



Universidad de la República - CSIC

Formulario de Informe final del Programa de Apoyo
a la Investigación Estudiantil
Edición 2014



DATOS DEL PROYECTO	
<ul style="list-style-type: none">• Título del Proyecto: Validación y aplicación de muestreadores pasivos de compuestos orgánicos polares (POCIS) y membranas semipermeables (SPMD) a ser empleados en el diagnóstico de contaminantes orgánicos en cursos de agua	
<ul style="list-style-type: none">• Número ID del proyecto: 219	
<ul style="list-style-type: none">• Área de conocimiento: Salud	
<ul style="list-style-type: none">• Facultad o Servicio: Facultad de Química	
<ul style="list-style-type: none">• Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Beatriz Alonso Vignola	
<ul style="list-style-type: none">• Correo electrónico del/de la estudiante referente: bealonso91@gmail.com	
<ul style="list-style-type: none">• Nombre completo del/de la docente orientador-a: Andrés Pérez Parada	
<ul style="list-style-type: none">• Correo electrónico del/de la docente orientador-a: aperez@fq.edu.uy	

INFORME FINAL

(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

1) Transcriba los objetivos del proyecto tal cual figuraban en la solicitud financiada

Objetivo general:

- Evaluar la viabilidad, validar metodologías analíticas de determinación y calibrar un dispositivo comercial de muestreo pasivo para micro contaminantes orgánicos relevantes (agroquímicos, microcistinas y productos farmacéuticos)

Objetivos específicos:

- Desarrollar metodologías analíticas para determinar contaminantes orgánicos relevantes en fase líquida trioleína y en fase sólida polimérica utilizando sistemas instrumentales como GC-MS y HPLC-MS/MS
- Establecer la tasa de secuestro (R_s) del dispositivo de muestreo en condiciones de laboratorio representa

- 2) Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.

1-Extensión de la búsqueda bibliográfica: Se extendió la búsqueda bibliográfica lo que permitió conocer más sobre las posibilidades y la complejidad de estos dispositivos. A partir de esto se readaptó la propuesta a la realidad de instrumental disponible y a la prioridad establecida en citas bibliográficas. Se ajustó la lista de los compuestos a buscar en base a estos criterios y decidió determinar los contaminantes en fase sólida mediante HPLC-MS/MS y los contaminantes en trioleína mediante GC-ECD de forma de ganar en sensibilidad en ambos casos.

2-Fabricación de POCIS: en base a los dispositivos comerciales existentes (EST-Lab) se fabricaron nuevos dispositivos para dar sustentabilidad a la propuesta. Para esto se utilizó el mismo sorbente (Oasis HLB), pre-filtros de microfibra de vidrio (Millipore 25 µm) y malla de acero de 45µm.

3-Puesta a punto de la detección de los contaminantes: Cromatógrafo de gases acoplado a detector de captura electrónica (GC-ECD) y cromatógrafo líquido acoplado a detector de espectrometría de masas tandem (HPLC-MS/MS).

4-Ensayo de recuperación de contaminantes en POCIS: se utilizó el método de extracción propuesto por Martínez Bueno et al. (2009)¹. Se fortificó el contenido de 3 cartuchos de HLB a 100 µg/kg y los analitos fueron eluidos con metanol para luego determinarlos mediante HPLC-MS/MS. Esta actividad se repitió dos veces debido a las bajas recuperaciones obtenidas. Se priorizó esta como la actividad más estructural del proyecto de forma de evaluar la utilización de datos con fines cuantitativos.

5-Ensayo de recuperación de contaminantes en SPMD: se modificó el método de extracción de Creusot et al. (2013)² evitando el uso de Cromatografía de Gel Permeación (GPC). Se fortificó el soporte polimérico de SPMD a un nivel de 100 µg/L y se realizó la diálisis con n-hexano durante un total de 40 horas. Se evaporó el hexano obteniendo la trioleína a la que se le realizó una extracción líquido-líquido con acetonitrilo y posteriormente clean-up dispersivo. Este nuevo método de extracción fue evaluado como satisfactorio y es un resultado original en base a la bibliografía disponible.

