analizadas se obtuvieron las cinéticas de V_{max} de los diferentes tratamientos, además de parámetros cinéticos como son: los intervalos de confianza superiores e inferiores, y el coeficiente de determinación lineal (R^2) (Baldrian & Gabriel, 2002).

3.6.1.2 Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial y fase estacionaria

El análisis de las fases para *A. rouxii* se llevaron a cabo mediante regresión no lineal a través de la ecuación logística en el programa OriginPro 2017 mediante la siguiente ecuación:

$$x = \frac{CR_0 e^{\mu_{max} t}}{1 - \frac{CR_0}{CR_{max}} (1 - e^{\mu_{max} t})} \quad (4)$$

El modelamiento se llevó a cabo mediante el algoritmo de interacción de Levenberg- Marquardt, con un nivel de confianza del 95%. Mediante el modelamiento de dichas fases se obtuvieron los siguientes parámetros cinéticos: la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), el máximo crecimiento, los intervalos de confianza superiores e inferiores, X^2 y R^2 (Shuler & Kargi, 2002).

3.6.1.3 Estimación de la fase lag

Aunque el análisis solo representa la fase exponencial y estacionaria, el valor de la fase lag (λ) se tomó directamente de las cinéticas modeladas.

3.6.1.4 Porcentaje de inhibición a las 24 h

A las 24 h de cultivo *A. rouxii* crecido sin y con PhACs se encontró en la fase de crecimiento radial, independientemente de la presencia y concentración de los PhACs. Por esta razón se decidió tomar el crecimiento radial a las 24 h de cada cultivo, para determinar el efecto inhibitorio del crecimiento radial de *A. rouxii*. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de diferentes concentraciones de PhACs se calculó con la ecuación siguiente (Sagar & Singh, 2011):

$$\% \text{inhibición a las } 24h = \frac{CR_c - CR_f}{CR_c} * 100 \quad (9)$$

CR_c : crecimiento radial control a las 24 h de cultivo

CR_f : crecimiento radial con fármaco a las 24 h de cultivo

El efecto inhibitorio del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por los fármacos se calculó con los datos de crecimiento a las 24 horas, en la fase exponencial, ya que, a las 44 h, en todos los tratamientos se alcanzó el valor del máximo crecimiento. Los resultados del porcentaje de inhibición se analizaron a través de un Diseño Completamente al Azar (DSA) de un solo factor. Los tratamientos se sometieron a dos hipótesis.

Las hipótesis sometidas a prueba son:

HA: La presencia de micro contaminantes en un medio de cultivo sólido inhibirá el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo. Por lo tanto, el porcentaje de inhibición del crecimiento radial dependerá de la concentración del micro-contaminante en el medio de cultivo. Se considera que, con al menos una concentración de micro-contaminante en el medio de cultivo, el valor promedio del porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* será diferente en comparación a los demás tratamientos.

H_A = Al menos un porcentaje de inhibición del crecimiento radial es diferente.

H₀: La presencia de diferentes concentraciones de micro contaminantes en un medio de cultivo sólido producirán el mismo grado de inhibición sobre el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo.

$$H_0 : \mu_{100} = \mu_{250} = \mu_{1000} = \mu_{1500} = \mu_{2500} = \mu_{5000}$$

Modelo lineal general

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} es el porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo observado en la j -ésima repetición a la que se le aplicó el i -ésimo tratamiento, μ es la media general del porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*, τ_i es el efecto i -ésimo del tratamiento sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* y ε_{ij} es el error asociado a la observación Y_{ij} .

Comprobación del supuesto de análisis de normalidad y homogeneidad de varianza

El diagrama de la figura 2 indica la comprobación de los supuestos de análisis de normalidad y de la homogeneidad de varianza para la inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*. De los datos

experimentales se corroboró que los doce tratamientos presentan una distribución normal. A través del método de Kolmogórov-Smirnov se comprobó que los tratamientos con DFC, TRC, NPX, CPFX, BSFA, SMX, PCT, TRP, IBP y β ETD presentaron una normalidad de la distribución de los residuos. Sin embargo, para los tratamientos con CBZ y OFX se comprobó la distribución normal por el método de D'Agostino Kurtosis (p -valor > 0.05).

El supuesto de homogeneidad de varianza se comprobó por el método de Levene, se identificó que siete tratamientos (TRC, NPX, CPFX, BSFA, SMX, PCT y TRP) presentaron una homogeneidad de varianza (p -valor > 0.05) y que cinco tratamientos no presentaron homogeneidad de varianza (DFC, IBP, β ETD, CBZ y OFX). Para los tratamientos que presentaron una homogeneidad de varianza la comparación múltiple se llevó a cabo mediante el método HSD de Tukey y para aquellos que no presentaron una homogeneidad de varianza se utilizó el método de Games-Howell.

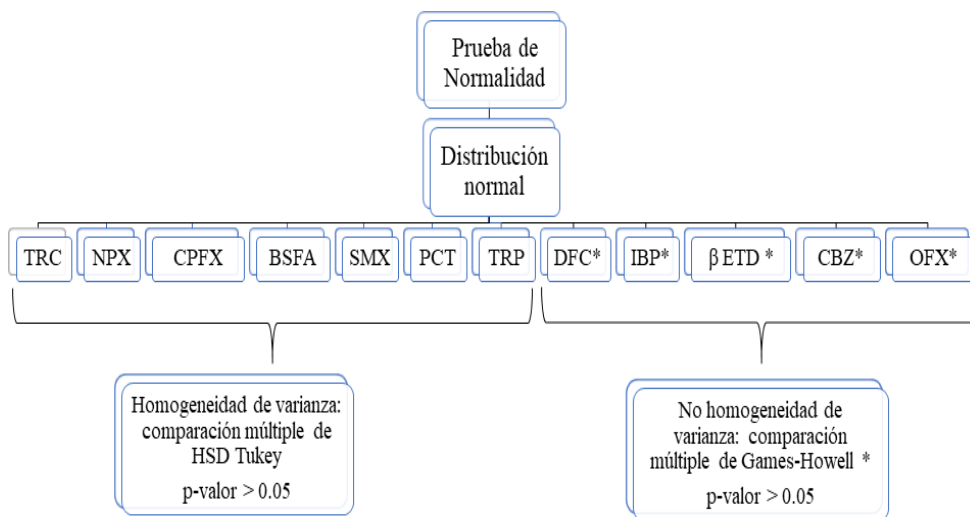


Figura 2 Diagrama de la comprobación del supuesto de normalidad y homogeneidad de varianza para los tratamientos con diferentes concentraciones de PhACs.

Capítulo 4

4. Resultados

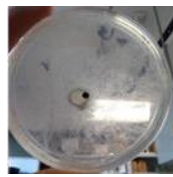



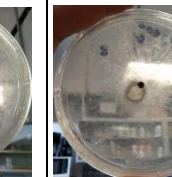

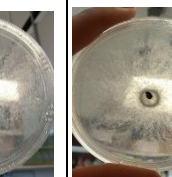


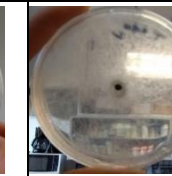



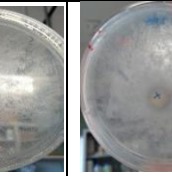
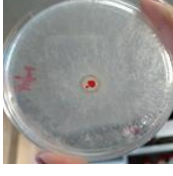
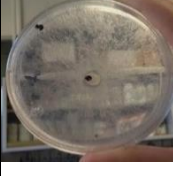


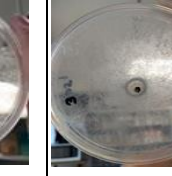
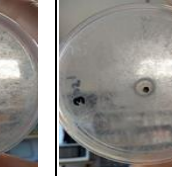

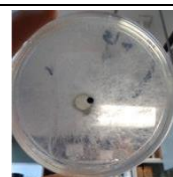

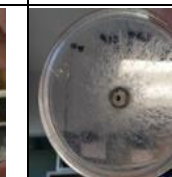
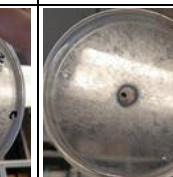

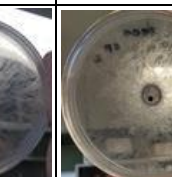
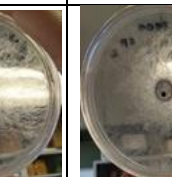


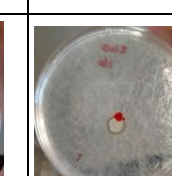
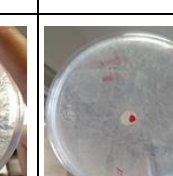
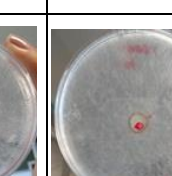
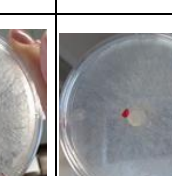
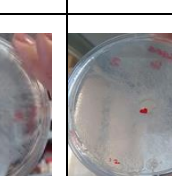



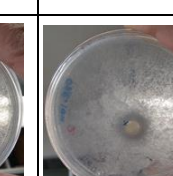
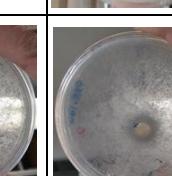
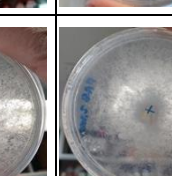
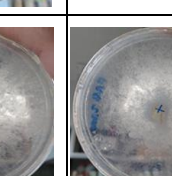
4.1. Cinética de crecimiento radial de *A. rouxii*

El crecimiento radial de *A. rouxii* se llevó a cabo a diferentes concentraciones de los doce PhACs: 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Como control se realizaron cultivos sin fármaco. Todos los cultivos se llevaron a cabo por cuatuplicado.

4.1.1 Descripción cualitativa del crecimiento radial

La figura 2 muestra el desarrollo del micelio de *A. rouxii* con la presencia de diferentes concentraciones de PhACs. El cultivo control presentó un micelio aéreo, grueso de color blanco. En los cultivos con TRP, TRC y OFX el grosor del micelio no se afectó por la presencia de estos fármacos a ninguna concentración, solo con OFX el micelio se observó un 10% más delgado con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Los cultivos con CPFX, IBP, PCT, BSFA y SMX a concentraciones entre 100 a 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ presentaron un micelio con grosor medio y a mayores concentraciones, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$, se observó micelio más delgado. Los cultivos con NPX presentaron un micelio con grosor medio a 100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ y a mayores concentraciones, de 1000 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$, el micelio observado fue más delgado. En los cultivos con CBZ a concentraciones de 100, 250, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ el grosor del micelio no se afectó, para las concentraciones con 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ se observó delgado y a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ no se observó crecimiento. Los cultivos con DFC y con β ETD presentaron un micelio delgado en todas sus concentraciones.

La esporulación en los cultivos control empezó a las 46 h y en cultivos. En presencia de IBP y β ETD el tiempo de esporulación se inició a las 47h. En los cultivos con NPX, CBZ y TRC la esporulación comenzó a las 48 h. En presencia de BSFA y DFC el hongo esporuló a las 49 h. En los cultivos con 100 a 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CPX la esporulación inició a las 47 h y con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ a las 48 h. En los cultivos con 100, 250 y 1000 PCT $\mu\text{g L}^{-1}$ la esporulación empezó a las 48 h y con 1500, 2500, 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ a las 49 h. En los cultivos con 100, 250, 1000 y 1500 SMX $\mu\text{g L}^{-1}$ la esporulación se observó a las 48 h y con 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ a las 49. En los cultivos con TRP, 100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, *A. rouxii* esporuló a las 48 h y con 1000 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ a las 49 h.

PhACs	Concentraciones ($\mu\text{g L}^{-1}$)						
	0*	100	250	1000	1500	2500	5000 g L^{-1}
TRP							
TRC							
OFX							
CPFX							
IBP							
PCT							

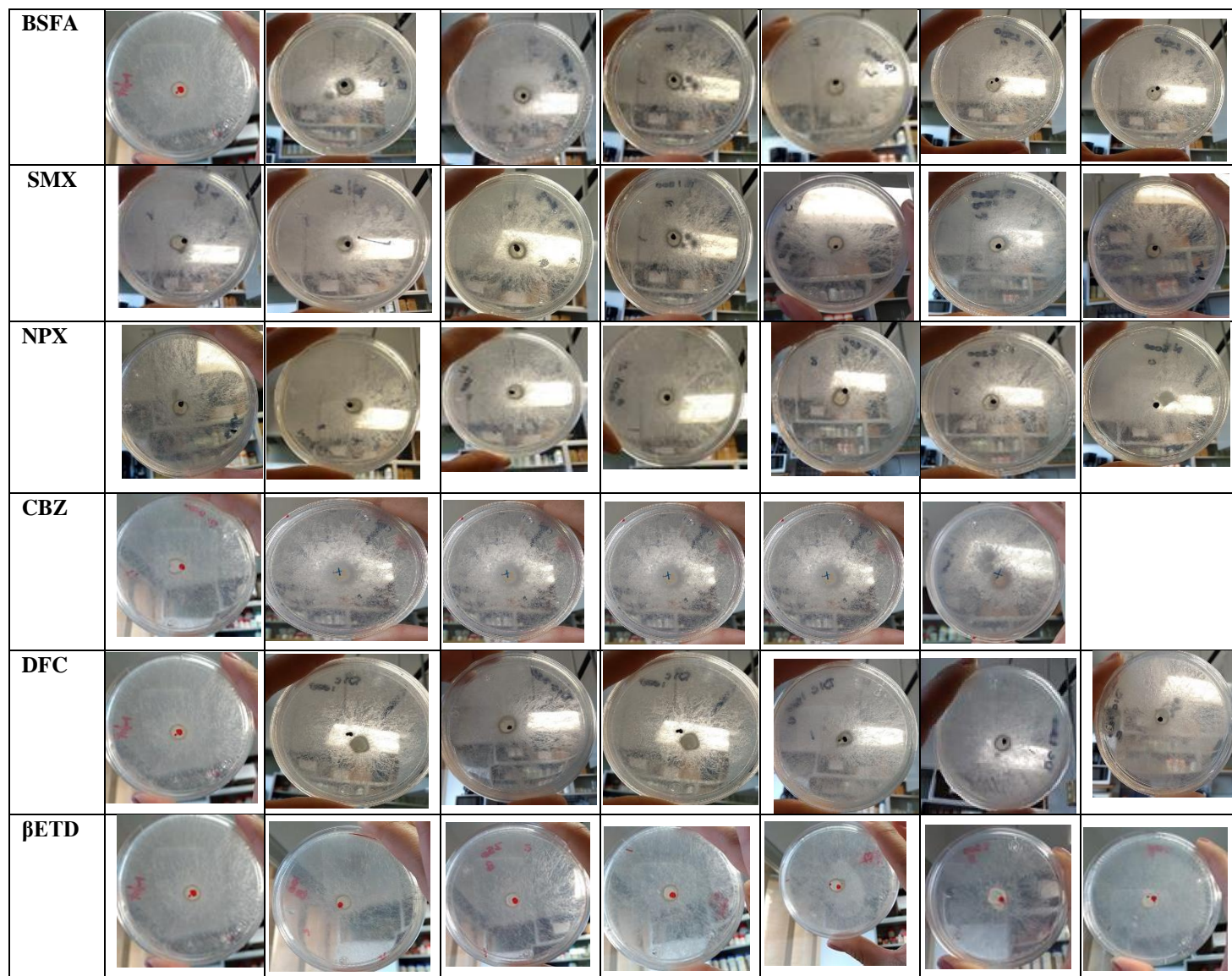


Figura 3 Desarrollo del micelio a las 49 h de cultivo de *A. rouxii* ante la presencia de diferentes PhACs. 0* = control, BSFA = Bisfenol A, DFC = Diclofenaco, NPX = Naproxeno, TRC = Triclosán, CPFX = Ciprofloxacino, OFX = Ofloxacino, CBZ = Carbamazepina, PCT = Paracetamol, SMX = Sulfametoxazol, TRP = Trimetoprima, IBP = Ibuprofeno, βETD = β-estradiol.

4.2. Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial

La fase exponencial del crecimiento radial se modeló a partir de los datos de crecimiento de *A. rouxii* ajustado con regresión lineal. Del ajuste de los datos con este modelo se obtuvieron los valores de la velocidad de crecimiento máxima (V_{max}) para cada uno de los tratamientos, a continuación, se muestran los resultados obtenidos a partir de los cultivos con cada uno de los PhACs estudiados. Todos los valores de V_{max} fueron calculados con una confianza de p-valor > 0.05.

Bisfenol A

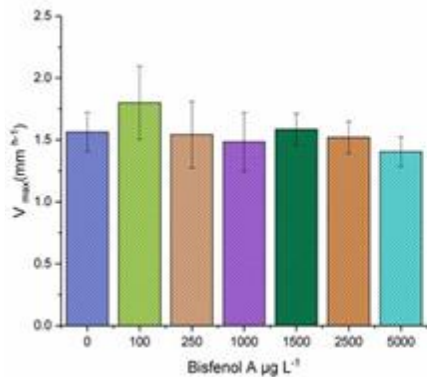


Figura 4 V_{max} obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Bisfenol (µg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.800	1.505	2.096	0.980
250	1.543	1.274	1.811	0.971
1000	1.484	1.248	1.721	0.977
1500	1.585	1.456	1.713	0.992
2500	1.520	1.393	1.648	0.991
5000	1.404	1.285	1.523	0.991

Tabla 2 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para BSFA

La figura 4 muestra los valores de la V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diversas concentraciones de BSFA, obtenidos mediante regresión lineal (anexo A1). Se observó que no hay variación en el valor de la V_{max} en los cultivos con BSFA con respecto al control. La tabla 2 presenta los parámetros cinéticos obtenidos a partir de la regresión lineal. Los intervalos de confianza obtenidos confirman que los valores de V_{max} no presentan diferencia significativa.

Diclofenaco

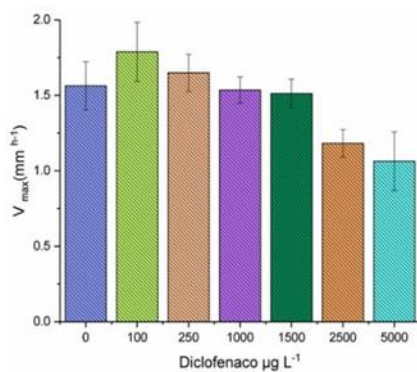


Figura 5 V_{max} obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de DFC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Diclofenaco (µg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.625	1.481	1.770	0.992
250	1.522	1.368	1.675	0.990
1000	1.540	1.140	1.676	0.992
1500	1.485	1.388	1.582	0.995
2500	1.362	1.263	1.461	0.993
5000	1.531	0.948	2.115	0.930

Tabla 3 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para DFC.

Los valores de V_{max} del cultivo control y de los cultivos de 100 a 1500 µg DCF L⁻¹, obtenidos a partir del modelamiento de la regresión lineal (anexo A2), son similares confirmado por los

intervalos de confianza obtenidos (figura 5, tabla 3). Los tratamientos con, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución significativa de V_{max} con respecto al cultivo control (tabla 3).

Naproxeno

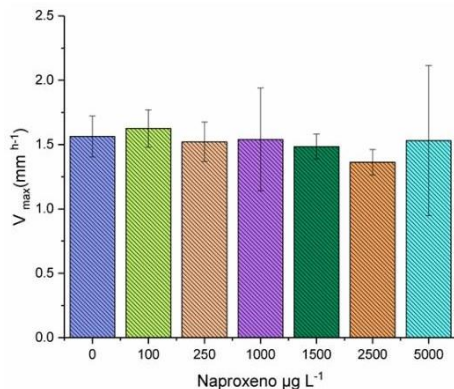


Figura 6 Vmax obtenida de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Naproxeno (µg L⁻¹)	V _{max} (h⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h⁻¹)		R²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.625	1.481	1.770	0.992
250	1.522	1.368	1.675	0.990
1000	1.540	1.140	1.676	0.992
1500	1.485	1.388	1.582	0.995
2500	1.362	1.263	1.461	0.993
5000	1.531	0.948	2.115	0.930

Tabla 4 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para NPX.

Los valores de la Vmax del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diversas concentraciones de NPX, obtenidos mediante regresión lineal se muestran en la figura 6 (anexo A3). Se observó que no hay variación en el valor de la Vmax en los cultivos con NPX con respecto al control. La tabla 4 presenta los parámetros cinéticos obtenidos a partir de la regresión lineal. Los intervalos de confianza obtenidos confirman que los valores de Vmax indican que no hubo diferencia significativa.

Triclosán

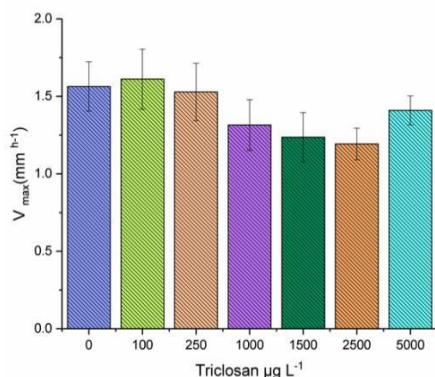


Figura 7 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Triclosán (µg L⁻¹)	V _{max} (h⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h⁻¹)		R²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.611	1.417	1.804	0.986
250	1.528	1.342	1.713	0.985
1000	1.315	1.151	1.479	0.981
1500	1.236	1.077	1.395	0.980
2500	1.193	1.092	1.294	0.991
5000	1.409	1.317	1.502	0.997

Tabla 5 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para TRC.

La figura 7 muestra los valores de V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii*, de los cultivos control y con TRC, obtenidos a partir de la regresión lineal (anexo A4). La V_{max} se calculó con un intervalo de confianza de p -valor >0.05 . Los tratamientos con 100, 250, 1000 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ presentan un valor de V_{max} semejante al del cultivo control. Los tratamientos con, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución de la V_{max} de 1.285 veces en promedio con respecto al control, los resultados indican que no hay diferencias significativas de los valores de V_{max} en los cultivos con TRC con respecto al cultivo control (tabla 5).

Ciprofloxacino

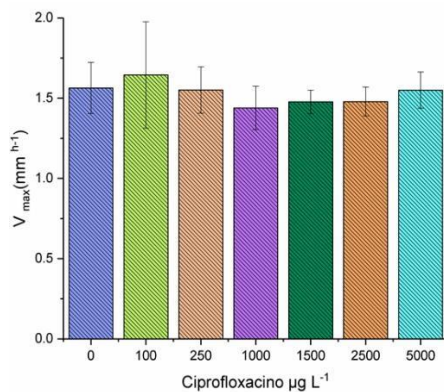


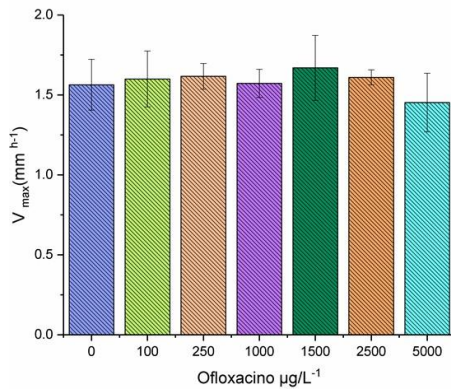
Figura 8 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Ciprofloxacino ($\mu\text{g L}^{-1}$)	V_{max} (h^{-1})	Intervalo de Confianza 95% (h^{-1})		R^2
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.644	1.313	1.975	0.970
250	1.551	1.407	1.695	0.991
1000	1.439	1.304	1.570	0.991
1500	1.477	1.405	1.550	0.998
2500	1.479	1.389	1.569	1.000
5000	1.550	1.437	1.663	0.995

Tabla 6 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para CPFX.

Los valores de V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de CPFX, obtenidos a partir del modelamiento de la regresión lineal (anexo A5), con una confianza de p -valor >0.05 , fueron similares entre el cultivo control y las diferentes concentraciones, no se observó diferencia significativa (figura 8). (tabla 6). Los resultados obtenidos del modelo indican que el crecimiento radial de *A. rouxii* se ajustó, bien y no se ve afectado por la presencia de CPFX (tabla 6).

Ofloxacino



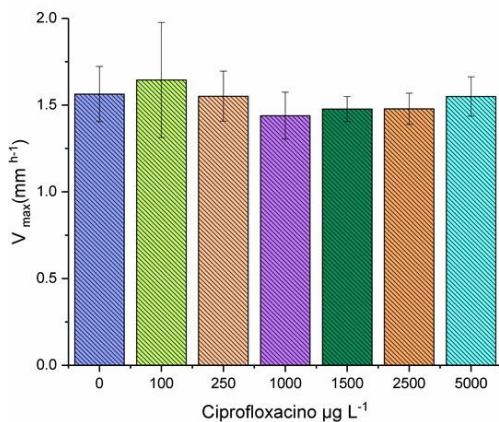
Ofloxacino (µg L ⁻¹)	µ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.600	1.425	1.774	0.988
250	1.617	1.536	1.697	0.998
1000	1.572	1.484	1.660	0.997
1500	1.669	1.466	1.872	0.989
2500	1.610	1.563	1.657	0.999
5000	1.452	1.269	1.635	0.988

Figura 9 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).

Tabla 7 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para OFX.

La figura 9 representa los valores de del crecimiento radial en presencia de OFX obtenidos a partir del modelamiento de la ecuación lineal. No se observó diferencia entre los valores Vmax del cultivo control y de los cultivos con OFX, como lo indican los parámetros cinéticos (tabla 7, anexo A6).

Carbamazepina



Carbamazepina (µg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.605	1.398	1.812	0.984
250	1.666	1.440	1.893	0.982
1000	1.475	1.416	1.534	0.998
1500	1.252	1.210	1.294	0.999
2500	0.957	0.631	1.283	0.896
5000	0.000	0.000	0.000	0.000

Figura 10 Valores de Vmax obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).

Tabla 8 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para CBZ.

Se presentan en la figura 10 los valores de Vmax del crecimiento radial de *A. rouxii* con CBZ, calculados mediante regresión lineal. La presencia de CBZ en los cultivos con 100 a 1500 µg

L-1 no afectó los valores de V_{max} con respecto al cultivo control. Los tratamientos con, 1500 y 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución significativa de V_{max} de 1.435 veces en promedio con respecto al cultivo control (tabla 8). En el cultivo con 5000 $\mu\text{g/L}$ no se observó crecimiento de *A. rouxii*. (A7 anexo).

Trimetoprima

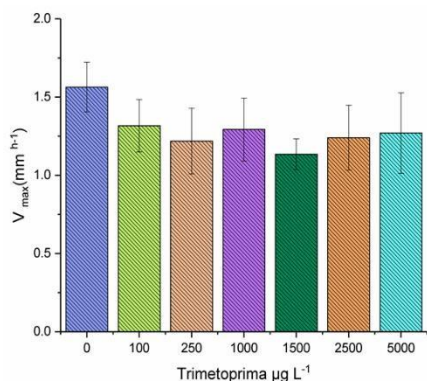


Figura 11 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Trimetoprima ($\mu\text{g L}^{-1}$)	V_{max} (h^{-1})	Intervalo de Confianza 95% (h^{-1})		R^2
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.316	1.149	1.483	0.980
250	1.219	1.009	1.428	0.964
1000	1.292	1.092	1.493	0.971
1500	1.135	1.037	1.233	0.991
2500	1.240	1.032	1.457	0.963
5000	1.270	1.012	1.527	0.951

Tabla 9 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para TRP.

La figura 11 muestra los valores de V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii*, de los cultivos control y con TRP, obtenidos a partir de la regresión lineal (anexo A8). Los tratamientos con 100, 250, 1000, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ presentan un valor de V_{max} semejante al del cultivo control. Los tratamientos con, 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución de La V_{max} de 1.37 veces en promedio con respecto al control, los resultados indican que no hay diferencias significativas de los valores de V_{max} en los cultivos con TRP con respecto al cultivo control (tabla 9).

Sulfametoxazol

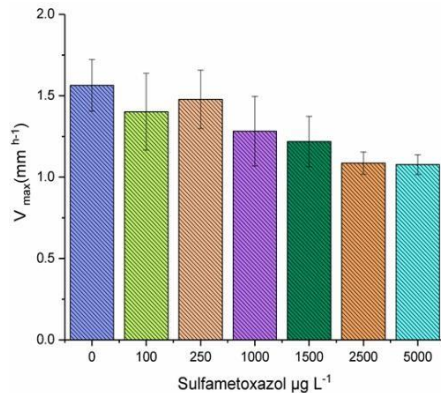


Figura 12 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).

Sulfametoxazol (µg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.402	1.166	1.637	0.966
250	1.478	1.299	1.657	0.982
1000	1.281	1.067	1.495	0.966
1500	1.218	1.063	1.373	0.984
2500	1.085	1.017	1.154	0.996
5000	1.076	1.016	1.137	0.997

Tabla 10 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para SMX.

La figura 12 muestra los valores V_{max} obtenidos mediante regresión lineal para el crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes concentraciones de SMX (anexo A9). La V_{max} obtenida en el cultivo control es muy similar a la de los cultivos con 100, 250 y 1000µg L⁻¹ SMX. Los resultados de los intervalos de confianza confirman que las diferencias en los valores V_{max} de no son significativas (tabla 10).

Paracetamol

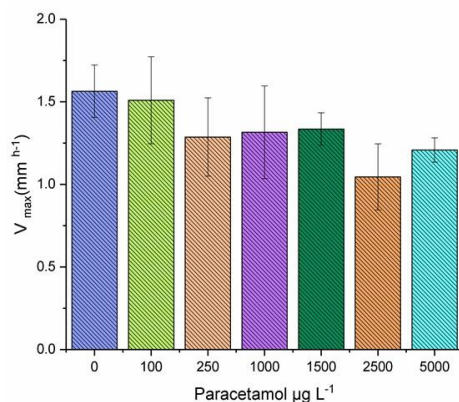


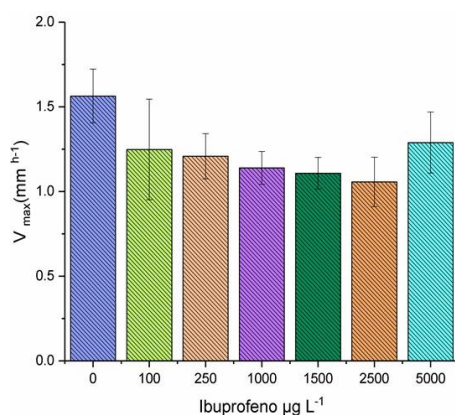
Figura 13 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de PCT. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).

