

PROYECTO PAPIME PE208418

SEGUNDO AÑO

FES CUAUTILÁN

PRODUCTO: PRESENTACIÓN ORAL EN CONGRESO NACIONAL DE QUÍMICA  
ANALÍTICA



UASLP



AMQA

ASOCIACIÓN MEXICANA DE QUÍMICA ANALÍTICA A.C.

Clave AMQA:Amb006



La **Universidad Autónoma de San Luis Potosí** a través de la Facultad de Ciencias Químicas y la Asociación Mexicana de Química Analítica A.C., otorgan el presente

# CONSTANCIA

A

**José de Jesús Olmos Espejel, Teresa Lizeth Ávila Flores, Óscar Enrique Mónica García, Irán Ocaña Ríos, Araceli Peña Álvarez**

por la presentación del trabajo en modalidad oral:

**“MONITOREO DE LA DEGRADACIÓN DE FILTROS UV POR MICROALGAS VERDES E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS MEDIANTE CLAR-UV Y CG-EM”**

Lo anterior en el marco de las actividades del **XXXII Congreso Nacional de Química Analítica** celebrado del 10 al 14 de junio del 2019 en el Auditorio Rafael Nieto y Patio de la Autonomía de la UASLP.

San Luis Potosí, S.L.P., a 14 de junio 2019.

*“Siempre Autónoma. Por mi Patria Educaré”*



**XXXII Congreso Nacional de Química Analítica**

**XXII Simposio Estudiantil**

Del 10 al 14 de junio del 2019

Sede: Universidad Autónoma de San Luis Potosí

# **MONITOREO DE LA DEGRADACIÓN DE FILTROS UV POR MICROALGAS VERDES E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS MEDIANTE CLAR-UV Y CG-EM**

José de Jesús Olmos Espejel<sup>(1)\*</sup>, Teresa Lizeth Ávila Flores<sup>(1)</sup>,  
Óscar Enrique Mogica García<sup>(1)</sup>, Irán Ocaña Ríos<sup>(2)</sup>, Araceli  
Peña Álvarez<sup>(2)</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

<sup>2</sup>Facultad de Química, UNAM

## **Contenido de la presentación:**

**1. Introducción**

**2. Objetivos**

**3. Experimentación y resultados**

**4. Conclusiones**

# Introducción

# Contaminantes Emergentes

Los contaminantes emergentes son sustancias que no están reguladas y se descargan continuamente al ambiente debido a las actividades cotidianas e industriales.

Dentro de estos contaminantes se encuentran los filtros UV (FUV) que son sustancias orgánicas que absorben la radiación solar peligrosa y se utilizan comúnmente para prevenir el cáncer en la piel por lo que su uso se ha incrementado en productos de cuidado personal como cremas, shampoos, perfumes, así como diferentes materiales como plásticos y pinturas.



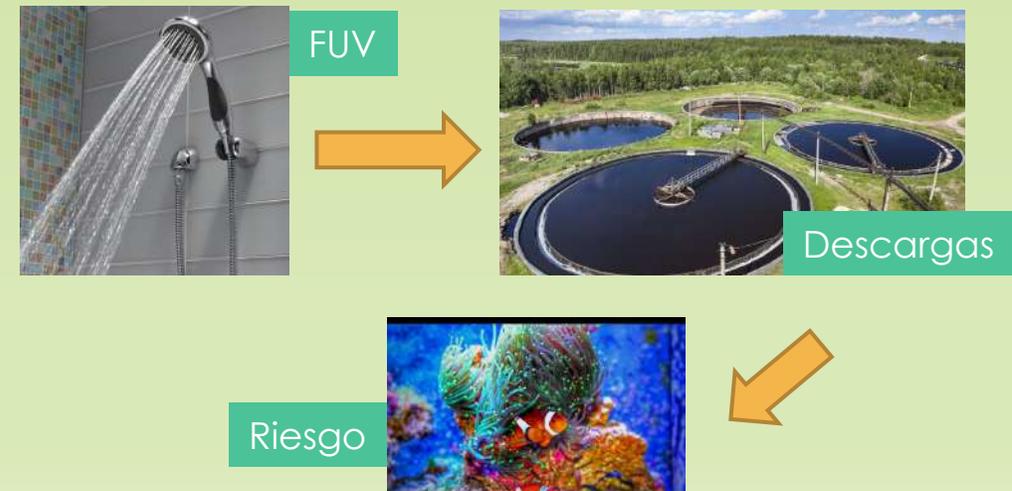
# Efectos de los FUV

Los FUV presentan actividad estrogénica, pueden representar un riesgo de bioacumulación en los organismos expuestos y potenciar la absorción de otros compuestos tóxicos presentes en insecticidas o repelentes de insectos.

Debido a sus descargas continuas en cuerpos de agua, los FUV son considerados contaminantes pseudopersistentes y se sabe que no pueden ser eliminados totalmente en su paso por las plantas de tratamiento de aguas residuales.



Coral Normal y Expuesto a Oxibenzona 96 h a niveles de ppb



R.J. Witorsch, J.A. Thomas, Personal care products and endocrine disruption: A critical review of the literature, *Critical Reviews in Toxicology*. 40 (2010) 1–30.

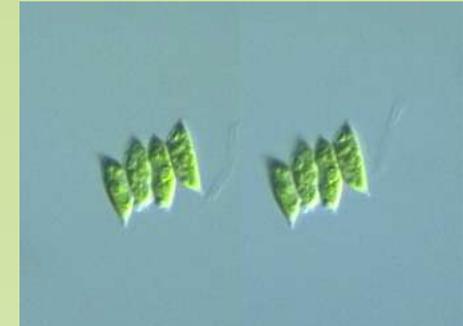
W.W. Buchberger, Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment, *Journal of Chromatography A*. 1218, 603-618 (2011).

# Remoción de contaminantes emergentes mediante procesos biológicos de degradación

La degradación mediante microorganismos es considerada el mecanismo de remoción más importante en el ambiente.

Las microalgas han sido utilizadas para la remoción de diferentes contaminantes orgánicos obteniendo buenos rendimientos.

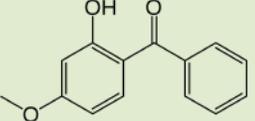
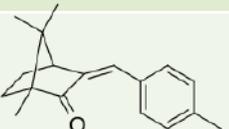
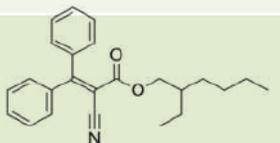
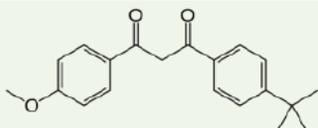
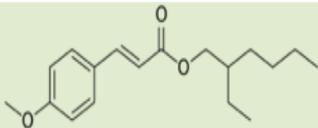
Sin embargo, se considera que los productos de la degradación (metabolitos) suelen ser más peligrosos que los precursores debido al aumento de su disponibilidad en el ambiente.



*Scenedesmus acutus*



# Analitos en estudio

Nombre	Estructura	Peso molecular (g mol <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub>	Solubilidad en agua (mg L <sup>-1</sup> )
Oxibenzona		228.24	3.64	3.70
4-MBC		254.37	4.95	1.30
Octocrileno		361.48	7.53	1.30
Avobenzona		310.39	4.51	1.0
2-EHMC		290.40	5.66	0.15

# Objetivos

- Desarrollar y validar una metodología que permita el análisis de los FUV oxibenzona (OXI), 4-metilenbenciliden alcanfor (MBC), octocrileno (OCT), avobenzona (AVO) y 2-etilhexil-metoxicinamato (EHMC) presentes en el medio de cultivo y en la biomasa de cultivos de la microalga *Scenedesmus acutus* expuestos, utilizando como técnicas de preparación de muestra la EFS y DMFS, respectivamente, además de realizar el análisis por cromatografía de líquidos con detección UV (CLAR-UV).
- Realizar la identificación de los metabolitos producidos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

# Experimentación y Resultados

**Tabla 1. Condiciones cromatográficas**

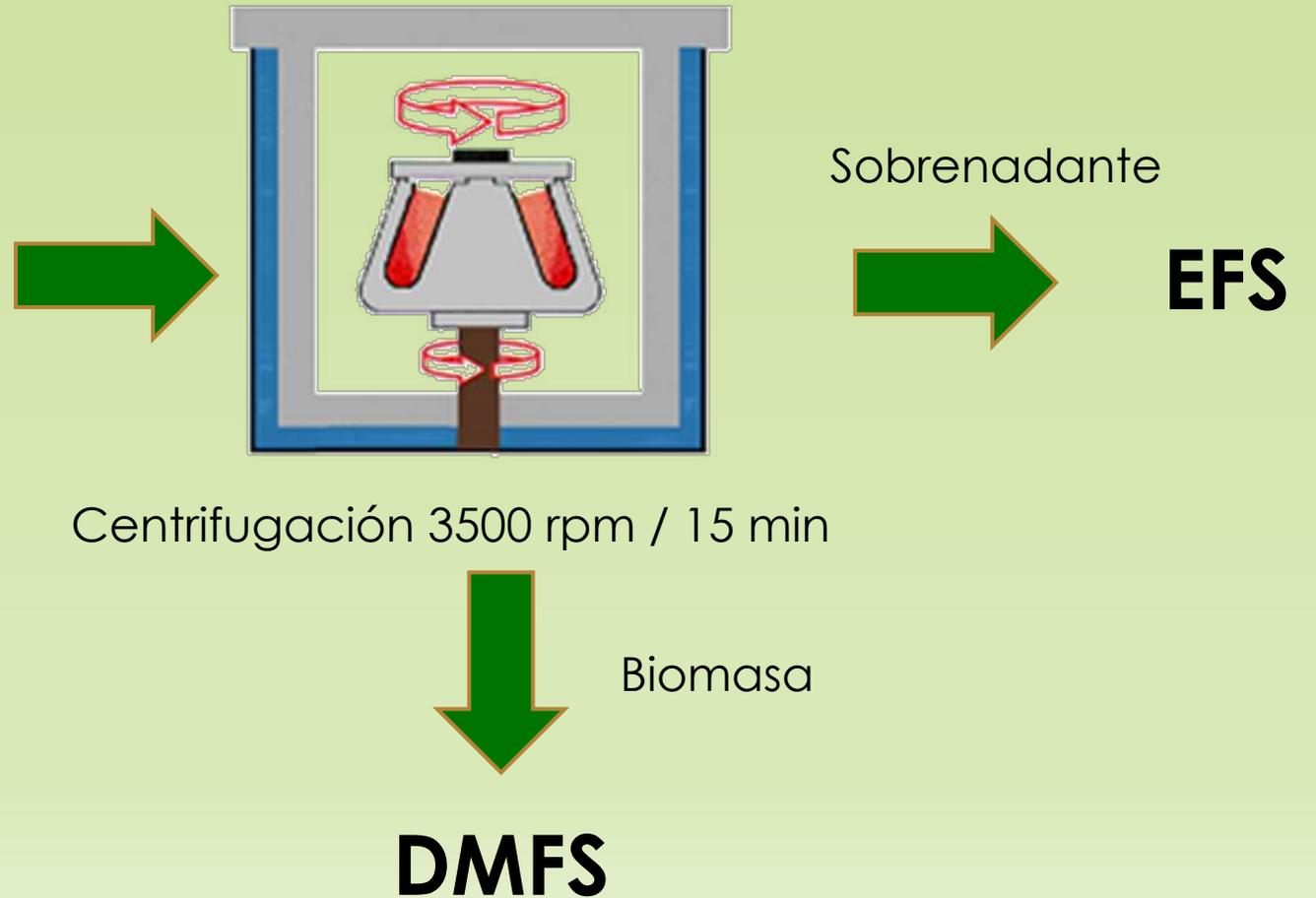
<b>Columna</b>	Tipo: ZORBAX SB C18 Tamaño de partícula: 5 $\mu\text{m}$ Dimensiones: 4.6 x 250 mm
<b>Detección</b>	Tipo: UV Longitudes de onda: 290, 310 y 360 nm
<b>Fase móvil</b>	MeOH/ H <sub>2</sub> O 85:15 v/v
<b>Tiempo de análisis</b>	20 min
<b>Velocidad del flujo</b>	1 mL min <sup>-1</sup>

# Obtención de la muestra

Cultivo de *Scenedesmus acutus*



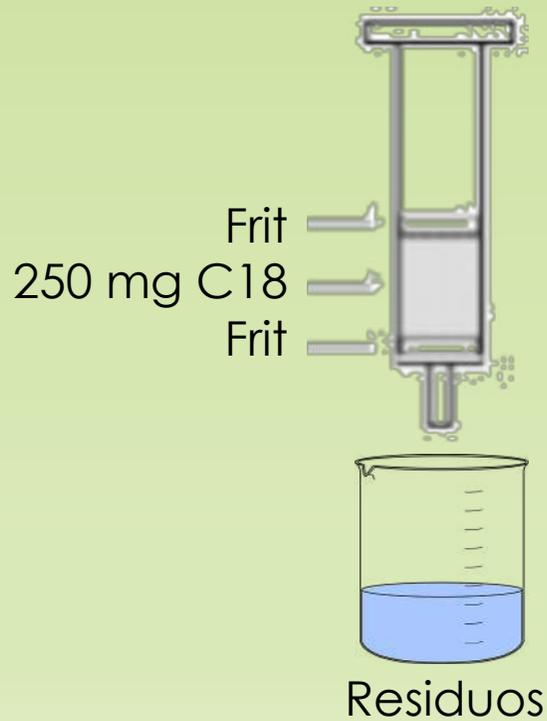
Absorbancia 1.0 a 683 nm



# Extracción en Fase Sólida

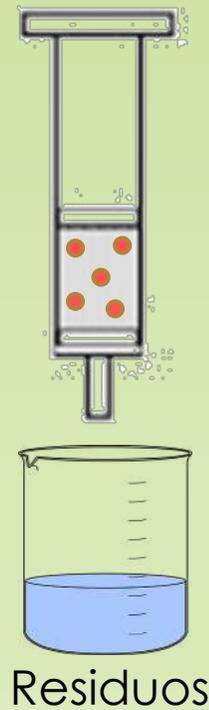
## I) Acondicionamiento

- 5 mL MeOH
- 5 mL H<sub>2</sub>O



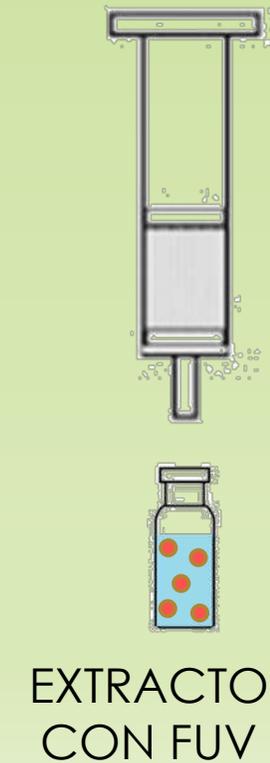
## II) Carga

- 50 mL sobrenadante
- Secado al vacío

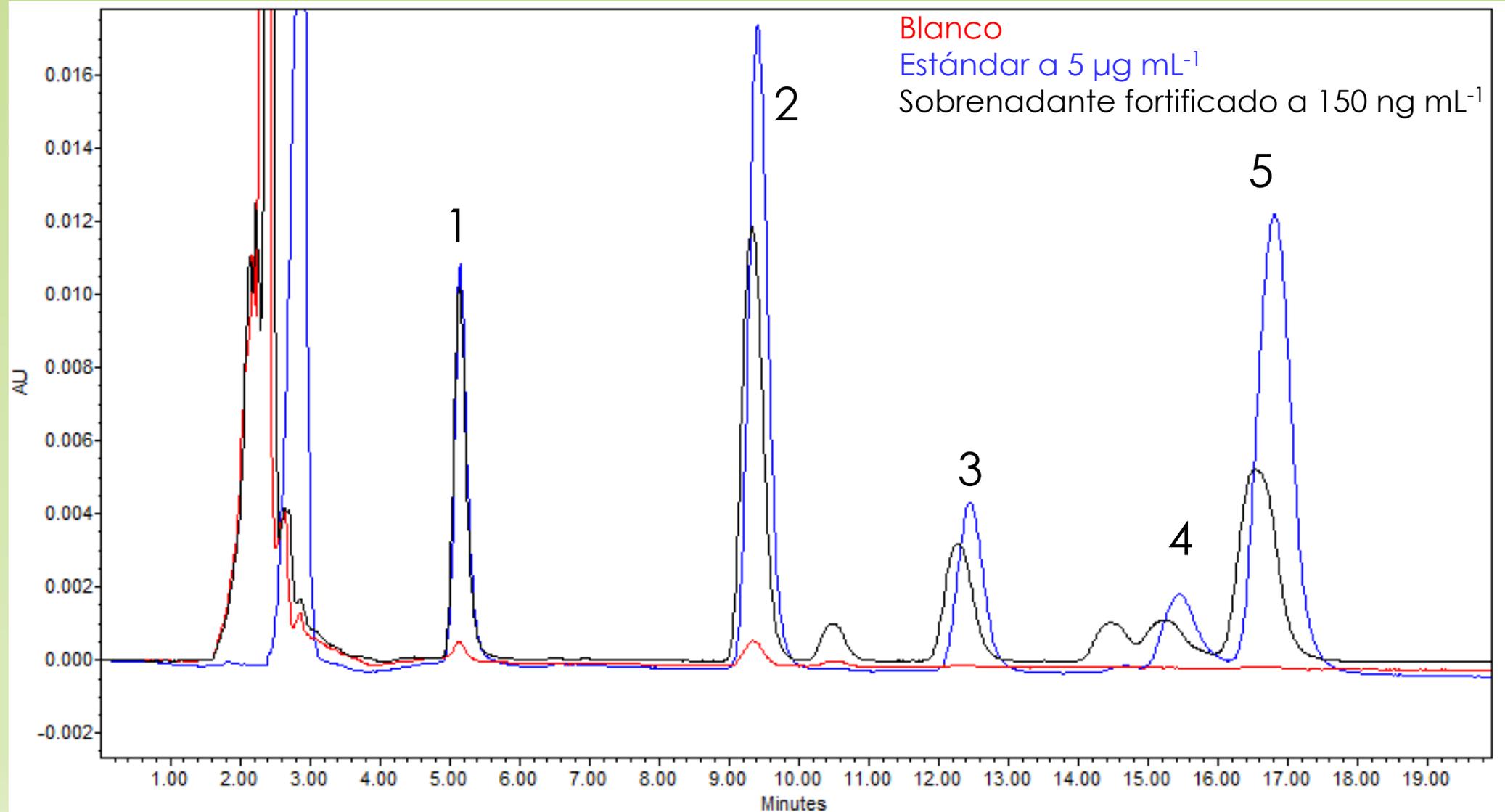


## III) Elución

- 2.0 mL MeCN



# Cromatogramas obtenidos con los extractos de EFS



1 = oxibenzona, 2 = 4-MBC, 3 = octocrileno, 4 = Avobenzona y 5 = 2-EHMC

# Validación del método por EFS

Parámetro	Analito				
	OXI	MBC	OCT	AVO	EHMC
Linealidad ( $r^2$ ) <sup>a)</sup>	0.9994	0.9990	0.9926	0.9902	0.9963
Recobro % <sup>a)</sup>	94 ( $\pm 4$ )	79 ( $\pm 4$ )	94 ( $\pm 15$ )	85 ( $\pm 16$ )	82 ( $\pm 12$ )
Precisión (repetibilidad) 200 ng mL <sup>-1</sup> (CV% n=6)	8	15	9	13	19
LD (S/N=3) (ng mL <sup>-1</sup> )	10	12	10	9	11
LC (S/N=10) (ng mL <sup>-1</sup> )	33	36	33	28	35

a) Evaluado en el intervalo de 80 a 1200 ng mL<sup>-1</sup>.

# Dispersión de matriz en fase sólida – asistida por vórtex 17

## I) Homogeneización

15 mg biomasa  
+  
100 mg C18



## II) Adición de eluyente



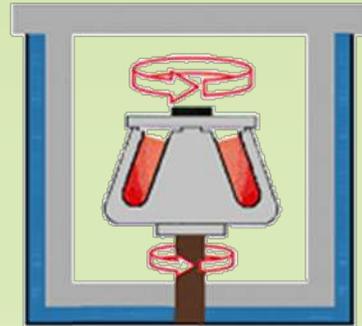
1.5 mL  
MeOH/ H<sub>2</sub>O  
80:20 v/v

## III) Agitación en vórtex



2 min

## IV) Centrifugación



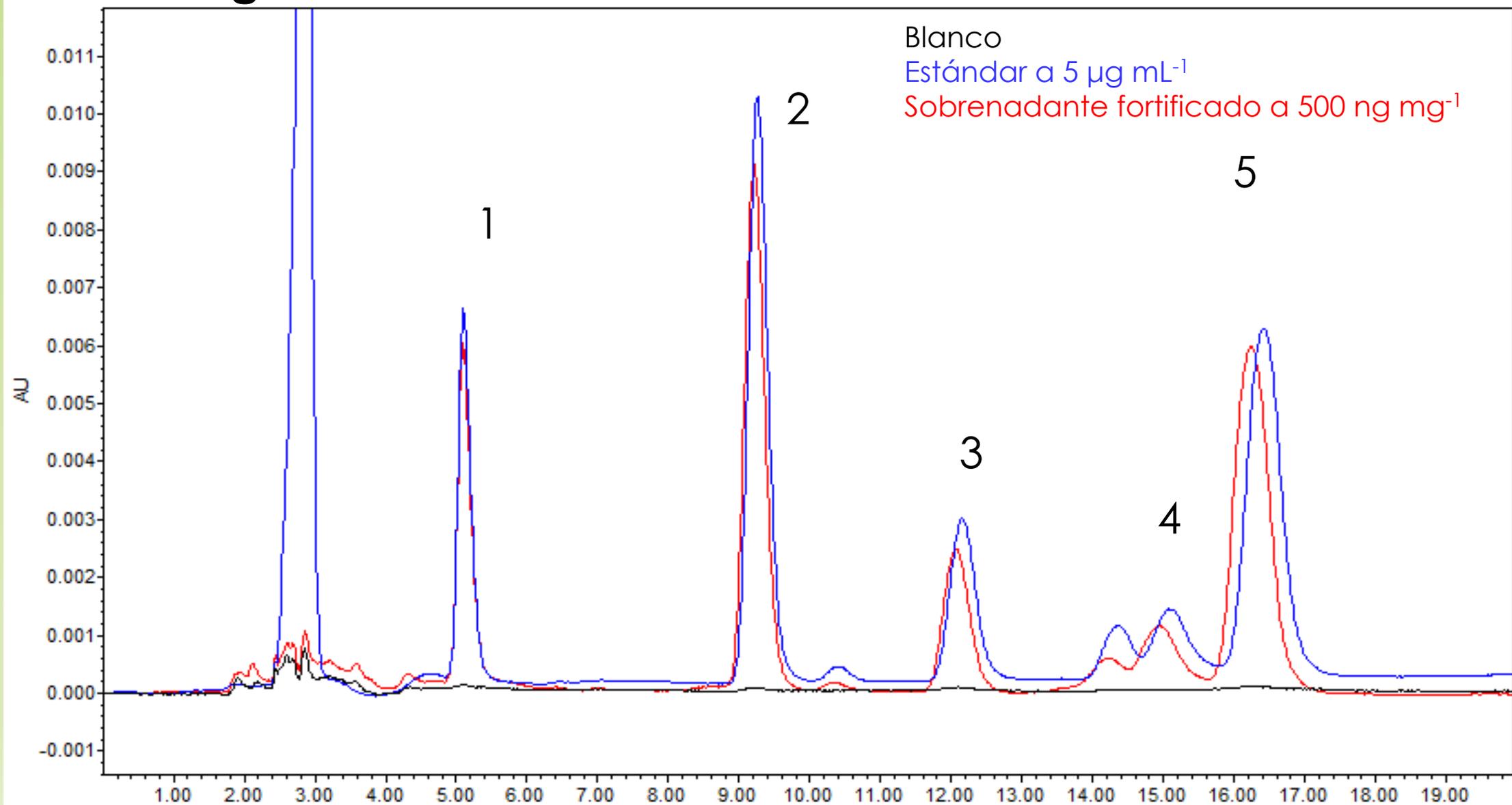
3500 rpm / 15 min

## V) Filtración



EXTRACTO  
CON FUV

# Cromatogramas obtenidos con los extractos de DMFS-AV



1 = oxibenzona, 2 = 4-MBC, 3 = octocrileno, 4 = Avobenzona y 5 = 2-EHMC

# Validación del método por DMFS-VA

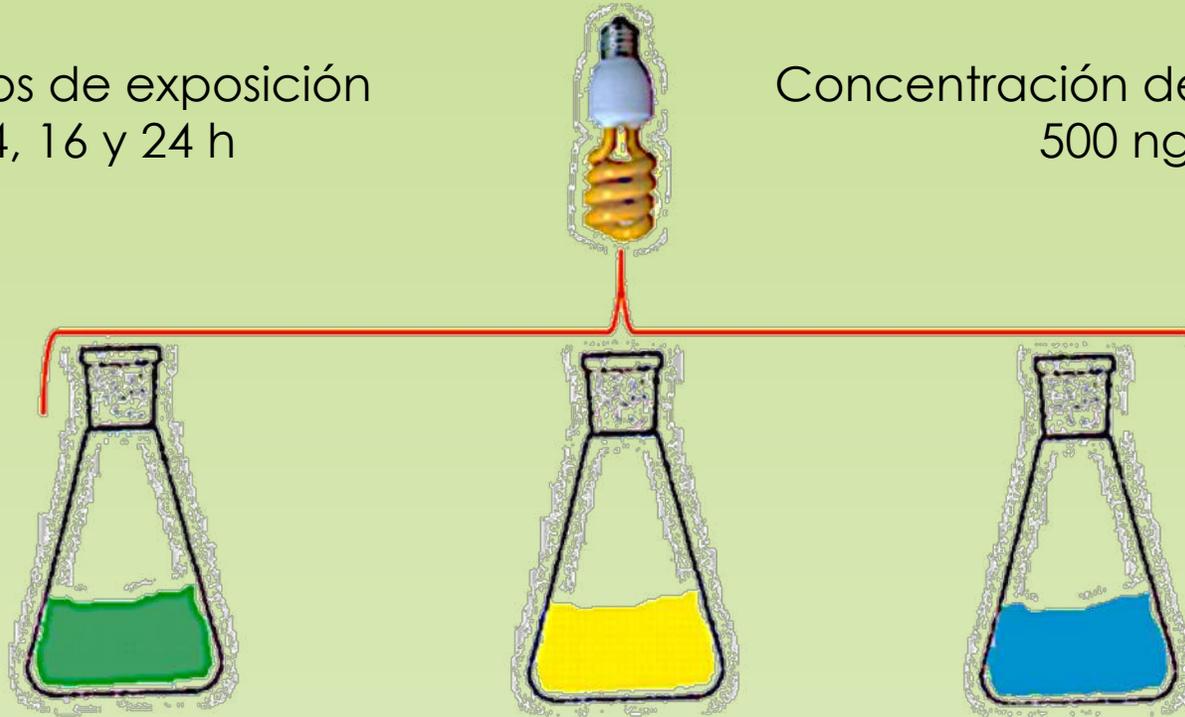
Parámetro	Analito				
	OXI	MBC	OCT	AVO	EHMC
Linealidad ( $r^2$ ) <sup>a)</sup>	0.9987	0.9983	0.9990	0.9982	0.9887
Recobro % <sup>a)</sup>	80 ( $\pm 5$ )	77 ( $\pm 6$ )	79 ( $\pm 5$ )	73 ( $\pm 6$ )	77 ( $\pm 5$ )
Precisión (repetibilidad) 17 ng mg <sup>-1</sup> (CV% n=6)	3	3	1	3	2
LD (S/N=3) (ng mg <sup>-1</sup> )	0.5	0.7	0.9	0.6	0.9
LC (S/N=10) (ng mg <sup>-1</sup> )	1.7	2.3	3.0	2.0	3.0

a) Evaluado en el intervalo de 7 a 33 ng mg<sup>-1</sup>

# Ensayos de exposición de cultivos a Oxibenzona

Tiempos de exposición  
4, 16 y 24 h

Concentración de contaminante:  
500 ng mL<sup>-1</sup>



## Muestra expuesta

50 mL medio +  
microalgas +  
contaminantes

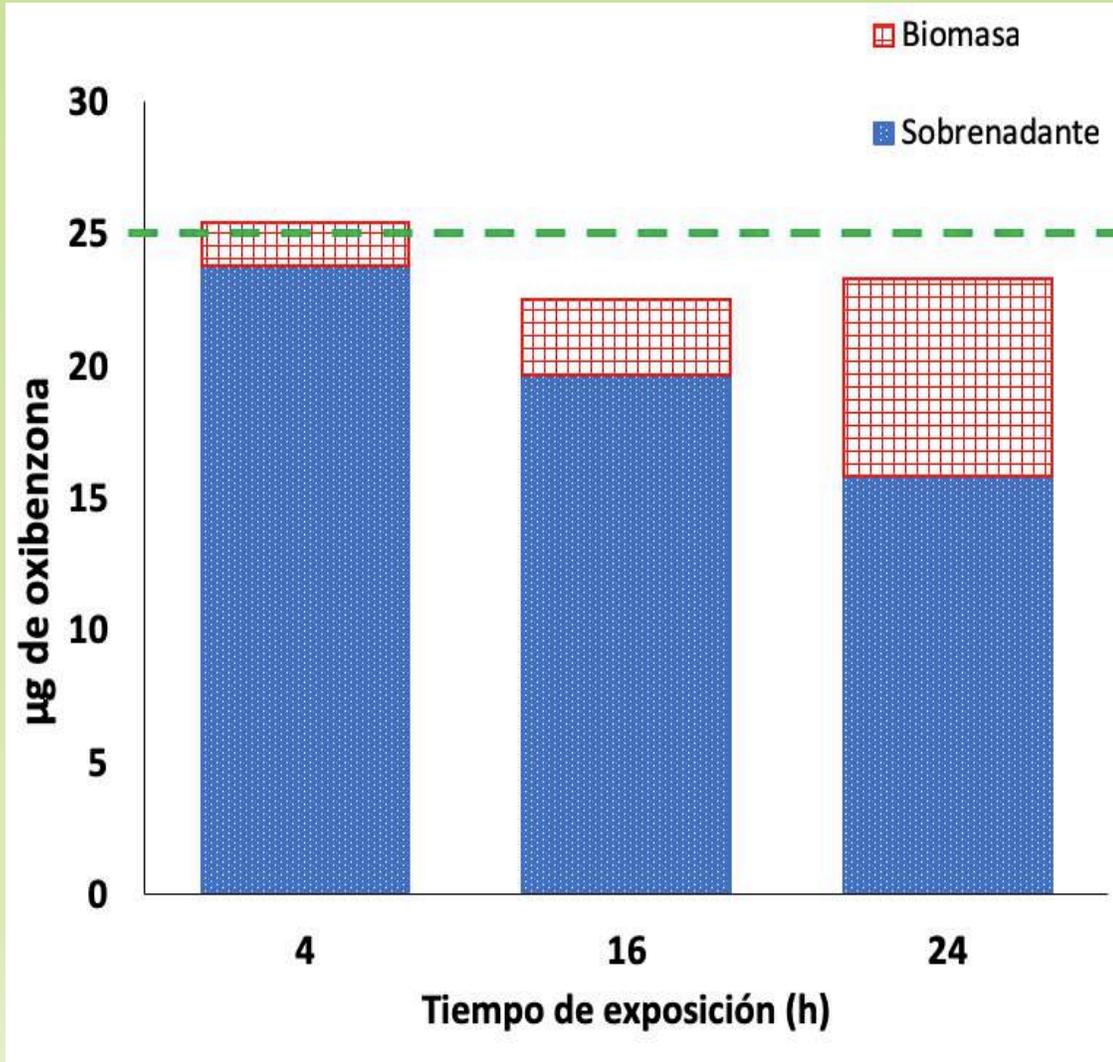
## Control

50 mL medio +  
contaminantes

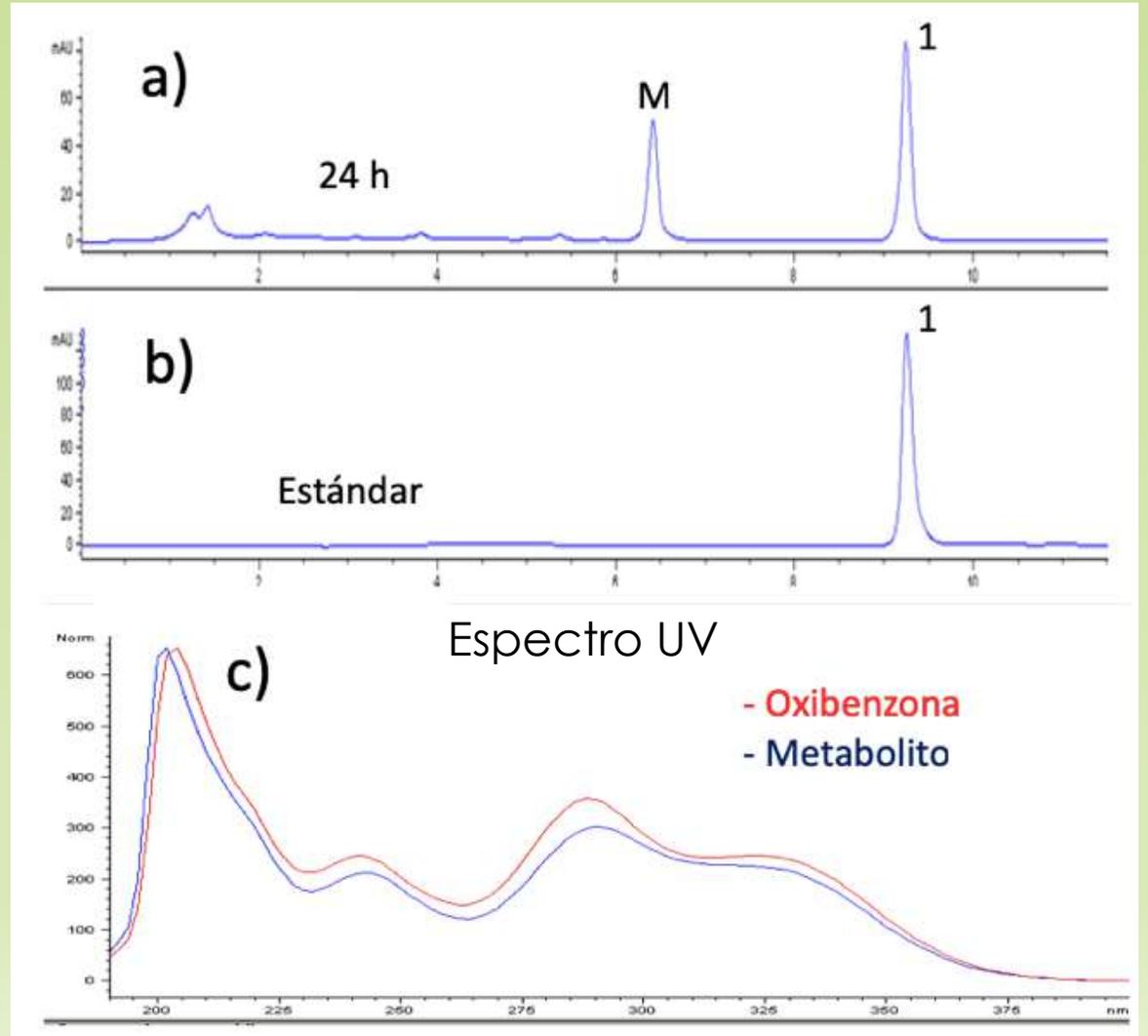
## Blanco

50 mL de cultivo sin  
contaminantes

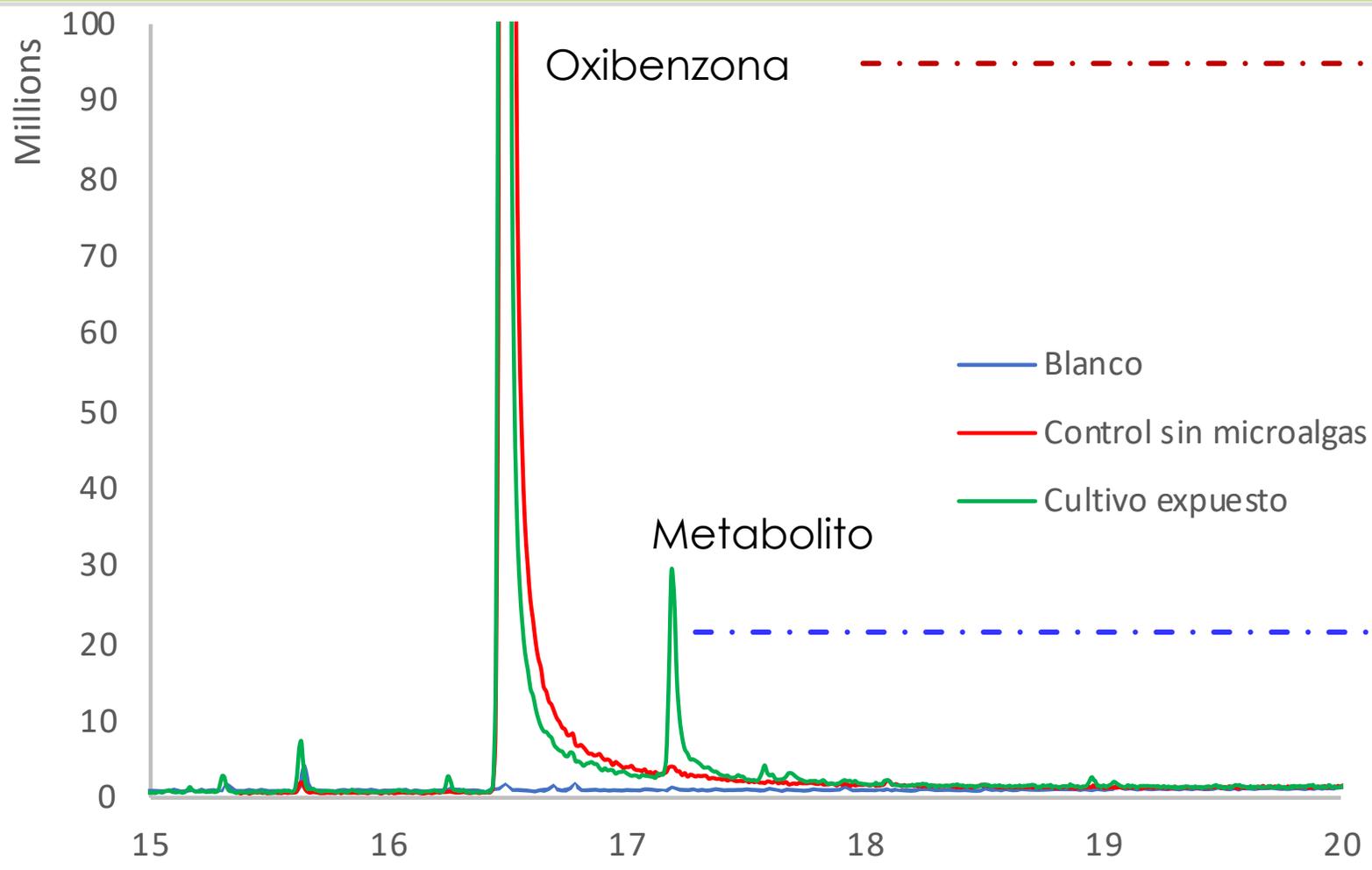
# Ensayos de exposición de cultivos a los FUV



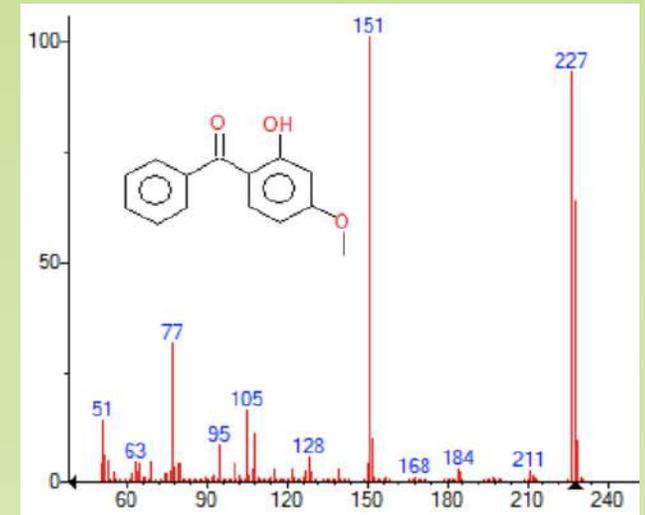
1 = Oxibenzona, M = metabolito



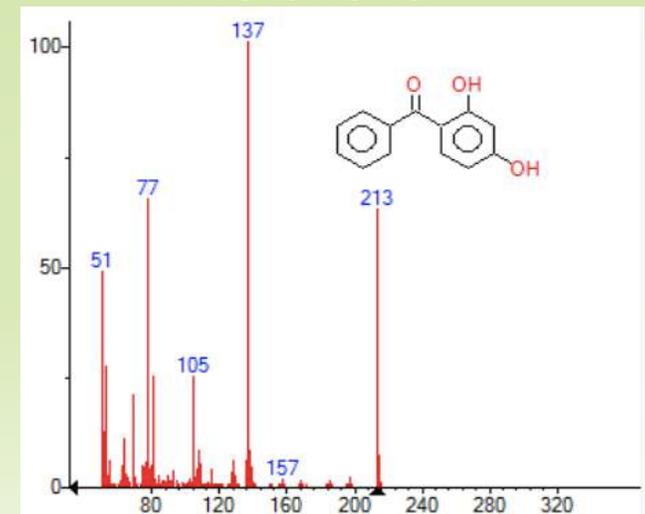
# Análisis de los extractos por CG-EM



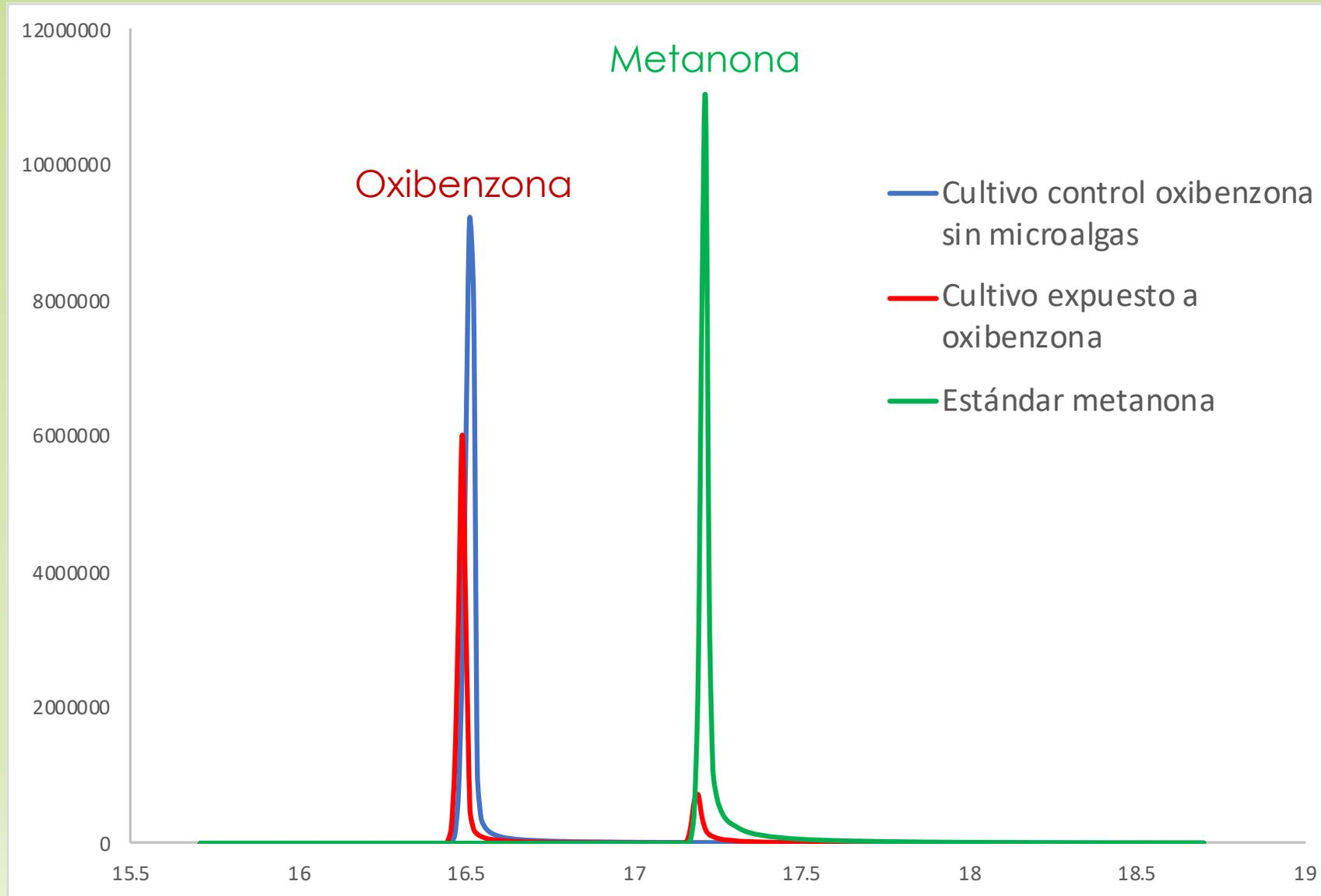
Oxibenzona



Metanona

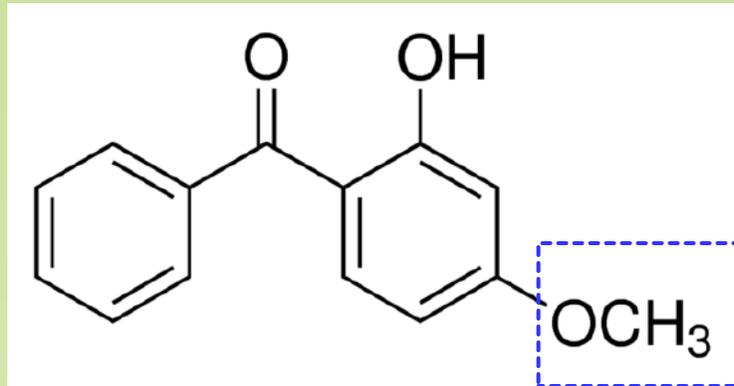


# Análisis de los extractos por CG-EM



# Reacción de desmetilación

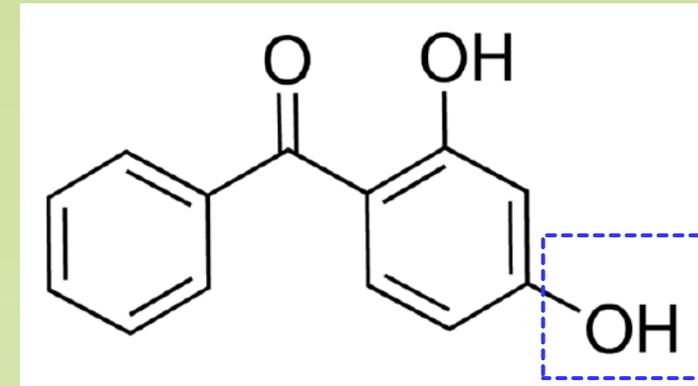
## Oxibenzona



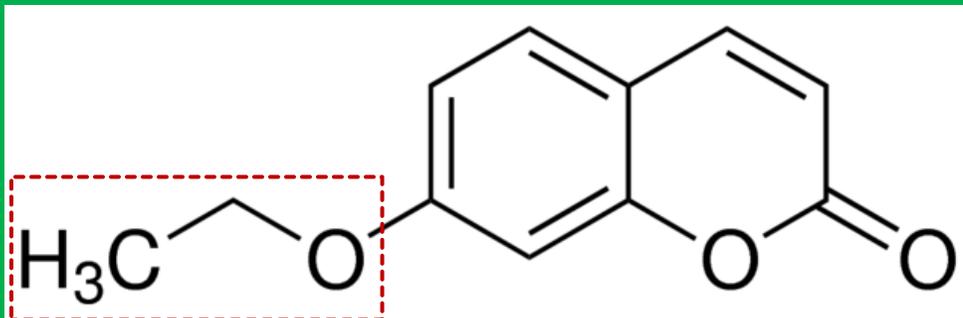
Citocromo  
P450



## Metanona



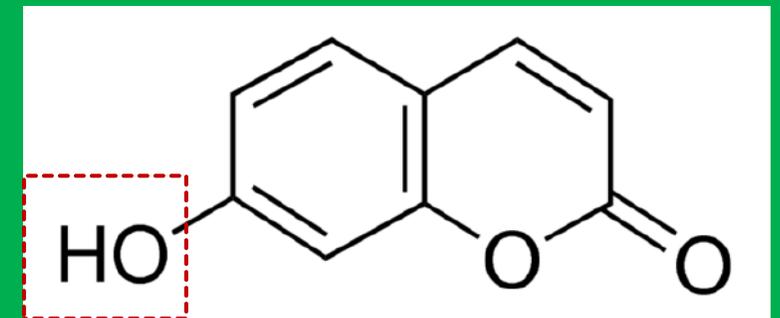
## 7-etoxicumarina



Citocromo  
P450



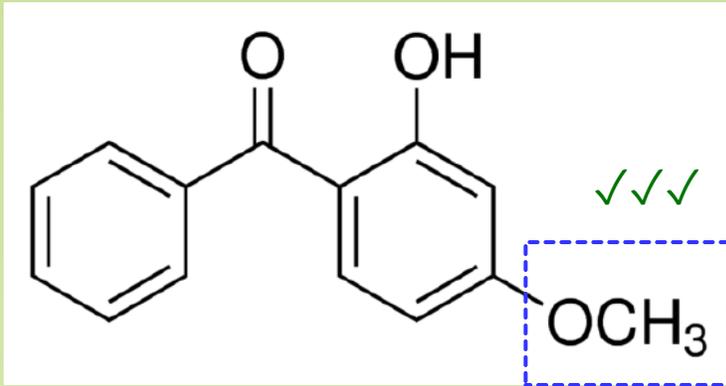
## 7-hidroxicumarina



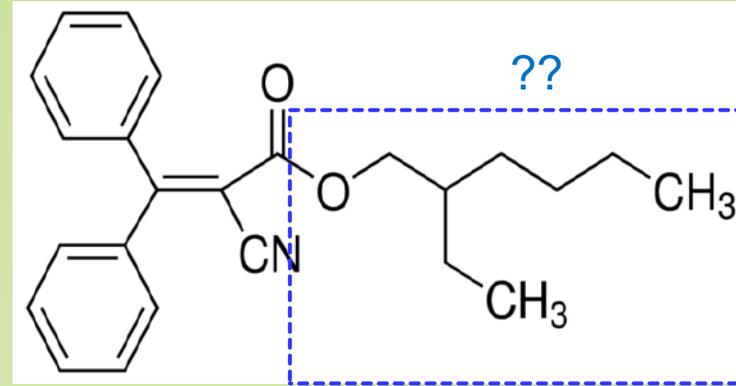
F. Thies, L. H. Grimme. O-Dealkylation of coumarin and resorufin ethers by unicellular green algae: kinetic properties of *Chlorella fusca* and *Chlorella sorokiniana*. Archives of Microbiology. 164, 203–211 (1995)

# Otros FUV

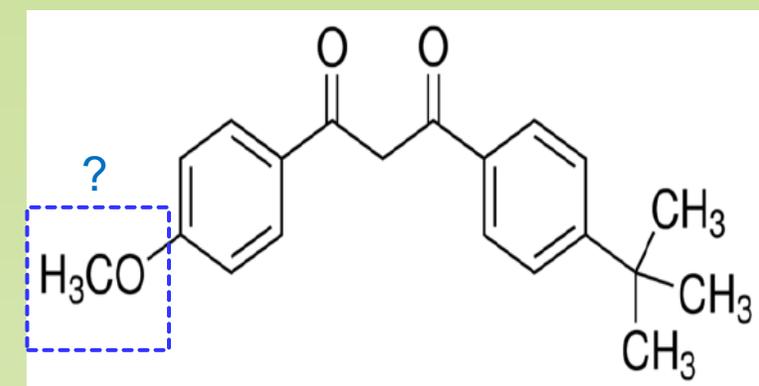
## Oxibenzona



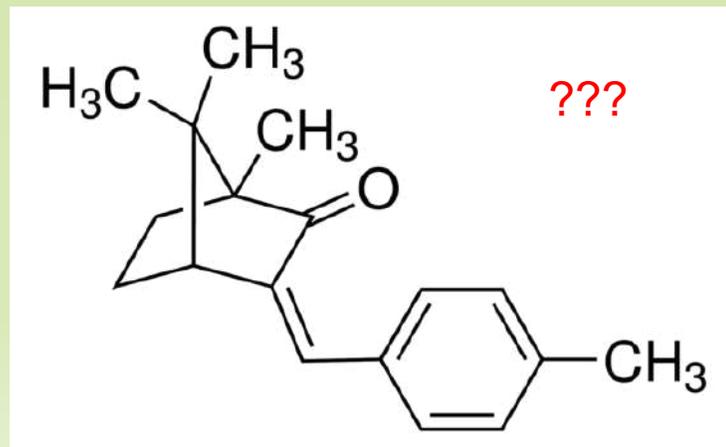
## Octocrileno



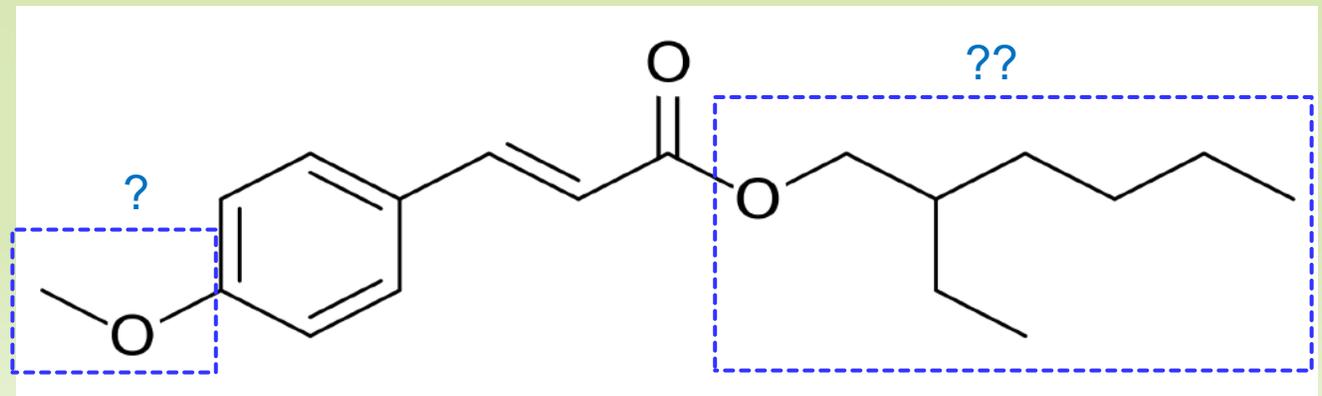
## Avobenzona



## 4-MBC



## 2-EHMC



# Conclusiones

- Se desarrolló una metodología sensible que permite el monitoreo de FUV en la biomasa y medio de cultivo de microalgas.
- Los métodos desarrollados presentaron buenos parámetros de validación y demostraron ser útiles para la evaluación de la remoción de oxibenzona del medio acuoso.
- La microalga *Scenedesmus acutus* transforma la oxibenzona en metanona a través de una reacción de desmetilación.
- Se espera que el método sea útil para determinar el comportamiento de la microalga frente a otros FUV.

# **Agradecimientos**

Investigación realizada gracias al programa:

**UNAM-PAPIME (PE208418)**



**UNAM**  
**CUAUTITLÁN**

**¡GRACIAS POR SU ATENCIÓN!**