6-Ensayo de estimación de Rr en modelo estático: Se realizó este ensayo con agua proveniente del Río Santa Lucía que fue recolectada en Santiago Vázquez (Montevideo). Se envenenaron 2,5L de agua a 10 µg/L. Un recipiente con el agua fortificada y un recipiente con agua testigo se mantuvo durante 7 días con agitación a 25°C conteniendo cada recipiente un POCIS y una SPMD. Cada día se tomó una muestra de agua fortificada y de agua blanco con el objetivo de monitorear la existencia del decaimiento de los contaminantes en el agua por inyección directa en MS/MS. Luego de los 7 días se extrajeron los contaminantes como se llevó adelante con los ensayos de extracción.

7-Aplicación piloto en el Río Uruguay: Se colocó una canasta completa, conteniendo 3 POCIS y 1 SPMD en el Río Uruguay en la localidad de San Javier para evaluar su aplicación. Esta actividad fue realizada en colaboración con la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA) y la Prefectura Nacional.

1-Martínez Bueno, M.J., et al., *Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS*. Talanta, 2009. **77**(4): p. 1518-27.

2-Creusot, N., et al., *Distribution of steroid- and dioxin-like activities between sediments, POCIS and SPMD in a French river subject to mixed pressures*. Environ Sci Pollut Res Int, 2013. **20**(5): p. 2784-94

- 3) Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación.

El cronograma de actividades sufrió modificaciones debido a que luego de tener un mayor conocimiento sobre los dispositivos y su complejidad, fue necesario adaptar las actividades a las posibilidades dadas por el laboratorio. A su vez la estudiante integrante Cintia Rodríguez abandonó el proyecto poco tiempo después de su inicio por motivos personales, por lo que a partir de la tercera actividad el proyecto fue llevado a cabo exclusivamente por Beatriz Alonso. Esto llevó a que cumplir con la consecución de las actividades en los tiempos planificados en el cronograma resultara inviable de realizar.

Por este motivo, el diseño experimental del dispositivo para flujo continuo no fue posible realizar ya que se priorizaron otras actividades. Se espera poder realizarlo en el futuro. Por otra parte, el ensayo de aplicación piloto en instalaciones de OSE no pudo concretarse ya que no pudo conseguirse el aval necesario en el tiempo estipulado para realizar la actividad. La actual gerencia del ente decidió demorar su colaboración con este proyecto, de forma de establecer garantías en un marco institucional más formal con la Facultad de Química. Sin embargo se espera llevar adelante una colaboración piloto próximamente dada la importancia de este curso de agua y las posibilidades que brindan estos dispositivos de muestreo integrativo para la propia OSE.

- 4) Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.

A partir de los dispositivos comerciales y cartuchos Oasis HLB se fabricaron POCIS en el laboratorio.

También se ensayaron metodologías de análisis de contaminantes para POCIS y para SPMD, siendo la metodología desarrollada para SPMD novedosa. Se comprobó que ambas metodologías brindan un resultado cualitativo, es necesario continuar estudiando el comportamiento de los compuestos analizados en estos dispositivos para encontrar resultados cuantitativos. Este resultado no era esperado ya que se trabajó en base a materiales y experiencias publicadas anteriormente. Debido a esto se propone que sean utilizados como herramienta complementaria a las estrategias convencionales de análisis de agua.

Se realizó un ensayo de calibración estático en el laboratorio con agua y se analizaron los resultados de SPMD pudiendo determinarse la tasa de muestreo (R_s) para clorpirifós, clorpirifós metil, endosulfan α , endosulfan β , endosulfan sulfato, DDT, DDD, DDE.

Se realizó una aplicación piloto en el Río Uruguay en la localidad de San Javier durante 21 días, al analizar la SPMD de la canasta utilizada se detectó clorpirifós.

- 5) Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).

Los resultados aún no han sido difundidos, se espera hacerlo en la exposición de cierre del programa y en el 4to Congreso Uruguayo de Química Analítica. También se llevarán adelante charlas con personas afines al grupo interesadas en estos muestreadores para buscar aplicaciones afines.

- 6) En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.