Paracetamol (µg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.509	1.245	1.773	0.970
250	1.286	1.049	1.523	0.962
1000	1.315	1.034	1.596	0.956
1500	1.335	1.237	1.433	0.995
2500	1.045	0.845	1.245	0.965
5000	1.208	1.135	1.281	0.996

Tabla 11 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para PCT.

Los valores de V_{max} obtenidos a partir del modelamiento por regresión lineal para el crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de PCT se muestran en la figura 13. Los tratamientos con PCT y el cultivo control tuvieron valores similares de V_{max} . Esto se confirma con los parámetros cinéticos del crecimiento radial de *A. rouxii* (Anexo A10). Los intervalos de confianza de la μ_{max} indican que no hay diferencia significativa entre el cultivo control y con las diferentes concentraciones de PCT (tabla 11)

Ibuprofeno



Ibuprofeno (µg L ⁻¹)	V_{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R^2
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.248	0.951	1.545	0.980
250	1.208	1.074	1.342	0.985
1000	1.139	1.043	1.236	0.991
1500	1.107	1.014	1.201	0.991
2500	1.056	0.910	1.202	0.981
5000	1.289	1.108	1.470	0.981

Figura 14 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Tabla 12 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para IBP.

Los valores de V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes tratamientos de IBP y el control se representan en la figura 14. Las diferencias de V_{max} en los cultivos con 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ con respecto al control no son significativas (tabla 12, anexo A11).

β-estradiol

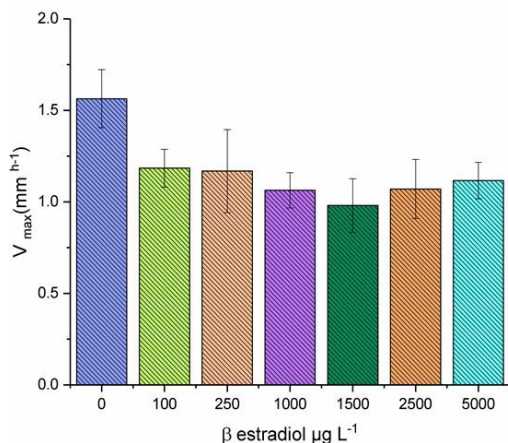


Figura 15 Valores de V_{max} obtenidos de la regresión lineal durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de βETD. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p-valor > 0.05).

β estradiol (μg L ⁻¹)	V _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²
		Inferior	Superior	
0	1.563	1.405	1.722	0.990
100	1.184	1.080	1.288	0.990
250	1.168	0.941	1.395	0.955
1000	1.063	0.967	1.159	0.990
1500	0.980	0.833	1.127	0.973
2500	1.070	0.909	1.232	0.951
5000	1.116	1.017	1.215	0.992

Tabla 13 Parámetros cinéticos de la regresión lineal en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para βETD.

La figura 15 muestra los valores de la V_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diversas concentraciones de βETD, obtenidos mediante regresión lineal (anexo A12). Es el único fármaco, de los estudiados en este trabajo, que si afecta la V_{max} de crecimiento radial de *A. rouxii*. Se observó que, si hay variación significativa en el valor de la V_{max} en los cultivos con βETD, sin importar la concentración, con respecto al control (tabla 13).

4.3. Modelamiento del crecimiento de la fase exponencial y fase estacionaria

Con la ecuación logística se modelaron las fases de crecimiento exponencial y estacionaria a y se obtuvieron los valores de μ_{max} a partir los datos de crecimiento radial (mm) de *A. rouxii* para los diferentes tratamientos. En este trabajo se utilizó la ecuación logística:

$$CR = \frac{CR_0 e^{\mu_{max}t}}{1 - \frac{CR_0}{CR_{max}}(1 - e^{\mu_{max}t})}$$

La ecuación logística permite la obtención de la tasa específica máxima de crecimiento de hongos filamentosos, μ_{max} (h⁻¹) a partir de diversos datos experimentales Mitchell *et al.*,(2004). El crecimiento puede ser determinado como producción de biomasa (mg biomasa seca), producción

de un metabolito (mg metabolito producido), producción de CO₂ (mol CO₂ producido) o extensión del micelio, (mm de micelio producido).

Por ejemplo, Nagel *et al.*, (1999) calcularon la tasa específica máxima de crecimiento de *Rhizopus oligosporus* (μ_{max}) a partir de datos de mol CO₂ producido durante el crecimiento del hongo. Se ha reportado con anterioridad que la producción de CO₂ es una forma indirecta para determinar el crecimiento de hongos filamentosos en cultivo sólido (Narahara *et al.*, 1982; Okazaki *et al.*, 1980). La μ_{max} del crecimiento de hongos filamentosos ha sido calculada a partir de datos de crecimiento radial (cm o mm) usando la ecuación logística (Bevilacqua *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2013; Ruiz *et al.*, 2012; Sadañoski *et al.*, 2018).

Bisfenol A

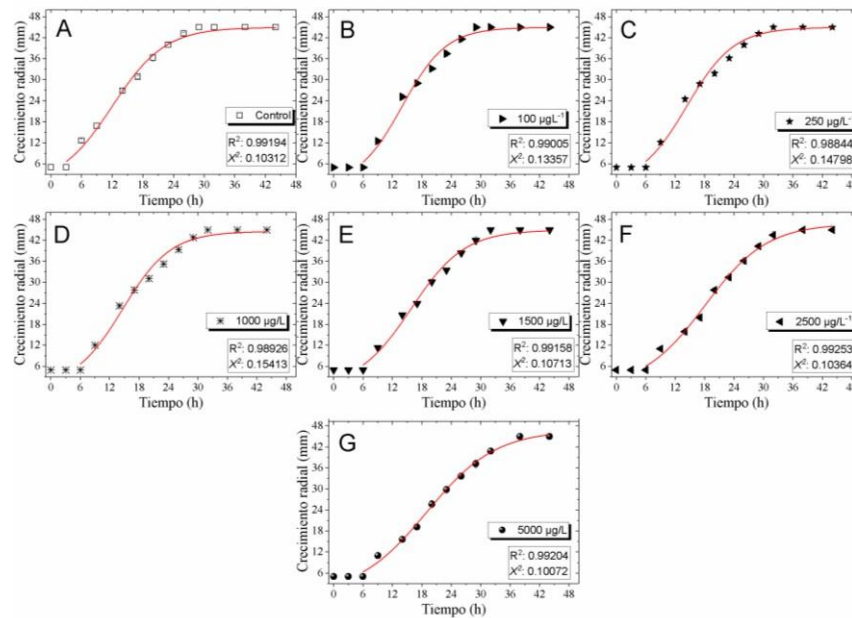


Figura 16 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de BSFA, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 16 presenta las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diferentes concentraciones de BSFA, y el ajuste de los datos obtenido con la ecuación logística. Los datos experimentales de todas las concentraciones se ajustaron bien con este modelo, como lo demuestran los valores de R^2 y X^2 . En el cultivo control, así como en los cultivos con 100, 250, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BSFA la fase estacionaria comenzó a las 28 h de cultivo (figura 16A,

B, C, D y E). En los cultivos con 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de SFA se observa que la fase estacionaria comenzó aproximadamente 10 horas después con respecto al cultivo control, 38 h (figura 16 F y G). La fase lag en los cultivos con el fármaco fue de 6 h.

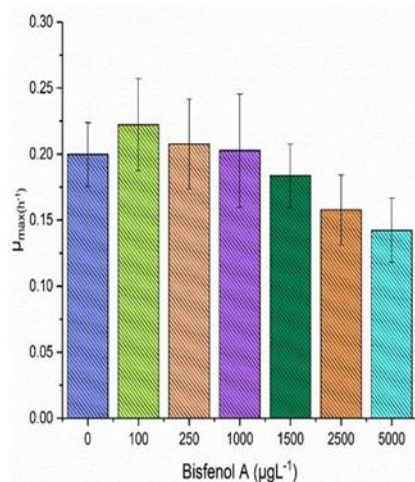


Figura 17 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados ($p\text{-valor} > 0.05$).

Bisfenol A ($\mu\text{g L}^{-1}$)	μ_{max} (h^{-1})	Intervalo de Confianza 95% (h^{-1})		R^2	χ^2
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9919	0.1031
100	0.222	0.187	0.257	0.9900	0.1335
250	0.208	0.174	0.242	0.9884	0.1479
1000	0.203	0.160	0.245	0.9892	0.1541
1500	0.184	0.159	0.208	0.9915	0.1071
2500	0.158	0.132	0.184	0.9925	0.1036
5000	0.142	0.118	0.167	0.9920	0.1007

Tabla 14 Parámetros cinéticos del modelo logístico del crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para BSFA.

La figura 17 muestra los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de BSFA obtenidos a partir del modelo logístico. Para los tratamientos con 100, 250 y 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ la μ_{max} fue similar a la del cultivo control. En los cultivos con 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ BSFA se observa una ligera una disminución de μ_{max} , de 1.25 veces en promedio con respecto al cultivo control. Sin embargo, la diferencia no es significativa de acuerdo con los intervalos de confianza obtenidos. Los valores μ_{max} se calcularon con una confianza de $p\text{-valor} > 0.05$ (Tabla 14).

Diclofenaco

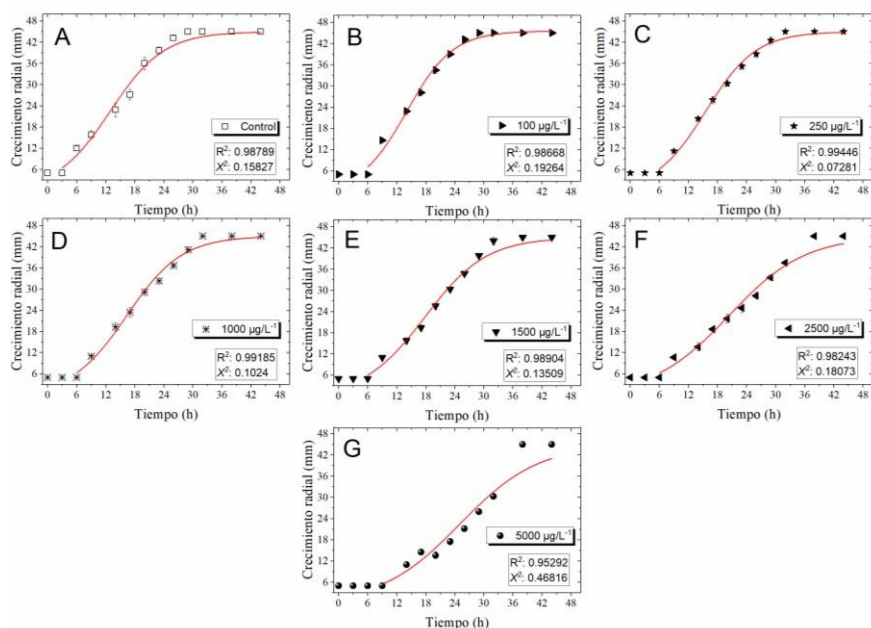


Figura 18 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones DFC, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

En la figura 18 se muestran las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes concentraciones de DFC, el ajuste de los datos se realizó con la ecuación logística. Se observó que los cultivos control y con $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de DFC (figura 18 A y B) la fase estacionaria inició a las 28 h de cultivo. En los tratamientos con 250 y $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ la fase estacionaria comenzó 4 h después con respecto al cultivo control (figura 18 C, D). Para los tratamientos con 1500, 2500 y $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ de DFC se observó que la fase estacionaria inició aproximadamente 10 h después que en el control (figura 18 E, F y G). La fase lag en el cultivo con $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ fue de 9h.

Los datos experimentales se ajustaron bien con el modelo logístico (valores de R² y X²), excepto para la mayor concentración, $5000 \mu\text{g L}^{-1}$, en este caso se pierde un poco la forma sigmoideal de la curva y se agrupan más datos experimentales en la fase exponencial, el valor de R² es menor y la X² mayor que las obtenidas para el cultivo control (tabla 15).

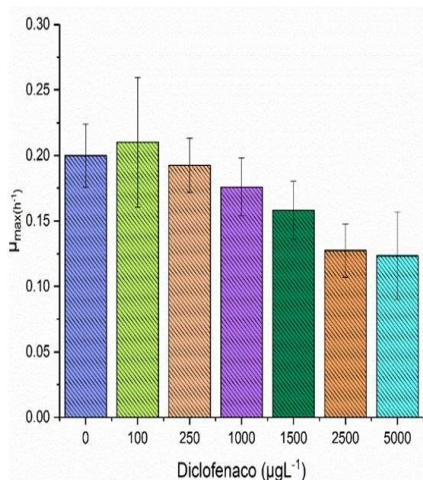


Figura 19 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico del crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) y con de diferentes concentraciones de DFC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05)

Diclofenaco (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9878	0.1582
100	0.210	0.160	0.260	0.9866	0.1926
250	0.192	0.171	0.213	0.9944	0.0728
1000	0.176	0.154	0.198	0.9918	0.1024
1500	0.158	0.136	0.180	0.9890	0.1350
2500	0.127	0.107	0.148	0.9824	0.1807
5000	0.123	0.090	0.157	0.9599	0.4681

Tabla 15 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para DFC.

Los valores de μ_{max} del cultivo control y de cultivos con de 100 a 1500 $\mu\text{g DFC L}^{-1}$, obtenidos a partir del modelo logístico, son similares (figura 19), confirmado por los intervalos de confianza obtenidos (tabla 15). Los tratamientos con, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución de μ_{max} de 1.32 veces en promedio con respecto al cultivo control, la disminución no es significativa ya que los intervalos de confianza se tocan (tabla 15). Todos los valores de μ_{max} fueron calculados con una confianza de p -valor >0.05.

Naproxeno

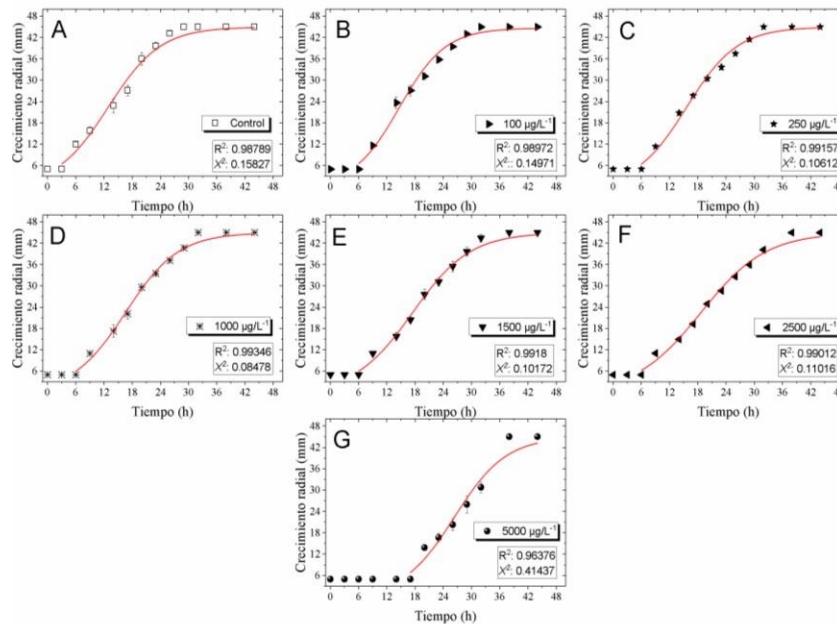


Figura 20 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones NPX, µg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 20 representa las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de NPX, el ajuste de las cinéticas se realizó con la ecuación logística. La fase estacionaria en el cultivo control comenzó a las 28 h de cultivo (figura 20 A). Los cultivos con presencia de NPX a las concentraciones de 100, 250 y 1000 µg L⁻¹ presentaron el inicio de la fase estacionaria a las 32 h (figura 20 B, C y D); a las concentraciones de 1500, 2500 y 5000 µg L⁻¹ el inicio de la fase estacionaria fue a las 38 h (figura 20 E, F y G). La fase lag fue 3 h mayor con respecto al control para los cultivos con NPX, independientemente de la concentración, excepto para la mayor concentración, 5000 µg L⁻¹, en el que la fase lag fue de 18h. Los datos experimentales obtenidos en el cultivo con esta concentración no se ajustaron bien al modelológico, como lo indican los valores de R^2 y X^2 (tabla 16), es decir, el crecimiento radial del hongo se afectó por la presencia de NPX, aunque el valor de μ_{max} no se afectó (figura 20)

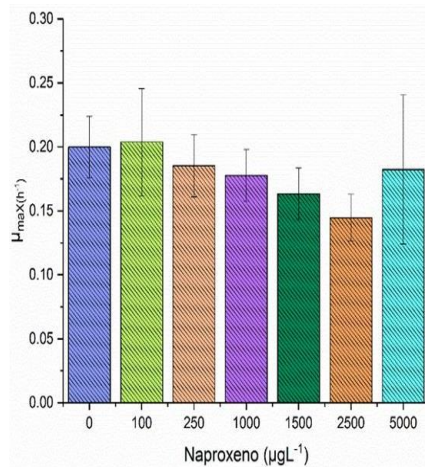


Figura 21 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados al (p -valor > 0.05).

Naproxeno (μg/L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9878	0.1582
100	0.204	0.162	0.246	0.9897	0.1497
250	0.185	0.161	0.210	0.9915	0.1061
1000	0.178	0.157	0.198	0.9934	0.0847
1500	0.163	0.143	0.183	0.9918	0.1017
2500	0.145	0.126	0.163	0.9901	0.1101
5000	0.182	0.124	0.240	0.9637	0.4143

Tabla 16 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para NPX.

La figura 21 muestra los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diversas concentraciones de NPX, obtenidos con el modelo logístico. Se observó que no hay variación en el valor de la μ_{max} en los cultivos con NPX con respecto al control. La tabla 16 presenta los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo logístico. Los cálculos de los valores de μ_{max} se realizaron con un nivel de confianza de p -valor >0.05. Los intervalos de confianza obtenidos confirman que los valores de μ_{max} indican que no hubo diferencia significativa. El incremento del valor de μ_{max} observado en la figura 21, para el cultivo con a5000 $\mu\text{g L}^{-1}$, no es confiable por los intervalos de confianza.

Triclosán

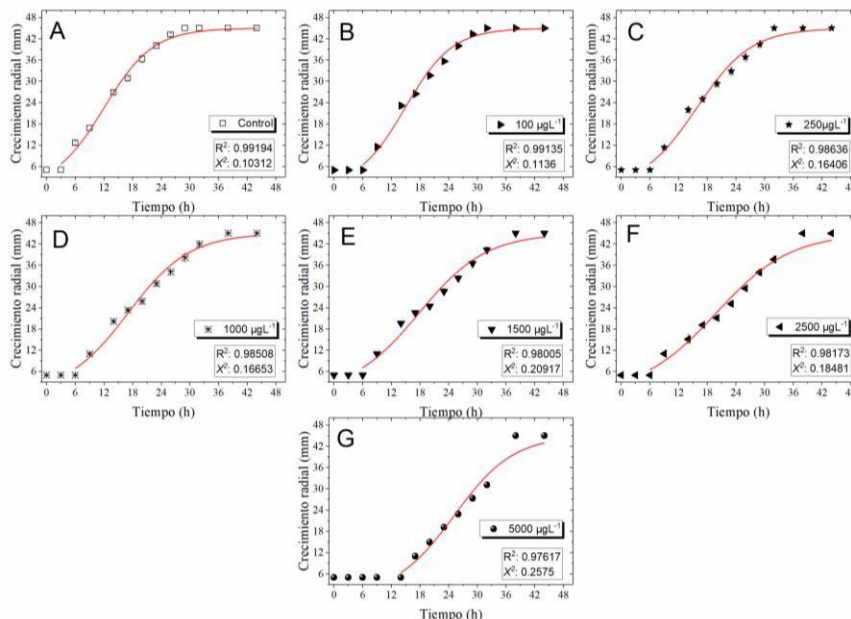


Figura 22 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones TRC, µg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

En la figura 22 se presentan las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* cultivado con TRC y el ajuste de los datos con el modelo logístico no lineal. Todos los datos experimentales, tanto el cultivo control como los tratamientos con TRC se ajustaron bien con este modelo R^2 entre 0.991 y 0.981; excepto el cultivo con 5000 µg L⁻¹, la R^2 fue de 0.976 (tabla 4). La fase estacionaria en el cultivo control (figura 22 A) inició a las 28 h y a las 32 h para los cultivos con 100, 250 1000 y 1500 µg L⁻¹ (figura 22 B, C, D y E). Para los tratamientos con, 2500 y 5000 µg L⁻¹ la fase estacionaria comenzó a las 38 h de cultivo (figura 22 F y G). El cultivo con 5000 µg L⁻¹ presentó una fase lag de 12 h.

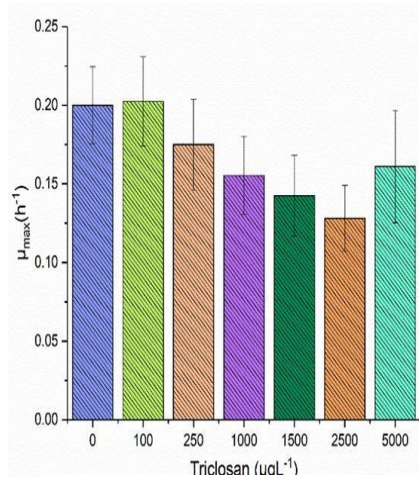


Figura 23 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05)

Triclosán (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	χ ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9919	0.1031
100	0.202	0.174	0.231	0.9913	0.1136
250	0.175	0.146	0.204	0.9863	0.1640
1000	0.155	0.130	0.180	0.9850	0.1665
1500	0.143	0.117	0.168	0.9800	0.2091
2500	0.128	0.107	0.149	0.9817	0.1848
5000	0.161	0.125	0.197	0.9761	0.2575

Tabla 17 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para TRC.

La figura 23 muestra los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii*, de los cultivos control y con TRC, obtenidos a partir del modelo logístico. La μ_{max} se calculó con un intervalo de confianza de p -valor > 0.05. El tratamiento con 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ presenta un valor de μ_{max} semejante al del cultivo control. Los tratamientos con 250, 1000, 1500 y 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostraron una disminución de μ_{max} de 1.32 veces en promedio con respecto al control. Los resultados indican que no hay diferencias significativas de los valores de μ_{max} en los cultivos con TRC con respecto al cultivo control, los intervalos de confianza se tocan (tabla 17). En el cultivo 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ se observó que el perfil de crecimiento se pierde, (figura 23 G), por lo que el incremento que se observa del valor de μ_{max} no es confiable (tabla 17).

Ciprofloxacino

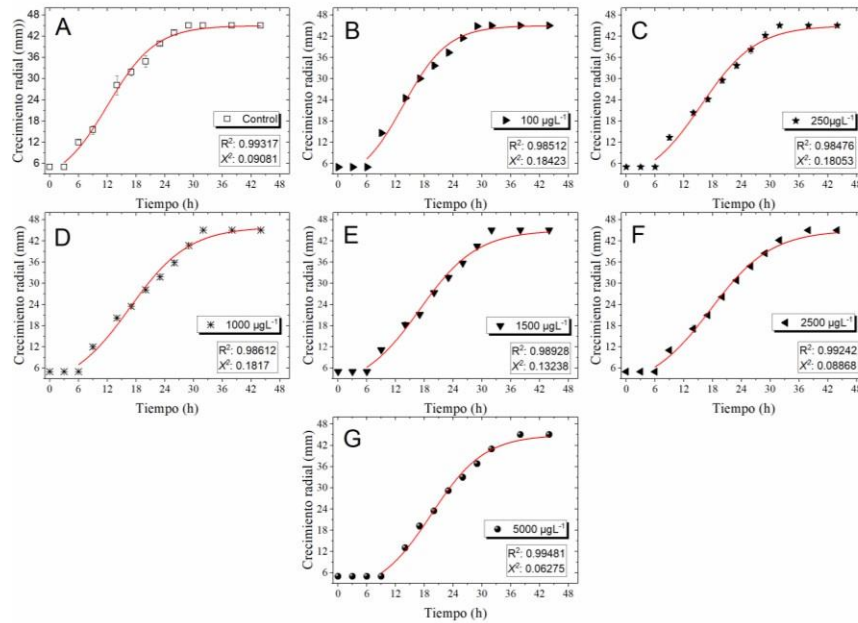


Figura 24 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CPF, µg L⁻¹ (A: 0, B: 100, C: 250, D: 1000, E: 1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales

La figura 24 presenta las cinéticas del crecimiento radial e *A. rouxii* en presencia de diferentes concentraciones de CPF, el ajuste de los datos experimentales se realizó mediante el modelo logístico. Los cultivos control y con 100 µg L⁻¹ iniciaron la fase estacionaria después de 28 h (figura 24 A, B). En los cultivos con 250, 1000 y 1500 µg L⁻¹ la fase inició a las 32 h (figura 24 C, D y E) y en los cultivos con 2500 y 5000 µg L⁻¹ la fase estacionaria comenzó aproximadamente 10 h después que el control (figura 24 F y G). La fase lag fue de 3 h más en los cultivos con concentraciones de 100 a 2500 µg L⁻¹ y de 6 h más en el cultivo con la mayor concentración de CPF.

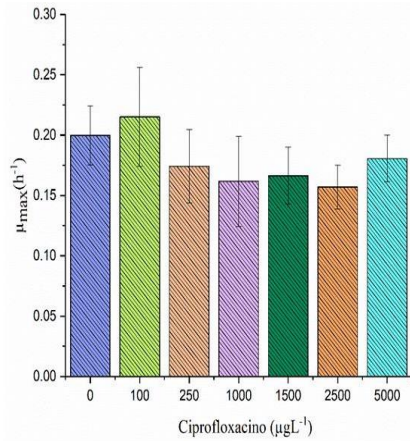


Figura 25 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPF. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimado p -valor > 0.05 .

Ciprofloxacino (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9931	0.0908
100	0.215	0.174	0.256	0.9851	0.1842
250	0.174	0.144	0.205	0.9847	0.1805
1000	0.162	0.124	0.199	0.9861	0.1817
1500	0.166	0.143	0.190	0.9892	0.1323
2500	0.157	0.139	0.175	0.9924	0.0886
5000	0.181	0.161	0.200	0.9948	0.0627

Tabla 18 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para CPF

Los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de CPF, obtenidos a partir del modelo logístico (confianza de p -valor > 0.05), fueron similares entre el cultivo control y las diferentes concentraciones (figura 25). No se observó diferencia significativa en la μ_{max} en el control y en los cultivos con ciprofloxacina, independientemente de la concentración. Los intervalos de confianza se tocan (tabla 18). Los resultados obtenidos del modelo logístico indican que el crecimiento radial de *A. rouxii* se ajustó, bien y no se ve afectado por la presencia de CPF (tabla 18).

Ofloxacino

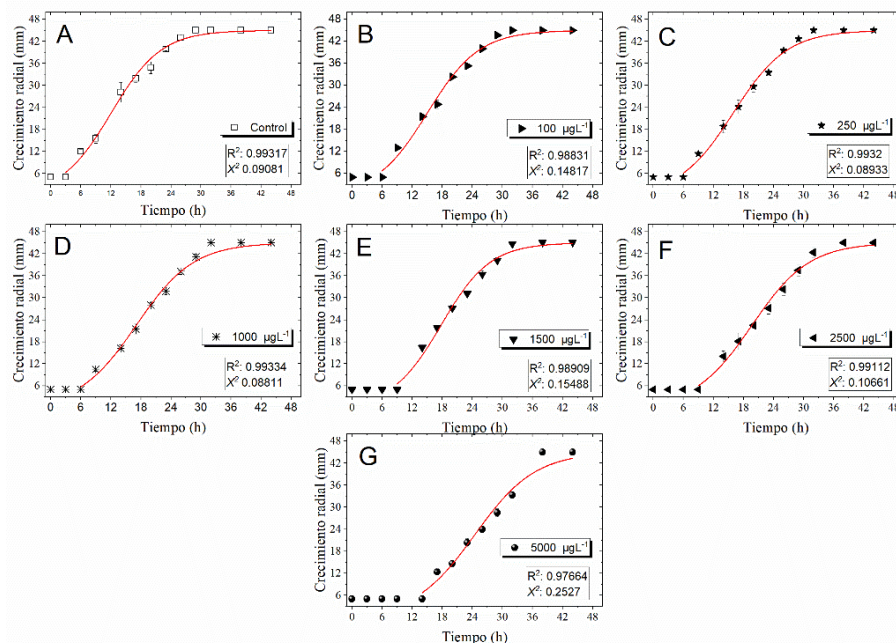


Figura 26 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de OFX, µg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 26 muestra las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* de los tratamientos con diferentes concentraciones de OFX, el ajuste de las cinéticas se realizó con la ecuación logística. Los datos experimentales se ajustaron con bien con la ecuación logística, tanto el cultivo control como los cultivos con el fármaco, sin importar la concentración. En el cultivo control la fase estacionaria inicio a las 28 h (figura 26 A). En los tratamientos con presencia de OFX a las concentraciones de 100, 250, 1000, 1500 y 2050 µg L⁻¹ la fase estacionaria inició 4 h después (figura 26 B, C, D, E, y F). Para el cultivo con 5000 µg L⁻¹ la fase estacionaria comenzó aproximadamente 10 horas después con respecto al cultivo control (figura 26 G) y la fase lag para dicho tratamiento fue de 15 h.

La figura 27 representa los valores de del crecimiento radial en presencia de OFX obtenidos a partir del modelo logístico. No se observó diferencia entre los valores μ_{max} del cultivo control y de los cultivos con OFX, como lo indican los parámetros cinéticos (tabla 19). Los valores de μ_{max} fueron calculados con un nivel de confianza de p-valor >0.05.

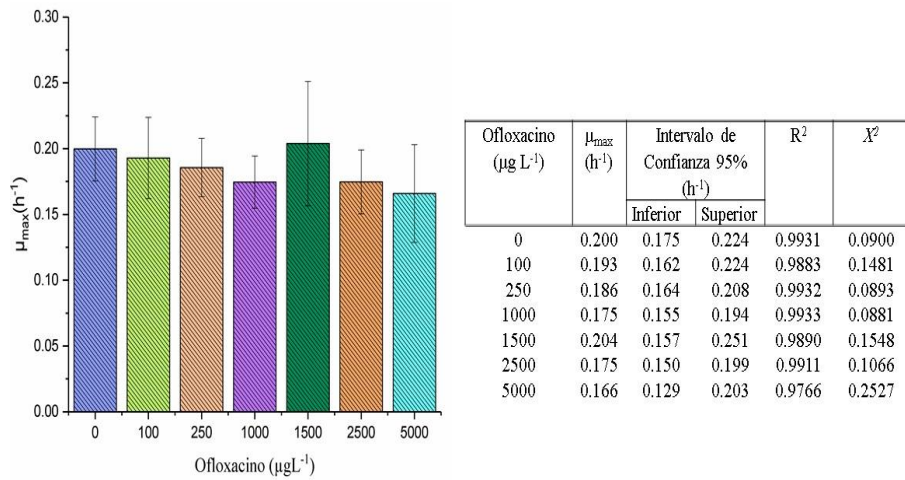


Figura 27 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Tabla 19 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para OFX.

Carbamazepina

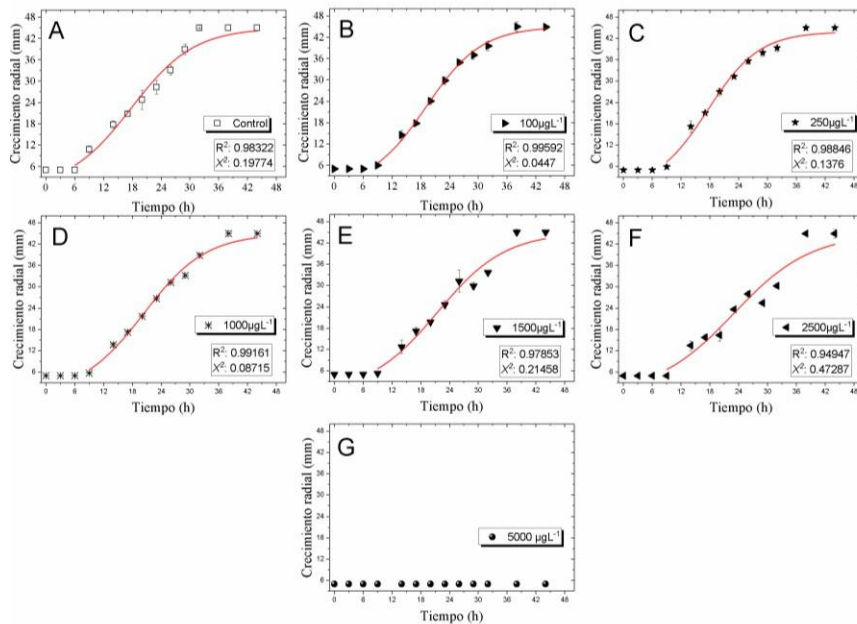


Figura 28 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CBZ, μg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 28 presenta las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes tratamientos de CBZ. El ajuste de los datos se obtuvo con la ecuación logística.

En el cultivo control la fase estacionaria comenzó a las 28 h de cultivo (figura 28 A). En los tratamientos con 100, 250, 1000, 1500 y 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ la fase estacionaria comenzó a las 38 h (figura 28 B, C, D, E y F). El cultivo con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ presentó una inhibición del crecimiento radial (figura 28 G). Los datos experimentales se ajustaron bien con el modelo logístico (valores de R^2 y X^2), excepto para la concentración con 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ donde se observa que se pierde la forma sigmoideal.

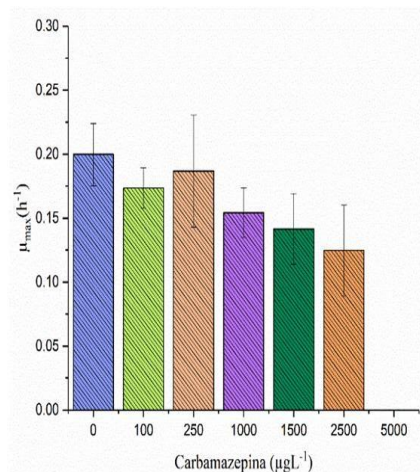


Figura 29 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Carbamazepina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	μ_{max} (h^{-1})	Intervalo de Confianza 95% (h^{-1})		R^2	X^2
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9832	0.1977
100	0.173	0.157	0.189	0.9959	0.0447
250	0.187	0.143	0.230	0.9884	0.1376
1000	0.154	0.135	0.174	0.9916	0.0871
1500	0.142	0.114	0.169	0.9785	0.2145
2500	0.125	0.089	0.160	0.9494	0.4728
5000	0	0	0	0	0

Tabla 20 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para CBZ.

En la figura 29 se muestran los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de CBZ, obtenidos a partir del modelo logístico. En los tratamientos con 100 a 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ se observó una disminución de μ_{max} , 1.3 veces en promedio con respecto al control. De acuerdo con los intervalos de confianza la diferencia no es significativa (tabla 20).

Trimetoprima

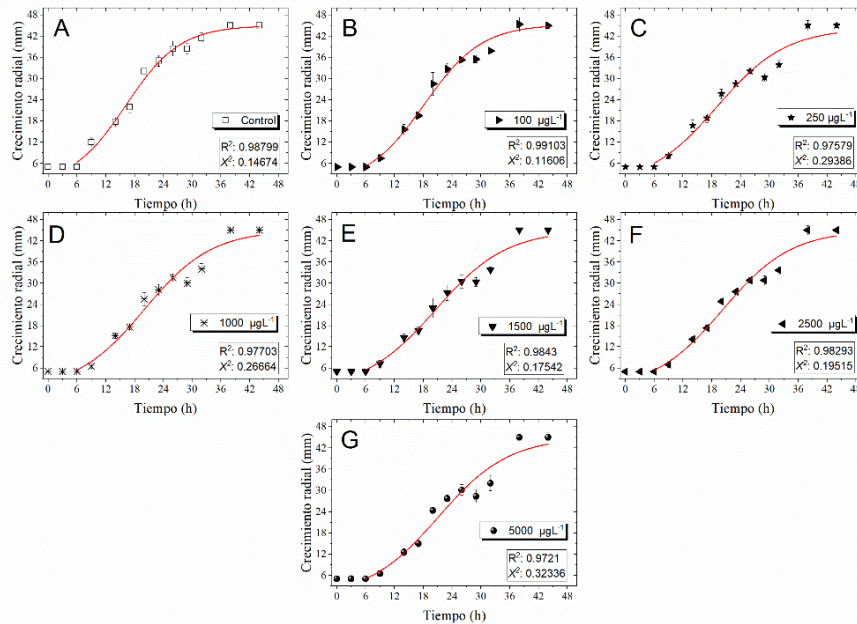
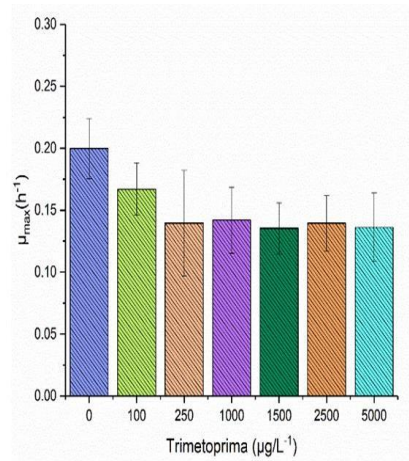


Figura 30 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de TRP, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

En la figura 30 se muestran las cinéticas del crecimiento radial *A. rouxii* con diferentes concentraciones de TRP y el ajuste de los datos experimentales con la ecuación logística. El cultivo control inició la fase estacionaria a las 28 h de cultivo (figura 30 A). En los cultivos con presencia de TRP, 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ el inicio de la fase estacionaria fue entre 4 y 8 h después con respecto al control (figura 30 B, C, D, E, F y G), la fase lag fue de 6 h en los tratamientos con TRP.

En la figura 31 se muestran los valores de μ_{max} obtenidos mediante el modelo logístico para el crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diferentes concentraciones de TRP. Los datos experimentales del control y de los cultivos con TRP con las concentraciones de 100 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, se ajustan bien con este modelo. Los datos de crecimiento radial del cultivo con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ no se ajustaron bien, como lo indican los valores de R^2 y X^2 (tabla 8), la mayoría de los datos experimentales se concentran en la fase lag y la exponencial (figura 30 G).

Los parámetros cinéticos del crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes tratamientos de TRP se muestran en la tabla 21. De acuerdo con los intervalos de confianza los valores de μ_{max} de los cultivos con TRP fueron similares a la μ_{max} del cultivo control.



Trimetoprima (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	χ ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9879	0.1467
100	0.167	0.146	0.188	0.9910	0.1160
250	0.140	0.097	0.182	0.9757	0.2938
1000	0.142	0.115	0.169	0.9770	0.2666
1500	0.135	0.115	0.156	0.9843	0.1754
2500	0.139	0.117	0.162	0.9829	0.1951
5000	0.136	0.109	0.164	0.9721	0.3233

Figura 31 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Tabla 21 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para TRP.

Sulfametoxazol

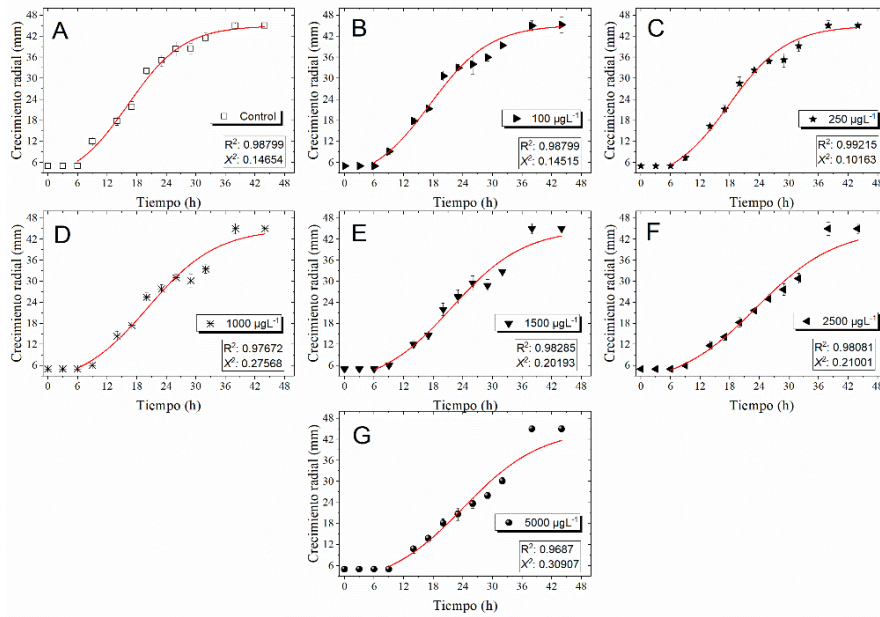


Figura 32 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de SMX μg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

En la figura 32 se muestran las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* sin y con SMX, el

ajuste se realizó con la ecuación logística. Los cultivos control y con 100, 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ iniciaron la fase estacionaria a las 28 h de cultivo (figura 32 A, B, C). Para los cultivos con, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de SMX la fase estacionaria comenzó entre 8 y 10 h después (figura 32 D, E, F, G). El cultivo con la mayor concentración de SMX la fase lag fue de 9 h, mientras que en los demás cultivos fue de 6 h. Los datos experimentales se ajustaron bien con este modelo a excepción de las concentraciones con 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (valores de R^2 y X^2).

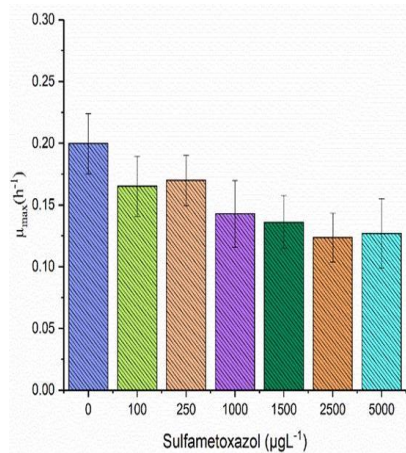


Figura 33 Valores de μ_{\max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Sulfametoxazol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	μ_{\max} (h^{-1})	Intervalo de Confianza 95%		R^2	X^2
		(h ⁻¹)			
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9879	0.1465
100	0.165	0.141	0.189	0.9879	0.1451
250	0.170	0.150	0.190	0.9921	0.1016
1000	0.143	0.116	0.170	0.9767	0.2756
1500	0.136	0.115	0.158	0.9828	0.2019
2500	0.124	0.104	0.143	0.9808	0.2100
5000	0.127	0.098	0.155	0.9687	0.3090

Tabla 22 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para SMX.

La figura 33 muestra los valores μ_{\max} obtenidos a partir del modelo logístico para el crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes concentraciones de SMX. La μ_{\max} obtenida en el cultivo control es muy similar a la de los cultivos con 100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ SMX. Los parámetros cinéticos se calcularon con una confianza de p -valor > 0.05 (tabla 22). Los resultados de los intervalos de confianza confirman que las diferencias en los valores μ_{\max} no son significativas.

Paracetamol

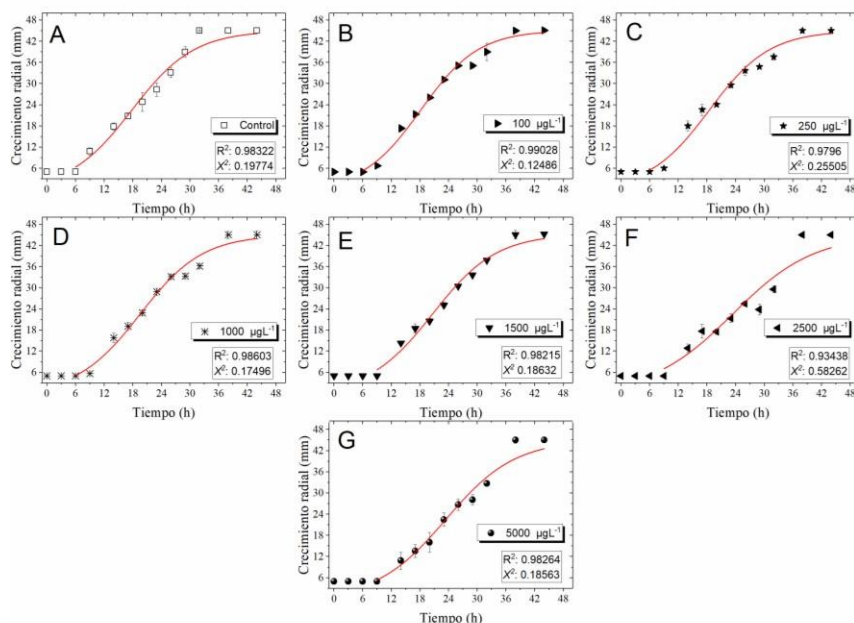
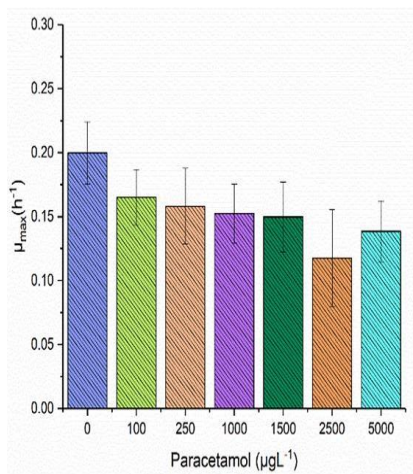


Figura 34 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de PCT, µg L⁻¹ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 34 muestra las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* del cultivo control y con diferentes concentraciones de PCT. Se realizó un ajuste de los datos experimentales usando la ecuación logística. Se observó buen ajuste de los datos, tanto para el cultivo sin PCT como para los cultivos con el fármaco (valores de R² y X²). La fase estacionaria comenzó en el cultivo control a las 28 h de cultivo (figura 34 A). La presencia de PCT modificó el comienzo de la fase estacionaria entre 8 y 10 h de cultivo para los tratamientos con las diferentes concentraciones estudiadas (figura 34 B, C, D, E, F y G). La fase lag fue de 6 h para los cultivos con control y con 100, 250, 1000 µg L⁻¹. Para los cultivos con, 1500, 2500 y 5000 µg L⁻¹ la fase lag fue de 9 h.

Los valores de μ_{max} obtenidos a partir del modelo logístico para el crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de PCT se muestran en la figura 35. Los tratamientos con PCT y el cultivo control tuvieron valores similares de μ_{max} . Esto se confirma con los parámetros cinéticos del crecimiento radial de *A. rouxii* calculados con un intervalo de confianza de p-valor >0.05 (tabla 23). Los intervalos de confianza de la μ_{max} se tocan indicando que no hay diferencia significativa entre el cultivo control y con las diferentes concentraciones de PCT.



Paracetamol (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9832	0.1977
100	0.165	0.143	0.187	0.9902	0.1248
250	0.158	0.128	0.188	0.9796	0.2550
1000	0.152	0.129	0.176	0.9860	0.1749
1500	0.150	0.122	0.177	0.9821	0.1863
2500	0.118	0.080	0.155	0.9343	0.5826
5000	0.138	0.115	0.162	0.9826	0.1856

Figura 35 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de PCT. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Tabla 23 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para PCT.

Ibuprofeno

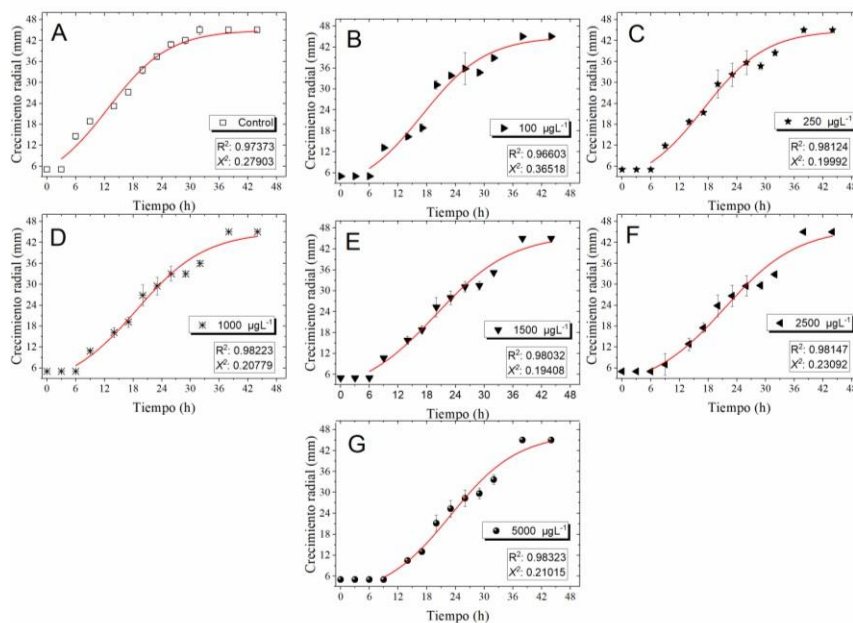


Figura 36 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de IBP, μg L⁻¹ (A: 0, B: 100, C: 250, D: 1000, E: 1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

Las cinéticas del crecimiento radial *A. rouxii* en presencia de diferentes concentraciones de IBP y sin el fármaco se presentan en la figura 36. Los datos se ajustaron usando el modelo logístico. Se observó que tanto el cultivo control como los tratamientos con IBP se ajustaron bien. En el cultivo

control la fase estacionaria comenzó a las 28 h (figura 36 A). Con IBP el inicio de la fase exponencial fue entre las 36 y 38 h (figura 36 B, C, D, E, F y G). La fase lag fue de 6 h para los cultivos con IBP, excepto con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$, es este cultivo fue de 9h.

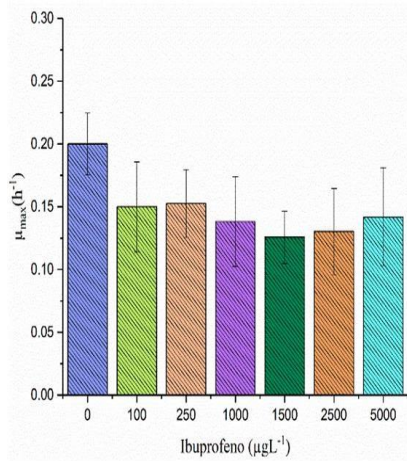


Figura 37 Valores de μ_{\max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Ibuprofeno (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9737	0.2790
100	0.150	0.114	0.186	0.9660	0.3651
250	0.153	0.126	0.180	0.9812	0.1999
1000	0.138	0.102	0.174	0.9822	0.2077
1500	0.126	0.105	0.147	0.9803	0.1940
2500	0.130	0.096	0.165	0.9814	0.2309
5000	0.142	0.103	0.181	0.9832	0.2101

Tabla 24 . Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para IBP.

Los valores de μ_{\max} del crecimiento radial de *A. rouxii* con diferentes tratamientos de IBP y control representan en la figura 37. Las diferencias de μ_{\max} en los cultivos con 100, 250, 1000, 1500, 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ con respecto al control no son significativas. En la tabla 24 presenta los parámetros cinéticos del crecimiento radial de *A. rouxii* calculados con un intervalo de confianza de p -valor >0.05 . Los intervalos de confianza obtenidos confirman que los valores de μ_{\max} no presentan diferencia significativa con respecto al control (tabla 24).

β -estradiol

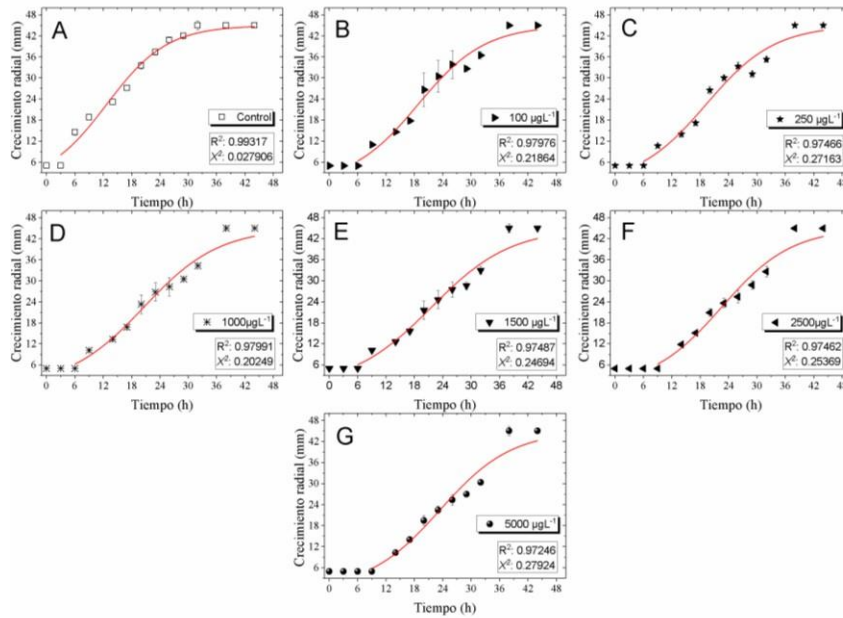
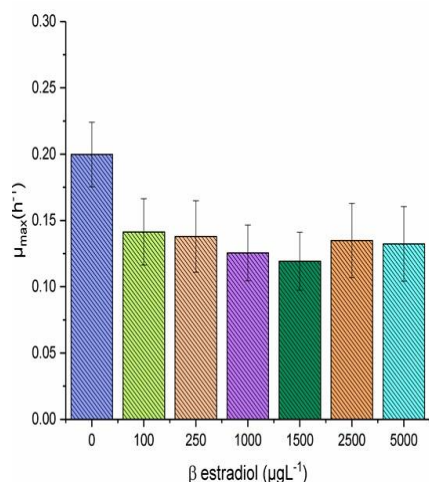


Figura 38 Cinéticas de la fase exponencial y de la fase estacionaria de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de β ETD, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste del modelo logístico no lineal de los datos experimentales.

La figura 38 muestra las cinéticas del crecimiento radial de *A. rouxii* con la presencia de diferentes tratamientos de β ETD. El ajuste de la fase estacionaria se llevó a cabo con el modelo logístico. El comienzo de la fase estacionaria en el cultivo control fue a las 28 h de cultivo (figura 38 A). En los cultivos con β ETD, independientemente de la concentración, la fase estacionaria empezó a las 38 h (figura 38 B, C, D, E, F y G). La fase lag fue de 6 h para los cultivos con concentraciones de 100 a 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ y de 9 h para 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$.



β estradiol (μg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Intervalo de Confianza 95% (h ⁻¹)		R ²	X ²
		Inferior	Superior		
0	0.200	0.175	0.224	0.9737	0.0279
100	0.141	0.116	0.166	0.9797	0.2186
250	0.138	0.111	0.165	0.9746	0.2716
1000	0.125	0.104	0.147	0.9799	0.2024
1500	0.119	0.097	0.141	0.9748	0.2469
2500	0.135	0.107	0.163	0.9746	0.2536
5000	0.132	0.104	0.260	0.9724	0.2792

Figura 39 Valores de μ_{max} obtenidos de la regresión no lineal del modelo logístico durante el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de β ETD. Las barras de error simbolizan los intervalos de confianza estimados (p -valor > 0.05).

Tabla 25 Parámetros cinéticos del modelo logístico en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) para β ETD.

En la figura 39 se presentan los valores de μ_{max} del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de β ETD. Los parámetros se obtuvieron a partir del modelo logístico. Los valores de μ_{max} con el fármaco presentaron una disminución de la μ_{max} de 1.52 veces en promedio con respecto al cultivo control, los tratamientos presentaron una disminución significativa ya que los intervalos de confianza no se tocan (tabla 25). Todos los valores de μ_{max} fueron calculados con una confianza de p -valor > 0.05. β estradiol fue el único fármaco, de los ensayados, que afectó significativamente la μ_{max} de crecimiento radial de *A. rouxii*.

4.4. Inhibición del crecimiento radial a las 24 h de cultivo

El efecto inhibitorio del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por los fármacos se calculó con los datos de crecimiento a las 24 h, en la fase exponencial, ya que, a las 44 h, en todos los tratamientos se alcanzó el crecimiento máximo. Los resultados del porcentaje de inhibición se analizaron a través de un Diseño Completamente al Azar (DSA) de un solo factor. Los tratamientos se sometieron a dos hipótesis.

Los datos experimentales mostraron que los doce tratamientos presentan una distribución normal. A través del método de Kolmogórov-Smirnov se comprobó que los tratamientos conDFC, TRC, NPX, CPFX, BSFA, SMX, PCT, TRP, IBP y β ETD presentaron una normalidadde la distribución de los residuos. Sin embargo, para los tratamientos con CBZ y OFX se comprobó la distribución normal por el método de D'Agostino Kurtosis (p-valor > 0.05).

El supuesto de homogeneidad de varianza se comprobó por el método de Levene, se identificó que siete tratamientos (TRC, NPX, CPFX, BSFA, SMX, PCT y TRP) presentaron una homogeneidad de varianza (p-valor > 0.05) y que cinco tratamientos no presentaron homogeneidad de varianza (DFC, IBP, β ETD, CBZ y OFX). Para los tratamientos que presentaron una homogeneidad de varianza la comparación múltiple se llevó a cabo medianteel método HSD de Tukey y para aquellos que no presentaron una homogeneidad de varianzase utilizó el método de Games-Howell.

Efecto inhibitorio del crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de PhACs

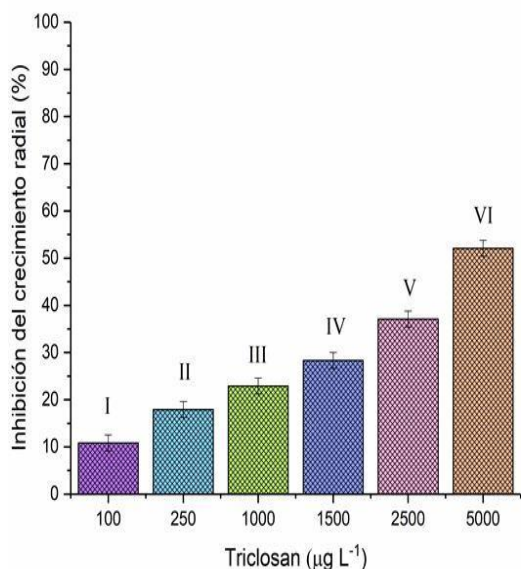


Figura 40 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRC $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.

Triclosán ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	10.82	9.118	12.522
250	17.91	16.208	19.612
1000	22.91	21.208	24.612
1500	28.32	26.623	30.027
2500	37.07	35.373	38.777
5000	52.08	50.383	53.787

Tabla 26 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de TRC, a las 24 h de cultivo.

En la figura 40 se representan los porcentajes de inhibición promedio del crecimiento radialde *A. rouxii* a las 24 h de cultivo con diferentes concentraciones de TRC. Los parámetros descriptivos

señalan que la concentración con 100 µg L⁻¹ presentó el menor porcentaje de inhibición del crecimiento radial (10.82%) y el aumento de la concentración del fármaco a 5000 µg L⁻¹ presentó un aumento de 4.81 veces de la inhibición del crecimiento radial (tabla26).

El ANOVA mostró un valor de F= 312.534 con un p-valor = 6.39 x10⁻²⁵ con base a esto se concluyó que al menos uno de los tratamientos fue estadísticamente diferente (tabla B 1.1 anexo).

A través de la prueba Post Hoc HSD de Tukey (tabla B1.4 anexo) se obtuvieron 6 seis subgrupos homogéneos, mostrando que los diferentes tratamientos con el fármaco son estadísticamente diferentes entre sí. En el primer subgrupo (100 µg L⁻¹) la inhibición del crecimiento radial se encontró en el intervalo de confianza de 9.11 – 12.52 %, en el segundosubgrupo (250µg L⁻¹) el intervalo fue de 16.20 -19.61 %, en el tercer subgrupo (1000 µg L⁻¹) el intervalo se encontró de 21. 20- 24.61 %, el cuarto subgrupo (1500 µg L⁻¹) se encontró de 26.62– 30.02 %, en el quinto (2500 µg L⁻¹) el intervalo fue de 35.37 – 33.77 % y para el sexto el intervalo fue de 50.38- 53.78 % (tabla 26). Estos resultados indican que *A. rouxii* es sensible a las diferentes concentraciones probadas de TRC.

Naproxeno

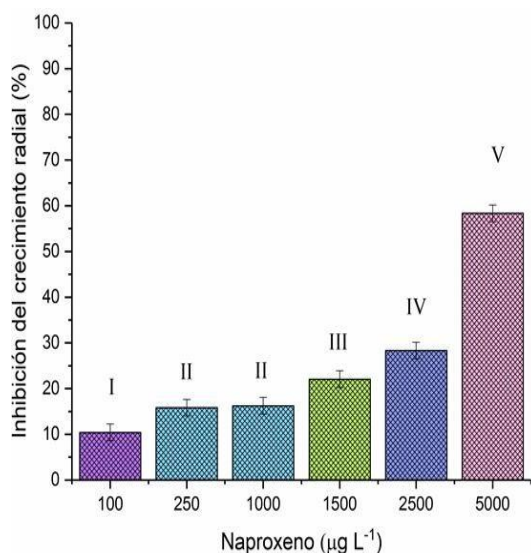


Figura 41 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de NPX µg L⁻¹ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.

Naproxeno (µg L ⁻¹)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95 % (%)	
		Inferior	Superior
100	10.40	8.573	12.237
250	15.82	13.993	17.657
1000	16.24	14.413	18.077
1500	22.07	20.238	23.902
2500	28.32	26.488	30.152
5000	58.33	56.498	60.162

Tabla 27 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de NPX, a las 24 h de cultivo.

La tabla 27 muestra los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición promedio y los

intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de NPX a las 24 h de cultivo. Los parámetros mostraron que a la menor concentración la inhibición del crecimiento radial fue de 10.40 %, al aumentar la concentración de NPX hasta 5000 µg L⁻¹ se presentó un aumento de 5.60 veces del porcentaje de inhibición. Se observó que la presencia del fármaco a diferentes concentraciones, excepto a 250 y 1000 µg L⁻¹ que presentaron la misma inhibición, afectó el crecimiento radial de *A. rouxii*.

A través del ANOVA se obtuvo un valor de F= 373.921 y una significancia de 4.574.57 x 10⁻²⁶ concluyendo que al menos uno de los tratamientos probados fue estadísticamente diferente (tabla B2.1 anexo).

La prueba Post Hoc HSD de Tukey (tabla B2.4 anexo) formo cinco subgrupos homogéneos (Figura 41). El primer subgrupo (100 µg L⁻¹) se encontró en el intervalo de confianza de 8.57-12.23 %, el segundo subgrupo (250 y 1000 µg L⁻¹) se encontró en el intervalo de 13.99-17.65 %, en el tercer subgrupo (1500 µg L⁻¹) fue de 20.23-23.90 %, el cuarto subgrupo (2500 µg L⁻¹) se encontró entre 26.48- 30.15 % y en el quinto subgrupo (5000 µg L⁻¹) fue de 56.49-60.

Ciprofloxacino

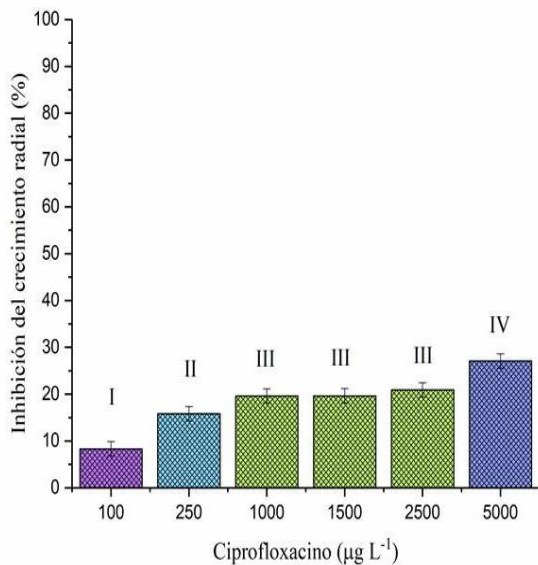


Figura 42 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CPF µg L⁻¹ (I:100, II: 250, III:1000 IV:1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.

Ciprofloxacino (µg L ⁻¹)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	8.32	6.776	9.864
250	15.825	14.281	17.369
1000	19.605	18.061	21.149
1500	19.625	18.081	21.169
2500	20.915	19.371	22.459
5000	27.07	25.526	28.614

Tabla 28 Tabla 26. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de CPF a las 24 h de cultivo.

Los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo en presencia de CPX se presentan en la figura 42 y tabla 28. Se observó que al aumentar la concentración de CPX el porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial aumentó (figura 54). El menor porcentaje de inhibición (8.32%) se observó con la menor concentración de CPX, pero al aumentar la concentración a 5000 el porcentaje de inhibición incrementó en 3.25 veces.

El ANOVA (tabla B3.1 anexo) presentó un valor de $F= 67.374$ con una significancia de 2.14×10^{-15} demostrando que al menos uno de los tratamientos probados es diferente. El análisis Post Hoc HSD de Tukey (tabla B3.4 anexo) presentó cuatro subgrupos homogéneos estadísticamente diferentes entre sí. En el primer subgrupo ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) la inhibición del crecimiento radial se encontró en el intervalo de confianza de 6.77– 9.86 %, para el segundosubgrupo ($250\mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo fue de 14.28 – 17.36 %, en el tercero ($1000, 1500$ y $2500 \mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo se encontró de 18.06 -22.45 %, y para el cuarto subgrupo ($5000 \mu\text{g L}^{-1}$) se encontró de 25.52 -28.61 % (tabla 28).

Bisfenol A

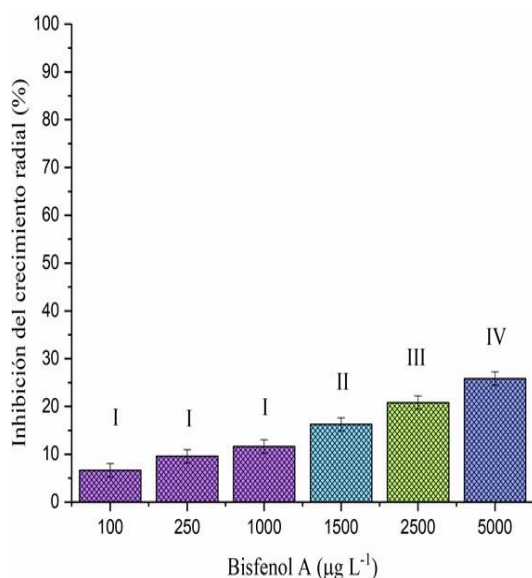


Figura 43 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de BSFA $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, II: 250, III:1000 IV: 1500, V:2500, VI:5000) los números romanos indican diferencias estadísticas entre los subgrupos.

Bisfenol A ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	6.66	5.253	8.067
250	9.57	8.168	10.982
1000	11.65	10.25	13.064
1500	16.25	14.843	17.657
2500	20.82	19.418	22.232
5000	25.82	24.413	27.227

Tabla 29 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de BSFA, a las 24 h de cultivo.

En la tabla 43 se muestran los porcentajes de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo para los diferentes tratamientos con BSFA. El ANOVA mostró un valor de $F= 110.673$ con un p-valor = 2.13×10^{-18} demostrando que al menos uno de los tratamientos probados es estadísticamente diferente (tabla B 4.1 anexo).

Mediante el análisis Post Hoc HSD de Tukey (tabla B 4.4 anexo) se formaron cuatro subgrupos homogéneos (figura 55). En el primer subgrupo (100, 250, 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$) la inhibición del crecimiento radial se encontró en el intervalo de confianza de 5.25 -13.06 %, en el segundo subgrupo (1500 $\mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo fue de 14.82 -17.65, en el tercero (2500 $\mu\text{g L}^{-1}$) de 19. 41- 22.23 y el cuarto subgrupo (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró entre 24.41 - 27.22 (tabla 29).

Los parámetros descriptivos muestran que al aumentar la concentración de BSFA también aumenta el porcentaje promedio de inhibición (figura 43). El menor porcentaje de inhibición promedio (9.29 %) se observó con 100, 250 y 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, al aumentar la concentración a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ el porcentaje de inhibición aumentó 2.77 veces.

Sulfametoxazol

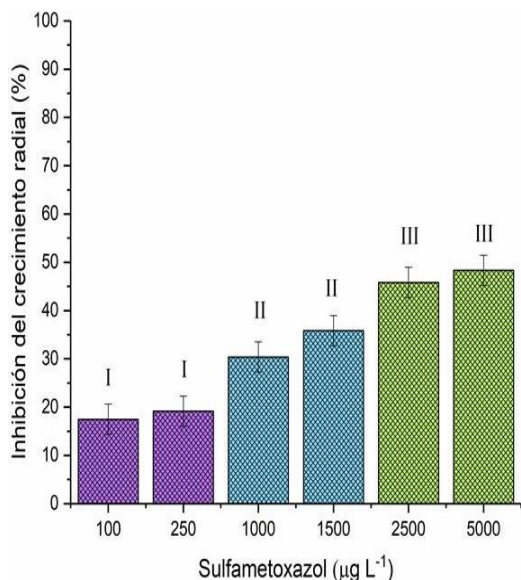


Figura 44 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de SMX $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II:1000,1500, III:2500, 5000)) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

Sulfametoxazol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	17.49	14.346	20.634
250	19.155	16.011	22.299
1000	30.382	27.237	33.526
1500	35.825	32.681	38.969
2500	45.825	42.681	48.969
5000	48.33	45.186	51.474

Tabla 30 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de SMX, a las 24 h de cultivo.

En la figura 44 se observan los porcentajes de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo con diferentes concentraciones de SMX. El ANOVA mostró un valor de $F= 71.416$ con un p-valor = 9.62×10^{-16} con lo cual se concluye que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente (tabla B 5.1 anexo).

A través del análisis Post Hoc HSD de Tukey (tabla B 5.4 anexo) se obtuvieron tres subgrupos homogéneos. La inhibición del crecimiento radial para el primer subgrupo (100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró en el intervalo de confianza de 14.34- 22.29 %, para el segundo subgrupo (1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo fue de 16.01-38.96 % y el tercer subgrupo (2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró entre los intervalos de 42.68- 51.47 %. Los parámetros descriptivos mostraron que el menor porcentaje de inhibición del crecimiento radial se obtuvo con las concentraciones de 100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ (17 %). En este intervalo de concentración la inhibición fue 2.76 veces menor que la inhibición observada en el intervalo de concentración de 2500-5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tabla 30).

Paracetamol

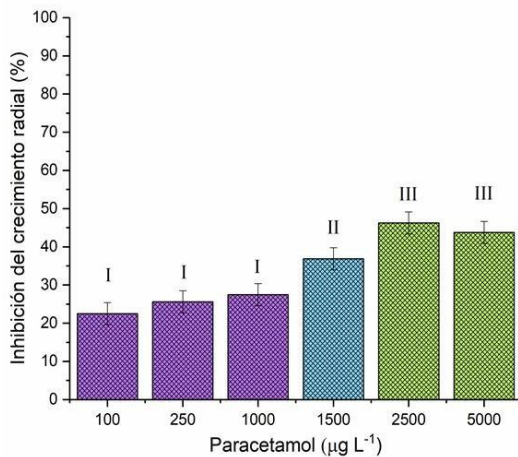


Figura 45 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de PCT $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000, II:1500, III: 2500, 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

Paracetamol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	22.493	19.617	25.368
250	25.612	22.737	28.488
1000	27.488	24.612	30.363
1500	36.863	33.987	39.738
2500	46.238	43.362	49.113
5000	43.748	40.872	46.623

Tabla 31 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de PCT, a las 24 h de cultivo.

En la tabla 31 se observan los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 y los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición promedio para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo para los diferentes tratamientos con presencia de PCT. El menor porcentaje de inhibición (22.31 %) se observó en el intervalo de concentración de 100-1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Al aumentar la concentración de PCT en el intervalo de 2500-5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ el porcentaje de inhibición fue 1.96 veces mayor con respecto al intervalo de 100-1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (figura 45).

Se obtuvo un valor de $F = 53.141$ con una significancia de $= 3.76 \times 10^{-10}$ a través del ANOVA, concluyendo que al menos uno de los tratamientos probados es diferente (tabla B 6.1 anexo).

El análisis Post Hoc HSD de Tukey formó tres subgrupos homogéneos estadísticamente diferentes entre sí (tabla B 6.4 anexo). Se encontró en el intervalo de confianza para la inhibición del crecimiento radial fue de 19.61-30.36 % al primer subgrupo (100, 250, 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$), para el segundo subgrupo (1500 $\mu\text{g L}^{-1}$) fue de 33.98 -39.73% y para el tercer subgrupo (2500, y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) fue de 43.36-46.62 % (tabla 31).

Trimetoprima

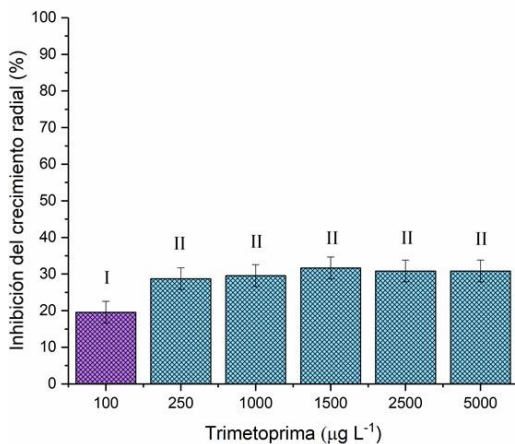


Figura 46 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de TRP $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000, 1500, 2500, II:5000) los tratamientos con el mismo número indica que son estadísticamente similares.

Trimetoprima ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	19.57	16.599	22.551
250	28.74	25.764	31.716
1000	29.57	26.594	32.546
1500	31.65	28.679	34.631
2500	30.82	27.849	33.801
5000	30.82	27.849	33.801

Tabla 32 Porcentaje de inhibición del crecimiento de *A. rouxii* causado por la presencia de TRP, a las 24 h de cultivo.

La tabla 32 y la figura 46 muestran los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición

promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* en presencia de diferentes concentraciones de TRP a las 24 h de cultivo. Se observó una inhibición porcentual promedio de 30.32 con las concentraciones de 250- 5000 µg L⁻¹. Los parámetros muestran que con la menor concentración de TRP la inhibición del crecimiento radial fue de 19.57 % y al aumentar la concentración se observó un aumento de 1.57 veces en promedio del porcentaje de inhibición.

A través del ANOVA se obtuvo un valor de F= 9.572 y un p-valor = 41.54 x 10⁻⁵ concluyendo que al menos uno de los tratamientos probados es estadísticamente diferente (tabla B 7.1 anexo).

Mediante el análisis Post Hoc HSD de Tukey se obtuvieron dos subgrupos homogéneos (figura 46) (tabla B 7.4 anexo). El primer subgrupo integrado por 100 µg L⁻¹ se encontró en el intervalo de confianza de 16.59-22.55% y el segundo subgrupo (250-5000 µg L⁻¹) se encontró entre 25.76-33.80 %.

Diclofenaco

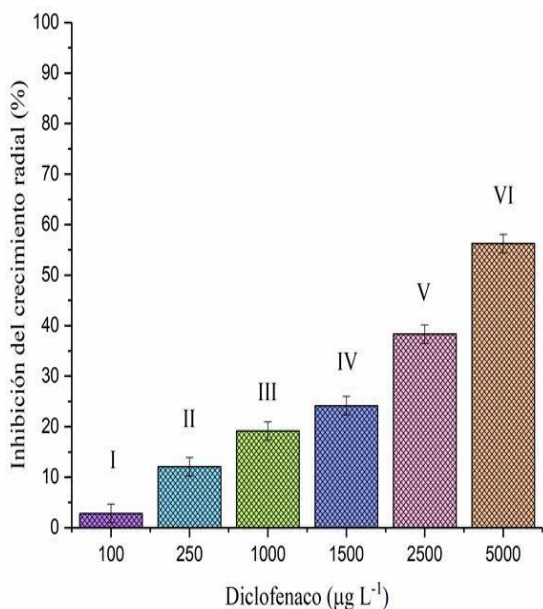


Figura 47 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games-Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de DFC µg L⁻¹ (I: 100, 250, II: 1000, 1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

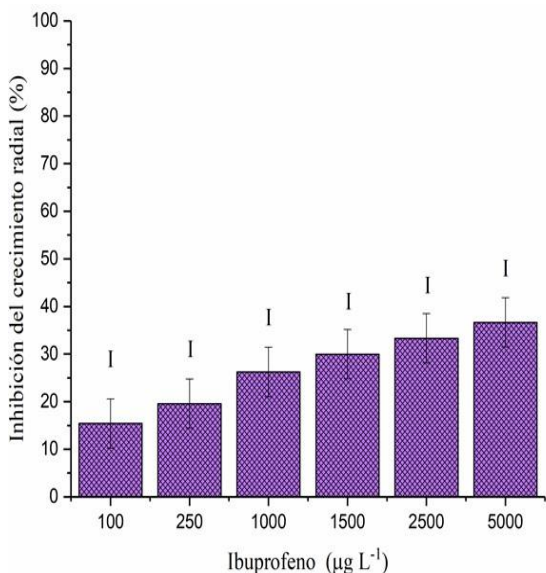
Diclofenaco (µg L ⁻¹)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	2.83	1.003	4.675
250	12.07	10.242	13.914
1000	19.15	17.319	20.991
1500	24.16	22.324	25.996
2500	38.32	36.484	40.156
5000	56.24	54.409	58.081

Tabla 33 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de DFC, a las 24 h de cultivo.

El porcentaje promedio de la inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo con DFC se observa en la tabla 33. Los parámetros descriptivos muestran que a la menor concentración el porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial fue de 2.83% y se observó que al aumentar la concentración del fármaco hasta 5000 µg L⁻¹ la inhibición aumentó 19.81 veces.

El ANOVA presentó un valor de F= 456.697 y una significancia de p-valor = 2.38 x10⁻²⁷, por lo que se concluyó que al menos uno de los tratamientos fue estadísticamente diferente (tabla B 8.1 anexo). El análisis estadístico de comparaciones múltiples Games-Howell (tabla B 8.4 anexo) mostró que todos los tratamientos son estadísticamente diferentes entre sí, formando seis subgrupos homogéneos (Figura 47). En el primer subgrupo (100 µg L⁻¹) la inhibición del crecimiento radial se encontró en el intervalo de confianza de 1.00 - 4.67 %, en el segundo subgrupo (250µg L⁻¹) el intervalo fue de 10.24 -13.91 %, en el tercero (1000 µg L⁻¹) el intervalo fue de 17. 31- 20.99 %, el cuarto subgrupo (1500 µg L⁻¹) se encontró de 22.32 – 25.99 %, el quinto subgrupo (2500 µg L⁻¹) el intervalo fue de 36.48 – 40.15 % y para el sexto subgrupo el intervalo fue de 54.40- 58.08 % (tabla 33). Se observó que el crecimiento radial de *A. rouxii* es sensible a todas las concentraciones de DFC probadas.

Ibuprofeno



Ibuprofeno (µg L ⁻¹)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	15.41	10.22	20.6
250	19.57	14.385	24.765
1000	26.23	21.045	31.425
1500	29.98	24.795	35.175
2500	33.32	28.135	38.515
5000	36.66	31.47	41.85

Tabla 34 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de IBP, a las 24 h de cultivo.

Figura 48 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games-Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de IBP µg L⁻¹ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

Los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo para las diferentes concentraciones de IBP se presentan en la tabla 34.

El ANOVA (tabla B 9.1 anexo) presentó un valor de F= 10.86 con una significancia de 8.16×10^{-6} . Sin embargo, a través del análisis de comparación múltiple de Games-Howell (tabla B 9.4 anexo) se observó la formación de solo un subgrupo, mostrando que las diferentes concentraciones de IBP presentaron porcentajes de inhibición estadísticamente similares (figura 48). La inhibición promedio del crecimiento radial con IBP se encuentra entre el intervalo de confianza de 10.22-41.85%.

β-estradiol

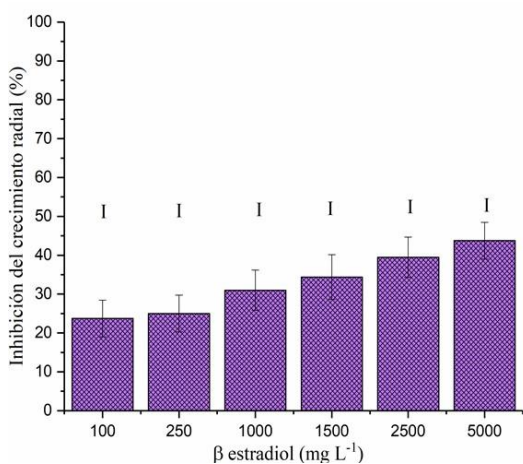


Figura 49 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (HSD de Tukey) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de βETD $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, 1000,1500, 2500, 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

β estradiol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	23.74	19.018	28.462
250	24.99	20.268	29.712
1000	30.99	25.817	36.163
1500	34.36	28.582	40.148
2500	39.49	34.319	44.665
5000	43.74	39.018	48.462

Tabla 35 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de βETD, a las 24 h de cultivo.

La tabla 35 muestra los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 y los parámetros estadísticos del porcentaje de inhibición promedio para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo para los diferentes tratamientos con βETD.

El ANOVA (tabla B 10.1 anexo) presentó un valor de F= 11.533 con un p-valor = 6.12×10^{-22} . Sin embargo, a través de la prueba Post Hoc HSD de Tukey (tabla B 10.4 anexo) se concluyó que todos los tratamientos se agrupan en un solo subgrupo homogéneo. Se tiene una confianza del

95% de que la inhibición radial causada por β ETD se encuentra en un intervalo de confianza de 19.01- 48.46 % (figura 49).

Carbamazepina

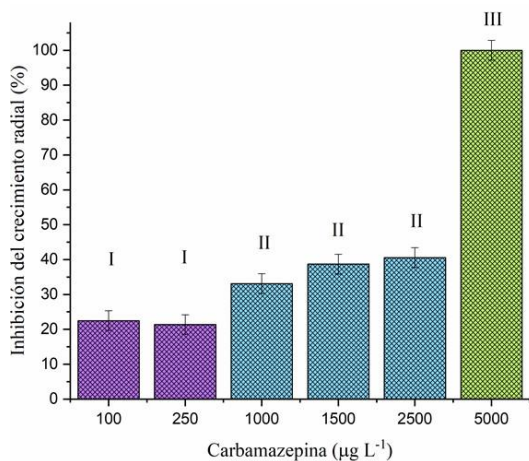


Figura 50 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de CBZ $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

Carbamazepina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	22.49	19.661	25.324
250	21.36	18.528	24.192
1000	33.11	30.281	35.944
1500	38.68	35.856	41.519
2500	40.56	37.731	43.394
5000	100	97.168	102.832

Tabla 36 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de CBZ, a las 24 h de cultivo.

La tabla 36 y la figura 50 muestran los parámetros descriptivos del porcentaje de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor >0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo con diferentes concentraciones de CBZ. El ANOVA presentó un valor de $F= 468.984$ con una significancia de 2.11×10^{-18} demostrando que por lo menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente (tabla B 11.1 anexo).

Mediante el análisis de comparaciones múltiples de Games-Howell se obtuvieron tres subgrupos (tabla B 11.4 anexo) mostrando diferencias estadísticas entre los diferentes subgrupos. La inhibición del crecimiento radial en el primer subgrupo (100 y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró en el intervalo de confianza de 19.66-24.19 %, para el segundo subgrupo (1000, 1500 y 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo fue de 30.28–43.39 % y en el tercer subgrupo (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró entre 97.16-102.83 % (tabla 36).

A través de los parámetros descriptivos se observó que con la concentración de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ el porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial fue de 22.49% pero al aumentar la

concentración del fármaco hasta 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ se obtuvo una inhibición completa decrecimiento radial, es decir 100 %.

Ofloxacino

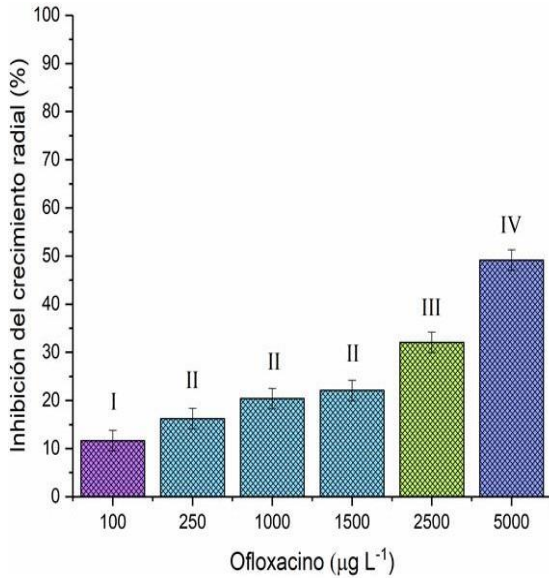


Figura 51 Agrupamiento del porcentaje de inhibición a las 24 h obtenidos mediante la prueba Post Hoc (Games- Howell) en el crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes concentraciones de OFX $\mu\text{g L}^{-1}$ (I:100, 250, II: 1000,1500, 2500, III: 5000) los tratamientos con el mismo número romano indican que son estadísticamente similares.

Ofloxacino ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Inhibición crecimiento radial (%)	Intervalo de Confianza 95% (%)	
		Inferior	Superior
100	11.65	9.541	13.759
250	16.245	14.136	18.354
1000	20.41	18.301	22.519
1500	22.08	19.971	24.189
2500	32.07	29.961	34.179
5000	49.165	47.056	51.274

Tabla 37 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causado por la presencia de OFX, a las 24 h de cultivo.

Los parámetros descriptivos del porcentaje de inhibición promedio y los intervalos de confianza evaluados con un p-valor > 0.05 para el crecimiento radial de *A. rouxii* a las 24 h de cultivo con diferentes concentraciones de OFX se observan en la tabla 37 y en figura 51. Los parámetros descriptivos muestran que con 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ el porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial fue de 11.65%, este resultado indica que fue 4.22 veces menor a la inhibición observada con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$.

El ANOVA presento un valor de $F= 172.154$ con un p-valor= 23.82×10^{-21} demostrando que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente (tabla B 12.1 anexo).

A través del análisis de comparaciones múltiples de Games- Howell se obtuvo una diferenciación estadística de los tratamientos, formándose cuatro subgrupos (tabla B 12.4 anexo). Para el primer subgrupo (100 $\mu\text{g L}^{-1}$) la inhibición del crecimiento radial se encontró entre el intervalo de

confianza de 9.54 – 13.75 %, en el segundo subgrupo (250, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$) el intervalo fue de 14.13-24.18 %, en el tercero (2500 $\mu\text{g L}^{-1}$) de 29.96 – 34.17 y para el cuarto subgrupo (5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) se encontró entre 47.05 – 51.27 (tabla 37).

Capítulo 5

5. Discusión

En este estudio se observó que la presencia de las diferentes concentraciones de PhACs causaron modificaciones en el grosor del micelio y en el tiempo de esporulación durante el crecimiento de *A. rouxii*, respecto al cultivo control. Zafra *et al.*, (2015) observaron también algunas modificaciones morfológicas (pigmentación del micelio y tiempo de esporulación) causadas por la presencia de altas concentraciones de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PHAs) durante el crecimiento de *Aspergillus nomius* y *Trichoderma asperellum* en placas de agar.

Actualmente, existen modelos matemáticos que son capaces de modelar el crecimiento de hongos en medio sólido a partir de datos de biomasa producida, de mol de CO₂ producido, de algún metabolito primario producido y de datos de extensión de micelio (crecimiento radial) (Bevilacqua *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2013; Nagel *et al.*, 1999; Narahara *et al.*, 1982; Okazaki *et al.*, 1980; Sadañoski *et al.*, 2018). En este estudio se llevaron a cabo el modelamiento de las fase estacionaria y exponencial a través de modelos no estructurados, empleando la ecuación logística para modelar la fase exponencial y estacionaria y se usó unaregresión lineal para modelar la fase exponencial a partir de datos de crecimiento radial (mm de micelio).

Mediante regresión lineal se determinó el valor de V_{max} , a partir de datos experimentales del crecimiento radial. El valor promedio de V_{max} en los cultivos control fue 1.56 mm h⁻¹. La V_{max} , de *A. rouxii* crecido en presencia de los PhACs no mostró diferencia significativa, excepto en presencia de DCF, CBZ y β ETD. Se demostró que la concentración de esos PhACs afecta negativamente la velocidad de crecimiento de *A. rouxii*. En los cultivos con 2500 y 5000 μ g DCF L⁻¹ la V_{max} fue 1.4 veces menor con respecto al control y a los cultivos con menores concentraciones de DCF probadas. En presencia de 1500 y 2500 μ g CBZ L⁻¹ la velocidad de crecimiento de *A. rouxii* disminuyó 1.2 veces con respecto a las otras concentraciones (100 a 1000 μ g L⁻¹) y el cultivo control. El β ETD fue el único PhAC, de todos los estudiados en este trabajo, que afectó negativamente la velocidad de crecimiento de *A. rouxii* sin importar la concentración. En promedio V_{max} fue 1.4 veces menor en cultivos con β ETD que en el cultivo sin el fármaco.

La regresión lineal ha sido usada para calcular la V_{max} del crecimiento de hongos por muchos autores (Baldrian & Gabriel, 2002; Dagnas & Membré, 2013; dos Santos *et al.*, 2008; Trinci, 1971).

Por otro lado, (Guillén & Machuca, 2008b) reportaron el efecto de Cu en la tasa de crecimiento radial y la producción de biomasa de hongos basidiomicetos. Los autores no encontraron correlación entre estos dos parámetros. El efecto de la temperatura en el crecimiento radial de hongos de los géneros *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Rhizopus* y *Mucor*, patógenos a frutas fue estudiada y se reportó la relación de la temperatura con la V_{max} del crecimiento de los hongos. Es decir, la V_{max} es un parámetro útil para determinar crecimiento de hongos en medio sólido y el efecto de condiciones ambientales (químicas y físicas).

En el presente trabajo se demostró que el patrón de crecimiento de *A. rouxii* en presencia y ausencia de PhACs puede ser modelado mediante la ecuación logística, sin embargo, el ajuste del perfil de crecimiento en presencia de algunas concentraciones de PhACs se vio modificado. El perfil de crecimiento de *A. rouxii* para el cultivo control mostró una curva de crecimiento sigmoide con un buen ajuste a la ecuación logística ($R^2 > 0.975$).

Hsieh *et al.*, (2007), modelaron el crecimiento de *Aspergillus* sp BCRC 31996, *Monascus pilosus* BCRC31527 y *Rhizopus oligosporus* en cultivos líquidos utilizando la ecuación logística. Nagel *et al.*, (1999) evaluaron la tasa de crecimiento específico de *R. oligosporus*, a partir de la acumulación de CO₂, utilizando la ecuación logística. Esto demuestra que tanto datos del crecimiento radial como de producción del CO₂ permiten modelar el crecimiento de los hongos en medio sólido utilizando esta ecuación.

En los cultivos con 100, 250, 1000 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$, el perfil de crecimiento mostró un buen ajuste al modelo a excepción del cultivo con IBP que no se ajustó bien al modelo debido a la alta variación experimental.

El crecimiento de *A. rouxii* en los cultivos con 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BSFA, CPF, OF, NP, TR, DF, TR, IB, SM y BE tuvo un buen ajuste al modelo, esto representa el 83.33% de los PhACs probados. El crecimiento del hongo en presencia de CBZ no se ajustó bien al modelo logístico, $R^2 < 0.975$ indicando que la CBZ causa cierta toxicidad al hongo.

El crecimiento de *A. rouxii* en presencia de PCT no presentó un buen ajuste al modelo debido a la gran variación experimental durante la medición de los halos de crecimiento.

El crecimiento de *A. rouxii* en los cultivos con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BSFA, CPF, IB, PCT, OF y TR presentó un buen ajuste al modelo logístico. El perfil de crecimiento de *A. rouxii* en presencia de

BEST, TRP, SMX, NPX, DFC a dicha concentración se alteró provocando un mal ajuste al modelo logístico. La mayor parte de los datos experimentales se agruparon en la fase exponencial, por lo tanto, los datos experimentales en la fase estacionaria disminuyeron. Este perfil de crecimiento indica que posiblemente el metabolismo primario del hongo se vio afectado por la presencia de estos fármacos. Es decir, probablemente algunas proteínas del metabolismo energético cambian su expresión en presencia de estos fármacos. Ruíz-Lara *et al.*, (2020) demostraron que las proteínas, transaldolasa, malato hidrogenasa, ATP sintasa, relacionadas con el metabolismo energético, cambiaron su expresión en presencia de pentaclorofenol. Para poder corroborar el efecto de estos PhACs a nivel de metabolismo primario habría que realizar estudios de proteómica.

Se observó que *A. rouxii* presentó inhibición completa del crecimiento radial en presencia de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ, estos resultados demostraron que este fármaco es el único tóxico para el hongo de todos los PhACs estudiados en este trabajo. No se ha reportado que CBZ presente toxicidad a hongos. Existen estudios que reportan la toxicidad de dicho fármaco en organismos acuáticos, Vernouillet *et al.*, (2010) observaron efectos tóxicos fisiológicos y morfológicos en *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Thamnocephalus platyurus* y *Hydra attenuata* a concentraciones de ng/L de CBZ. Jelic *et al.*, (2012) reportan degradación de CBZ con *T. versicolor*, *P. ostreatus* y *P. chrysosporium*, pero no hacen estudios de toxicidad para CBZ. También se ha reportado la inhibición del crecimiento de algas como *Desmoldemos subsistes*, *Thamnocephalus platyurus* y *Orzas latines* por la presencia de CBZ a concentraciones de 74-1000 mg L^{-1} (Kim *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010). Xia-Jing *et al.*, (2017) reportaron un efecto tóxico de CBZ a concentraciones de miligramos por litro, se observó que CBZ puede causar un posible efecto inhibitorio del crecimiento de *Chlorella vulgaris*. Zhang *et al.*, (2012) reportaron un efecto tóxico de CBZ el cual podría inhibir el crecimiento de las algas *Scenedesmus obliquus* y *C. pyrenoidosa*, estos autores demostraron que CBZ inhibe la síntesis de clorofila.

El perfil de crecimiento radial de *A. rouxii* mostró una fase lag en todos los cultivos. En el cultivo control la fase lag fue de 3 h, en los cultivos con 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ la fase lag tuvo una duración de 6 h. Los cultivos con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ OFX y TRC presentaron un aumento de la fase lag de 11 h y con NPX la fase lag se incrementó 14 h con respecto al cultivo control. (Baldrian & Gabriel, 2002), observaron un aumento de la fase lag de 79 h causada por la presencia de Cd sobre el crecimiento de *Piptoporus betulinus*.

Los valores de μ_{\max} para el crecimiento radial de *A. rouxii* en general no mostraron diferencias significativas con respecto al cultivo control. Excepto para los cultivos con β -ETD donde se observó una disminución de 1.52 veces el valor promedio de la μ_{\max} con respecto al cultivo control. Russo *et al.*, (2019) reportaron que los valores promedio de μ_{\max} de las curvas de crecimiento con y sin adición de diclorofeniltricloroetano (DDT) no presentaron diferencias de μ_{\max} con respecto a su cultivo control, sin embargo se observaron que para *Rhizopus arrhizus* los valores de μ_{\max} se vieron afectados por una aparente disminución de la μ_{\max} , sin embargo estos autores no muestran evidencia estadística que esta disminución sea significativa.

El modelamiento del crecimiento radial demostró que no hay diferencias en los valores de μ_{\max} y μ en los cultivos de *A. rouxii* crecido en las diferentes concentraciones de los fármacos. También se demostró que el crecimiento máximo (45 mm) se alcanzó entre 32 y 40 h.

Para calcular la inhibición del crecimiento radial causada por los fármacos se decidió tomar los valores del crecimiento radial a las 24 h, es decir en la fase exponencial del crecimiento. Mediante el análisis de un diseño completamente al azar con un nivel significancia de p-valor >0.05 y las pruebas Post Hoc HDS de Tukey y Games-Howell mostraron que la concentración de los fármacos afecta negativamente el crecimiento radial de *A. rouxii* en su etapa exponencial.

En la figura 64 se muestra la inhibición del crecimiento radial causada por la presencia de los fármacos. El crecimiento radial de *A. rouxii* en la fase exponencial resultó ser sensible por la presencia de DFC, TRC y NPX, ya que se observó que, a mayor concentración de los fármacos, la inhibición del crecimiento radial aumentó. El porcentaje de inhibición del crecimiento incrementó linealmente con la concentración de DFC y TRC. Mientras que en los cultivos con NPX la relación entre concentración e inhibición fue no lineal. A concentraciones de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ la inhibición fue entre 2.8-10.8% y a concentraciones de $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ la inhibición se encontró entre de 52-58% (figura 64 A, B y C).

Un efecto de inhibición contrario resultó con la presencia de TRP, IBP y β ETD. El crecimiento de *A. rouxii* en presencia de dichos fármacos mostró el mismo nivel de inhibición independientemente de la concentración de estos compuestos. El porcentaje de inhibición varió entre 15 y 43%, las diferencias no fueron significativas (figura 64 J, K y L).

A. rouxii en los cultivos con presencia de CPFY y BSFA presentó niveles similares de inhibición

del crecimiento radial a las diferentes concentraciones estudiadas, el porcentaje de inhibición observado fue entre 6.6-27% para ambos fármacos. El hongo fue menos sensible a CPX y BSFA ya que en los cultivos con estos fármacos se obtuvieron los menores porcentajes de inhibición. El hongo presentó sensibilidad a OFX ya que al aumentar la concentración a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ la inhibición del crecimiento radial incrementó de 11.65% (100 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 49% (figura 64 D, E y F).

La presencia de SMX y PCT en el crecimiento radial del hongo mostró que con 2500 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ el porcentaje de inhibición fue de 43.7- 48%. Se observó mayor degradación al aumentar la concentración de éstos, la relación entre la concentración e inhibición fue no lineal para dichos fármacos (Figura 64 H e I).

Ante la presencia de CBZ el hongo mostró sensibilidad, a concentraciones de 1000 a 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ, la inhibición fue aproximadamente de 40%. En los cultivos con 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CBZ *A. rouxii* no creció, es con el único fármaco y a esta concentración donde se observó inhibición completa del crecimiento del hongo. (figura 64 G).

Diversos autores han reportado valores de inhibición del crecimiento radial de diferentes hongos causado por la presencia de fungicidas, hidrocarburos y metales pesados. Argumedo-Delira *et al.*, (2012) evaluaron el efecto de petróleo crudo, fenantreno, naftaleno y pireno en el crecimiento de diferentes cepas de *Trichoderma*, obteniendo que el hongo presentó resistencia al fenantreno, reportaron inhibición mayor al 60 % (<3000 mg L^{-1}). A 3000 mg L^{-1} de fenantreno y naftaleno *Trichoderma* presentó el 100% de inhibición del crecimiento radial.

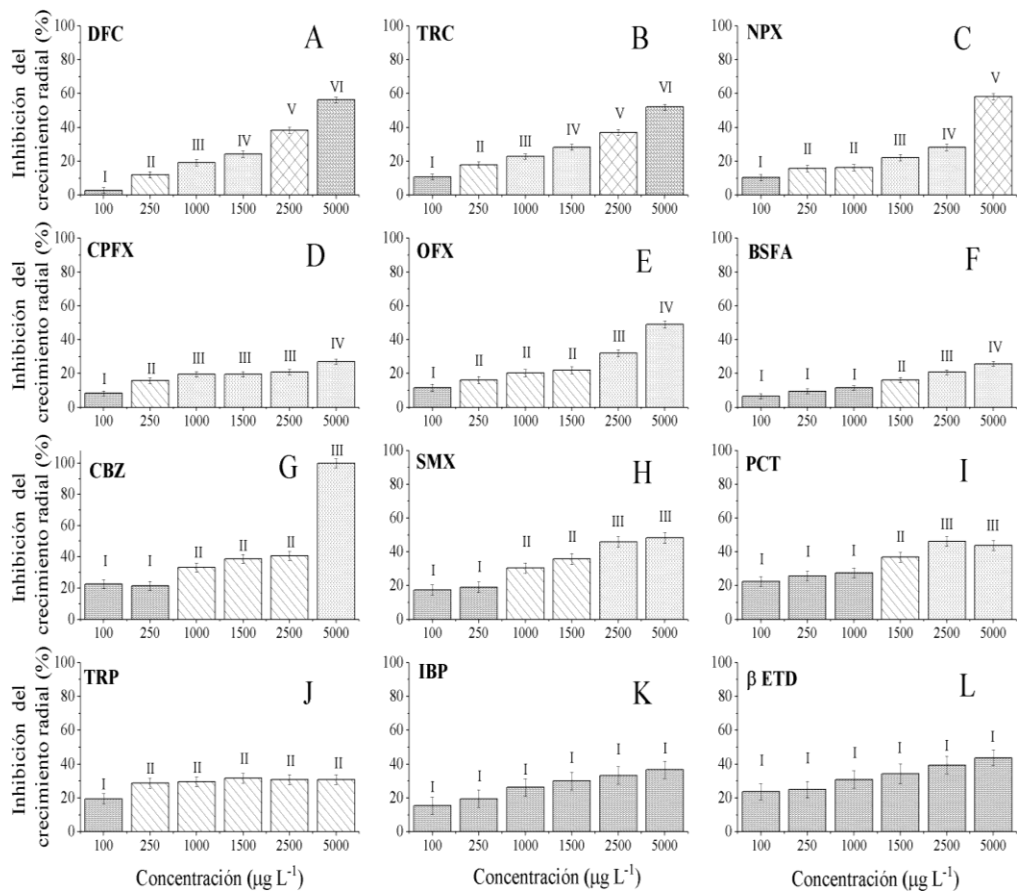


Figura 52 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii* causada por la presencia de diferentes concentraciones de los PhACs estudiados. El mismo número romano indica que la inhibición es estadísticamente similar.

De Lima *et al.*, (2017) evaluaron la inhibición del crecimiento radial de cepas de *Talaromyces*, *Penicillium* e *Hypoxylon* a diferentes concentraciones de fenantreno y pireno. Observaron que la presencia de fenantreno produjo entre 60 y 100% de inhibición del crecimiento a concentraciones de 240-2040 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todas las cepas a excepción de *Hypoxylon*. En presencia de pireno a las mismas concentraciones no se vio afectado el crecimiento de las cepas. Guillen y Machuca, (2008a) evaluaron el efecto del cobre en el crecimiento de hongos de podredumbre blanca. *Wolfipora cocos* mostró una inhibición del 23 % del crecimiento radial y *Laetiporus sulfureus* presentó una inhibición del 47% del crecimiento a 10 mM Cu, mientras que *Pleurotus ostreatus* presentó el mayor porcentaje de inhibición (72%) a 0.5 mM de Cu. Sagar *et al.*, (2011) evaluaron el efecto inhibitorio de diferentes cultivos con lindano observando que *Fusarium poae* y *Fusarium solani* a concentraciones de 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ presentaron la mínima inhibición del crecimiento (6.5 y 4.5%), la máxima inhibición del crecimiento fue de 26 y 22% con 600 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Este trabajo es uno de los primeros que reporta la inhibición del crecimiento radial de hongos filamentosos por la presencia de PhACs. Se observó que el efecto en el crecimiento radial de *A. rouxii* depende del tipo de fármaco, así como de su concentración. Con TRC y DFC se observó una relación lineal entre la concentración y el porcentaje de inhibición de crecimiento. Los menores porcentajes de inhibición del crecimiento radial se observaron con CPX y BFA, indicando la baja toxicidad de estos compuestos al hongo. Las diferentes concentraciones de TRP, IBP y β ETD probadas en este estudio no mostraron efecto en los porcentajes del crecimiento radial del hongo. La mayor toxicidad se observó en los cultivos con CBZ, es decir el hongo no toleró concentraciones de $5000 \mu\text{g L}^{-1}$. Hace falta hacer más estudios para determinar el tipo de toxicidad causado por los fármacos estudiados.

No se encontró relación entre los parámetros cinéticos y el porcentaje de inhibición. En los cultivos con β ETD la V_{max} y a μ_{max} calculadas mostraron diferencia con las diferentes concentraciones estudiadas, sin embargo, en cuanto al porcentaje de inhibición, no se observaron diferencias, la inhibición fue similar en todas las concentraciones de β ETD probadas. Solamente en los cultivos con CBZ parece que hay una relación entre la disminución de V_{max} y el porcentaje de inhibición, en los cultivos con 1500 y 2500 mg L^{-1} , la V_{max} disminuyó y el porcentaje de inhibición en estos cultivos fue similar, aproximadamente del 40%.

Los resultados obtenidos indican que no se puede inferir la inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*, causada por las diferentes concentraciones de los PhACs estudiados, a partir de los parámetros cinéticos.

Capítulo 6

6. Conclusiones

El presente estudio demostró que la presencia de los PhACs afectó el tiempo decrecimiento máximo. El perfil de crecimiento de *A. rouxii* logró ser modelado mediante la ecuación logística y regresión lineal, demostrando que no existen diferencias en los valores de μ_{\max} , ni de V_{\max} . Excepto en los cultivos con β ETD, fue el único PhAC que afectó negativamente la μ_{\max} y la V_{\max} del crecimiento radial de *A. rouxii* sin importar la concentración. Así mismo la presencia de los fármacos afectó la fase lag del crecimiento radial de *A. rouxii*, pero no se logró observar una relación entre la concentración de los fármacos y la duración de la fase lag. De acuerdo con el tipo de PhAC y sus diferentes concentraciones estudiadas se obtuvieron diferentes porcentajes de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*. De los PhACs estudiados CBZ resultó ser el único fármaco tóxico para el hongo, dicho fármaco provocó un efecto inhibitorio del crecimiento radial a $5000 \mu\text{g L}^{-1}$. Se puede concluir que la hipótesis planteada fue cierta, en cuanto a la inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*, sin embargo, no fue cierta en cuanto al efecto negativo en la velocidad de crecimiento (V_{\max} y μ_{\max}). Este comportamiento del hongo se podría explicar realizando otros experimentos, por ejemplo, incluir la biomasa producida en cultivo sólido (peso seco). O bien hacer estudios en cultivo sumergido, con el fin de ver si se comporta igual el hongo que en cultivo sólido y poder de explicar porque *A. rouxii* crece a la misma tasa de crecimiento, pero muestra diferentes porcentajes de inhibición de éste en presencia de las diferentes concentraciones de PhACs estudiadas.

6.1 Perspectivas

- Con base en los resultados experimentales es necesario investigar porqué CBZ es tóxica para *A. rouxii*.
- Determinar cuál es el mecanismo de acción que causa la inhibición del crecimiento radial del hongo a altas concentraciones en presencia de CBZ.
- Investigar la capacidad que tiene *A. rouxii* para degradar o remover CPX y BSFA (PhACs con menor toxicidad).

Capítulo 7

7. Referencias

- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz, J. J., & Peña-Cabriales, J. J. (2012). Tolerance and growth of 11 *Trichoderma* strains to crude oil, naphthalene, phenanthrene and benzo[α]pyrene. *Journal of Environmental Management*, 95, S291-S299. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.08.011>
- Bai, R. S., & Abraham, T. E. (2002). Studies on enhancement of Cr (VI) biosorption by chemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*. *Water Research*, 36(5), 1224- 1236. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00330-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00330-X)
- Baldrian, P., & Gabriel, J. i. (2002). Intraspecific variability in growth response to cadmium of the wood-rotting fungus *Piptoporus betulinus*. *Mycologia*, 94(3), 428-436.
- Bevilacqua, A., Cibelli, F., Raimondo, M. L., Carlucci, A., Lops, F., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2017). Fungal bioremediation of olive mill wastewater: using a multi-step approach to model inhibition or stimulation. *J Sci Food Agric*, 97(2), 461-468. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7747>
- Cabana, H., Jones, J. P., & Agathos, S. N. (2007). Elimination of Endocrine Disrupting Chemicals using White Rot Fungi and their Lignin Modifying Enzymes: A Review. *Engineering in Life Sciences*, 7(5), 429-456. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elsc.200700017>
- Calderón, A., Meraz, M., & Tomasini, A. (2019). Pharmaceuticals Present in Urban and Hospital Wastewaters in Mexico City. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 41(2), 105-112. <https://doi.org/https://doi.org/10.3103/S1063455X19020073>
- Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309-315. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00141-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6)
- Contardo-Jara, V., Lorenz, C., Pflugmacher, S., Nützmann, G., Kloas, W., & Wiegand, C. (2011). Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology*, 105(3), 428-437. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.07.017>
- Cortés, D., Barrios-González, J., & Tomasini, A. (2002). Pentachlorophenol tolerance and removal by *Rhizopus nigricans* in solid-state culture. *Process Biochemistry*, 37(8), 881-884. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00295-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00295-3)

- Cunningham, V. L., Binks, S. P., & Olson, M. J. (2009, Feb). Human health riskassessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment. *Regul Toxicol Pharmacol*, 53(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.10.006>
- Dagnas, S., & Membre, J. M. (2013, Mar). Predicting and preventing mold spoilage of foodproducts. *J Food Prot*, 76(3), 538-551. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.Jfp-12-349>
- Dalecka, B., Oskarsson, C., Juhna, T., & Kuttava Rajarao, G. (2020). Isolation of Fungal Strains from Municipal Wastewater for the Removal of Pharmaceutical Substances. *Water*, 12(2), 524. <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/2/524>
- Daughton, C. G. (2003). Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rationale for and avenues toward a green pharmacy. *Environmental health perspectives*, 111(5), 757- 774. <https://doi.org/10.1289/ehp.5947>
- Daughton, C. G., & Ruhoy, I. S. (2009). Environmental footprint of pharmaceuticals: The significance of factors beyond direct excretion to sewers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2495-2521. <https://doi.org/https://doi.org/10.1897/08-382.1>
- Dhankhar, R., & Hooda, A. (2011). Fungal biosorption – an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environmental Technology*, 32(5), 467-491. <https://doi.org/10.1080/09593330.2011.572922>
- dos Santos, E. O., da Rosa, C. C., dos Passos, C. T., Sanzo, A. V. L., Burkert, J. F. d. M., Kalil, S. J., & Burkert, C. A. V. (2008). Pre-screening of filamentous fungi isolated from a contaminated site in Southern Brazil for bioaugmentation purposes. *African Journal of Biotechnology*, 7(9).
- Eibes, G., Lú-Chau, T., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Lema, J. M. (2005). Complete degradation of anthracene by Manganese Peroxidase in organic solvent mixtures. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(4), 365-372. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.02.010>
- Feijoo, G., Moreira, M. T., Álvarez, P., Lú-Chau, T. A., & Lema, J. M. (2008). Evaluation of the enzyme manganese peroxidase in an industrial sequence for the lignin oxidation and bleaching of eucalyptus kraft pulp. *Journal of Applied Polymer Science*, 109(2), 1319-1327. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.28084>
- Feng, Q., Su, S., Zeng, X., Zhang, Y., Li, L., Bai, L., Duan, R., & Lin, Z. (2013). Arsenite Resistance, Accumulation, and Volatilization Properties of *Trichoderma asperellum* SM-12F1, *Penicillium janthinellum* SM-12F4, and *Fusarium oxysporum* CZ-8F1. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 43(1), 141-146. <https://doi.org/10.1002/clen.201200566>

- Fomina, M. A., Alexander, I. J., Colpaert, J. V., & Gadd, G. M. (2005). Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 851-866. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.10.013>
- Fürhacker, M. (2008). The Water Framework Directive – can we reach the target? *Water Science and Technology*, 57(1), 9-17. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.797>
- Gadd, G. M. (1994). *Interactions of fungi with toxic metals* (Vol. 69). Springer, Boston, MA. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0981-7_28
- Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., van de Zee, S. E. A. T. M., & Ritsema, C. J. (2015). Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research*, 3(1), 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002>
- Guillén, Y., & Machuca, Á. (2008a, 2008/01/01). The effect of copper on the growth of wood-rotting fungi and a blue-stain fungus. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 31-37. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9434-3>
- Guillén, Y., & Machuca, Á. (2008b). The effect of copper on the growth of wood-rotting fungi and a blue-stain fungus. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 31-37. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9434-3>
- Hata, T., Shintate, H., Kawai, S., Okamura, H., & Nishida, T. (2010). Elimination of carbamazepine by repeated treatment with laccase in the presence of 1- hydroxybenzotriazole. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1), 1175-1178. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.103>
- Hilton Marcelo de Lima, S., Lindimar Rosas, B., Adolfo José da, M., Luiz Antônio de, O., Hileia dos Santos, B., & Sandra Patricia, Z. (2017). Tolerance to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by filamentous fungi isolated from contaminated sediment in the Amazon region. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 39(4). <https://doi.org/https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v39i4.34709>
- Hsieh, J. W., Wu, H. S., Wei, Y. H., & Wang, S. S. (2007). Determination and kinetics of producing glucosamine using fungi. *Biotechnol Prog*, 23(5), 1009-1016. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/bp070037o>
- Huang, Y., Guo, J., Yan, P., Gong, H., & Fang, F. (2019). Sorption-desorption behavior of sulfamethoxazole, carbamazepine, bisphenol A and 17 α -ethinylestradiol in sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 368, 739-745. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.01.063>

- Jelic, A., Cruz-Morató, C., Marco-Urrea, E., Sarrà, M., Perez, S., Vicent, T., Petrović, M., & Barcelo, D. (2012). Degradation of carbamazepine by *Trametes versicolor* in an air pulsed fluidized bed bioreactor and identification of intermediates. *Water Research*, 46(4), 955-964. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.063>
- Ji, C., Hou, J., Wang, K., Zhang, Y., & Chen, V. (2016). Biocatalytic degradation of carbamazepine with immobilized laccase-mediator membrane hybrid reactor. *Journal of Membrane Science*, 502, 11-20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.12.043>
- Jos, A., Repetto, G., Rios, J. C., Hazen, M. J., Molero, M. L., del Peso, A., Salguero, M., Fernández-Freire, P., Pérez-Martín, J. M., & Cameán, A. (2003). Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints. *Toxicology in Vitro*, 17(5), 525-532. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(03\)00119-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00119-X)
- Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C. S., Ternes, T. A., Thomsen, A., & Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research*, 40(8), 1686-1696. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.02.014>
- Kapoor, A., & Viraraghavan, T. (1995). Fungal biosorption — an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresource Technology*, 53(3), 195-206. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00072-M](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00072-M)
- Kim, J.-W., Ishibashi, H., Yamauchi, R., Ichikawa, N., Takao, Y., Hirano, M., Koga, M., & Arizono, K. (2009). Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *The Journal of Toxicological Sciences*, 34(2), 227-232. <https://doi.org/10.2131/jts.34.227>
- Kim, Y., Choi, K., Jung, J., Park, S., Kim, P.-G., & Park, J. (2007). Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment International*, 33(3), 370-375. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.11.017>
- Letzel, M., Metzner, G., & Letzel, T. (2009). Exposure assessment of the pharmaceutical diclofenac based on long-term measurements of the aquatic input. *Environment International*, 35(2), 363-368. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.09.002>
- Li, X., de Toledo, R. A., Wang, S., & Shim, H. (2015). Removal of carbamazepine and naproxen by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* under non-sterile condition. *N Biotechnol*, 32(2), 282-289. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.01.003>

- Li, X., Xu, J., de Toledo, R. A., & Shim, H. (2016). Enhanced carbamazepine removal by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a novel rotating suspension cartridge reactor under non-sterile condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *115*, 102-109. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.003>
- López, C., Moreira, M. T., Feijoo, G., & Lema, J. M. (2004). Dye Decolorization by Manganese Peroxidase in an Enzymatic Membrane Bioreactor. *Biotechnology Progress*, *20*(1), 74-81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/bp030025c>
- Lucas, D., Castellet-Rovira, F., Villagrasa, M., Badia-Fabregat, M., Barceló, D., Vicent, T., Caminal, G., Sarrà, M., & Rodríguez-Mozaz, S. (2018). The role of sorption processes in the removal of pharmaceuticals by fungal treatment of wastewater. *Science of The Total Environment*, *610-611*, 1147-1153. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.118>
- Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Vicent, T., & Caminal, G. (2009). Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, *74*(6), 765-772. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.040>
- Melgoza, B., León-Santesteban, H. H., López-Medina, R., & Tomasini, A. (2020). Naproxen Sorption by Non-viable *Rhizopus oryzae* Biomass. *Water, Air, & Soil Pollution*, *231*(1), 30. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-4396-2>
- Mitchell, D. A., von Meien, O. F., Krieger, N., & Dalsenter, F. D. H. (2004). A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, *17*(1), 15-26.
- Montiel, A. M., Fernández, F. J., Marcial, J., Soriano, J., Barrios-González, J., & Tomasini, (2004). A fungal phenoloxidase (tyrosinase) involved in pentachlorophenol degradation. *Biotechnology Letters*, *26*(17), 1353-1357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/b:bile.0000045632.36401.86>
- Nagel, F.-J., Oostra, J., Tramper, J., & Rinzema, A. (1999). Improved model system for solid-substrate fermentation: effects of pH, nutrients and buffer on fungal growth rate. *Process Biochemistry*, *35*(1), 69-75. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00034-5)
- Naghdi, M., Taheran, M., Brar, S. K., Kermanshahi-pour, A., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2018). Biotransformation of carbamazepine by laccase-mediator system: Kinetics, by-products and toxicity assessment. *Process Biochemistry*, *67*, 147-154.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.02.009>

- Narahara, H., Koyama, Y., YOSHIDA, T., PICHANIGKURA, S., UEDA, R., & TAGUCHI, H. (1982). Growth and enzyme production in a solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *Journal of fermentation technology*, 60(4), 311-319.
- Okazaki, N., Sugama, S., & Tanaka, T. (1980, 1980). Mathematical Model for Surface Culture of Koji Mold : Growth of Koji Mold on the Surface of Steamed Rice Grains (IX). *Journal of fermentation technology*, 58(5), 471-476. <https://ci.nii.ac.jp/naid/110002672542/en/>
- Park, D., Yun, Y.-S., & Park, J. M. (2010). The past, present, and future trends of biosorption. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(1), 86-102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12257-009-0199-4>
- Quinn, B., Gagné, F., & Blaise, C. (2008). An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of The Total Environment*, 389(2), 306-314. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.038>
- Rodarte-Morales, A. I., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Lema, J. M. (2011, 2011/08/01). Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1839-1846. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0642-x>
- Rodríguez-Rodríguez, C. E., Marco-Urrea, E., & Caminal, G. (2010). Degradation of naproxen and carbamazepine in spiked sludge by slurry and solid-phase *Trametes versicolor* systems. *Bioresource Technology*, 101(7), 2259-2266. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.089>
- Ruiz-Lara, A., Fierro, F., Carrasco, U., Oria, J. A., & Tomasini, A. (2020). Proteomic analysis of the response of *Rhizopus oryzae* ENHE to pentachlorophenol: Understanding the mechanisms for tolerance and degradation of this toxic compound. *Process Biochemistry*, 95, 242-250. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.02.016>
- Ruiz, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Rodríguez, R., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2012). Pectinase production from lemon peel pomace as support and carbon source in solid-state fermentation column-tray bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 65, 90-95. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.03.007>
- Russo, F., Ceci, A., Pinzari, F., Siciliano, A., Guida, M., Malusà, E., Tartanus, M., Miszczak, A., Maggi, O., & Persiani, A. M. (2019). Bioremediation of Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)-Contaminated Agricultural Soils: Potential of Two Autochthonous Saprotrophic Fungal

Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(21), e01720-01719.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01720-19>

Sadañoski, M. A., Velázquez, J. E., Fonseca, M. I., Zapata, P. D., Levin, L. N., & Villalba, L. L. (2018). Assessing the ability of white-rot fungi to tolerate polychlorinated biphenyls using predictive mycology. *Mycology*, 9(4), 239-249.
<https://doi.org/10.1080/21501203.2018.1481152>

Sağ, Y. (2001). BIOSORPTION OF HEAVY METALS BY FUNGAL BIOMASS AND MODELING OF FUNGAL BIOSORPTION: A REVIEW. *Separation and Purification Methods*, 30(1), 1-48. <https://doi.org/10.1081/SPM-100102984>

Sagar, V., & Singh, D. P. (2011). Biodegradation of lindane pesticide by non white-rot soil fungus *Fusarium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1747-1754.
<https://doi.org/10.1007/s11274-010-0628-8>

Santos, L. H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1), 45-95.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>

Santosa, I., Grossmana, M. J., Sartorattob, A., Ponezib, A. N., & Durranta, L. R. (2012). Degradation of the recalcitrant pharmaceuticals carbamazepine and 17 α -ethinylestradiol by ligninolytic fungi. *Chem. Eng*, 27, 169-174.

Sayer, J. A., Raggett, S. L., & Gadd, G. M. (1995). Solubilization of insoluble metal compounds by soil fungi: development of a screening method for solubilizing ability and metal tolerance. *Mycological Research*, 99(8), 987-993. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80762-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80762-4)

Shuler, M., & Kargi, F. (2002). How Cell Grow In P. Hall (Ed.), *Bioprocess Engineering: Basic Concepts* (Vol. xvi, pp. 180-182).

Shuler, M. L. (2002). *Bioprocess engineering*.

Snyder, S. A. (2008). Occurrence, Treatment, and Toxicological Relevance of EDCs and Pharmaceuticals in Water. *Ozone: Science & Engineering*, 30(1), 65-69.
<https://doi.org/10.1080/01919510701799278>

Swarcewicz, M. K., Sobczak, J., & Paździoch, W. (2013). Removal of carbamazepine from aqueous solution by adsorption on fly ash-amended soil. *Water Science and Technology*, 67(6), 1396-1402. <https://doi.org/https://doi.org/10.2166/wst.2013.662>

- Ternes, T. A., Bonerz, M., Herrmann, N., Teiser, B., & Andersen, H. R. (2007). Irrigation of treated wastewater in Braunschweig, Germany: An option to remove pharmaceuticals and musk fragrances. *Chemosphere*, 66(5), 894-904. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.06.035>
- Tomasini, A., Flores, V., Cortés, D., & Barrios-González, J. (2001, 2001/03/01). An isolate of *Rhizopus nigricans* capable of tolerating and removing pentachlorophenol. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2), 201-205. <https://doi.org/10.1023/A:1016694720608>
- Tran, N. H., Urase, T., & Kusakabe, O. (2010). Biodegradation characteristics of pharmaceutical substances by whole fungal culture *Trametes versicolor* and its laccase. *Journal of Water and Environment Technology*, 8(2), 125-140.
- Trinci, A. P. J. (1971). Influence of the Width of the Peripheral Growth Zone on the Radial Growth Rate of Fungal Colonies on Solid Media. *Microbiology*, 67(3), 325-344. <https://doi.org/10.1099/00221287-67-3-325>
- Vasiliadou, I. A., Sánchez-Vázquez, R., Molina, R., Martínez, F., Melero, J. A., Bautista, L. F., Iglesias, J., & Morales, G. (2016). Biological removal of pharmaceutical compounds using white-rot fungi with concomitant FAME production of the residual biomass. *Journal of Environmental Management*, 180, 228-237. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.05.035>
- Veglio, F., & Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy*, 44(3), 301-316. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(96\)00059-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-386X(96)00059-X)
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—A review. *Science of The Total Environment*, 429, 123-155. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>
- Vernouillet, G., Eullaffroy, P., Lajeunesse, A., Blaise, C., Gagné, F., & Juneau, P. (2010). Toxic effects and bioaccumulation of carbamazepine evaluated by biomarkers measured in organisms of different trophic levels. *Chemosphere*, 80(9), 1062-1068. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.010>
- Wang, J., & Chen, C. (2009, 2009/03/01/). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195-226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>

- Yan, X., Wang, J., Zhu, L., Wang, J., & Zhang, F. (2017). Effects of carbamazepine on the growth and the oxidative damage of *Chlorella*. *Journal of Agro-Environment Science*, 36(4), 643-650. <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1259>
- Zafar, S., Aqil, F., & Ahmad, I. (2007). Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresource Technology*, 98(13), 2557-2561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.051>
- Zafra, G., Absalón, A. E., & Cortés-Espinosa, D. V. (2015). Morphological changes and growth of filamentous fungi in the presence of high concentrations of PAHs. *Brazilian journal of microbiology* 46(3), 937-941. <https://doi.org/10.1590/s1517-838246320140575>
- Zhang, Y., & Geiben, S.-U. (2010). *In vitro* degradation of carbamazepine and diclofenac by crude lignin peroxidase. *Journal of Hazardous Materials*, 176(1), 1089-1092. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.133>
- Zhou, G.-J., Peng, F.-Q., Zhang, L.-J., & Ying, G.-G. (2012). Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(7), 2918-2929. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-012-0800-9>

Capítulo 8

8. Anexos

Anexo A. Cinéticas de V_{max} obtenidos de la regresión lineal del crecimiento radial de *A. rouxii* en medio Lee (2X) en presencia de diferentes PhACs.

Figura A 1 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de BSFA, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B: 100, C: 250, D: 1000, E: 1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

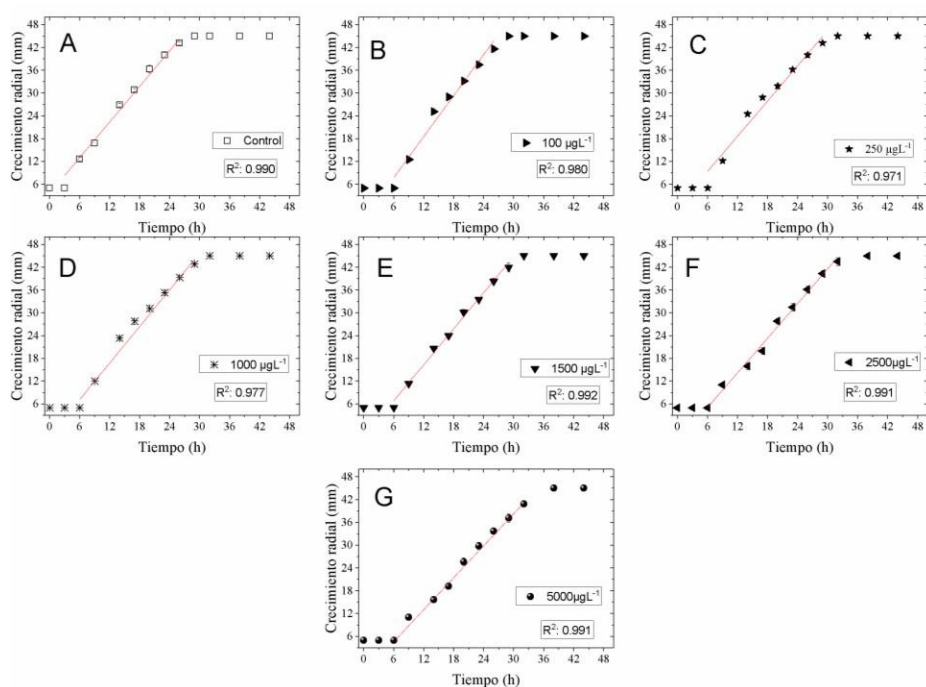


Figura A 2 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de DFC, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

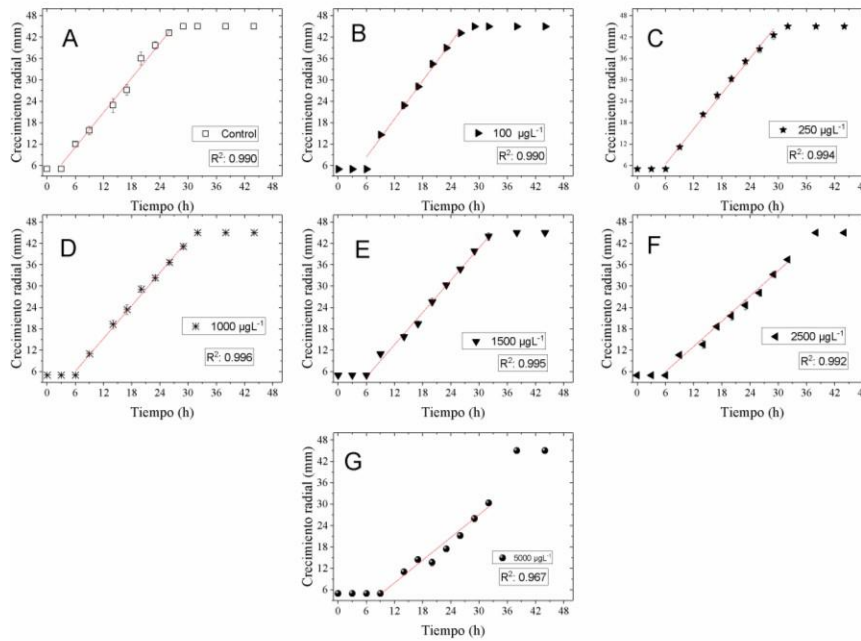


Figura A 3 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de NPX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

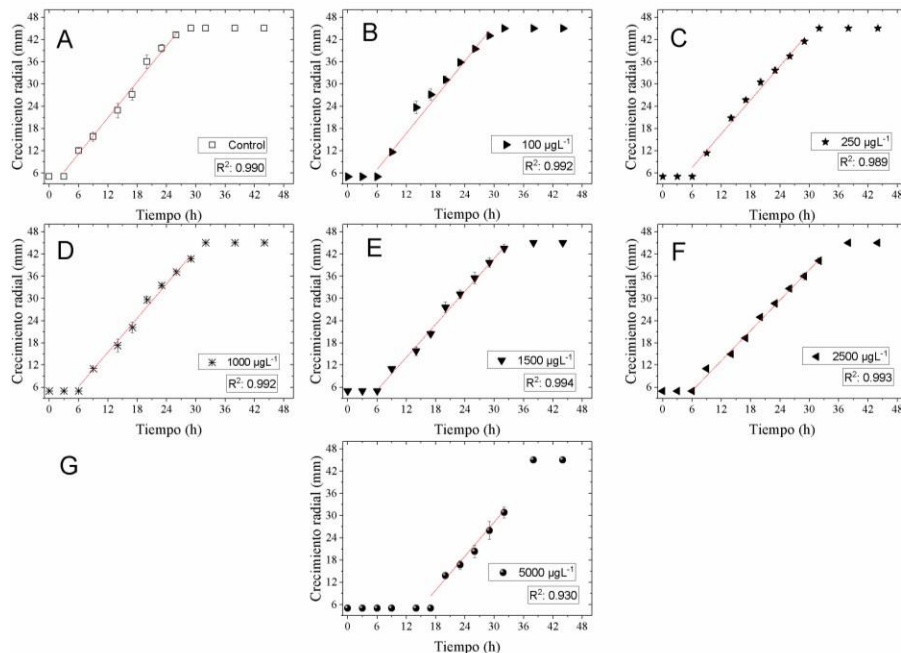


Figura A 4 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de TRC, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

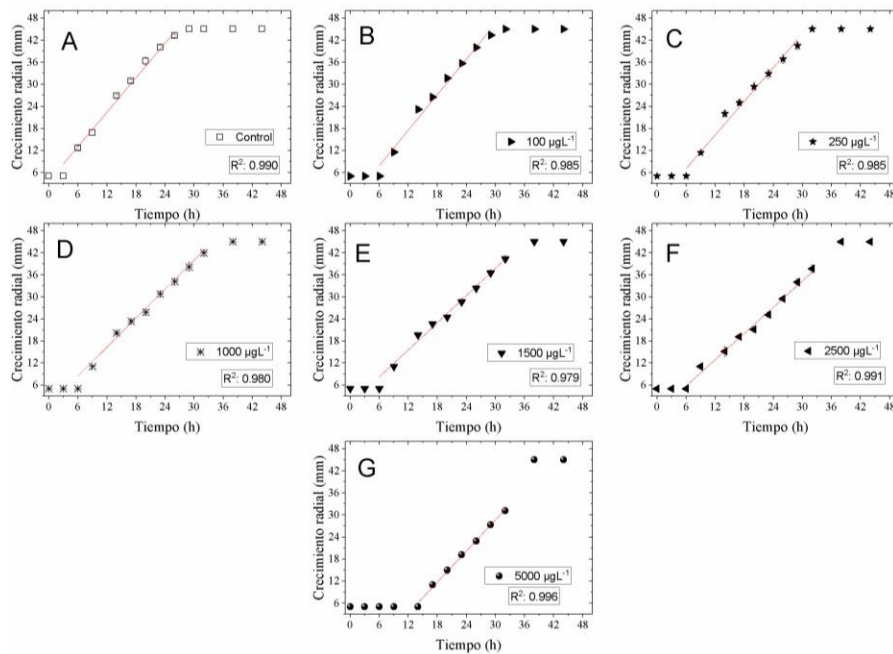


Figura A 5. Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CPFX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

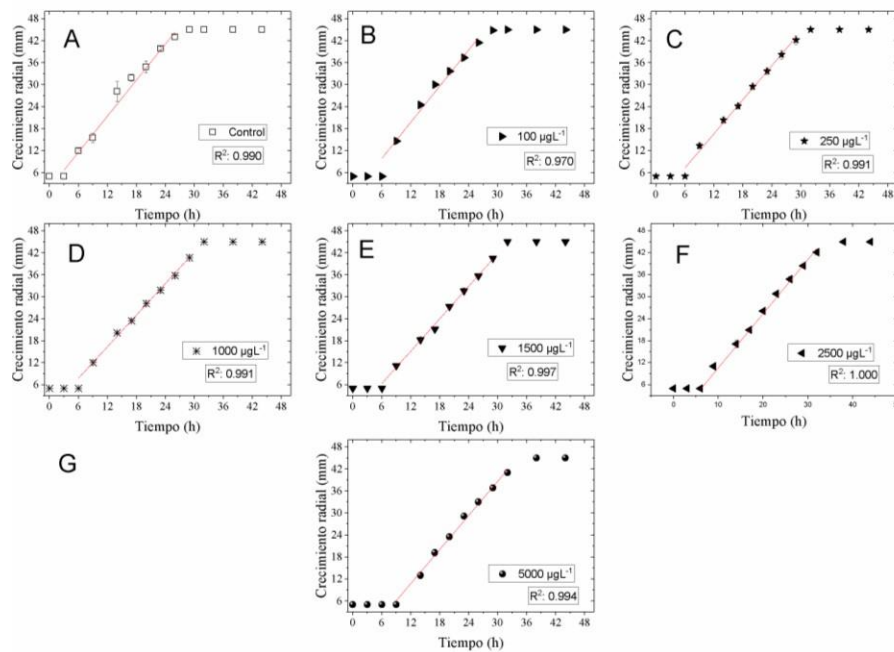


Figura A 6 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio *Lee* concentrado (2X) con diferentes concentraciones de OFX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

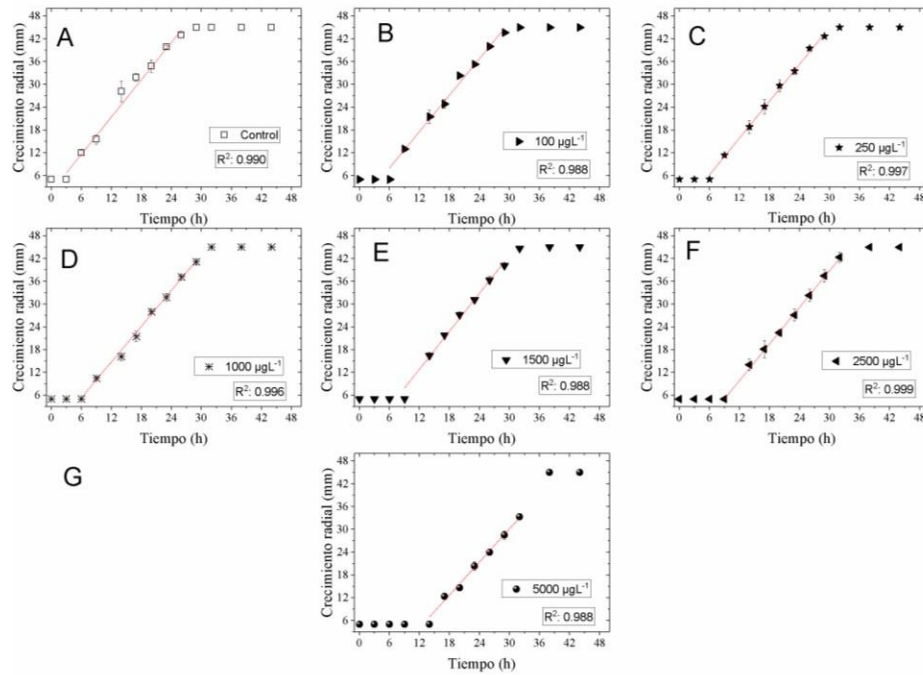


Figura A 7 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio *Lee* concentrado (2X) con diferentes concentraciones de CBZ, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

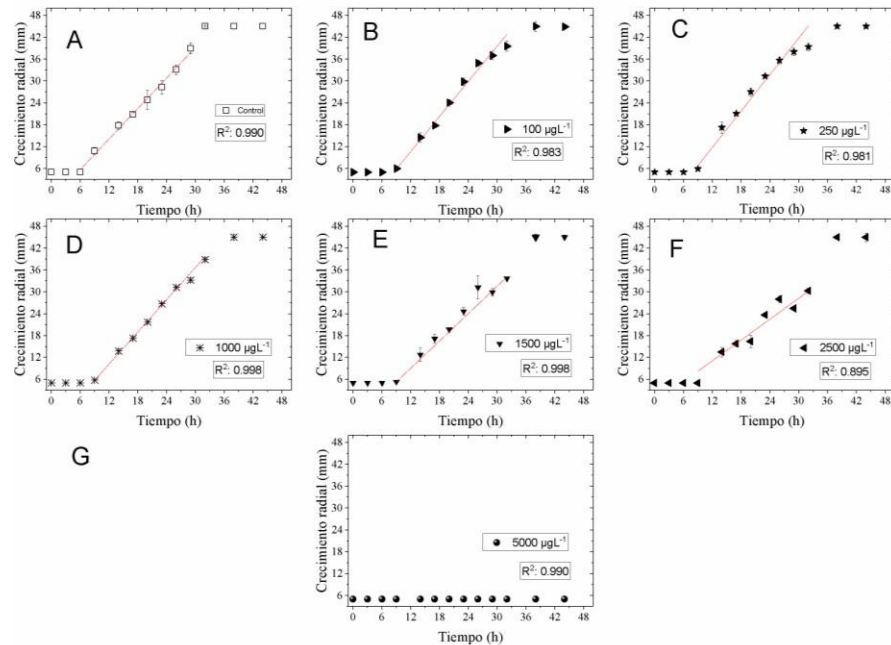


Figura A 8 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de TRP, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

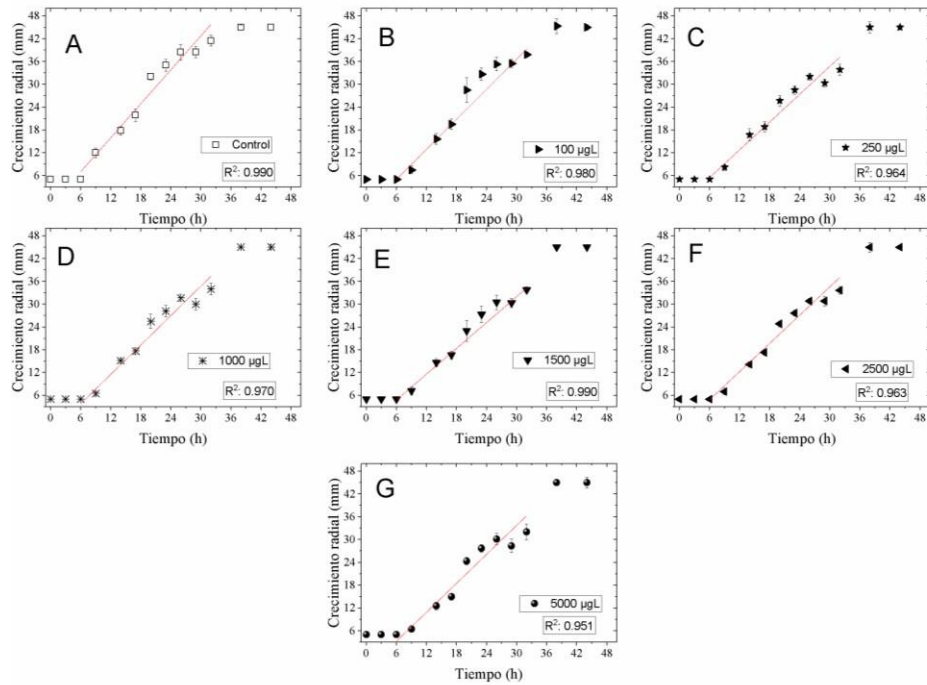


Figura A 9 . Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de SMX, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

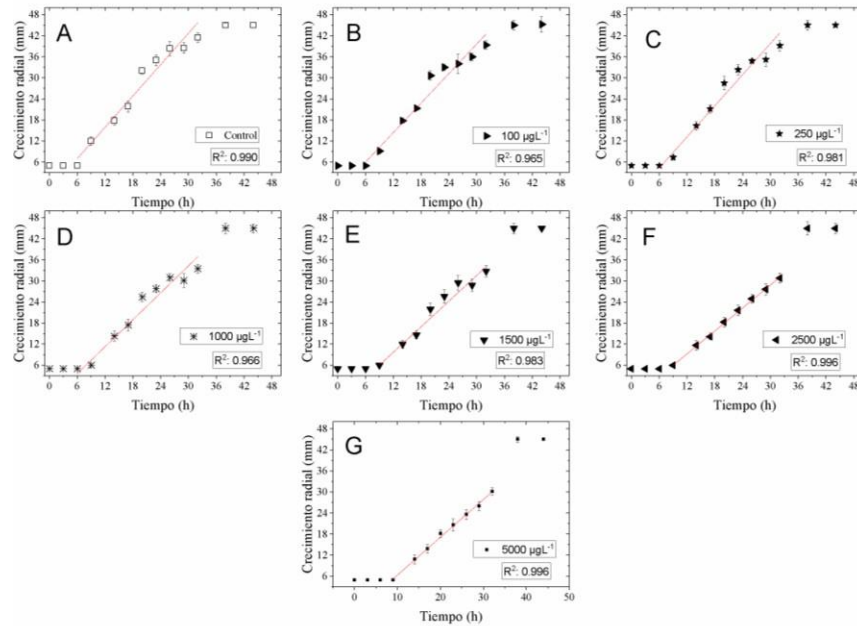


Figura A 10 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de PCT, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B: 100, C: 250, D: 1000, E: 1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

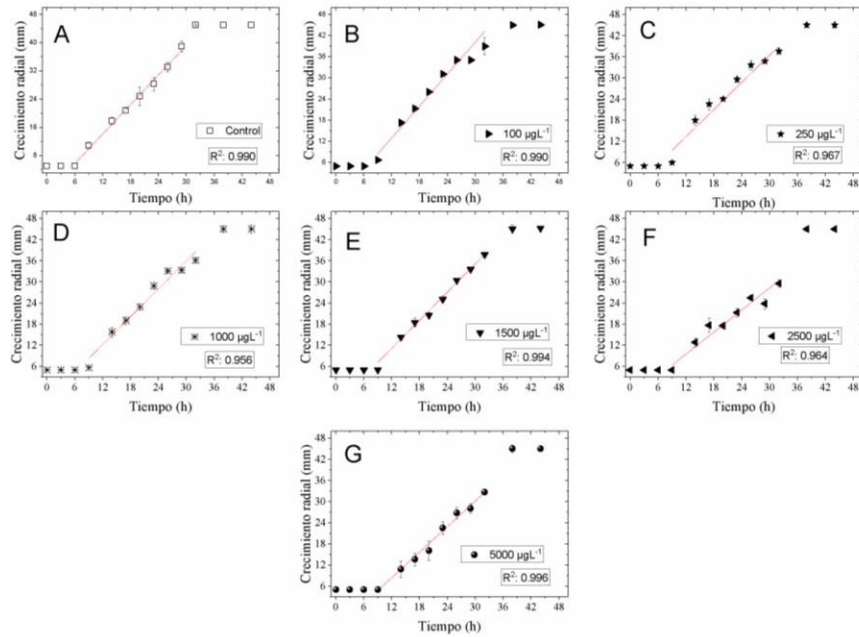


Figura A 11 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de IBP, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B: 100, C: 250, D: 1000, E: 1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.

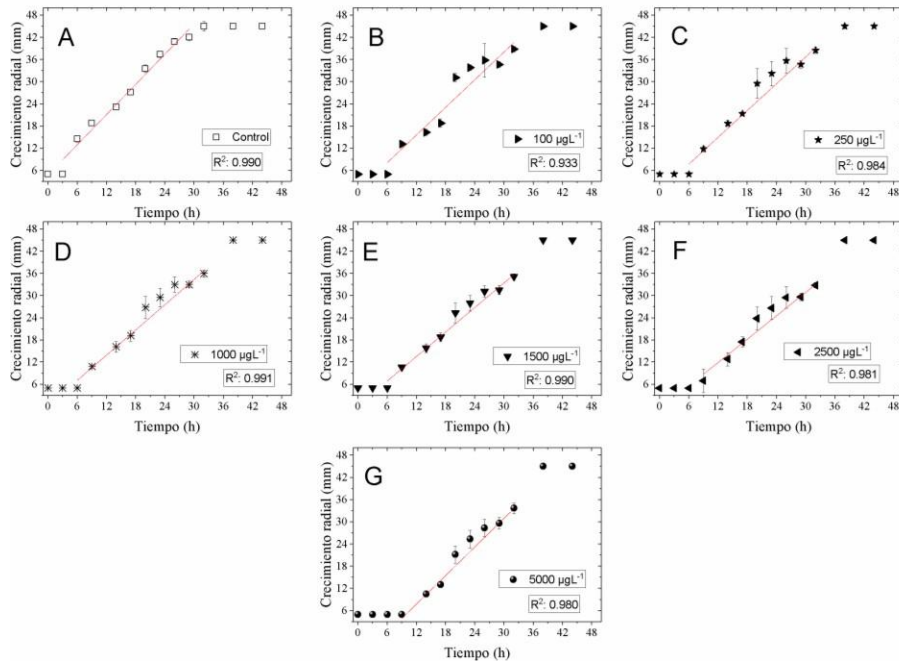
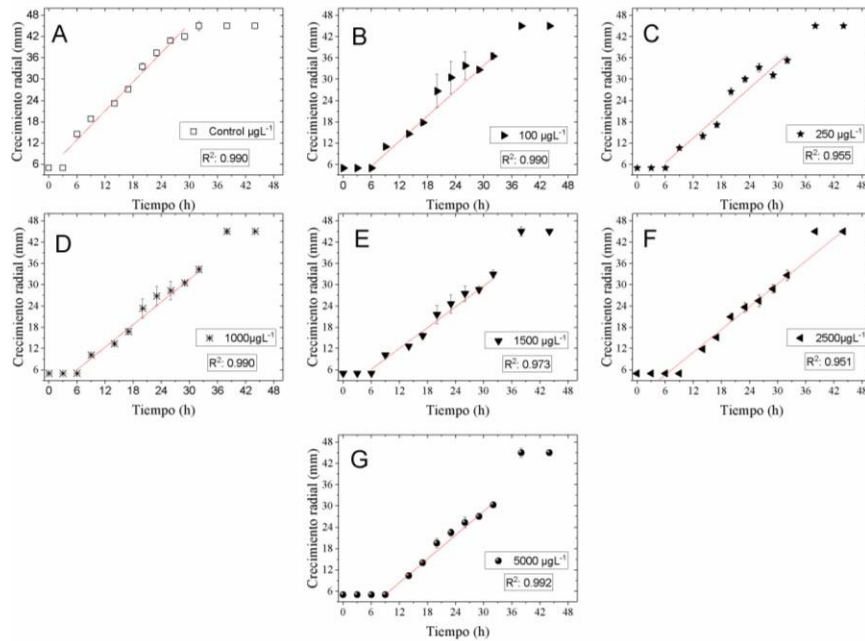


Figura A 12 Cinéticas de la fase exponencial de *A. rouxii* en medio Lee concentrado (2X) con diferentes concentraciones de β ETD, $\mu\text{g L}^{-1}$ (A: 0, B:100, C: 250, D: 1000, E:1500, F: 2500, G: 5000). La línea continua representa el ajuste de regresión lineal de los datos experimentales.



Anexo B Análisis estadístico para el porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *A. rouxii*

B 1. Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de triclosán

B 1.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6511.237	5	1302.247	312.534	.000
Within Groups	125.002	30	4.167		
Total	6636.239	35			

B 1.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
.726	5	30	.610

B 1.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	-7.0900*	1.17852	.000	-10.6746	-3.5054
		1000	-12.0900*	1.17852	.000	-15.6746	-8.5054
		1500	-17.5050*	1.17852	.000	-21.0896	-13.9204
		2500	-26.2550*	1.17852	.000	-29.8396	-22.6704
		5000	-41.2650*	1.17852	.000	-44.8496	-37.6804
	250	100	7.0900*	1.17852	.000	3.5054	10.6746
		1000	-5.0000*	1.17852	.002	-8.5846	-1.4154
		1500	-10.4150*	1.17852	.000	-13.9996	-6.8304
		2500	-19.1650*	1.17852	.000	-22.7496	-15.5804
		5000	-34.1750*	1.17852	.000	-37.7596	-30.5904
	1000	100	12.0900*	1.17852	.000	8.5054	15.6746
		250	5.0000*	1.17852	.002	1.4154	8.5846
		1500	-5.4150*	1.17852	.001	-8.9996	-1.8304
		2500	-14.1650*	1.17852	.000	-17.7496	-10.5804
		5000	-29.1750*	1.17852	.000	-32.7596	-25.5904
	1500	100	17.5050*	1.17852	.000	13.9204	21.0896
		250	10.4150*	1.17852	.000	6.8304	13.9996
		1000	5.4150*	1.17852	.001	1.8304	8.9996
		2500	-8.7500*	1.17852	.000	-12.3346	-5.1654
		5000	-23.7600*	1.17852	.000	-27.3446	-20.1754
2500	100	26.2550*	1.17852	.000	22.6704	29.8396	
	250	19.1650*	1.17852	.000	15.5804	22.7496	
	1000	14.1650*	1.17852	.000	10.5804	17.7496	
	1500	8.7500*	1.17852	.000	5.1654	12.3346	
	5000	-15.0100*	1.17852	.000	-18.5946	-11.4254	
5000	100	41.2650*	1.17852	.000	37.6804	44.8496	
	250	34.1750*	1.17852	.000	30.5904	37.7596	
	1000	29.1750*	1.17852	.000	25.5904	32.7596	

	1500	23.7600*	1.17852	.000	20.1754	27.3446
	2500	15.0100*	1.17852	.000	11.4254	18.5946
Games- 100 Howell	250	-7.0900*	1.30267	.008	-12.0542	-2.1258
	1000	-12.0900*	.93111	.000	-15.4119	-8.7681
	1500	-17.5050*	.98715	.000	-21.0671	-13.9429
	2500	-26.2550*	.93245	.000	-29.5826	-22.9274
	5000	-41.2650*	.92797	.000	-44.5737	-37.9563
250	100	7.0900*	1.30267	.008	2.1258	12.0542
	1000	-5.0000	1.41873	.055	-10.1001	.1001
	1500	-10.4150*	1.45613	.001	-15.5926	-5.2374
	2500	-19.1650*	1.41961	.000	-24.2668	-14.0632
	5000	-34.1750*	1.41667	.000	-39.2712	-29.0788
1000	100	12.0900*	.93111	.000	8.7681	15.4119
	250	5.0000	1.41873	.055	-.1001	10.1001
	1500	-5.4150*	1.13592	.007	-9.3659	-1.4641
	2500	-14.1650*	1.08872	.000	-17.9465	-10.3835
	5000	-29.1750*	1.08488	.000	-32.9432	-25.4068
1500	100	17.5050*	.98715	.000	13.9429	21.0671
	250	10.4150*	1.45613	.001	5.2374	15.5926
	1000	5.4150*	1.13592	.007	1.4641	9.3659
	2500	-8.7500*	1.13702	.000	-12.7045	-4.7955
	5000	-23.7600*	1.13334	.000	-27.7027	-19.8173
2500	100	26.2550*	.93245	.000	22.9274	29.5826
	250	19.1650*	1.41961	.000	14.0632	24.2668
	1000	14.1650*	1.08872	.000	10.3835	17.9465
	1500	8.7500*	1.13702	.000	4.7955	12.7045
	5000	-15.0100*	1.08603	.000	-18.7822	-11.2378
5000	100	41.2650*	.92797	.000	37.9563	44.5737
	250	34.1750*	1.41667	.000	29.0788	39.2712
	1000	29.1750*	1.08488	.000	25.4068	32.9432
	1500	23.7600*	1.13334	.000	19.8173	27.7027
	2500	15.0100*	1.08603	.000	11.2378	18.7822

B 1.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración n	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
Tukey HSD ^{a,b} 100	6	10.8200					
250	6		17.9100				
1000	6			22.9100			
1500	6				28.3250		
2500	6					37.0750	
5000	6						52.0850
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

B.2 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de naproxeno

B 2.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9024.617	5	1804.923	373.921	.000
Within Groups	144.810	30	4.827		
Total	9169.428	35			

B 2.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
1.424	5	30	.244

B 2.3 Prueba de Kolmogórov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	25.1992
	Std. Deviation	16.18591
Most Extreme Differences	Absolute	.222
Differences	Positive	.222
	Negative	-.146
Kolmogorov-Smirnov Z		1.330

Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
------------------------	------

a. Test distribution is Normal.

Capítulo 8

b. Calculated from data

B 2.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	-5.4200*	1.26847	.002	-9.2782	-1.5618
		1000	-5.8400*	1.26847	.001	-9.6982	-1.9818
		1500	-11.6650*	1.26847	.000	-15.5232	-7.8068
		2500	-17.9150*	1.26847	.000	-21.7732	-14.0568
		5000	-47.9250*	1.26847	.000	-51.7832	-44.0668
250	100	1000	5.4200*	1.26847	.002	1.5618	9.2782
		1500	-.4200	1.26847	.999	-4.2782	3.4382
		2500	-6.2450*	1.26847	.000	-10.1032	-2.3868
		5000	-12.4950*	1.26847	.000	-16.3532	-8.6368
		5000	-42.5050*	1.26847	.000	-46.3632	-38.6468
1000	100	250	5.8400*	1.26847	.001	1.9818	9.6982
		1500	.4200	1.26847	.999	-3.4382	4.2782
		2500	-5.8250*	1.26847	.001	-9.6832	-1.9668
		5000	-12.0750*	1.26847	.000	-15.9332	-8.2168
		5000	-42.0850*	1.26847	.000	-45.9432	-38.2268
1500	100	250	11.6650*	1.26847	.000	7.8068	15.5232
		1000	6.2450*	1.26847	.000	2.3868	10.1032
		2500	5.8250*	1.26847	.001	1.9668	9.6832
		5000	-6.2500*	1.26847	.000	-10.1082	-2.3918
		5000	-36.2600*	1.26847	.000	-40.1182	-32.4018
2500	100	250	17.9150*	1.26847	.000	14.0568	21.7732
		1000	12.4950*	1.26847	.000	8.6368	16.3532
		1500	12.0750*	1.26847	.000	8.2168	15.9332
		5000	6.2500*	1.26847	.000	2.3918	10.1082
		5000	-30.0100*	1.26847	.000	-33.8682	-26.1518
5000	100	47.9250*	1.26847	.000	44.0668	51.7832	

	250	42.5050*	1.26847	.000	38.6468	46.3632	
	1000	42.0850*	1.26847	.000	38.2268	45.9432	
	1500	36.2600*	1.26847	.000	32.4018	40.1182	
	2500	30.0100*	1.26847	.000	26.1518	33.8682	
Games- Howell	100	250	-5.4200*	1.13187	.007	-9.3572	-1.4828
		1000	-5.8400*	.94635	.002	-9.1904	-2.4896
		1500	-11.6650*	1.41785	.000	-16.7663	-6.5637
		2500	-17.9150*	.93156	.000	-21.2315	-14.5985
		5000	-47.9250*	1.45412	.000	-53.1832	-42.6668
250	100	100	5.4200*	1.13187	.007	1.4828	9.3572
		1000	-.4200	1.00278	.998	-4.0080	3.1680
		1500	-6.2450*	1.45613	.018	-11.4249	-1.0651
		2500	-12.4950*	.98884	.000	-16.0560	-8.9340
		5000	-42.5050*	1.49146	.000	-47.8344	-37.1756
1000	100	100	5.8400*	.94635	.002	2.4896	9.1904
		250	.4200	1.00278	.998	-3.1680	4.0080
		1500	-5.8250*	1.31710	.023	-10.8001	-.8499
		2500	-12.0750*	.76957	.000	-14.7492	-9.4008
		5000	-42.0850*	1.35606	.000	-47.2351	-36.9349
1500	100	100	11.6650*	1.41785	.000	6.5637	16.7663
		250	6.2450*	1.45613	.018	1.0651	11.4249
		1000	5.8250*	1.31710	.023	.8499	10.8001
		2500	-6.2500*	1.30651	.016	-11.2207	-1.2793
		5000	-36.2600*	1.71862	.000	-42.2308	-30.2892
2500	100	100	17.9150*	.93156	.000	14.5985	21.2315
		250	12.4950*	.98884	.000	8.9340	16.0560
		1000	12.0750*	.76957	.000	9.4008	14.7492
		1500	6.2500*	1.30651	.016	1.2793	11.2207
		5000	-30.0100*	1.34579	.000	-35.1573	-24.8627
5000	100	100	47.9250*	1.45412	.000	42.6668	53.1832
		250	42.5050*	1.49146	.000	37.1756	47.8344
		1000	42.0850*	1.35606	.000	36.9349	47.2351
		1500	36.2600*	1.71862	.000	30.2892	42.2308
		2500	30.0100*	1.34579	.000	24.8627	35.1573

B 2.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Tukey HSD ^{a,b} 100	6	10.4050				
250	6		15.8250			
1000	6		16.2450			
1500	6			22.0700		
2500	6				28.3200	
5000	6					58.3300
Sig.		1.000	.999	1.000	1.000	1.000

B.3 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de ciprofloxacino

B 3.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1155.181	5	231.036	67.374	.000
Within Groups	102.875	30	3.429		
Total	1258.056	35			

B 3.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
2.186	5	30	.082

B .3.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	18.5600
	Std. Deviation	5.99537
Most Extreme Differences	Absolute	.205
	Positive	.204
	Negative	-.205

Kolmogorov-Smirnov Z	1.228
Asymp. Sig. (2-tailed)	.098

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

B 3.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
(I) Concentración	(J) Concentración				Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	100	250	-7.5050*	1.06914	.000	-10.7569	-4.2531
		1000	-11.2850*	1.06914	.000	-14.5369	-8.0331
		1500	-11.3050*	1.06914	.000	-14.5569	-8.0531
		2500	-12.5950*	1.06914	.000	-15.8469	-9.3431
		5000	-18.7500*	1.06914	.000	-22.0019	-15.4981
	250	100	7.5050*	1.06914	.000	4.2531	10.7569
		1000	-3.7800*	1.06914	.015	-7.0319	-.5281
		1500	-3.8000*	1.06914	.015	-7.0519	-.5481
		2500	-5.0900*	1.06914	.001	-8.3419	-1.8381
		5000	-11.2450*	1.06914	.000	-14.4969	-7.9931
	1000	100	11.2850*	1.06914	.000	8.0331	14.5369
		250	3.7800*	1.06914	.015	.5281	7.0319
		1500	-.0200	1.06914	1.000	-3.2719	3.2319
		2500	-1.3100	1.06914	.821	-4.5619	1.9419
		5000	-7.4650*	1.06914	.000	-10.7169	-4.2131
	1500	100	11.3050*	1.06914	.000	8.0531	14.5569
		250	3.8000*	1.06914	.015	.5481	7.0519
		1000	.0200	1.06914	1.000	-3.2319	3.2719
		2500	-1.2900	1.06914	.830	-4.5419	1.9619
		5000	-7.4450*	1.06914	.000	-10.6969	-4.1931
2500	100	12.5950*	1.06914	.000	9.3431	15.8469	
	250	5.0900*	1.06914	.001	1.8381	8.3419	
	1000	1.3100	1.06914	.821	-1.9419	4.5619	
	1500	1.2900	1.06914	.830	-1.9619	4.5419	
	5000	-6.1550*	1.06914	.000	-9.4069	-2.9031	
5000	100	18.7500*	1.06914	.000	15.4981	22.0019	
	250	11.2450*	1.06914	.000	7.9931	14.4969	
	1000	7.4650*	1.06914	.000	4.2131	10.7169	

		1500	7.4450*	1.06914	.000	4.1931	10.6969
		2500	6.1550*	1.06914	.000	2.9031	9.4069
Games- Howell	100	250	-7.5050*	1.34578	.003	-12.2303	-2.7797
		1000	-11.2850*	1.13801	.000	-15.6813	-6.8887
		1500	-11.3050*	1.13950	.000	-15.7012	-6.9088
		2500	-12.5950*	1.33409	.000	-17.2892	-7.9008
		5000	-18.7500*	1.30651	.000	-23.3752	-14.1248
250	100	7.5050*	1.34578	.003	2.7797	12.2303	
	1000	-3.7800*	.93545	.034	-7.2667	-.2933	
	1500	-3.8000*	.93727	.033	-7.2883	-.3117	
	2500	-5.0900*	1.16610	.013	-9.1407	-1.0393	
	5000	-11.2450*	1.13444	.000	-15.1905	-7.2995	
1000	100	11.2850*	1.13801	.000	6.8887	15.6813	
	250	3.7800*	.93545	.034	.2933	7.2667	
	1500	-.0200	.60200	1.000	-2.1110	2.0710	
	2500	-1.3100	.91855	.714	-4.7213	2.1013	
	5000	-7.4650*	.87801	.000	-10.6963	-4.2337	
1500	100	11.3050*	1.13950	.000	6.9088	15.7012	
	250	3.8000*	.93727	.033	.3117	7.2883	
	1000	.0200	.60200	1.000	-2.0710	2.1110	
	2500	-1.2900	.92040	.727	-4.7032	2.1232	
	5000	-7.4450*	.87995	.000	-10.6787	-4.2113	
2500	100	12.5950*	1.33409	.000	7.9008	17.2892	
	250	5.0900*	1.16610	.013	1.0393	9.1407	
	1000	1.3100	.91855	.714	-2.1013	4.7213	
	1500	1.2900	.92040	.727	-2.1232	4.7032	
	5000	-6.1550*	1.12055	.003	-10.0497	-2.2603	
5000	100	18.7500*	1.30651	.000	14.1248	23.3752	
	250	11.2450*	1.13444	.000	7.2995	15.1905	
	1000	7.4650*	.87801	.000	4.2337	10.6963	
	1500	7.4450*	.87995	.000	4.2113	10.6787	
	2500	6.1550*	1.12055	.003	2.2603	10.0497	

B 3.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset			
		1	2	3	4
Tukey HSD ^{a,b} 100	6	8.3200			
250	6		15.8250		
1000	6			19.6050	
1500	6			19.6250	
2500	6			20.9150	
5000	6				27.0700
Sig.		1.000	1.000	.821	1.000

B.4 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de Bisfenol A

B 4.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1825.918	5	365.184	11.533	.000
Within Groups	823.249	26	31.663		
Total	2649.168	31			

B 4.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
1.826	5	30	.138

B 4.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15.1311
	Std. Deviation	6.88930
Most Extreme Differences	Absolute	.189
	Positive	.189
	Negative	-.108
Kolmogorov-Smirnov Z		1.133
Asymp. Sig. (2-tailed)		.153

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data

4.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD 100	250	-2.9150	.97427	.056	-5.8783	.0483
	1000	-4.9967*	.97427	.000	-7.9600	-2.0333
	1500	-9.5900*	.97427	.000	-12.5533	-6.6267
	2500	-14.1650*	.97427	.000	-17.1283	-11.2017
	5000	-19.1600*	.97427	.000	-22.1233	-16.1967
250	100	2.9150	.97427	.056	-.0483	5.8783
	1000	-2.0817	.97427	.297	-5.0450	.8817
	1500	-6.6750*	.97427	.000	-9.6383	-3.7117
	2500	-11.2500*	.97427	.000	-14.2133	-8.2867
	5000	-16.2450*	.97427	.000	-19.2083	-13.2817
1000	100	4.9967*	.97427	.000	2.0333	7.9600
	250	2.0817	.97427	.297	-.8817	5.0450
	1500	-4.5933*	.97427	.001	-7.5567	-1.6300
	2500	-9.1683*	.97427	.000	-12.1317	-6.2050
	5000	-14.1633*	.97427	.000	-17.1267	-11.2000
1500	100	9.5900*	.97427	.000	6.6267	12.5533
	250	6.6750*	.97427	.000	3.7117	9.6383
	1000	4.5933*	.97427	.001	1.6300	7.5567
	2500	-4.5750*	.97427	.001	-7.5383	-1.6117
	5000	-9.5700*	.97427	.000	-12.5333	-6.6067

2500	100	14.1650*	.97427	.000	11.2017	17.1283
	250	11.2500*	.97427	.000	8.2867	14.2133
	1000	9.1683*	.97427	.000	6.2050	12.1317
	1500	4.5750*	.97427	.001	1.6117	7.5383
	5000	-4.9950*	.97427	.000	-7.9583	-2.0317
5000	100	19.1600*	.97427	.000	16.1967	22.1233
	250	16.2450*	.97427	.000	13.2817	19.2083

	1000	14.1633*	.97427	.000	11.2000	17.1267	
	1500	9.5700*	.97427	.000	6.6067	12.5333	
	2500	4.9950*	.97427	.000	2.0317	7.9583	
Game s- Howel 1	100	250	-2.9150*	.67414	.015	-5.2844	-.5456
		1000	-4.9967*	.98997	.007	-8.5625	-1.4308
		1500	-9.5900*	.76796	.000	-12.2584	-6.9216
		2500	-14.1650*	.99053	.000	-17.7332	-10.5968
		5000	-19.1600*	.98546	.000	-22.7064	-15.6136
250	100	2.9150*	.67414	.015	.5456	5.2844	
	1000	-2.0817	.93275	.326	-5.5705	1.4072	
	1500	-6.6750*	.69264	.000	-9.1197	-4.2303	
	2500	-11.2500*	.93334	.000	-14.7415	-7.7585	
	5000	-16.2450*	.92797	.000	-19.7125	-12.7775	
1000	100	4.9967*	.98997	.007	1.4308	8.5625	
	250	2.0817	.93275	.326	-1.4072	5.5705	
	1500	-4.5933*	1.00266	.013	-8.1836	-1.0031	
	2500	-9.1683*	1.18182	.000	-13.2732	-5.0635	
	5000	-14.1633*	1.17758	.000	-18.2535	-10.0732	
1500	100	9.5900*	.76796	.000	6.9216	12.2584	
	250	6.6750*	.69264	.000	4.2303	9.1197	
	1000	4.5933*	1.00266	.013	1.0031	8.1836	
	2500	-4.5750*	1.00321	.013	-8.1676	-.9824	
	5000	-9.5700*	.99821	.000	-13.1413	-5.9987	
2500	100	14.1650*	.99053	.000	10.5968	17.7332	
	250	11.2500*	.93334	.000	7.7585	14.7415	
	1000	9.1683*	1.18182	.000	5.0635	13.2732	

	1500	4.5750*	1.00321	.013	.9824	8.1676
	5000	-4.9950*	1.17805	.016	-9.0868	-.9032
5000	100	19.1600*	.98546	.000	15.6136	22.7064
	250	16.2450*	.92797	.000	12.7775	19.7125
	1000	14.1633*	1.17758	.000	10.0732	18.2535
	1500	9.5700*	.99821	.000	5.9987	13.1413
	2500	4.9950*	1.17805	.016	.9032	9.0868

B 4.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Capítulo 8		N	Subset				
Concentración			1	2	3	4	5
Tukey	100	6	6.6600				
HSD ^{a,b}	250	6	9.5750	9.5750			
	1000	6		11.6567			
	1500	6			16.2500		
	2500	6				20.8250	
	5000	6					25.8200
	Sig.			.056	.297	1.000	1.000

B.5 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de sulfametoxazol

B 5.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5078.433	5	1015.687	71.416	.000
Within Groups	426.662	30	14.222		
Total	5505.095	35			

B 5.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
1.283	5	30	.297

B 5.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	32.8344
	Std. Deviation	12.54147
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.112
Kolmogorov-Smirnov Z		.917
Asymp. Sig. (2-tailed)		.369

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data

B 5.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
						Tukey HSD	100
		1000	-12.8917*	2.17731	.000	-19.5142	-6.2692
		1500	-18.3350*	2.17731	.000	-24.9575	-11.7125
		2500	-28.3350*	2.17731	.000	-34.9575	-21.7125
		5000	-30.8400*	2.17731	.000	-37.4625	-24.2175
	250	100	1.6650	2.17731	.971	-4.9575	8.2875
		1000	-11.2267*	2.17731	.000	-17.8492	-4.6042
		1500	-16.6700*	2.17731	.000	-23.2925	-10.0475
		2500	-26.6700*	2.17731	.000	-33.2925	-20.0475
		5000	-29.1750*	2.17731	.000	-35.7975	-22.5525
	1000	100	12.8917*	2.17731	.000	6.2692	19.5142
		250	11.2267*	2.17731	.000	4.6042	17.8492
		1500	-5.4433	2.17731	.156	-12.0658	1.1792
		2500	-15.4433*	2.17731	.000	-22.0658	-8.8208
		5000	-17.9483*	2.17731	.000	-24.5708	-11.3258
	1500	100	18.3350*	2.17731	.000	11.7125	24.9575
		250	16.6700*	2.17731	.000	10.0475	23.2925
		1000	5.4433	2.17731	.156	-1.1792	12.0658
		2500	-10.0000*	2.17731	.001	-16.6225	-3.3775
		5000	-12.5050*	2.17731	.000	-19.1275	-5.8825
	2500	100	28.3350*	2.17731	.000	21.7125	34.9575
		250	26.6700*	2.17731	.000	20.0475	33.2925
		1000	15.4433*	2.17731	.000	8.8208	22.0658
		1500	10.0000*	2.17731	.001	3.3775	16.6225
		5000	-2.5050	2.17731	.856	-9.1275	4.1175
	5000	100	30.8400*	2.17731	.000	24.2175	37.4625

		250	29.1750*	2.17731	.000	22.5525	35.7975
		1000	17.9483*	2.17731	.000	11.3258	24.5708
		1500	12.5050*	2.17731	.000	5.8825	19.1275
		2500	2.5050	2.17731	.856	-4.1175	9.1275
Games- Howell	100	250	-1.6650	1.78342	.927	-8.1554	4.8254
		1000	-12.8917*	1.50934	.000	-18.2143	-7.5691
		1500	-18.3350*	2.20165	.001	-26.6876	-9.9824
		2500	-28.3350*	1.78762	.000	-34.8438	-21.8262
		5000	-30.8400*	2.00680	.000	-38.3195	-23.3605
250	100	100	1.6650	1.78342	.927	-4.8254	8.1554
		1000	-11.2267*	1.95072	.002	-18.0795	-4.3738
		1500	-16.6700*	2.52477	.001	-25.5612	-7.7788
		2500	-26.6700*	2.17320	.000	-34.2182	-19.1218
		5000	-29.1750*	2.35680	.000	-37.3994	-20.9506
1000	100	100	12.8917*	1.50934	.000	7.5691	18.2143
		250	11.2267*	1.95072	.002	4.3738	18.0795
		1500	-5.4433	2.33923	.282	-13.9390	3.0523
		2500	-15.4433*	1.95457	.000	-22.3116	-8.5750
		5000	-17.9483*	2.15685	.000	-25.6569	-10.2397
1500	100	100	18.3350*	2.20165	.001	9.9824	26.6876
		250	16.6700*	2.52477	.001	7.7788	25.5612
		1000	5.4433	2.33923	.282	-3.0523	13.9390
		2500	-10.0000*	2.52774	.026	-18.8989	-1.1011
		5000	-12.5050*	2.68722	.009	-21.8629	-3.1471
2500	100	100	28.3350*	1.78762	.000	21.8262	34.8438
		250	26.6700*	2.17320	.000	19.1218	34.2182
		1000	15.4433*	1.95457	.000	8.5750	22.3116
		1500	10.0000*	2.52774	.026	1.1011	18.8989
		5000	-2.5050	2.35998	.886	-10.7389	5.7289
5000	100	100	30.8400*	2.00680	.000	23.3605	38.3195
		250	29.1750*	2.35680	.000	20.9506	37.3994
		1000	17.9483*	2.15685	.000	10.2397	25.6569
		1500	12.5050*	2.68722	.009	3.1471	21.8629
		2500	2.5050	2.35998	.886	-5.7289	10.7389

B 5.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset		
		1	2	3
Tukey HSD ^{a,b} 100	6	17.4900		
250	6	19.1550		
1000	6		30.3817	
1500	6		35.8250	
2500	6			45.8250
5000	6			48.3300
Sig.		.971	.156	.856

B 6 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de paracetamol

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1990.975	5	398.195	53.141	.000
Within Groups	134.876	18	7.493		
Total	2125.852	23			

B 6.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
2.195	5	18	.100

B 6.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	33.7400
	Std. Deviation	9.61397
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.201
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		.984
Asymp. Sig. (2-tailed)		.288

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

B 6. 4Prueba Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
						Tukey HSD	
	100	250	-3.1200	1.93560	.602	-9.2714	3.0314
		1000	-4.9950	1.93560	.153	-11.1464	1.1564
		1500	-14.3700*	1.93560	.000	-20.5214	-8.2186
		2500	-23.7450*	1.93560	.000	-29.8964	-17.5936
		5000	-21.2550*	1.93560	.000	-27.4064	-15.1036
	250	100	3.1200	1.93560	.602	-3.0314	9.2714
		1000	-1.8750	1.93560	.922	-8.0264	4.2764
		1500	-11.2500*	1.93560	.000	-17.4014	-5.0986
		2500	-20.6250*	1.93560	.000	-26.7764	-14.4736
		5000	-18.1350*	1.93560	.000	-24.2864	-11.9836
	1000	100	4.9950	1.93560	.153	-1.1564	11.1464
		250	1.8750	1.93560	.922	-4.2764	8.0264
		1500	-9.3750*	1.93560	.002	-15.5264	-3.2236
		2500	-18.7500*	1.93560	.000	-24.9014	-12.5986
		5000	-16.2600*	1.93560	.000	-22.4114	-10.1086
	1500	100	14.3700*	1.93560	.000	8.2186	20.5214
		250	11.2500*	1.93560	.000	5.0986	17.4014
		1000	9.3750*	1.93560	.002	3.2236	15.5264
		2500	-9.3750*	1.93560	.002	-15.5264	-3.2236
		5000	-6.8850*	1.93560	.023	-13.0364	-.7336
	2500	100	23.7450*	1.93560	.000	17.5936	29.8964
		250	20.6250*	1.93560	.000	14.4736	26.7764
		1000	18.7500*	1.93560	.000	12.5986	24.9014
		1500	9.3750*	1.93560	.002	3.2236	15.5264
		5000	2.4900	1.93560	.788	-3.6614	8.6414
	5000	100	21.2550*	1.93560	.000	15.1036	27.4064
		250	18.1350*	1.93560	.000	11.9836	24.2864
		1000	16.2600*	1.93560	.000	10.1086	22.4114
		1500	6.8850*	1.93560	.023	.7336	13.0364
		2500	-2.4900	1.93560	.788	-8.6414	3.6614

Games- Howell	100	250	-3.1200	1.19723	.249	-8.2469	2.0069
		1000	-4.9950	1.44628	.088	-10.7510	.7610
		1500	-14.3700 [*]	1.57653	.001	-20.6989	-8.0411
		2500	-23.7450 [*]	1.61698	.000	-30.2698	-17.2202
		5000	-21.2550 [*]	2.60729	.007	-33.5284	-8.9816
	250	100	3.1200	1.19723	.249	-2.0069	8.2469
		1000	-1.8750	1.19723	.647	-7.0019	3.2519
		1500	-11.2500 [*]	1.35171	.004	-17.2887	-5.2113
		2500	-20.6250 [*]	1.39866	.000	-26.9467	-14.3033
		5000	-18.1350 [*]	2.47782	.018	-31.0519	-5.2181
	1000	100	4.9950	1.44628	.088	-.7610	10.7510
		250	1.8750	1.19723	.647	-3.2519	7.0019
		1500	-9.3750 [*]	1.57653	.008	-15.7039	-3.0461
		2500	-18.7500 [*]	1.61698	.000	-25.2748	-12.2252
		5000	-16.2600 [*]	2.60729	.019	-28.5334	-3.9866
	1500	100	14.3700 [*]	1.57653	.001	8.0411	20.6989
		250	11.2500 [*]	1.35171	.004	5.2113	17.2887
		1000	9.3750 [*]	1.57653	.008	3.0461	15.7039
		2500	-9.3750 [*]	1.73446	.012	-16.2823	-2.4677
		5000	-6.8850	2.68174	.272	-18.9844	5.2144
	2500	100	23.7450 [*]	1.61698	.000	17.2202	30.2698
		250	20.6250 [*]	1.39866	.000	14.3033	26.9467
		1000	18.7500 [*]	1.61698	.000	12.2252	25.2748
		1500	9.3750 [*]	1.73446	.012	2.4677	16.2823
		5000	2.4900	2.70571	.924	-9.5762	14.5562
5000	100	21.2550 [*]	2.60729	.007	8.9816	33.5284	
	250	18.1350 [*]	2.47782	.018	5.2181	31.0519	
	1000	16.2600 [*]	2.60729	.019	3.9866	28.5334	
	1500	6.8850	2.68174	.272	-5.2144	18.9844	
	2500	-2.4900	2.70571	.924	-14.5562	9.5762	

B 6.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset		
		1	2	3
Tukey HSD ^{a,b} 100	4	22.4925		
250	4	25.6125		
1000	4	27.4875		
1500	4		36.8625	
5000	4			43.7475
2500	4			46.2375
Sig.		.153	1.000	.788

B 7 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de trimetoprima

B 7.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	609.704	5	121.941	9.572	.000
Within Groups	382.186	30	12.740		
Total	991.890	35			

B 7.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
1.4705	5	30	.229

B 7.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Parámetros normales ^{a,b}	Media	28.5317
	Desviación típica	5.32351
Diferencias más extremas	Absoluta	.172
	Positiva	.117
	Negativa	-.172
Z de Kolmogorov-Smirnov		1.030

Sig. asintót. (bilateral)	.239
---------------------------	------

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

B 7.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	-9.1650*	2.06071	.001	-15.4328	-2.8972
		1000	-9.9950*	2.06071	.000	-16.2628	-3.7272
		1500	-12.0800*	2.06071	.000	-18.3478	-5.8122
		2500	-11.2500*	2.06071	.000	-17.5178	-4.9822
		5000	-11.2500*	2.06071	.000	-17.5178	-4.9822
250	100	1000	9.1650*	2.06071	.001	2.8972	15.4328
		1000	-.8300	2.06071	.998	-7.0978	5.4378
		1500	-2.9150	2.06071	.718	-9.1828	3.3528
		2500	-2.0850	2.06071	.910	-8.3528	4.1828
		5000	-2.0850	2.06071	.910	-8.3528	4.1828
1000	100	250	9.9950*	2.06071	.000	3.7272	16.2628
		250	.8300	2.06071	.998	-5.4378	7.0978
		1500	-2.0850	2.06071	.910	-8.3528	4.1828
		2500	-1.2550	2.06071	.990	-7.5228	5.0128
		5000	-1.2550	2.06071	.990	-7.5228	5.0128
1500	100	250	12.0800*	2.06071	.000	5.8122	18.3478
		250	2.9150	2.06071	.718	-3.3528	9.1828
		1000	2.0850	2.06071	.910	-4.1828	8.3528
		2500	.8300	2.06071	.998	-5.4378	7.0978
		5000	.8300	2.06071	.998	-5.4378	7.0978
2500	100	250	11.2500*	2.06071	.000	4.9822	17.5178
		250	2.0850	2.06071	.910	-4.1828	8.3528
		1000	1.2550	2.06071	.990	-5.0128	7.5228
		1500	-.8300	2.06071	.998	-7.0978	5.4378
		5000	.0000	2.06071	1.000	-6.2678	6.2678
5000	100	250	11.2500*	2.06071	.000	4.9822	17.5178
		250	2.0850	2.06071	.910	-4.1828	8.3528

	1000	1.2550	2.06071	.990	-5.0128	7.5228
	1500	-.8300	2.06071	.998	-7.0978	5.4378
	2500	.0000	2.06071	1.000	-6.2678	6.2678
Games- 100	250	-9.1650*	1.95399	.011	-16.1728	-2.1572
Howell	1000	-9.9950*	2.21930	.011	-17.7143	-2.2757
	1500	-12.0800*	2.74399	.014	-21.7752	-2.3848
	2500	-11.2500*	1.83425	.003	-18.0816	-4.4184
	5000	-11.2500*	1.94366	.003	-18.2378	-4.2622
250	100	9.1650*	1.95399	.011	2.1572	16.1728
	1000	-.8300	1.84542	.997	-7.3781	5.7181
	1500	-2.9150	2.45148	.830	-12.1154	6.2854
	2500	-2.0850	1.35821	.653	-6.8604	2.6904
	5000	-2.0850	1.50269	.734	-7.3047	3.1347
1000	100	9.9950*	2.21930	.011	2.2757	17.7143
	250	.8300	1.84542	.997	-5.7181	7.3781
	1500	-2.0850	2.66776	.964	-11.6051	7.4351
	2500	-1.2550	1.71813	.972	-7.5705	5.0605
	5000	-1.2550	1.83448	.979	-7.7782	5.2682
1500	100	12.0800*	2.74399	.014	2.3848	21.7752
	250	2.9150	2.45148	.830	-6.2854	12.1154
	1000	2.0850	2.66776	.964	-7.4351	11.6051
	2500	.8300	2.35714	.999	-8.3504	10.0104
	5000	.8300	2.44325	.999	-8.3651	10.0251
2500	100	11.2500*	1.83425	.003	4.4184	18.0816
	250	2.0850	1.35821	.653	-2.6904	6.8604
	1000	1.2550	1.71813	.972	-5.0605	7.5705
	1500	-.8300	2.35714	.999	-10.0104	8.3504
	5000	.0000	1.34331	1.000	-4.7154	4.7154
5000	100	11.2500*	1.94366	.003	4.2622	18.2378
	250	2.0850	1.50269	.734	-3.1347	7.3047
	1000	1.2550	1.83448	.979	-5.2682	7.7782
	1500	-.8300	2.44325	.999	-10.0251	8.3651
	2500	.0000	1.34331	1.000	-4.7154	4.7154

B 7.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración		N	Subset	
			1	2
Tukey HSD ^{a,b}	100	6	19.5750	
	250	6		28.7400
	1000	6		29.5700
	5000	6		30.8250
	2500	6		30.8250
	1500	6		31.6550
	Sig.			1.000

B 8 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de diclofenaco

B 8 .1ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11071.858	5	2214.372	456.697	.000
Within Groups	145.460	30	4.849		
Total	11217.318	35			

B 8.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
3.224	5	30	.019

B 8.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	25.4663
	Std. Deviation	17.90237
Most Extreme Differences	Absolute	.177
	Positive	.177
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		1.064
Asymp. Sig. (2-tailed)		.208

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B 8. 4 prueba Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
					Tukey HSD	
100	250	-9.2392*	1.27131	.000	-13.1060	-5.3724
	1000	-16.3158*	1.27131	.000	-20.1826	-12.4490
	1500	-21.3208*	1.27131	.000	-25.1876	-17.4540
	2500	-35.4808*	1.27131	.000	-39.3476	-31.6140
	5000	-53.4058*	1.27131	.000	-57.2726	-49.5390
250	100	9.2392*	1.27131	.000	5.3724	13.1060
	1000	-7.0767*	1.27131	.000	-10.9435	-3.2099
	1500	-12.0817*	1.27131	.000	-15.9485	-8.2149
	2500	-26.2417*	1.27131	.000	-30.1085	-22.3749
	5000	-44.1667*	1.27131	.000	-48.0335	-40.2999
1000	100	16.3158*	1.27131	.000	12.4490	20.1826
	250	7.0767*	1.27131	.000	3.2099	10.9435
	1500	-5.0050*	1.27131	.006	-8.8718	-1.1382
	2500	-19.1650*	1.27131	.000	-23.0318	-15.2982
	5000	-37.0900*	1.27131	.000	-40.9568	-33.2232
1500	100	21.3208*	1.27131	.000	17.4540	25.1876
	250	12.0817*	1.27131	.000	8.2149	15.9485
	1000	5.0050*	1.27131	.006	1.1382	8.8718
	2500	-14.1600*	1.27131	.000	-18.0268	-10.2932
	5000	-32.0850*	1.27131	.000	-35.9518	-28.2182
2500	100	35.4808*	1.27131	.000	31.6140	39.3476
	250	26.2417*	1.27131	.000	22.3749	30.1085
	1000	19.1650*	1.27131	.000	15.2982	23.0318
	1500	14.1600*	1.27131	.000	10.2932	18.0268
	5000	-17.9250*	1.27131	.000	-21.7918	-14.0582
5000	100	53.4058*	1.27131	.000	49.5390	57.2726

	250	44.1667*	1.27131	.000	40.2999	48.0335
	1000	37.0900*	1.27131	.000	33.2232	40.9568
	1500	32.0850*	1.27131	.000	28.2182	35.9518
	2500	17.9250*	1.27131	.000	14.0582	21.7918
Game s- Howel l	250	-9.2392*	1.09634	.001	-13.4320	-5.0463
	1000	-16.3158*	.93971	.000	-19.8065	-12.8252
	1500	-21.3208*	.68048	.000	-23.7017	-18.9400
	2500	-35.4808*	1.45936	.000	-41.3035	-29.6581
	5000	-53.4058*	.95960	.000	-56.9852	-49.8265
250	100	9.2392*	1.09634	.001	5.0463	13.4320
	1000	-7.0767*	1.30768	.003	-11.6506	-2.5027
	1500	-12.0817*	1.13579	.000	-16.2981	-7.8652
	2500	-26.2417*	1.71951	.000	-32.3340	-20.1493
	5000	-44.1667*	1.32205	.000	-48.7826	-39.5507
1000	100	16.3158*	.93971	.000	12.8252	19.8065
	250	7.0767*	1.30768	.003	2.5027	11.6506
	1500	-5.0050*	.98546	.007	-8.5598	-1.4502
	2500	-19.1650*	1.62413	.000	-25.0671	-13.2629
	5000	-37.0900*	1.19537	.000	-41.2425	-32.9375
1500	100	21.3208*	.68048	.000	18.9400	23.7017
	250	12.0817*	1.13579	.000	7.8652	16.2981
	1000	5.0050*	.98546	.007	1.4502	8.5598
	2500	-14.1600*	1.48923	.000	-19.9635	-8.3565
	5000	-32.0850*	1.00444	.000	-35.7222	-28.4478
2500	100	35.4808*	1.45936	.000	29.6581	41.3035
	250	26.2417*	1.71951	.000	20.1493	32.3340
	1000	19.1650*	1.62413	.000	13.2629	25.0671
	1500	14.1600*	1.48923	.000	8.3565	19.9635
	5000	-17.9250*	1.63572	.000	-23.8460	-12.0040
5000	100	53.4058*	.95960	.000	49.8265	56.9852
	250	44.1667*	1.32205	.000	39.5507	48.7826
	1000	37.0900*	1.19537	.000	32.9375	41.2425
	1500	32.0850*	1.00444	.000	28.4478	35.7222
	2500	17.9250*	1.63572	.000	12.0040	23.8460

B 8. 5 subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
Tukey 100	6	2.8392					
HSDa,b 250	6		12.0783				
1000	6			19.1550			
1500	6				24.1600		
2500	6					38.3200	
5000	6						56.2450
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

B.9 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de ibuprofeno

B 9.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1992.996	5	398.599	10.286	.000
Within Groups	1162.594	30	38.753		
Total	3155.590	35			

B 9.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
2.858	5	30	.032

B 9.3 Prueba de Kolmogorona muestra

a. Calculated from data.

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.8650
	Std. Deviation	9.49525
Most Extreme	Absolute	.116
Differences	Positive	.116
	Negative	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.696
Asymp. Sig. (2-tailed)		.717

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B 9. 4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
(I) Concentración	(J) Concentración				Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	100	250	-4.1650	3.59412	.852	-15.0969	6.7669
		1000	-10.8250	3.59412	.053	-21.7569	.1069
		1500	-14.5750*	3.59412	.004	-25.5069	-3.6431
		2500	-17.9150*	3.59412	.000	-28.8469	-6.9831
		5000	-21.2500*	3.59412	.000	-32.1819	-10.3181
250	100	100	4.1650	3.59412	.852	-6.7669	15.0969
		1000	-6.6600	3.59412	.449	-17.5919	4.2719
		1500	-10.4100	3.59412	.069	-21.3419	.5219
		2500	-13.7500*	3.59412	.007	-24.6819	-2.8181
		5000	-17.0850*	3.59412	.001	-28.0169	-6.1531
1000	100	100	10.8250	3.59412	.053	-.1069	21.7569
		250	6.6600	3.59412	.449	-4.2719	17.5919
		1500	-3.7500	3.59412	.899	-14.6819	7.1819
		2500	-7.0900	3.59412	.381	-18.0219	3.8419
		5000	-10.4250	3.59412	.068	-21.3569	.5069
1500	100	100	14.5750*	3.59412	.004	3.6431	25.5069
		250	10.4100	3.59412	.069	-.5219	21.3419
		1000	3.7500	3.59412	.899	-7.1819	14.6819
		2500	-3.3400	3.59412	.936	-14.2719	7.5919
		5000	-6.6750	3.59412	.447	-17.6069	4.2569
2500	100	100	17.9150*	3.59412	.000	6.9831	28.8469
		250	13.7500*	3.59412	.007	2.8181	24.6819
		1000	7.0900	3.59412	.381	-3.8419	18.0219
		1500	3.3400	3.59412	.936	-7.5919	14.2719
		5000	-3.3350	3.59412	.936	-14.2669	7.5969
5000	100	100	21.2500*	3.59412	.000	10.3181	32.1819

	250	17.0850*	3.59412	.001	6.1531	28.0169
	1000	10.4250	3.59412	.068	-.5069	21.3569
	1500	6.6750	3.59412	.447	-4.2569	17.6069
	2500	3.3350	3.59412	.936	-7.5969	14.2669
Games- 100 Howell	250	-4.1650	3.46919	.823	-18.3978	10.0678
	1000	-10.8250*	2.67515	.048	-21.5382	-.1118
	1500	-14.5750*	2.18283	.003	-23.0821	-6.0679
	2500	-17.9150*	3.23450	.013	-31.1121	-4.7179
	5000	-21.2500*	2.58849	.001	-31.5762	-10.9238
250	100	4.1650	3.46919	.823	-10.0678	18.3978
	1000	-6.6600	4.24369	.634	-21.6197	8.2997
	1500	-10.4100	3.95187	.191	-24.7517	3.9317
	2500	-13.7500	4.61676	.106	-29.8031	2.3031
	5000	-17.0850*	4.18961	.023	-31.9109	-2.2591
1000	100	10.8250*	2.67515	.048	.1118	21.5382
	250	6.6600	4.24369	.634	-8.2997	21.6197
	1500	-3.7500	3.27694	.852	-15.2464	7.7464
	2500	-7.0900	4.05408	.535	-21.2865	7.1065
	5000	-10.4250	3.56004	.114	-22.7934	1.9434
1500	100	14.5750*	2.18283	.003	6.0679	23.0821
	250	10.4100	3.95187	.191	-3.9317	24.7517
	1000	3.7500	3.27694	.852	-7.7464	15.2464
	2500	-3.3400	3.74752	.939	-16.7968	10.1168
	5000	-6.6750	3.20659	.368	-17.8924	4.5424
2500	100	17.9150*	3.23450	.013	4.7179	31.1121
	250	13.7500	4.61676	.106	-2.3031	29.8031
	1000	7.0900	4.05408	.535	-7.1065	21.2865
	1500	3.3400	3.74752	.939	-10.1168	16.7968
	5000	-3.3350	3.99743	.954	-17.3755	10.7055
5000	100	21.2500*	2.58849	.001	10.9238	31.5762
	250	17.0850*	4.18961	.023	2.2591	31.9109
	1000	10.4250	3.56004	.114	-1.9434	22.7934
	1500	6.6750	3.20659	.368	-4.5424	17.8924
	2500	3.3350	3.99743	.954	-10.7055	17.3755

B 9.5 Subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

Concentración	N	Subset		
		1	2	3
Tukey HSD ^{a,b} 100	6	15.4100		
250	6	19.5750	19.5750	
1000	6	26.2350	26.2350	26.2350
1500	6		29.9850	29.9850
2500	6			33.3250
5000	6			36.6600
Sig.		.053	.069	.068

B 10 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de β -estradiol

B 10.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1825.918	5	365.184	11.533	.000
Within Groups	823.249	26	31.663		
Total	2649.168	31			

B 10.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
7.240	5	26	.000

B 10.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		32
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	32.6466
	Std. Deviation	9.24430
Most Extreme Differences	Absolute	.162
	Positive	.087
	Negative	-.162
Kolmogorov-Smirnov Z		.914
Asymp. Sig. (2-tailed)		.374

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

B 10.4 Pruebas Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	-1.2500	3.24877	.999	-11.2317	8.7317
		1000	-7.2500	3.40733	.305	-17.7189	3.2189
		1500	-10.6250	3.63223	.069	-21.7849	.5349
		2500	-15.7520*	3.40733	.001	-26.2209	-5.2831
		5000	-20.0000*	3.24877	.000	-29.9817	-10.0183
	250	100	1.2500	3.24877	.999	-8.7317	11.2317
		1000	-6.0000	3.40733	.507	-16.4689	4.4689
		1500	-9.3750	3.63223	.138	-20.5349	1.7849
		2500	-14.5020*	3.40733	.003	-24.9709	-4.0331
		5000	-18.7500*	3.24877	.000	-28.7317	-8.7683
	1000	100	7.2500	3.40733	.305	-3.2189	17.7189
		250	6.0000	3.40733	.507	-4.4689	16.4689
		1500	-3.3750	3.77472	.945	-14.9727	8.2227
		2500	-8.5020	3.55884	.197	-19.4364	2.4324
		5000	-12.7500*	3.40733	.011	-23.2189	-2.2811
	1500	100	10.6250	3.63223	.069	-.5349	21.7849
		250	9.3750	3.63223	.138	-1.7849	20.5349
		1000	3.3750	3.77472	.945	-8.2227	14.9727
		2500	-5.1270	3.77472	.750	-16.7247	6.4707
		5000	-9.3750	3.63223	.138	-20.5349	1.7849
	2500	100	15.7520*	3.40733	.001	5.2831	26.2209
		250	14.5020*	3.40733	.003	4.0331	24.9709
		1000	8.5020	3.55884	.197	-2.4324	19.4364
		1500	5.1270	3.77472	.750	-6.4707	16.7247
		5000	-4.2480	3.40733	.810	-14.7169	6.2209
	5000	100	20.0000*	3.24877	.000	10.0183	29.9817

	250	18.7500*	3.24877	.000	8.7683	28.7317	
	1000	12.7500*	3.40733	.011	2.2811	23.2189	
	1500	9.3750	3.63223	.138	-1.7849	20.5349	
	2500	4.2480	3.40733	.810	-6.2209	14.7169	
Games- Howell	100	250	-1.2500	4.68678	1.000	-20.6470	18.1470
		1000	-7.2500	5.14968	.723	-26.5465	12.0465
		1500	-10.6250	4.75138	.346	-29.9325	8.6825
		2500	-15.7520	4.62463	.109	-35.2920	3.7880
		5000	-20.0000*	4.72105	.044	-39.3336	-.6664
250	100	100	1.2500	4.68678	1.000	-18.1470	20.6470
		1000	-6.0000	2.49132	.297	-16.4379	4.4379
		1500	-9.3750*	1.50438	.005	-15.2922	-3.4578
		2500	-14.5020*	1.03667	.000	-18.3414	-10.6626
		5000	-18.7500*	1.40565	.000	-23.6586	-13.8414
1000	100	100	7.2500	5.14968	.723	-12.0465	26.5465
		250	6.0000	2.49132	.297	-4.4379	16.4379
		1500	-3.3750	2.61084	.781	-13.8494	7.0994
		2500	-8.5020	2.37235	.109	-19.2588	2.2548
		5000	-12.7500*	2.55523	.020	-23.1167	-2.3833
1500	100	100	10.6250	4.75138	.346	-8.6825	29.9325
		250	9.3750*	1.50438	.005	3.4578	15.2922
		1000	3.3750	2.61084	.781	-7.0994	13.8494
		2500	-5.1270	1.29787	.089	-11.2532	.9992
		5000	-9.3750*	1.60800	.005	-15.4625	-3.2875
2500	100	100	15.7520	4.62463	.109	-3.7880	35.2920
		250	14.5020*	1.03667	.000	10.6626	18.3414
		1000	8.5020	2.37235	.109	-2.2548	19.2588
		1500	5.1270	1.29787	.089	-.9992	11.2532
		5000	-4.2480	1.18203	.063	-8.7302	.2342
5000	100	100	20.0000*	4.72105	.044	.6664	39.3336
		250	18.7500*	1.40565	.000	13.8414	23.6586
		1000	12.7500*	2.55523	.020	2.3833	23.1167
		1500	9.3750*	1.60800	.005	3.2875	15.4625
		2500	4.2480	1.18203	.063	-.2342	8.7302

B 10.5 subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

	Concentración	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b,c}	100	6	23.7400		
	250	6	24.9900		
	1000	5	30.9900	30.9900	
	1500	4	34.3650	34.3650	34.3650
	2500	5		39.4920	39.4920
	5000	6			43.7400
	Sig.		.053	.179	.111

B 11 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia de carbamazepina

B 11.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17038.471	5	3407.694	468.984	.000
Within Groups	130.790	18	7.266		
Total	17169.261	23			

B 11.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
3.338	5	18	.026

B 11.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	42.7025
	Std. Deviation	27.32196
Most Extreme Differences	Absolute	.340
	Positive	.340
	Negative	-.164
Kolmogorov-Smirnov Z		1.663
Asymp. Sig. (2-tailed)		.008

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B 11. 4 Prueba Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	1.1325	1.90606	.990	-4.9250	7.1900
		1000	-10.6200*	1.90606	.000	-16.6775	-4.5625
		1500	-16.1950*	1.90606	.000	-22.2525	-10.1375
		2500	-18.0700*	1.90606	.000	-24.1275	-12.0125
		5000	-77.5075*	1.90606	.000	-83.5650	-71.4500
	250	100	-1.1325	1.90606	.990	-7.1900	4.9250
		1000	-11.7525*	1.90606	.000	-17.8100	-5.6950
		1500	-17.3275*	1.90606	.000	-23.3850	-11.2700
		2500	-19.2025*	1.90606	.000	-25.2600	-13.1450
		5000	-78.6400*	1.90606	.000	-84.6975	-72.5825
	1000	100	10.6200*	1.90606	.000	4.5625	16.6775
		250	11.7525*	1.90606	.000	5.6950	17.8100
		1500	-5.5750	1.90606	.082	-11.6325	.4825
		2500	-7.4500*	1.90606	.011	-13.5075	-1.3925
		5000	-66.8875*	1.90606	.000	-72.9450	-60.8300
	1500	100	16.1950*	1.90606	.000	10.1375	22.2525
		250	17.3275*	1.90606	.000	11.2700	23.3850
		1000	5.5750	1.90606	.082	-.4825	11.6325
		2500	-1.8750	1.90606	.917	-7.9325	4.1825
		5000	-61.3125*	1.90606	.000	-67.3700	-55.2550
2500	100	18.0700*	1.90606	.000	12.0125	24.1275	
	250	19.2025*	1.90606	.000	13.1450	25.2600	
	1000	7.4500*	1.90606	.011	1.3925	13.5075	
	1500	1.8750	1.90606	.917	-4.1825	7.9325	
	5000	-59.4375*	1.90606	.000	-65.4950	-53.3800	
5000	100	77.5075*	1.90606	.000	71.4500	83.5650	
	250	78.6400*	1.90606	.000	72.5825	84.6975	

	1000	66.8875*	1.90606	.000	60.8300	72.9450	
	1500	61.3125*	1.90606	.000	55.2550	67.3700	
	2500	59.4375*	1.90606	.000	53.3800	65.4950	
Games- Howell	100	250	1.1325	2.77562	.997	-13.4647	15.7297
		1000	-10.6200	2.76737	.122	-25.2805	4.0405
		1500	-16.1950*	3.12261	.025	-29.7102	-2.6798
		2500	-18.0700*	2.75656	.028	-32.8176	-3.3224
		5000	-77.5075*	2.69645	.000	-92.8316	-62.1834
250	100	100	-1.1325	2.77562	.997	-15.7297	13.4647
		1000	-11.7525*	.90593	.000	-15.3618	-8.1432
		1500	-17.3275*	1.70677	.003	-25.4029	-9.2521
		2500	-19.2025*	.87233	.000	-22.6973	-15.7077
		5000	-78.6400*	.65818	.000	-82.3805	-74.8995
1000	100	100	10.6200	2.76737	.122	-4.0405	25.2805
		250	11.7525*	.90593	.000	8.1432	15.3618
		1500	-5.5750	1.69333	.155	-13.6986	2.5486
		2500	-7.4500*	.84573	.001	-10.8240	-4.0760
		5000	-66.8875*	.62250	.000	-70.4252	-63.3498
1500	100	100	16.1950*	3.12261	.025	2.6798	29.7102
		250	17.3275*	1.70677	.003	9.2521	25.4029
		1000	5.5750	1.69333	.155	-2.5486	13.6986
		2500	-1.8750	1.67559	.853	-10.0734	6.3234
		5000	-61.3125*	1.57476	.000	-70.2620	-52.3630
2500	100	100	18.0700*	2.75656	.028	3.3224	32.8176
		250	19.2025*	.87233	.000	15.7077	22.6973
		1000	7.4500*	.84573	.001	4.0760	10.8240
		1500	1.8750	1.67559	.853	-6.3234	10.0734
		5000	-59.4375*	.57250	.000	-62.6911	-56.1839
5000	100	100	77.5075*	2.69645	.000	62.1834	92.8316
		250	78.6400*	.65818	.000	74.8995	82.3805
		1000	66.8875*	.62250	.000	63.3498	70.4252
		1500	61.3125*	1.57476	.000	52.3630	70.2620
		2500	59.4375*	.57250	.000	56.1839	62.6911

B 11.5 subconjuntos homogéneos

Porcentaje de inhibición

	Concentración	N	Subset			
			1	2	3	4
Tukey HSD ^{a,b}	250	4	21.3600			
	100	4	22.4925			
	1000	4		33.1125		
	1500	4		38.6875	38.6875	
	2500	4			40.5625	
	5000	4				100.0000
	Sig.		.990	.082	.917	1.000

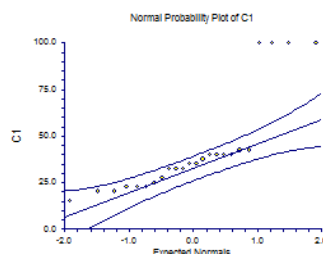
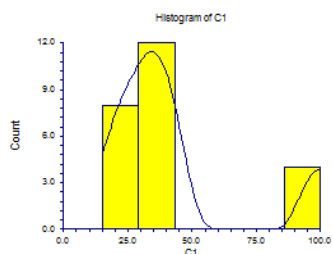
B 11.6 Prueba D'Agostino Kurtosis

D'Agostino Kurtosis	1.2587	0.208146	1.645	1.960	Can't reject normality
D'Agostino Omnibus	10.3525	0.005649	4.605	5.991	Reject normality

Descriptive Statistics Report

Page/Date/Time 2 25/11/2020 12:20:57 p.m.
Database

Plots Section of C1



B 12 Análisis estadístico del porcentaje de inhibición a las 24 h de cultivo en presencia Ofloxacino

B 12.1 ANOVA

Porcentaje de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5507.771	5	1101.554	172.154	.000
Within Groups	191.960	30	6.399		
Total	5699.731	35			

B 12.2 Prueba de Levene's de igualdad de varianzas

Porcentaje de inhibición

F	df1	df2	Sig.
3.083	5	30	.023

B 12.3 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Porcentaje de inhibición
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	25.2700
	Std. Deviation	12.76125
Most Extreme Differences	Absolute	.253
	Positive	.253
	Negative	-.116
Kolmogorov-Smirnov Z		1.516
Asymp. Sig. (2-tailed)		.020

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B 12.4 Prueba Post Hoc

Comparación múltiple

Porcentaje de inhibición

	(I) Concentración	(J) Concentración	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	100	250	-4.5950*	1.46044	.039	-9.0371	-.1529
		1000	-8.7600*	1.46044	.000	-13.2021	-4.3179
		1500	-10.4300*	1.46044	.000	-14.8721	-5.9879
		2500	-20.4200*	1.46044	.000	-24.8621	-15.9779
		5000	-37.5150*	1.46044	.000	-41.9571	-33.0729
	250	100	4.5950*	1.46044	.039	.1529	9.0371
		1000	-4.1650	1.46044	.076	-8.6071	.2771
		1500	-5.8350*	1.46044	.005	-10.2771	-1.3929
		2500	-15.8250*	1.46044	.000	-20.2671	-11.3829
		5000	-32.9200*	1.46044	.000	-37.3621	-28.4779
	1000	100	8.7600*	1.46044	.000	4.3179	13.2021
		250	4.1650	1.46044	.076	-.2771	8.6071
		1500	-1.6700	1.46044	.859	-6.1121	2.7721
		2500	-11.6600*	1.46044	.000	-16.1021	-7.2179
		5000	-28.7550*	1.46044	.000	-33.1971	-24.3129
	1500	100	10.4300*	1.46044	.000	5.9879	14.8721
		250	5.8350*	1.46044	.005	1.3929	10.2771
		1000	1.6700	1.46044	.859	-2.7721	6.1121
		2500	-9.9900*	1.46044	.000	-14.4321	-5.5479
		5000	-27.0850*	1.46044	.000	-31.5271	-22.6429
2500	100	20.4200*	1.46044	.000	15.9779	24.8621	
	250	15.8250*	1.46044	.000	11.3829	20.2671	
	1000	11.6600*	1.46044	.000	7.2179	16.1021	
	1500	9.9900*	1.46044	.000	5.5479	14.4321	
	5000	-17.0950*	1.46044	.000	-21.5371	-12.6529	
5000	100	37.5150*	1.46044	.000	33.0729	41.9571	
	250	32.9200*	1.46044	.000	28.4779	37.3621	

	1000	28.7550*	1.46044	.000	24.3129	33.1971
	1500	27.0850*	1.46044	.000	22.6429	31.5271
	2500	17.0950*	1.46044	.000	12.6529	21.5371
Games- 100 Howell	250	-4.5950*	.99945	.014	-8.2105	-.9795
	1000	-8.7600*	1.13444	.001	-12.9704	-4.5496
	1500	-10.4300*	.67228	.000	-12.7878	-8.0722
	2500	-20.4200*	1.71958	.000	-27.2570	-13.5830
	5000	-37.5150*	1.34392	.000	-42.6647	-32.3653
250	100	4.5950*	.99945	.014	.9795	8.2105
	1000	-4.1650	1.31710	.082	-8.7652	.4352
	1500	-5.8350*	.94855	.003	-9.3863	-2.2837
	2500	-15.8250*	1.84520	.000	-22.6787	-8.9713
	5000	-32.9200*	1.50130	.000	-38.2714	-27.5686
1000	100	8.7600*	1.13444	.001	4.5496	12.9704
	250	4.1650	1.31710	.082	-.4352	8.7652
	1500	-1.6700	1.08986	.659	-5.8559	2.5159
	2500	-11.6600*	1.92167	.002	-18.6166	-4.7034
	5000	-28.7550*	1.59435	.000	-34.3395	-23.1705
1500	100	10.4300*	.67228	.000	8.0722	12.7878
	250	5.8350*	.94855	.003	2.2837	9.3863
	1000	1.6700	1.08986	.659	-2.5159	5.8559
	2500	-9.9900*	1.69050	.009	-16.8612	-3.1188
	5000	-27.0850*	1.30651	.000	-32.2448	-21.9252
2500	100	20.4200*	1.71958	.000	13.5830	27.2570
	250	15.8250*	1.84520	.000	8.9713	22.6787
	1000	11.6600*	1.92167	.002	4.7034	18.6166
	1500	9.9900*	1.69050	.009	3.1188	16.8612
	5000	-17.0950*	2.05231	.000	-24.3316	-9.8584
5000	100	37.5150*	1.34392	.000	32.3653	42.6647
	250	32.9200*	1.50130	.000	27.5686	38.2714
	1000	28.7550*	1.59435	.000	23.1705	34.3395
	1500	27.0850*	1.30651	.000	21.9252	32.2448
	2500	17.0950*	2.05231	.000	9.8584	24.3316

B 12.5 Subconjuntos homogéneos Porcentaje de inhibición
Porcentaje de inhibición

N	Subset				
	1	2	3	4	5
6	11.6500				
6		16.2450			
6		20.4100	20.4100		
6			22.0800		
6				32.0700	
6					49.1650
	1.000	.076	.859	1.000	1.000

B 12.6 Prueba D'Agostino Kurtosis

D'Agostino Skewness	2.367974	1.788582E-02	1.645	1.960	Reject normality
D'Agostino Kurtosis	-0.0325	0.974091	1.645	1.960	Can't reject normality
D'Agostino Omnibus	5.6084	0.060557	4.605	5.991	Can't reject normality

Descriptive Statistics Report

Page/Date/Time 2 25/11/2020 12:18:20 p.m.
Database

Plots Section of C1