Las mayores dificultades enfrentadas en el proyecto fueron debido al funcionamiento de los equipos necesarios. Sobre el final del proyecto el HPLC-MS/MS sufrió una avería grave y no estaba en funcionamiento, por lo que no se pudieron obtener los resultados del ensayo en laboratorio y del ensayo del Río Uruguay en POCIS

- 7) En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.

La realización del proyecto fue una experiencia positiva de aprendizaje para mi formación académica y personal. A pesar que mi compañera abandonó el proyecto en sus inicios tuve gran apoyo de mi tutor en la toma de decisiones y planificación del trabajo, también mis compañeros de la Cátedra de Farmacognosia me acompañaron en el día a día, ayudándome a pasar las dificultades y seguir adelante con el proyecto.

- 8) **Resumen publicable de no más de 250 palabras** que sea accesible para un público amplio, y en un lenguaje dirigido a no especialistas en la temática de la investigación. En este resumen se debe dar cuenta de los objetivos del proyecto, los pasos seguidos para cumplirlos y los principales resultados alcanzados.

El resumen debe contener la siguiente información:

título del proyecto

servicio

nombre de los integrantes del equipo

nombre del docente orientador

Resumen publicable:

Validación y aplicación de muestreadores pasivos de compuestos orgánicos polares (POCIS) y membranas semipermeables (SPMD) a ser empleados en el diagnóstico de contaminantes orgánicos en cursos de agua

Alonso, Beatriz; Pérez, Andrés

En los últimos años el crecimiento de las actividades económicas y humanas han llevado al aumento de la cantidad y variedad de contaminantes orgánicos en el medio acuático. Los contaminantes orgánicos de origen antropogénico se encuentran diluídos por lo que las estrategias de muestreo convencionales requieren etapas de concentración, utilizan grandes volúmenes de agua y requieren mayor número de determinaciones analíticas para realizar un diagnóstico en un curso de agua. Los muestreadores pasivos representan una estrategia simplificada ya que acumulan los contaminantes de forma integrativa obteniendo información de la contaminación en el lugar a través del tiempo. En este proyecto se evaluaron metodologías existentes de extracción de contaminantes de muestreadores en fase sólida (POCIS) y en membranas semipermeables (SPMD) y se establecieron metodologías analíticas para el análisis de 48 pesticidas en POCIS y 12 pesticidas en SPMD. También se realizó un ensayo de aplicación en el laboratorio y en el Río Uruguay para contaminantes por SPMD.

9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

EQUIPOS	
cantidad	ítem - descripción

BIBLIOGRAFÍA	
cantidad	autor(es), título, editorial, año

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- Un CD con el informe final en formato .odt o .pdf. Y con el póster en su versión digital en formato .jpg o .pdf
- Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)

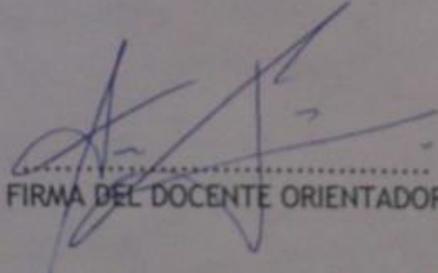
Bento Alonso.....

FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al docente orientador que brinde una opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los resultados expuestos a través de este informe y el contenido de su resumen publicable. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

El trabajo realizado por Beatriz Alonso ha sido realizado satisfactoriamente con variedad de resultados originales de interés para el grupo que han servido de forma de consolidar una línea de investigación a ser desarrollada en el futuro. Los resultados han sido obtenidos con compromiso y dedicación por parte de la estudiante de acuerdo a las actividades planificadas. Debido a que ella ha trabajado sola en gran parte de esta propuesta no fue posible desarrollar completamente las actividades planteadas para dos estudiantes. Es de destacar que la experiencia como acercamiento para la estudiante a las actividades de investigación fue muy positiva al igual que mi evaluación general del proyecto. La tecnología involucrada espera ser empleada en colaboración con otros grupos de investigación dentro de la UdelaR en el futuro de forma de detectar contaminantes en cursos de agua. Está pendiente además la utilización de POCIS en el marco de colaboración institucional con OSE en segmentos de afluentes del Río Santa Lucía vinculados al Saneamiento de la ciudad de Canelones.



FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR