



CURE
Centro Universitario
Regional del Este



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Estudio de incidencia de productos farmacéuticos y de higiene personal (PPCPs) en almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) comercial

M^a Belén Salvatierra Rodríguez

Tutores: Germán Azcune y Julio Gómez

Trabajo Final de la Licenciatura en Gestión Ambiental
Centro Universitario Regional Este (CURE)- Sede Rocha
Universidad de la Republica

Rocha

2024

Centro Universitario Regional del Este

El tribunal docente integrado por los abajo firmantes aprueba la:

Tesis: Tesina: Proyecto: Monografía: Otros:

Especifique:.....

Título:

.....
.....
.....
.....

Autor/es:

.....
.....
.....
.....

Tutor:

.....

Carrera:

.....

Calificación:

.....

Tribunal:

Profesor.....
(Nombre y firma)

Profesor.....
(Nombre y firma)

Profesor.....
(Nombre y firma)

Profesor.....
(Nombre y firma)

Fecha de aprobación:

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCION	3
Productos farmacéuticos y de higiene personal (PPCPs)	3
Filtros UV orgánicos y fragancias en bivalvos	4
MARCO NORMATIVO	8
Normativa internacional de los Productos de Cuidado Personal	8
Normativa Nacional para los moluscos bivalvos	10
Legislación de Filtros UV en Uruguay	10
Almeja amarilla (<i>Amarilladesma mactroides</i>) en Uruguay	12
.....	12
HIPOTESIS	16
OBJETIVOS	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos	16
METODOLOGIA	16
Zona de estudio	16
Filtros UV y fragancias	18
Muestreo y tratamiento de muestras	19
Preparación de muestras y análisis	23
QuEChERS	23
Condiciones del equipo GC-MS	24
RESULTADOS y DISCUSION	27
Mediciones de los filtros UV y fragancias asociadas en la almeja amarilla de las playas Barra Puímayen y La Maciega	31
Control de calidad (QC) y aseguramiento de la calidad (QA)	34
CONCLUSIONES	36
RECOMENDACIONES PARA LA GESTION	37
BIBLIOGRAFIA	38
Anexos	47
Anexo 1- Legislación vigente en Uruguay para moluscos bivalvos	47
Anexo 2- Diagrama de extracción- QuEChERS	50
Anexo 3- Guía para uso del Liofilizador	51

RESUMEN

Las poblaciones de almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) han sufrido presiones de diferente índole a lo largo de los últimos años. Lo que ha llevado a intentar tener una mejor comprensión de su comportamiento como especie, para una mejor gestión del recurso como pesquería regulada en el país. Por su parte, los productos farmacéuticos y de higiene personal (PPCPs, por sus siglas en inglés) surgen como contaminantes emergentes, representando un potencial riesgo para los ambientes acuáticos y la salud humana. El escaso conocimiento de sus posibles consecuencias sobre el medio marino llevó al planteamiento de este trabajo, el que plantea la evaluación de dos filtros UV (octocrileno y octinoxato) y tres fragancias sintéticas (musk cetona, musk xileno y galaxolide) en la almeja amarilla. Las almejas utilizadas fueron compradas en el mercado en el mes de mayo, perteneciendo a dos poblaciones diferentes de las costas de la barra del chuy (Rocha), estas playas difieren en la intensidad de presiones antropogénicas recibidas y actividades recreacionales realizadas en las mismas. Estas muestras fueron separadas en 4 tallas (<54 mm, 55-56 mm, 57-58 mm y >59 mm) y un bulk por playa (mezcla de los individuos de todas las tallas); luego se empleó el método QuEChERS citrato modificado para su posterior evaluación por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS, por sus siglas en inglés). Como resultado se obtuvo que el musk xileno requiere de una alta concentración para poder ser detectado (LOD > 0,2 ug/g) lo que podría indicar una dificultad para su detección en muestras reales. La evaluación indicó que no se detectaron señal para ninguno de los contaminantes de los individuos pertenecientes a la playa La Maciega la cual presenta un mínimo impacto antropogénico. Pero sí se detectó señal para el filtro UV octinoxato en la talla de 55-56 mm de la playa Barra Puimayen, esta señal fue mayor al LOD, pero menor LOQ (0,05 ug/g). Los resultados arrojados indican la necesidad de evaluaciones a futuro que contemplen los meses estivales, donde las presiones antropogénicas se intensifican y es habilitada la pesca de la almeja amarilla como recurso pesquero, siendo ampliamente comercializada.

Palabras claves: Filtros UV, fragancias sintéticas, GC-MS, QuEChERS, musk xileno, musk cetona, HHCB, EHMC y OC.

ABSTRACT

Yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) populations have suffered pressures of diverse kinds over the recent years. Which has led to trying to have a better understanding of their behaviour as a specie, to have a better management of the resource as a regulated fishery in the country. On the other hand, pharmaceutical and personal care products (PPCPs) come up as emerging contaminants, representing a potential risk to the aquatic environments and human health. The limited knowledge of its possible consequences on the marine environment led to the proposal of this work, which proposes the evaluation of two UV filters (octocryle and octinoxate) and three synthetic musk (musk ketone, musk xylene and galaxolide) in the yellow clam. The clams used were purchased on the market in the month of May, belonging to two different populations on the coasts of Barra del Chuy (Rocha), these beaches differ in the intensity of anthropogenic pressures and recreational activities conducted on them. These samples were separated into 4 sizes (<54 mm, 55-56 mm, 57-58 mm y >59 mm) and a bulk per site (mix of individuals of all sizes); then, the modified citrate QuEChERs method was used for subsequent evaluation in GC-MS. As a result, it was obtained that musk xylene requires a high concentration to be detected (LOD > 0.2 ug/g), which could indicate a difficulty for its detection in real samples. The evaluation indicated that no signal was detected for any of the contaminants from the individuals belonging to La Maciega beach, which presents a minimal anthropogenic impact. However, a signal for the UV filter octinoxate was detected in the size of 5,5-56 mm on Barra Puimayen beach. This signal was higher than the LOD, but lower than the LOQ (0.05 ug/g). The results obtained indicate the need for future evaluations that consider the summer months, where anthropogenic pressures intensify, and the yellow clam fishing is enabled as a fishing resource being widely commercialized.

Key words: UV filters, synthetic musks, GC-MS, QuEChERs, musk xylene, musk ketone, HHCB, EHMC and OC.

INTRODUCCION

Productos farmacéuticos y de higiene personal (PPCPs)

Los Productos farmacéuticos y de higiene personal (PPCPs), abarcan desde medicinas utilizadas en humanos y de uso veterinario, hasta protectores solares, fragancias y cosméticos (Arpin-Pont et al. 2014). Se han podido identificar diferentes fuentes que contribuyen a la llegada de los PPCPs a los medios acuáticos y terrestres, entre las cuales se encuentran: las aguas residuales domésticas e industriales, efluentes de las plantas de tratamiento de hospitales, descargas de origen agrícola y actividades recreativas sobre las costas (Keerthanan et al. 2020). Aunque es posible la eliminación o transformación de los PPCPs en el medio ambiente a través de diferentes propiedades físicas, químicas o biológicas, son considerados contaminantes “pseudo persistentes” debido a sus continuas descargas en el medio (Sengar y Vijayanandan, 2022). Estas descargas pueden generar concentraciones elevadas a largo plazo, y promover efectos negativos e inadvertidos, tanto en organismos terrestres y acuáticos (Barceló y Petrovic, 2007), como en seres humanos (Mo et al. 2022). Dentro de los PPCPs se encuentra el grupo productos de cuidado personal, en el cual se encuentran los dos subgrupos seleccionados para este trabajo: Fragancias sintéticas y Filtros UV (Liu y Wong, 2013).

La exposición a los rayos ultravioletas puede generar daños en la piel y también alterar las propiedades de sustancias como los polímeros en los alimentos y otros productos (Han et al. 2021). Los filtros UV usados como protección solar han sido diseñados para absorber, reflejar y dispersar tanto la radiación UVA como la UVB, evitando sus efectos nocivos e impidiendo así los impactos no deseados sobre la piel (Cadena, 2022). Los componentes activos de los filtros ultravioletas pueden ser orgánicos o inorgánicos, los cuales presentan estructuras y solubilidades diferentes (González et al. 2022). Los filtros ultravioletas orgánicos, son moléculas aromáticas conjugadas con grupos carbonilo clasificados en: Benzofenonas, Ácido paminobenzoico y derivados, Salicilatos, Cinamatos, Derivados del alcanfor, Triazinas, Salicizoles, Derivados de bencimidazol, Derivados de dibenzoil metano, Crilenos, Derivados de bencilmalonato y otros (Rainieri et al. 2016; Cadena, 2022).

Las fragancias sintéticas al igual que los filtros UV son ampliamente usados en los productos de higiene personal, cosméticos y de limpieza (Castro et al. 2018; Łobos-Moysa et al. 2022). Generalmente utilizadas para reemplazar las fragancias más caras de origen natural (Plantas y animales) (Łobos-Moysa et al. 2022). Dependiendo de su estructura química las fragancias se pueden clasificar en: Fragancias nitradas (e.g. Fragancia moskene), Fragancias policíclicas (ej. Galaxolide), Fragancias macrocíclicas (ej. Brassilato de etileno) y Fragancias alicíclicas (romandolide) (Castro et al. 2018).

Filtros UV orgánicos y fragancias en bivalvos

Los filtros UV y las fragancias son introducidos en el ambiente marino indirectamente a través de las aguas residuales domésticas e industriales, o directamente a través de las actividades recreacionales (Picot-Groz et al. 2018). Diversos estudios han demostrado el potencial de la contaminación de los protectores solares para causar daño ambiental (Willenbrink et al. 2017). Debido a su lipofilicidad, los filtros UV tienden a acumularse en los tejidos musculares y adiposos de los organismos marinos (Sánchez y Tovar, 2015). Según Lestido-Cardama y colaboradores (2023) diferentes estudios han demostrado la capacidad de los filtros UV y fragancias para bioacumularse en diferentes organismos marinos. Además, los filtros UV han demostrado su habilidad de biomagnificarse a través de la cadena alimentaria marina (Lestido-Cardama et al. 2023). Narla y Lim (2019) definen la bioacumulación y biomagnificación de la siguiente manera: “la bioacumulación es un fenómeno por el cual los niveles de sustancias químicas aumentan en los organismos con el tiempo a través de la exposición a sus entornos, mientras que la biomagnificación se refiere a la idea de que los niveles químicos aumentan y se concentran a medida que uno avanza en la cadena alimentaria”.

En un estudio de toxicología in vivo, Santonocito y colaboradores (2020) expusieron a la almeja *Ruditapes philippinarum* a tres concentraciones diferentes (0, 1, 10, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) de 4-methylbenzylidenecamphor (4-MBC), durante 7 días (3 días de depuración), encontraron que a mayores concentraciones mayores porcentajes de mortalidad, los porcentajes de mortalidad alcanzaron el 92.50 % y el 100 % para las concentraciones de 10 y 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 4-MBC respectivamente. Asimismo, comprobaron que se activó

el sistema de defensa antioxidante para proteger al organismo, ya que aumentaron los niveles de expresión de genes que codifican enzimas antioxidantes; pero la alta tasa de mortalidad observada sugiere que la respuesta al estrés celular no fue suficiente para protegerse. Parolini et al. (2015) expusieron durante 21 días al mejillón *Dreissena polymorpha* a las fragancias, galaxolide (HHCB) y tonalide (AHTN). Encontrando que ambas fragancias indujeron daño genético y oxidativo, lo que sugiere la participación del estrés oxidativo en el mecanismo de acción de estos contaminantes acuáticos. Siendo AHTN más dañino que el HHCB en *Dreissena polymorpha* al compararse los efectos causados por concentraciones similares.

Vidal-Liñán y colaboradores (2018) comprobaron la capacidad del mejillón *Mytilus galloprovincialis* para bioacumular filtros UV de cuatro familias diferentes, encontrando que 4-MBC (Derivado del alcanfor), BP-4 (Benzofenona) y octocrileno (OC) (Crileno) tuvieron una mayor retención en el tejido respecto a BP-3 (Benzofenona) y OD-PABA (Ácido p-aminobenzoico y derivados). A su vez los mismos autores exponen la capacidad del mejillón para biotransformar OD-PABA, llegando a ser indetectable al final de su estudio.

Sang y Sze-Yin (2016) encontraron 5 filtros UV (octinoxato (EHMC) (cinamato), OD-PABA (Ácido p-aminobenzoico y derivados), BP-8 (Benzofenona), OC (Crileno) y BP-3 (Benzofenona)) en el mejillón *Mytilus edulis* en diferentes puntos de la costa de Hong Kong; siendo EHMC el que presentó mayor concentración (12.7 ng/g (peso seco)) y frecuencia de detección en las muestras en un porcentaje del 100%. La concentración del resto de los filtros UV se presentó de la siguiente manera: OD-PABA > BP-8 > OC = BP-3. Sang y Sze-Yin (2016) afirman, que las mayores concentraciones de filtros UV en los mejillones, corresponden a los muestreados en los lugares con mayor actividad antropogénica en los ambientes acuáticos. Gómez et al. 2021, encontraron 6 filtros UV (BP-1 (Benzofenona) > BP-3 (Benzofenona) > 4-OH-BP (Benzofenona) > 4-MBC (Derivado del alcanfor) > BP-6 (Benzofenona) > BP-8 (Benzofenona)) en el mejillón *M. galloprovincialis* en las costas del sur de España. Asegurando que las muestras con mayor concentración de filtros UV, provienen de las zonas que reciben efluentes de aguas residuales o que tienen

mayor actividad recreativa sobre la costa; además observaron una tendencia estacional en el cual los niveles más altos fueron durante las estaciones más cálidas después de los meses de baño. Picot Groz y colaboradores (2014) encontraron 3 filtros UV (OC (Crileno), EHMC (cinamato), OD-PABA (Ácido p-aminobenzoico y derivados) y una fragancia (HHCB) en la especie *M. galloprovincialis*, colectada en 4 puntos diferentes de la costa sur de Portugal. Uno de los puntos que destacan los autores es que en los ejemplares muestreados en zonas protegidas (ausencia de actividad recreacional) y con menor influencia de las aguas residuales, los filtros UV fueron encontrados en concentraciones dobles respecto a la fragancia. Asegurando que el grado de exposición a los filtros UV y las fragancias es diferente, y que las plantas de tratamiento de aguas residuales son más efectivas a la hora de eliminar fragancias. Dong et al. 2022, encontraron que una exposición a corto plazo de filtros UV (BP-3, 4-MBC y EHMC), y a dosis bajas para la almeja *Ruditapes philippinarum* podría activar respuestas inmunitarias, mientras que el sistema inmunitario quedaría restringido después de una exposición prolongada; lo que indicaría una posible amenaza para la supervivencia de los bivalvos marinos. Aminot y colaboradores (2021) encontraron 4 fragancias sintéticas (galaxolide, tonalide, musk xileno y musk cetona) en diferentes moluscos bivalvos en las costas de Francia. Para la fragancia AHTN encontraron niveles significativamente menores en las ostras respecto a los encontrados en los mejillones, sugiriendo que la acumulación específica de especie podría estar relacionada con la metabolización. Aminot et al. 2021, también comprobaron que existió una disminución de musk xileno en los diferentes sitios a lo largo de los años (8 años de monitoreo) luego de su prohibición de uso en el año 2011, mientras que el resto de las fragancias mantuvieron los niveles de concentración en los individuos. Al igual que otros autores anteriormente mencionados, Aminot et al. 2021, encontraron mayores concentraciones de las fragancias en los sitios bajo fuertes presiones antropogénicas.

Según la bibliografía consultada para este trabajo, en la actualidad solo existen 3 trabajos realizados sobre contaminación de filtros UV en la almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) y todos se basan en los efectos del filtro UV benzofenona-3 (BP3) en diferentes biomarcadores de la almeja amarilla.

Chaves y colaboradores (2020), estudiaron los efectos del filtro UV benzofenona-3 (BP3) (1 µg/L) en la almeja amarilla, a través de diferentes actividades enzimáticas (Peroxidación lipídica (LPO), Glutathiona (GSH), Anhidrasa carbónica, Glutación S-transferasas (GTS), Ligasa glutamato-cisteína (GCL)) a dos pH diferentes (pH 8.1 y pH 7.6) en las branquias, glándula digestiva y manto. Chaves y colaboradores (2020) encontraron que la actividad enzimática varió dependiendo del pH y de los tejidos en los que se encontraban. En términos generales, encontraron mayor sensibilidad para BP3 en las glándulas digestivas y branquias, que para el manto (Chaves et al. 2020). Chaves y colaboradores (2022) expusieron a la almeja amarilla a BP3 (0.56 µg/L) a dos temperaturas diferentes (20 °C y 24 °C) para medir la actividad en: las especies reactivas del oxígeno (ROS), LPO, glutación peroxidasa (GPx), etoxirresorufina-O-deetilasa (EROD), GCL, GSH y la glutación reductasa (GR). La BP3 afectó de forma desigual los diferentes biomarcadores medidos en la almeja, reflejando que a 20 °C aumentó la actividad en ROS, GSH y GCL, pero suprimió la actividad para el EROD (Chaves et al. 2022). A la temperatura de 24 °C, los efectos de la BP3 aumentaron la actividad de LPO y suprimieron las actividades de GPx y GR (Chaves et al. 2022). En el congreso Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Latin America 15th Biennial Meeting del año 2023, Chaves y colaboradores presentaron su trabajo "Effects of UV Filter Benzophenone-3 and Heat Stress on the Gills of the Marine Bivalve *Amarilladesma Mactroides*". Para dicho trabajo, expusieron la almeja amarilla a BP3 (1 µg/L) a las temperaturas de 20 y 24 °C durante 96 horas, para evaluar la actividad de difereantes biomarcadores: GTS, EROD, GCL, GR, GPx y GSH (Chaves et al. 2023). Aunque aún no han culminado su trabajo, esperan las siguientes reacciones en la almeja amarilla: reducción en la cantidad de energía disponible para la desintoxicación debido a la demanda energética con procesos metabólicos (temperatura 24 °C), inhibiendo la capacidad antioxidante en las branquias de la almeja y aumento en la defensa antioxidante (Chaves et al. 2023).

MARCO NORMATIVO

Normativa internacional de los Productos de Cuidado Personal

A nivel internacional existen diferentes regulaciones respecto a los filtros UV permitidos en los Productos de Cuidado Personal, en la Unión Europea (UE) están controlados por la Regulación número 12223/2009, en Estados Unidos de América (USA) por la Administración de Alimentos y Medicamentos, en Japón (JP) por la Norma Japonesa de Ingredientes Cosméticos (Cadena, 2022), en Canadá (CAN) se regulan bajo la normativa “Natural and Non-Prescription Health Products Directorate’s (NNHPD’s) Sunscreen Monograph” y en China (CHN) se exige un testeo obligatorio en el “National Medical Product Administration (NMPA)” (Grum, 2019). Los países de la Asociación de Naciones de Asia Sudoriental (ASEAN) (Laos, Vietnam, Cambodia, Birmania, Brunéi, Tailandia, Singapur, Filipinas, Indonesia y Malasia); y el Mercado Común del Sur (MERCOSUR) (Uruguay, Brasil, Argentina y Paraguay) y países como: Nueva Zelanda, Australia, Korea, Colombia, adoptan métodos de la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) (Stiefel y Schwack, 2015).

La Unión Europea permite el uso de 27 filtros UV orgánicos que, debido a su estructura química se pueden clasificar en once familias (Cadena, 2022) (Ver tabla 1).

Tabla 1. Concentración máxima en el producto preparado para el uso, de filtros UV orgánicos en: UE, CHN, US, AU, CAN, JP, ASEAN y MERCOSUR (Cadena, 2022; Stiefel y Schwack, 2015). *Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos (INCI, por su nombre en inglés).

Familia	Nomenclatura INCI*	Nombre abreviado	EU (%)	CHN (%)	US (%)	AU (%)	CAN (%)	JP (%)	ASEAN (%)	MERCOSUR (%)
Benzofenonas	Benzofenona-3	BP3	6	10	8	10	6	5	10	10
	Benzofenona-4	BP4	5	5	10	10	10	10	5	10
	Benzofenona-5	BP5	5	5		10		10	5	5
Ácido p-aminobenzoico y derivados	4-aminobenzoato de etilo etoxilado	PEG-25 PABA	10	10		10			10	10
	Etilhexil dimetil PABA	OD- PABA	8	8	8	8	8	10	8	8
Salicilatos	Homosalato	HMS	10	10	15	15	15	10	10	15
	Salicilato de 2-etilhexilo	EHS	5	5	5	5	5	10	5	5
Cinamatos	Metoxicinamato de etilhexilo	OMC	10	10	7.5	10	7.5	20	10	10
	p-metoxicinamato de isoamilo	IMC	10	10		10			10	10
Derivados del alcanfor	Metosulfato de benzalconio de alcanfor	CBM	6	6		6			6	6
	Ácido tereftaliliden dicanforsulfónico	PDSA	10	10		10	10	10	10	10
	Ácidos sulfónicos de bencilideno alcanfor	BCSA	6	6		6			6	6
	Alcanfor de poliacrilamido metilbencilideno	PBC	6	6					6	6
	Alcanfor 4- metilbencilideno	4MBC	4	4		4	6		4	4
Triazinas	Etilhexil triazona	OT	5	5		5		5	5	5
	Dietilhexil butamido triazona	DBT	10	10					10	10
	Bis-etilhexiloxiloxifenol metoxifenil triazina	EMT	10	10		10		3	10	10
	Tris-bifenil triazina	TBPT	10							
	Fenileno bis-difeniltriazina	TriAsorB	5							
Salicizoles	Drometrizol trisiloxano	DTS	15	15		15	15	15	15	15
	Metileno bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol	MBP	10	10		10		10	10	10
Derivados de bencimidazol	Ácido fenilbencimidazol sulfónico	PMDSA	8	8	4	4	4	3	8	8
	Tetrasulfonato de fenil dibencimidazol disódico	DPDT	10	10		10			10	10
Derivados de bencimidazol	Butil metoxidibenzoilmetano	BMDBM	5	5	3	5	3	10	5	5
	Benzoato de dietilamino hidroxibenzoil hexilo	DHHB	10	10		10		10	10	10
Crilenos	Octocrileno	OC	10	10	10	10	10	10	10	10
Derivados de bencilmalonato	Polisilicona-15	BMP	10	10		10		10	10	10
Otras	Metoxipropilamino ciclohexenilideno cianoacetato	MCE	3							

Respecto a las restricciones en las normativas internacionales, Carve et al. (2021) asegura no haber en la actualidad legislación que regule la cantidad máxima de Filtros UV orgánicos permitidos en aguas marinas. Sin embargo, el estado de Hawái en 2018, la isla “Key West” en Florida en 2021, y las islas Bonaire y Aruba, han prohibido la venta de protectores solares que contengan ciertos filtros UV (BP-3 y EHMC) (Levine, 2021; Carve et al. 2021; Narla y Lim, 2019), las Islas vírgenes de Estados Unidos en 2020 además de prohibir los filtros UV anteriormente mencionados también prohíbe el uso de Octocrileno,

siendo la conservación de los corales la principal motivación de estas restricciones (Levine, 2021).

La regulación REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemical substances) europea, prohibió el uso de la fragancia sintética musk xileno (Aminot et al. 2021), considerándola una amenaza para la salud humana y sus potenciales efectos en el ambiente (McDougall, 2011) por ser muy persistente, bioacumulativa y tóxica (Aminot et al. 2021). Musk xileno ya había sido incluido en la lista de la “Convención para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Nordeste” (OSPAR Convention) en el año 1998 (Aminot et al. 2021).

[Normativa Nacional para los moluscos bivalvos](#)

En la actualidad, Uruguay no cuenta con una legislación que regule la concentración máxima permitida de Productos farmacéuticos y de higiene personal en moluscos bivalvos. En el Anexo 1, se detallan las regulaciones vigentes en Uruguay para los moluscos bivalvos; las cuales no contemplan la regulación de los PPCPs y tienen como fin realizar controles bromatológicos.

[Legislación de Filtros UV en Uruguay](#)

La legislación vigente en Uruguay respecto a los filtros UV, se rige en el Decreto 300/017. Resolución GMC N° 44/15 del Grupo Mercado Común del MERCOSUR, por la que se aprobó el "Reglamento Técnico Mercosur sobre Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Productos de Higiene Personal, Cosméticos y Perfumes. En la tabla 2 (Ver tabla 2) se resumen únicamente los filtros UV regulados para el MERCOSUR y por lo tanto para Uruguay; indicando su nombre según la Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos y expresando las concentraciones máximas permitidas para cada sustancia.

Tabla 2. Lista de filtros ultravioletas permitidos para productos de higiene personal, cosméticos y perfumes (Mercosur/gmc/res. N° 44/15).

N° ORD.	SUSTANCIA (NOMBRE INCI)	CONCENTRACION MAXIMA AUTORIZADA	N° ORD.	SUSTANCIA (NOMBRE INCI)	CONCENTRACION MAXIMA AUTORIZADA
1	Metilsulfato de N,N,N-trimetil-4-(2, oxoborn-3-ilideno)metil)anilino CAMPHOR BENZALKONIUM METHOSULFATE	6%	22	Dióxido de titanio TITANIUM DIOXIDE	25%
2	3,3'-(1,4-fenilendimetil)bis(ácido 7,7-dimetil-2-oxo-biciclo-(2.2.1) 1- heptilmetano sulfónico y sus sales TEREPHTHALYLIDENE DICAMPHOR SULFONIC ACID (& SALTS)	10% (expresado como ácido)	24	N-Etoxi-4-aminobenzoato de etilo PEG-25 PABA	10%
3	1-(4-ter-butilfenil)-3-(4-metoxifenil) propano-1,3- diona BUTYL METHOXYDIBENZOYLMETHANE	5%	25	4-Dimetil-aminobenzoato de 2-etilhexilo ETHYLHEXYL DIMETHYL PABA	8%
4	Ácido alfa-(2-oxoborn-3- ilideno)tolueno-4-sulfónico y sus sales de potasio, sodio y trietanolamina BENZYLIDENE CAMPHOR SULFONIC ACID & SALTS	6% (expresado como ácido)	26	Salicilato de 2-etilhexilo ETHYLHEXYL SALICYLATE	5%
7	2-Ciano-3,3'-difencilacrilato de 2- etilhexilo OCTOCRYLENE	10% (expresado como ácido)	27	4-Metoxicinamato de isopentilo ISOAMYL p-METHOXYCINNAMATE	10%
8	4-Metoxicinamato de 2-etoxietilo CINOXATE	3%	28	3-(4'-metilbencilideno)-d-l- alcanfor 4- METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR	4%
9	2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona BENZOPHENONE-8	3%	29	3-Bencilideno alcanfor 3-BENZYLIDENE CAMPHOR	2%
10	Antranilato de mentilo MENTHYL ANTHRANILATE	5%	30	2,4,6-trianilín-(p-carbo-2'-etil-hexil-1'-oxi)-1,3,5-triazina ETHYLHEXYL TRIAZONE	5%
12	Salicilato de trietanolamina TEA-SALICYLATE	12%	31	Óxido de zinc ZINC OXIDE	25%
15	Ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfónico y sus sales de sodio, potasio y trietanolamina PHENYLBENZIMIDAZOLE SULFONIC ACID (& SODIUM, POTASSIUM, TEA SALTS)	8% (expresado como ácido)	32	2-(2H-benzotriazol-2-il)-4-metil-6-(2- metil-3- 1,3,3,3-tetrametil-1- ((trimetilsilil-oxi)- disiloxanil)propil)fenol	15%
16	4-Metoxi-cinamato de 2-etilhexilo ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE	10%	33	Ácido benzoico,4,4'-[[6-[[[4-[[[1,1-dimetil(etil)aminol]carbonil]fenil]amino]1,3,5-triazina-2,4-DIETHYLHEXYL BUTAMIDO TRIAZONE	10%
17	2-Hidroxi-4-metoxi-benzofenona BENZOPHENONE-3 (1)	10%	34	2,2'-metilenc-bis-6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-(tetrametil-butil)-1,1,3,3,3-fenol METHYLENE BIS-BENZOTRIAZOLYL TETRAMETHYLBUTYLPHENOL	10%
18	Ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfónico BENZOPHENONE-4 (ACID)	10% (expresado como ácido)	35	Sal monosódica del ácido 2,2'-bis-(1,4-fenil)-1H-benzimidazol-4,6- disulfónico DISODIUM PHENYL DIBENZIMIDAZOLE TETRASULFONATE	10% (expresado como ácido)
18a	Sal de sodio del ácido 2-hidroxi-4- metoxibenzofenona-5-sulfónico BENZOPHENONE-5	5% (expresado como ácido)	36	(1,3,5)-triazina-2,4-bis [[4-(2-etil- hexiloxi)-2-hidroxi]-fenil]-6-(4-metoxifenil) BIS-ETHYLHEXYLOXYPHENOL METHOXYPHENYL TRIAZINE	10%
19	Ácido 4-aminobenzoico PABA	15%	37	Dimeticodietilbenzalmalonato POLYSILICONE-15 DIETHYLAMINO HYDROXYBENZOYL HEXYL BENZOATE	10%
20	HOMOSALATE				
21	Polímero de N-((2 y 4) [(2-oxoborn-3- ilideno) metil] bencil) acrilamida POLYACRYLAMIDOMETHYL BENZYLIDENE CAMPHOR	6%	39	1,3,5-Triazina,2,4,6-Tris((1,1'-Bifenil)-4-il)- TRIS-BIPHENYL TRIAZINE (2)	10%

Almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) en Uruguay

La almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) taxonómicamente se ubica dentro de la clase Bivalva, subclase Heterodonta, superorden *Imparidentia*, orden *Veneroidea*, Superfamilia *Mactroidea*, familia *Mesodesmatidae*, genero *Amarilladesma* (Azambuja y Egüez, 2020). Se trata de un molusco bivalvo filtrador (Maneiro, 2014) que habita en las zonas intermareales de las playas arenosas desde el sur de Brasil hasta el norte de Argentina (24–41° S) (Byrro et al. 2023; Santos et al. 2020; Maneiro, 2014). En posición posterior presentan dos sifones que les sirven para respirar y alimentarse, conectados con las branquias que cumplen la doble función; y en posición anterior se encuentra el pie que utilizan para enterrarse en la arena (Azambuja y Egüez, 2020). La almeja amarilla se encuentra a 15-20 cm de profundidad en arena firme, con el pie grande extendido como ancla y sus largos sifones a ras de la superficie de la arena (Ver figura 1) (Narchi, 1981).

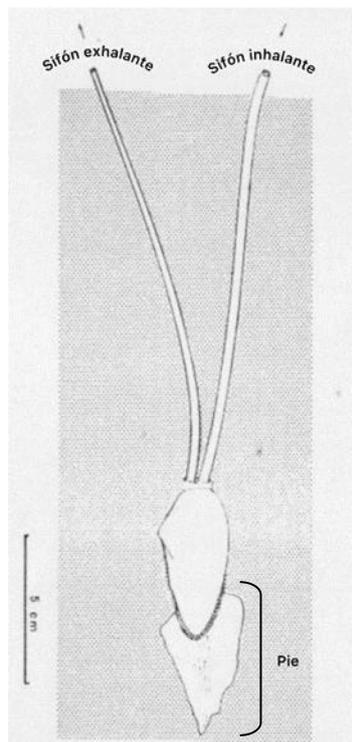


Figura 1. Ilustración de la vista externa, del lado izquierdo de un ejemplar vivo de *Amarilladesma mactroides*. Cavando en arena firme con su pie extendido y sifones al ras de la arena (Narchi, 1981).

Narchi (1981) hace una descripción de ambos sifones (inhalante y exhalante) destacando sus principales diferencias. La abertura del sifón inhalante está bordeada por tres ciclos de tentáculos que rodean la abertura; la serie más interna, la más grande y la más ramificada, están formadas por ocho tentáculos que se posicionan hacia adentro cuando la almeja bombea agua (Narchi, 1981). Estos tentáculos están intercalados por pequeñas papilas accesorias, de las cuales las dos series de tentáculos foliosos más pequeños rodean el interior y también están dirigidos hacia adentro, de modo que la abertura de inhalación queda cubierta por un tamiz grueso (Narchi, 1981). La apertura del sifón exhalante es un poco más pequeña que la del inhalante, presentando veinte tentáculos simples rodeando la abertura (Narchi, 1981). Narchi (1981), asegura que es posible encontrar seis tentáculos (en lugar de veinte) que se presentan mejor desarrollados y tienen la punta dividida. Se desarrolla un extenso colgajo sifonal a lo largo de la abertura interior del sifón de inhalación. Esta es una extensión vertical del margen posterior del tabique que divide los canales de inhalación y exhalación (Narchi, 1981). Una de las adaptaciones más interesantes encontrada por Narchi (1981) en la almeja amarilla, es la presencia de los “corazones sifonales”, las cual describe como estructuras redondeadas ubicadas entre las aberturas interna de los sifones, que se contraen espontáneamente o bajo estimulación. El autor cree que su principal función podría ser la de bombear sangre hacia los sifones; debido a su amplia capacidad de extensión podrían necesitar una bomba accesorio para hacer circular la sangre dentro de ellos, ya que este órgano trabaja de forma independiente a las pulsaciones del corazón. Esta estructura diferencia a la almeja amarilla de otras especies de bivalvos, como la ostra *Crassostrea gigas* y el ostión *Crassostrea virginica* que presentan “vasos pulsantes” y “corazones accesorios” respectivamente, que ayudan a la circulación de la sangre en los organismos (Narchi, 1981).

Amarilladesma mactroides presenta un pie bien desarrollado y sus valvas en forma de cuñas vuelven a la especie en una rápida excavadora (Narchi, 1981). El pie puntiagudo emerge de la región antero ventral alargada de la concha y sondea la arena rápidamente para afianzarse (Narchi, 1981). La posición vertical del individuo normalmente se logra mediante una única secuencia de

excavación, que posiciona a la almeja directamente hacia abajo sin movimiento de balanceo (Narchi, 1981). Narchi (1981), asegura que la almeja amarilla posee un canal de desechos, en el que se pueden acumular pseudoheces sin interferir con el flujo agua a través del canal de inhalación. El canal de desechos está cubierto por el pliegue del manto que termina posterior a la membrana sifonal. La estructura de la membrana sifonal evolucionó en animales de excavación poco profundas como una adaptación a la vida en el agua salada, y a los hábitats en los cuales la acción de las olas levanta grandes cantidades de sedimentos. Los pliegues del manto y el canal de desechos terminan detrás de la membrana sifonal y los desechos acumulados se expulsan a través del sifón de inhalación de la manera habitual.

La explotación de la almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) comenzó en el año 1940 y a mediados de los 80 la pesquería sufrió un proceso de sobreexplotación (Azambuja y Egüez, 2020). Entre el 1987 y 1993 la pesquería funcionó bajo un proceso de comanejo no institucionalizado (D'Ambrosio et al. 2020 (b)). En 1994 ocurrió una mortandad masiva donde aproximadamente 750.000 almejas, ca. 9 toneladas murieron en un día con registro de necrosis según lo reportado por pescadores, del cual hasta la actualidad se desconocen el o los motivos de dicha mortandad (D'Ambrosio et al. 2020 (a) y D'Ambrosio et al. 2020 (b)). En 2009 se reabrió la pesquería centrándose principalmente durante la época estival, bajo el proceso de co-manejo entre los pescadores (integrada por 39 almejeros permisarios) y la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA); conformándose en el año 2012 el Consejo de Pesca con el propósito de generar un espacio consultivo para el manejo de este recurso (D'Ambrosio et al. 2020 (a) y D'Ambrosio et al. 2020 (b)). De esta manera se consigue potenciar los conocimientos científicos que aportan las autoridades, con los conocimientos de los pescadores locales que trabajan de forma familiar desde hace al menos tres generaciones (D'Ambrosio et al. 2020 (b)). D'Ambrosio y colaboradores (2020) (a) aseguran que, a pesar de los esfuerzos por la mejora en el manejo de esta pesquería, la misma se ve afectada frecuentemente por factores como: eventos de marea roja, que requieren la clausura de la pesquería; y la exposición del recurso a los eventos climáticos,

como el aumento del nivel del mar que generan inaccesibilidad hacia el recurso.

La explotación de la almeja amarilla es regulada por DINARA, la cual evalúa anualmente su biomasa para la apertura de la pesquería. Se establece una Biomasa Comercial Total Extraíble la cual es repartida en cupos iguales a aquellos pescadores autorizados, los mismos deben de hacer una entrega de Parte de pesca con el registro de las capturas y horas de peca (esfuerzo) (Resolución N° 10/2023, DINARA). La apertura de la pesquería de la almeja amarilla es en época estival de acuerdo con las densidades de las almejas en esta época (Defeo et al. 1986). El consumo de la almeja amarilla se ha valorado notoriamente, convirtiéndose con el correr de los años en un producto gastronómico codiciado en la zona costera (Proverbio et al. 2019).

A pesar de la importancia comercial de esta especie y de su consumo en el mercado gastronómico en Uruguay, hasta el momento no se han realizado estudios sobre los posibles impactos de las sustancias de productos farmacéuticos y de higiene personal en la almeja amarilla. La realización de este trabajo tiene como fin abrir una puerta hacia el entendimiento del comportamiento de la almeja amarilla hacia estos contaminantes, y que a su vez brinde la posibilidad de comenzar a implementar esta metodología en futuros estudios en Uruguay.

HIPOTESIS

La playa con mayor actividad antropogénica y afluencia de aguas residuales (Playa Puimayen) presentará mayores concentraciones de PPCPs, afectando de forma directa a la subpoblación de almejas amarillas que se muestreo en ella.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar la presencia de filtros UV y fragancias asociadas en músculo de almeja amarilla, provenientes de dos playas que presentan diferentes grados de presiones antropogénicas; con el fin de evaluar el potencial riesgo asociado a su consumo.

Objetivos específicos

1. Evaluar la concentración de los filtros UV según la talla de la almeja amarilla de dos subpoblaciones.
2. Comprobar la posible afectación de las poblaciones de almeja amarilla por los filtros UV y fragancias asociadas, según la intensidad de las actividades recreacionales en las playas.
3. Reevaluar la normativa vigente de filtros UV y fragancias asociadas para los moluscos bivalvos en el país.
4. Crear una lista de recomendaciones para la gestión que aporte a la futura toma de decisiones respecto a la almeja amarilla y los PPCPs.

METODOLOGIA

Zona de estudio

La pesquería de la almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) en Uruguay se sitúa entre La Coronilla y la Barra del Chuy en el departamento de Rocha, abarcando una franja costera de 20km (Azambuja y Egüez, 2020) (Ver figura 2). La almeja amarilla habita en la zona intermareal de playas arenosas disipativas, estas playas presentan pendiente suave y arena fina, la zona de swash es amplia lo que genera una disminución en la energía de la ola (Maneiro, 2014). El diseño de muestreo de este trabajo busca determinar si existen diferencias significativas en la afectación de la almeja amarilla, cuando las poblaciones se ubican en zonas de afectación antrópica contrastante. Para

ello se seleccionaron estratégicamente 2 playas que contrastan debido a su interacción con el turismo y las actividades recreacionales realizadas en las mismas. Las muestras de almejas utilizadas para este trabajo pertenecen a dos subpoblaciones diferentes de las siguientes playas: La playa “Barra-Puimayen” ubicada en la Barra del Chuy con una población de 370 habitantes (Municipios de Uruguay- Barra del Chuy), presenta una extensión de 4.5km. La selección de esta playa se basó en su cercanía a la población de la Barra del Chuy, y la concurrencia de turistas y locatarios para su uso recreacional. La Barra-Puimayen se ve expuesta principalmente a dos descargas importantes de contaminación: la desembocadura del arroyo Chuy (límitrofe entre Uruguay y Brasil) que presenta problemas de contaminación hace más de 20 años y la falta de saneamiento en la localidad de la Barra del Chuy, que genera diversas fuentes de aguas servidas que llegan a la costa (Hernández y Beretta, 2019). La playa “La Maciega” se ubica frente a la pequeña localidad de Palmares de la Coronilla, con una población de 10 habitantes (Municipios de Uruguay-Coronilla). Se ubica aproximadamente a 6 Km al sur de la Barra del Chuy y a 7 Km al norte de la localidad de La Coronilla. La Maciega presenta una extensión de 5Km y se caracteriza por ser una zona de pesca deportiva y de baja concurrencia turística para diferentes actividades recreacionales debido a su lejanía a ambos poblados. Debido a la falta de saneamiento en la localidad de Palmares de la Coronilla, se podría estar generando una pequeña fuente de contaminación de aguas servidas sobre La Maciega.

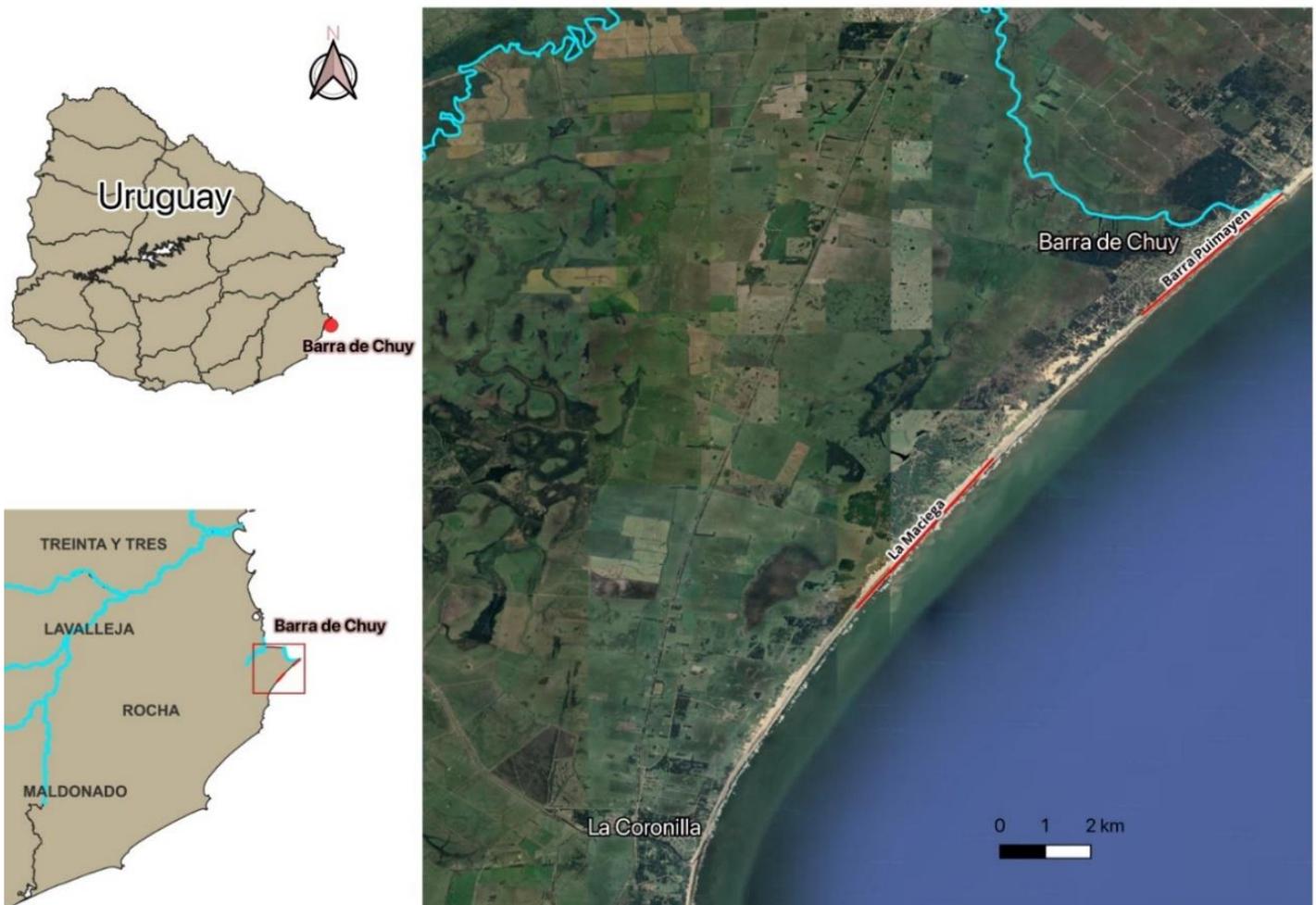
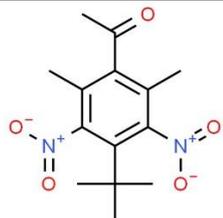
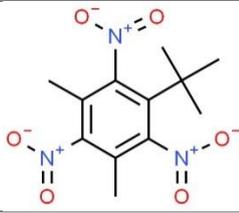
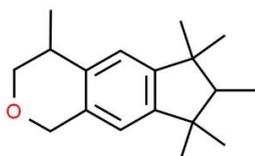
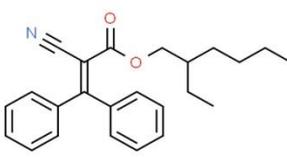
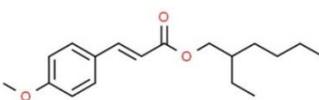


Figura 2. Zona de muestreo de ambos subgrupos de almeja amarilla. Barra Puimayen y La Maciega.

Filtros UV y fragancias

Para este trabajo se seleccionaron 2 filtros UV orgánicos y 3 fragancias. Filtros UV orgánicos: Octocrileno ($C_{24}H_{27}NO_2$) que pertenece al grupo de los Crlenos; y Octinoxato ($C_{18}H_{26}O_3$) perteneciente al grupo Cinamatos. Fragancias: Galaxolide ($C_{18}H_{26}O$) pertenece al grupo de las Fragancias Policíclicas, musk Cetona ($C_{14}H_{18}N_2O_5$) y musk xileno ($C_{12}H_{15}N_3O_6$) pertenecen al grupo de las Fragancias nitradas (Rainieri et al. 2016; Cadena, 2022) (Ver tabla 3).

Tabla 3. Grupo, CAS, masa molecular, Log Kow, estructura química y molecular de los filtros UV orgánicos y las fragancias.

Grupo	Filtro UV/Fragancia	Estructura molecular	Masa molecular (g/mol)	CAS	Log Kow
Fragancias Nitradas	Musk Cetona		294,3	22839-47-0	4,3
	Musk xileno		297,26	81-15-2	4,9
Fragancia policíclicas	Galaxolide		258,4	1222-05-5	5,90
Crilenos	Octocrileno		361,5	6197-30-4	6,88
Cianatos	Octinoxato		290,4	5466-77-3	5,2

Muestreo y tratamiento de muestras

Las muestras de almeja amarilla fueron compradas en el mercado en el mes de mayo del año 2023, las mismas pertenecen a dos playas diferentes: “Barra Puimayen” y “La Maciega”. Se sometieron a un proceso de depuración por 72 horas, aireadas, en tarrinas de 20 litros a una salinidad de 30 g/L y temperatura de 19°C. Ambas subpoblaciones fueron medidas en longitud (LT) con calibre y agrupadas por tallas en las siguientes medidas: <54 mm, 55- 56 mm, 57- 58

mm, > 59 mm y Bulk. Las muestras de los Bulks se realizaron mezclando los individuos de todas las tallas de sus respectivas playas de muestreo, con el fin de generar matrices para ambas playas al no contar muestras blanco.

Los individuos fueron pesados en balanza analítica, primero con valva para obtener la “Masa Total” (MT), luego las valvas fueron retiradas y se obtuvo el peso de la “Masa del músculo mojado” (MMM) del cuerpo (Ver tabla 4, 5 y 6). Las muestras fueron almacenadas en bolsas de cierre hermético y llevadas al freezer a -18° C hasta ser liofilizadas.

Las muestras se congelaron a -50° C en el liofilizador por 24 horas, y luego se liofilizaron hasta masa constante (Ver anexo 3). Las muestras de ambos subgrupos se pesaron nuevamente para obtener la “Masa del Musculo Seco” (MMS) de cada grupo de tallas y se calculó el porcentaje de agua perdida. Luego se procedió a la molienda con mortero de las muestras (Ver tabla 7). Las muestras fueron almacenadas en tubos de centrifuga de 50 mL (Ver figura 3).



Figura 3. Proceso del tratamiento de las muestras.

Tabla 4. Longitud (mm), masa total (valva/musculo) (g) y masa del musculo mojado (g) para cada individuo, agrupados en: <54 mm, 55-56 mm, 57-58 mm y >59 mm. Peso total por grupo para MT y MMM para la playa La Maciega.

Playa La Maciega											
Hasta 54 mm			55 - 56 mm			57-58 mm			mas de 59 mm		
LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)
53	12,7385	3,3843	55	15,8293	4,3633	58	16,2228	4,469	60	14,252	7,4896
53	12,2378	3,5986	56	15,0240	3,7594	58	17,1114	4,3486	59	16,3161	3,4938
51	11,3878	2,773	56	14,4924	4,1447	58	16,4287	4,4288	60	18,0946	4,2536
52	12,1568	3,1229	56	14,6148	4,1947	58	16,8908	4,6528	61	18,8226	5,2811
53	12,4616	3,6717	56	14,2896	3,6009	58	16,4138	4,0713	60	17,5562	4,7599
54	13,8556	3,9903	55	16,5934	4,292	57	15,1165	3,8414	61	16,9134	4,5950
53	13,0339	3,4976	56	15,6411	4,2897	58	15,5964	4,702	61	20,3568	4,5938
52	11,4552	2,941	55	15,1622	4,0727	57	15,2149	3,6167	60	16,4798	4,6661
54	13,8294	3,7362	55	15,0504	3,8602	57	15,6727	4,7822	60	16,6500	5,0601
54	13,7790	4,0133	55	14,2610	3,9928	57	15,1229	4,5968	59	18,2147	4,5512
51	10,9255	2,9319	55	13,0556	3,5297	58	14,9784	3,9905	59	16,9065	4,8256
54	12,4855	2,9706	56	14,1904	4,1025	58	15,3913	4,3019	60	19,2122	5,4593
49	8,95250	1,8939	55	15,2154	3,9613	58	14,8509	3,7074	60	16,9498	4,6762
53	11,6564	2,7204	55	15,4634	3,9557	57	15,6988	4,3395	60	16,7844	4,1373
53	12,6742	3,272	56	15,0902	3,5611	57	15,3919	4,0173	59	16,4155	4,5822
			56	14,9876	4,7454	57	15,1756	4,5211	59	16,6481	4,4412
Total	183,6297	48,5177		238,9608	64,4261		251,2778	68,3873		276,5727	76,8660

Tabla 5. Longitud (mm), masa total (valva/musculo) (g) y masa del musculo mojado (g) para cada individuo, agrupados en: <54 mm, 55-56 mm, 57-58 mm y >59 mm. Peso total por grupo para MT y MMM para la playa Barra Puimayen.

Playa Barra Puimayen											
Hasta 54 mm			55 - 56 mm			57-58 mm			mas de 59 mm		
LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)
51	11,1093	2,614	56	12,9044	2,9668	57	15,0390	3,4500	65	21,4375	6,3953
52	11,9590	2,7401	55	13,3766	3,4014	58	14,9237	3,2427	61	19,7472	5,4806
54	12,3954	2,5945	56	14,6000	3,8234	58	15,9489	4,4910	59	17,7414	4,1952
53	13,5912	3,2372	56	14,6077	3,6581	57	16,2188	4,3939	60	17,5324	4,4535
54	12,7034	2,8869	55	14,0733	3,3458	57	14,7052	4,2003	60	18,5938	4,7020
51	11,2978	2,7893	55	13,4301	3,4202	57	15,6221	4,1614	62	18,4580	5,0250
53	11,9119	2,9208	56	13,9113	3,5221	57	17,1772	4,7894	59	17,2382	4,4107
54	14,4451	3,3752	55	13,9134	3,6168	57	15,5999	3,5747	59	16,1360	4,1405
53	11,4553	2,7426	55	14,1600	3,5869	58	16,3580	3,5833	59	17,2780	4,1514
42	6,59910	1,4186	56	14,5363	3,4526	58	15,4747	3,7452	59	15,6609	3,4793
51	11,7725	3,4333	55	14,0684	3,7772	57	15,4019	3,3521	59	18,1839	4,5715
52	12,3421	2,532	55	14,5119	3,5493	58	17,3238	4,5561	60	16,9404	4,0678
52	12,7949	2,8755	55	13,3527	3,2910	58	15,0288	3,2371	60	16,7415	4,5895
54	12,6336	3,2701	56	13,8067	3,2445	57	15,9204	3,7201	59	16,1430	3,6701
53	12,8366	3,1987	56	13,9046	3,5554	58	16,3912	3,8794	60	16,0309	3,7120
54	12,4248	2,7575	56	13,8238	3,4431	57	16,6973	4,0748			
Total	192,2720	45,3863		222,9812	55,6546		253,8309	62,4515		263,8631	67,0444

Tabla 6. Promedio de: longitud (mm), masa total (valva/musculo) (g) y masa del musculo mojado (g) para el Bulk de las playas Barra Puimayen y La Maciega.

Playa Barra Puimayen (Bulk)			Playa La Maciega (Bulk)		
LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)	LT (mm)	Masa total (valva-musculo)(g)	Masa musculo (mojado)(g)
56	14,4755	3,6058	57	15,9766	4,2442

Tabla 7. Pesos totales de las MMM y las MMS, para todos los grupos (<54 mm, 55- 56 mm, 57- 58 mm, > 59 mm y Bulk) para las playas Barra Puimayen y La Maciega.

Playa Barra Puimayen			
LT (mm)	Masa musculo (mojado)(g)	Masa musculo (seco)(g)	% de agua perdida
< 54	45,3863	12,6263	72,18
55- 56	55,6546	11,1230	80,01
57-58	62,4515	13,1574	78,93
>59	67,0444	13,7003	79,56
Bulk	155,0494	30,4070	80,38
Playa La Maciega			
LT (mm)	Masa musculo (mojado)(g)	Masa musculo (seco)(g)	% de agua perdida
< 54	48,5177	8,9086	81,63
55- 56	64,4261	12,4050	80,74
57-58	68,3873	13,0134	80,97
>59	76,8660	13,4333	82,52
Bulk	152,7911	28,4250	81,40

Preparación de muestras y análisis

QuEChERS

En el año 2003, Michelangelo Anastassiades (Alemania) y Steven J. Lehotay (Estados Unidos) publicaron el paper “Fast and easy multi-residue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce”, en el cual se desarrolla QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) para la extracción de diferentes tipos de residuos de pesticidas en frutas y vegetales (Anastassiades y Lehotay, 2003; González et al. 2015; Pareja et al. 2022). El método QuEChERS consiste en dos pasos, uno de extracción sólido-líquido en presencia de sales, y otro de clean-up, donde se purifica el extracto, eliminando la mayor cantidad de coextractivos posible (Pareja et. al. 2022). Con el correr

de los años se han desarrollado modificaciones al método original, que se usan dependiendo de las características fisicoquímicas de los componentes a evaluar (Pareja et. al. 2022; García-Vara et al. 2023).

Para la determinación de los filtros UV y las fragancias en Almeja Amarilla se realizó una extracción tipo QuEChERS Citrato modificado (Pareja et al. 2022), adaptada de Picot Groz et. al. 2014 y Martínez Bueno et al. 2013. En el cual, 2g de muestra liofilizada de cada grupo de tallas de ambos subgrupos de almeja amarilla fueron pesados en un tubo de centrífuga de polipropileno de 50mL. Se les adicionaron 10mL de agua Tipo 1 y se agitaron en Vortex durante 30s. A continuación, se le añadieron 10mL de acetato de etilo (AcOEt) y se agitó manualmente durante 2 minutos. Luego de la agitación, se le añadió: 4g de Na₂SO₄ anhidro, 1g de NaCl, 1g de Na₃Cit:2H₂O y 0.5g de Na₂HCit:3H₂O, volviéndose a agitar manualmente durante 1 minuto, y se centrifugó a 3500rpm durante 5 minutos. Se tomaron 2 mL de la capa superior, los cuales fueron transferidos a un nuevo tubo de centrífuga de 15mL para el clean-up, con 750mg Na₂SO₄, 125mg Bondesil-C18 y 125mg PSA. Posteriormente, se agitó manualmente durante 1 minuto y se centrifugó durante 5 minutos a 4000rpm. 1mL se transfirió a un vial filtrándose por filtro de jeringa de 0,45um de PTFE (Ver anexo 2).

Condiciones del equipo GC-MS

Los extractos anteriormente obtenidos fueron analizados mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), utilizando para ello un GC Agilent Technologies 7890B acoplado a un MS Agilent Technologies 5977B, y columna capilar Thermo Scientific GC TraceGOLD TG-5MS (30m × 0.25mm y 0.25µm). 1 µL fue inyectado en modo Splittles a 150° C. Helio fue usado como carrier. La temperatura de inicio fue mantenida a 150° C durante 2 minutos, subiendo 10° C por minuto hasta llegar a las 310° C, manteniendo la temperatura por 5 minutos, con un tiempo de corrida 23 minutos. El detector de masas se operó en modo de ionización por impacto de electrones con una energía de ionización de 70 eV. El GC-MS fue usado en el método de detección full-scan, escaneando desde m/z 50 hasta 500 a partir del minuto 3, se definieron los iones de cuantificación y cualificación para los estándares y los tiempos de salida para los picos. Luego

de definido los iones y los tiempos, el GC-MS fue utilizado en modo “Selective ion monitoring” (SIM). Para todos los análisis se utilizó una temperatura de fuente de 250° C y una temperatura de cuadrupolo de 150° C.

Para la evaluación de los resultados obtenidos se utilizó la norma SANTE/11945/2015, siguiendo los siguientes criterios (Ver tablas 8 y 9) (European Commission, 2015).

Tabla 8. Requisitos de identificación para diferentes técnicas de MS (European Commission, 2015).

Detector MS*/características	Sistemas típicos	Adquisición	Requerimientos para la identificación	
			Número mínimo de iones	Otros
Unidad de resolución de masa	Cuadrupolo	Full-scan, rango limitado de m/z, SIM**	3 iones	Los picos de analito en los cromatogramas de iones extraídos deben superponerse completamente. Relación de iones dentro de $\pm 30\%$ (relativo) del promedio de los estándares de calibración de la misma secuencia

Tabla 9. Parámetros y criterios de validación (European Commission, 2015).

PARAMETROS	QUÉ/ CÓMO	CRITERIO
EFFECTO MATRIZ	Comparación de la respuesta de los estándares solventes y los estándares matriz en combinación	(±20 %)
LOQ***	Nivel de pico más bajo que cumple con los criterios de rendimiento del método en cuanto a veracidad y precisión	≤ MRL *****
VERACIDAD	Recuperación promedio para los niveles de picos utilizados	70-120%
PRECISIÓN RSD****	Repetibilidad RSD para niveles de picos utilizados	≤ 20%

MS*- mass spectrometry (espectrometría de masas)

SIM**- Selective ion monitoring (monitoreo selectivo de iones)

LOQ***- Limit of quantitation (límite de cuantificación)

RSD****- Relative standard deviation (desviación estándar relativa)

MRL *****- Maximum residue levels (nivel máximo de residuos)

El efecto matriz se calculó de la siguiente manera:

% efecto matriz

$$= \frac{\text{pendiente de la curva matriz} - \text{pendiente de la curva solvente}}{\text{pendiente de la curva solvente}} \times 100$$

(Cerqueira et al. 2014)

Y se evaluó según las categorías dictados en la tabla 10 (Ver tabla 10):

Tabla 10. Porcentajes del efecto matriz para los niveles: suave, moderado y fuerte.

Niveles de efecto matriz	%
Suave	< 25
Moderado	25-50
Fuerte	> 50

RESULTADOS y DISCUSION

Como resultado se definieron los iones de cuantificación y cualificación para todos los estándares y los tiempos de salida para los picos (Ver tabla 11), que previamente se habían seleccionado de la búsqueda bibliográfica.

Tabla 11. Tiempo de retención, iones de cuantificación y cualificación para todos los estándares.

Filtro UV/ Fragancia	Tiempo de retención (min)	Ion de cuantificación (m/z)	Iones de cualificación (m/z)	Ventana (min)
Galaxolide	8,61	282	297,283	7,5- 9,4
Musk Xileno	8,68	243	213, 258	
Musk Cetona	9,88	279	191, 294	9,4- 12,0
Octinoxato	12,84	178	161, 290	12,0- 14,2
Octocrileno	15,65	232	360, 248, 249	14,2- 17,0

No fue posible detectar señal para ninguno de los analitos en el nivel de 10 ppb (0,01 µg/g), por lo cual se optó por elevar el nivel más bajo de la curva para los análisis posteriores. Finalmente se trabajó con curva de calibración externa de 50 ppb (0,05 µg/g), 100 ppb (0,1 µg/g), 200 ppb (0,2 µg/g), 300 ppb (0,3 µg/g) y 500 ppb (0,5 µg/g) para todos los estándares. Con excepción del musk xileno que se le añadieron dos concentraciones (800 ppb (0,8 µg/g) y 1000 ppb (1

µg/g)), debido a que los niveles de 10 ppb (0,01 µg/g), 50 ppb (0,05 µg/g) y 100 ppb (0,1 µg/g) no presentaron señal detectable.

Para la evaluación del efecto matriz y la comparación del comportamiento de los analitos en las distintas matrices se hicieron curvas en solvente y en matriz para las matrices de ambas playas (Barra Puimayen y La Maciega).

Arrojando como resultado que: el musk cetona presenta un efecto suave pero negativo sobre la curva solvente para las matrices de ambas playas y el musk xileno presentó el mismo comportamiento (Ver figura 4 y 5). El galaxolide presenta un efecto suave y positivo sobre la curva solvente para las matrices de ambas playas (Ver figura 6). El octocrileno presenta un efecto fuerte y positivo sobre la curva solvente para las matrices de ambas playas (Ver figura 7) y el octinoxato presenta un efecto moderado y positivo sobre la curva solvente para las matrices de ambas playas (ver figura 8) (ver tabla 12).

Tabla 12. Efecto matriz de todos los estándares para las playas La Maciega y Barra Puimayen.

Filtros UV/Fragancias	Efecto matriz (La Maciega)	Efecto matriz (Barra Puimayen)
Musk cetona	-12	-15
Musk xileno	-28	-33
Galaxolide	19	10
Octocrileno	59	55
Octinoxato	49	36

De esta manera, se comprobó que las matrices de ambas playas tuvieran comportamientos comparables para la realización de una misma curva en matriz.

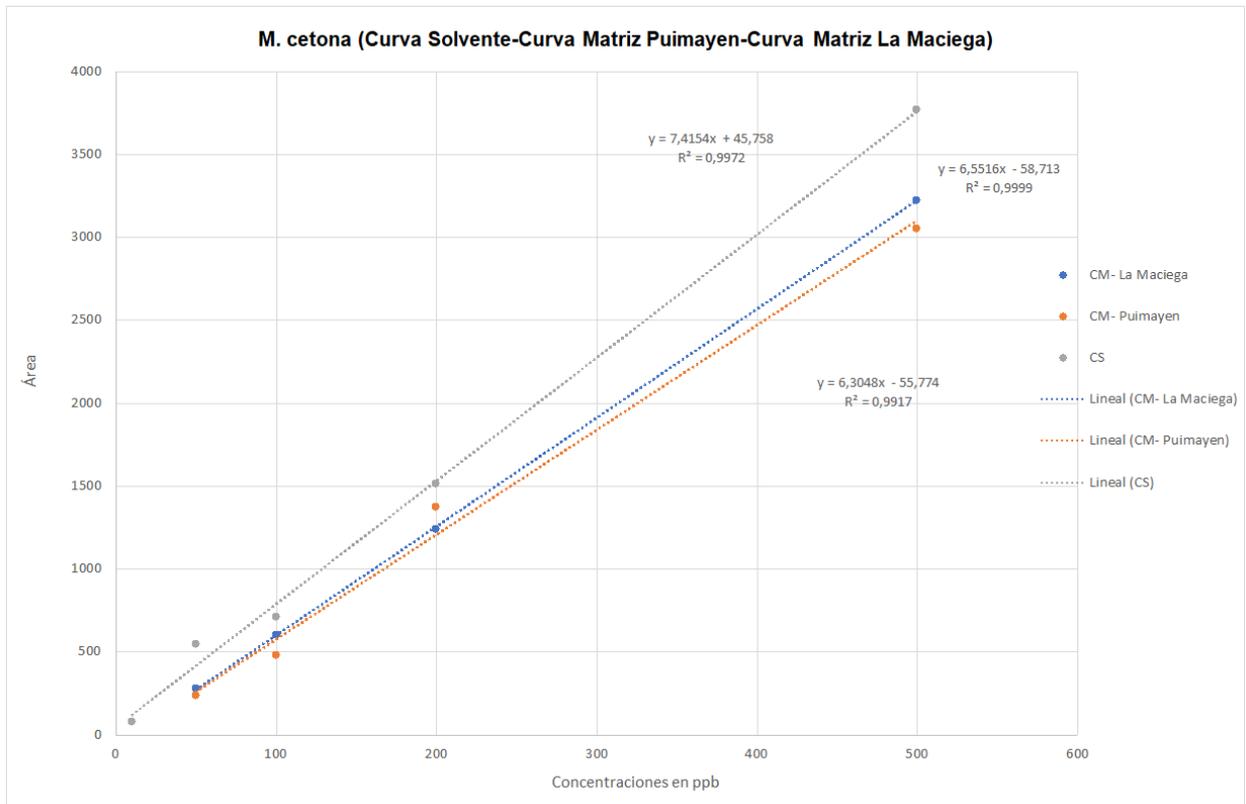


Figura 4. Musk cetona. Efecto matriz de las curvas matriz de las playas Barra Puimayen y La Maciega sobre la curva solvente del estándar musk cetona.

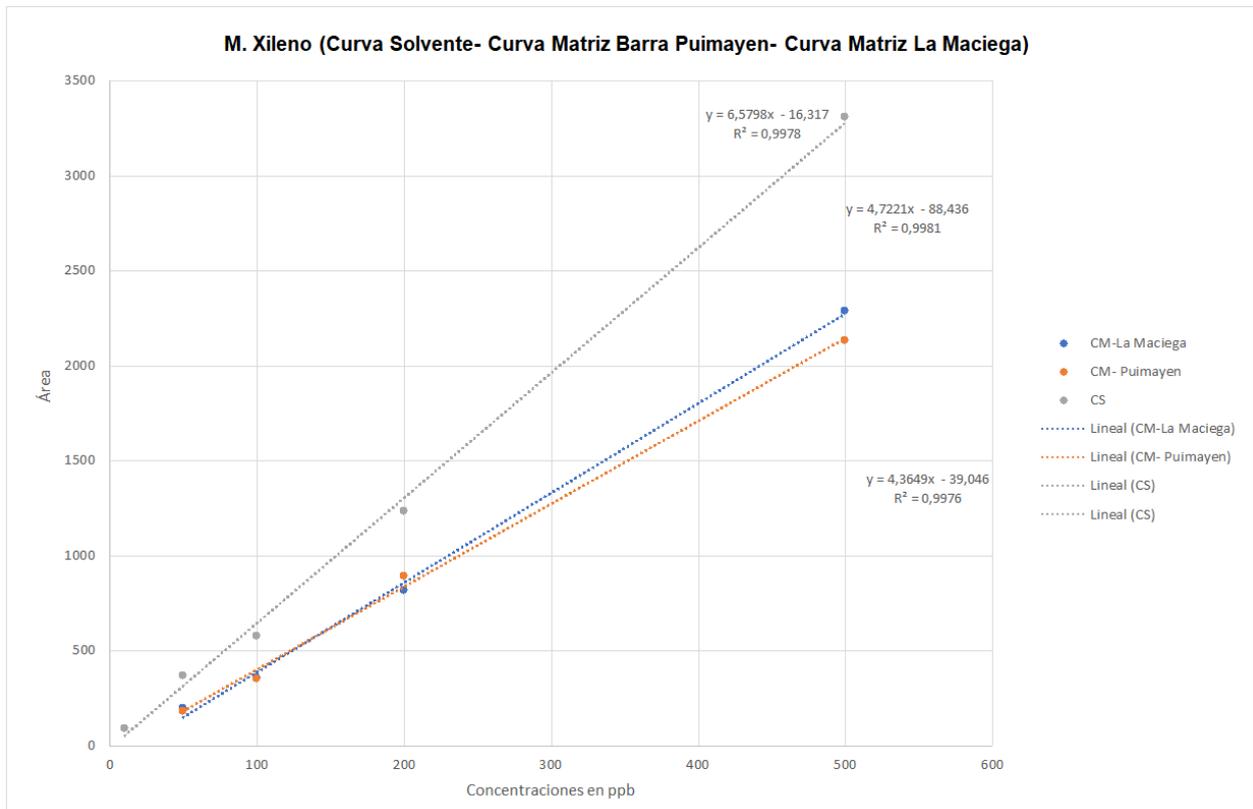


Figura 5. Musk xileno. Efecto matriz de las curvas matriz de las playas Barra Puimayen y La Maciega sobre la curva solvente del estándar musk xileno.

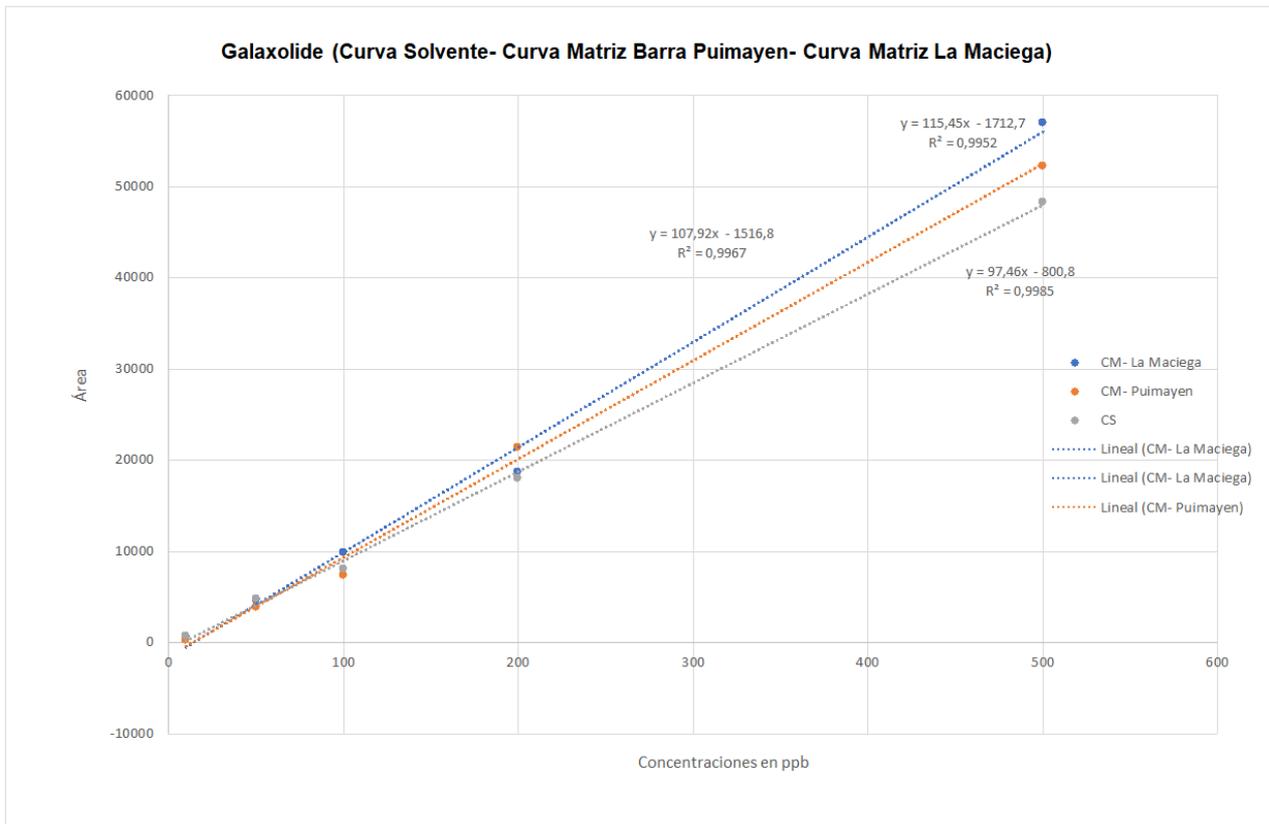


Figura 6. Galaxolide. Efecto matriz de las curvas matriz de las playas Barra Puimayen y La Maciega sobre la curva solvente del estándar galaxolide.

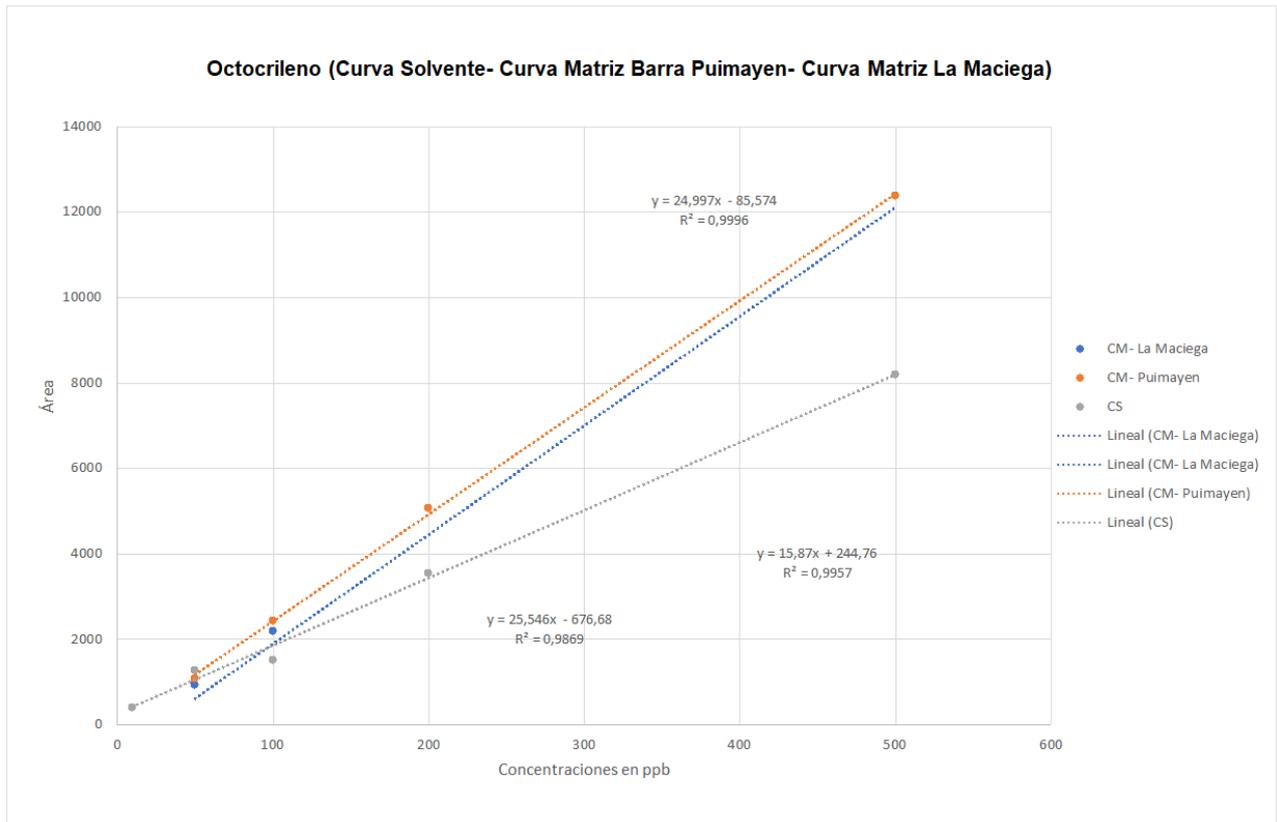


Figura 7. Octocrileno. Efecto matriz de las curvas matriz de las playas Barra Puimayen y La Maciega sobre la curva solvente del estándar octocrileno.

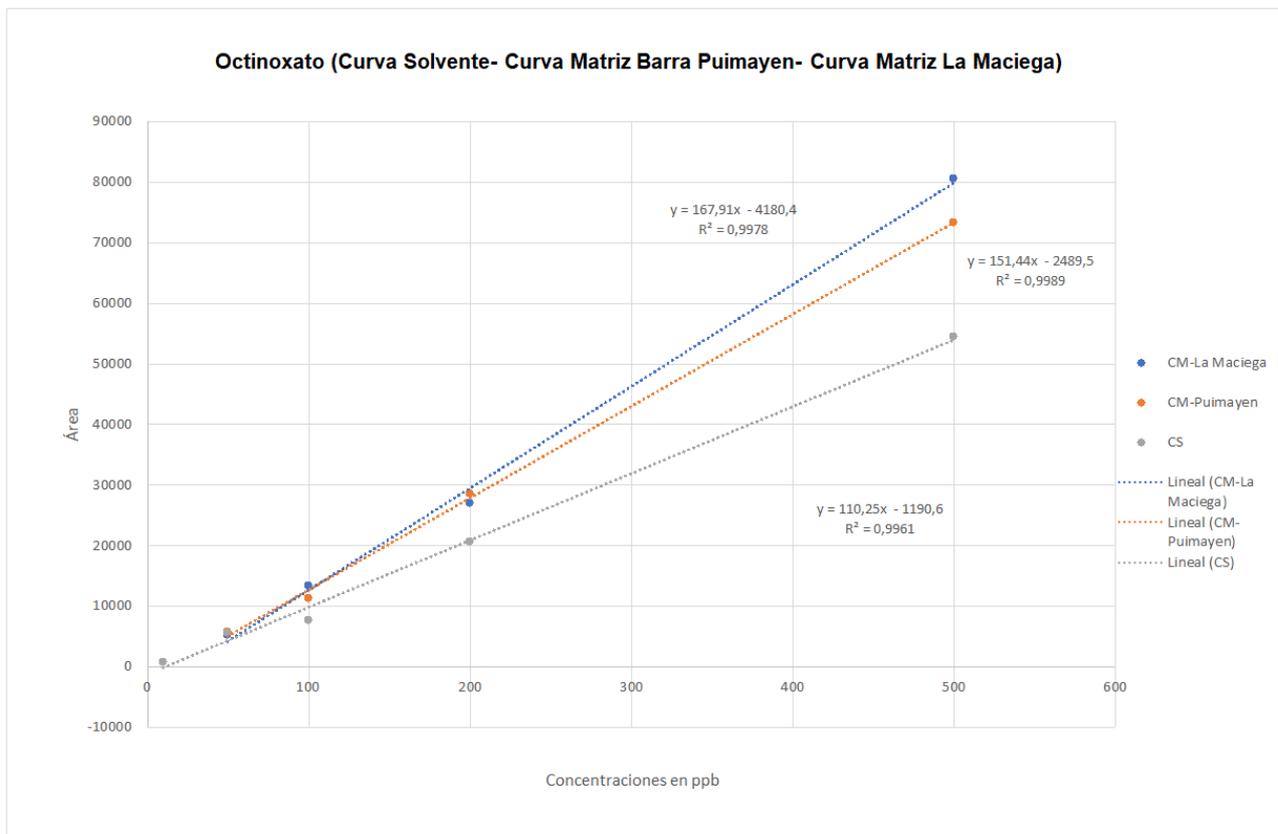


Figura 8. Octinoxato. Efecto matriz de las curvas matriz de las playas Barra Puimayen y La Maciega sobre la curva solvente del estándar octinoxato.

Mediciones de los filtros UV y fragancias asociadas en la almeja amarilla de las playas Barra Puimayen y La Maciega

Se evaluaron los 5 analitos para las playas Barra Puimayen y La Maciega para todas las tallas de almejas (<54 mm, 55-56 mm, 57-58 mm y >59 mm) por duplicado. No se detectó señal para ninguno de los analitos en la playa La Maciega en ninguna de las tallas de almejas. Esto podría atribuirse a la ausencia de bañistas y actividad recreacional de la zona, un hecho que se repite en diversos trabajos citados en la bibliografía en diferentes especies de bivalvos.

La ausencia en la detección de señal para el musk xileno en ambas playas, puede deberse a que la señal de detección (LOD) de esta fragancia es muy alta (200 ppb = 0,2 ug/g), sería oportuno seguir el comportamiento de este contaminante con muestras de verano. El musk xileno tiene restricción en su uso desde el año 2011 en la Unión Europea debido a su potencial efecto sobre

el ambiente, éste y el musk cetona se encuentran en el anexo III de la Directiva sobre cosméticos para sustancias restringidas (Moreira, 2016).

El único analito encontrado en las almejas fue el filtro UV Octinoxato, de las muestras pertenecientes a la playa Barra Puimayen en las tallas de 55- 56 mm. La concentración encontrada está por encima del límite de detección (> LOD), pero por debajo del límite de cuantificación (< LOQ) para la concentración de este analito (50 ppb = 0,05 ug/g). Las actividades antropogénicas sobre esta playa son mayores que para la playa La Maciega, por lo cual se le podría atribuir a este hecho que se detectara señal únicamente para los individuos de esta zona. Esto podría ser un indicio de que la especie *Amarilladesma mactroides* bioacumula filtros UV, ya que las muestras fueron compradas en el mes de mayo y las presiones antropogénicas ya habían disminuido respecto a la estación estival. La vida media de los filtros UV en el ambiente depende de muchos factores físicos y químicos, pero según los resultados encontrados en el trabajo de O'Malley et al. (2021) en el que estudia la vida media para el octocrileno y octinoxato entre otros filtros UV, indicaría que su duración en los ambientes acuáticos es de menor a un día. Esto podría decirnos que la detección de señal del octinoxato para la almeja amarilla en este trabajo, representa la posibilidad de que el contaminante ya estuviese acumulado en los individuos desde los meses previos a su compra.

La metodología utilizada para este trabajo no logró cuantificar las fragancias nitradas a concentraciones bajas. Por lo cual, se recomienda considerar la implementación de otras metodologías si se desea cuantificar estos compuestos en muestras ambientales.

En las últimas décadas, las poblaciones de almeja amarilla han sufrido eventos de mortalidades masivas, sobrepesca y otras actividades antropogénicas (Gauthier et al. 2022). Por lo tanto, es de vital importancia hacer un seguimiento periódico a través de muestreos que permitan saber si la posible bioacumulación de los PPCPs presenta una tendencia estacional (Cadena et al. 2022).

Según la bibliografía consultada hay una posible persistencia del filtro UV octinoxato sobre el filtro UV octocrileno en bivalvos el cual hasta el momento no

se ha podido explicar por los valores de Log Kow (5.8 y 6.88 respectivamente) o las fuentes de contaminación a la que los individuos se ven expuestos (Bachelot et al. 2012); lo que refuerza la necesidad de una continuidad en el estudio de las almejas en el largo plazo.

No existe a nivel mundial una legislación que regule los límites permitidos para PPCPs en moluscos bivalvos, todas las regulaciones consultadas para este trabajo se basan en los límites máximos permitidos para productos de higiene personal y cosmética en general. Dejando un vacío legal en la decisión de los límites permitidos de filtros UV y fragancias, que cumplan con los requisitos buscados en los productos de higiene y cuidado personal, y que a su vez cuiden la salud de los ecosistemas marinos.

Es importante que en Uruguay se genere una legislación que clasifique las zonas de extracción de la almeja amarilla y moluscos bivalvos según el impacto que reciben por parte de los PPCPs y que estas zonas sean monitoreadas con regularidad. Esto permitiría una mejor gestión respecto a los posibles impactos generados por los contaminantes en el ambiente marino y en los bivalvos. Es necesario tener un claro conocimiento de los posibles efectos anatómicos y fisiológicos de los PPCPs en la almeja amarilla para asegurar su conservación. Además, la especie representa un recurso pesquero que está en pleno auge de consumo a nivel nacional; y la ingesta de este producto contaminado por PPCPs podría generar una amenaza para la salud humana.

La ausencia de estudios previos realizados en el país sobre los PPCPs en la almeja amarilla no permite hacer comparaciones de comportamiento respecto a los encontrados en este trabajo, pero alienta a un seguimiento en el futuro que aporte a la toma de decisiones para la gestión y la evaluación del recurso como pesquería.

La posible bioacumulación de los filtros UV y fragancias detectada en las almejas, posiblemente no reflejen la realidad de los niveles de concentración a los que están expuestos los individuos. Sino que debería considerarse la biotransformación metabólica y/o la biodegradación que puede producirse en el organismo y en el medio marino (Gomez et al. 2021). Se deben considerar las evaluaciones de los contaminantes emergentes como lo son los filtros UV en

combinación con otros estresores (ej. temperaturas más altas) para obtener una mayor comprensión del comportamiento de los individuos y los contaminantes (Bordalo et al. 2023).

Es importante considerar la persistencia, bioacumulación y toxicidad de los filtros UV y fragancias para la toma de decisiones de nuevas normativas y/o modificaciones en las mismas (Wang et al. 2023).

El claro entendimiento de las interacciones y transformaciones de los contaminantes de los productos comúnmente utilizados por los seres humanos (PPCPs) permitirá la selección de métodos apropiados para la conservación del medio ambiente acuático y sus organismos (Łobos-Moysa et al. 2022).

Se debe readaptar la funcionalidad de las plantas de tratamiento existentes en el país y las nuevas a implementar, para poder garantizar la eliminación de los filtros UV y las fragancias, impidiendo su llegada al medio acuático y evitar así los daños sobre el ambiente (Cadena et al. 2022) y posible daños sobre el ser humano (Wang et al. 2022). Para una evaluación más completa sería vital incorporar monitoreos en los cuerpos de agua y sedimentos (Lee et al. 2014; Aminot et al. 2019), lo que no solo ayudaría a conservar mejor el ambiente sino un gran aporte a futuras actividades acuícolas (Aminot et al. 2019).

No menos importante es gestionar el uso correcto de los protectores solares, evitando así la llegada de cantidades excesivas a los cuerpos de agua y los ecosistemas marinos. Algunas de las medidas a tener en cuenta serían: promover el uso del protector solar únicamente sobre las áreas expuestas al sol, complementando su uso con ropa con fotoprotección, sombrero de ala ancha, anteojos de sol y permanecer el mayor tiempo posible a la sombra cuando se está al aire libre (Narla y Lim, 2019).

Es de urgente necesidad el desarrollo de filtros UV innovadores, que sean seguros para el humano y el ambiente, que tengan eficiencia para la protección de la piel y no sean tóxicos (Jesus et al. 2022).

Control de calidad (QC) y aseguramiento de la calidad (QA)

Se utilizó una curva en matriz corrida al inicio, la cual fue utilizada para la cuantificación. Luego, se agregó una curva en matriz al final de la corrida

analítica, para verificar que las condiciones de medida entre el inicio y el final de la corrida no hayan sufrido cambios.

Siguiendo la norma SANTE, se comprobó que al comparar los valores de cada nivel de ambas curvas (pasada al inicio y al final), diera entre un 70 % y un 120 %.

Para la evaluación de las muestras se hicieron curvas de calibración en matriz en los bulks de ambas playas como una sola matriz al haberse comprobado que presentaban el mismo comportamiento respecto a la curva solvente. Se realizó una curva para el musk cetona, galaxolide, octocrileno y octinoxato, en las siguientes concentraciones: 50 ppb (0,05 ug/g), 100 ppb (0,1 ug/g), 200 ppb (0,2 ug/g), 300 ppb (0,3 ug/g), 500 ppb (0,5 ug/g). Y se realizó otra curva para el musk xileno, con las siguientes concentraciones: 50 ppb (0,05 ug/g), 100 ppb (0,1 ug/g), 200 ppb (0,2 ug/g), 300 ppb (0,3 ug/g), 500 ppb (0,5 ug/g), 800 ppb (0,8 ug/g) y 1000 ppb (1 ug/g).

Se realizaron recuperaciones por triplicado para el musk xileno de 200 ppb y 300 ppb al haberse comprobado que no daba señal en concentraciones bajas durante la primer corrida. Y para los 4 analitos restantes, se realizaron recuperaciones también por triplicado en concentraciones de 50 ppb y 100 ppb.

Todos los analitos recuperaron satisfactoriamente en los niveles evaluados, a excepción del Musk cetona (Ver tabla 13). El límite de cuantificación fue determinado como el menor nivel de recuperación efectiva.

Tabla 13. Recuperaciones de los estándares musk xileno, galaxolide, octocrileno y octinoxato que cumplieron con la norma SANTE.

Filtros UV/ Fragancias	Concentraciones (ppb)	Promedio (%)	% RSD
Musk xileno	200	99	5
	300	79	5
Galaxolide	50	82	5
	100	100	1
Octocrileno	50	85	7
	100	72	18
Octinoxato	50	92	11
	100	102	7

CONCLUSIONES

Se evaluaron dos subpoblaciones de almeja amarilla pertenecientes a dos zonas de extracción, que difieren fuertemente en los impactos antropogénicos recibidos en las mismas. Comprobándose, la presencia de octinoxato en las muestras pertenecientes a la zona más afectada por la concurrencia de turistas y actividades recreacionales (Barra Puimayen) y ausencia de los 5 analitos para la playa que recibe muy pocas presiones antropogénicas (La Maciega).

La presencia del filtro UV octinoxato en la almeja amarilla podría indicar la bioacumulación de los PPCPs en las mismas por haberse analizado luego de las presiones antropogénicas más fuertes; esta señal podría representar la tendencia a bioacumularse en el tiempo debido a que fue detectada en uno de los rangos de talla más grandes.

Por otra parte, la ausencia de detección de analitos en las muestras de la playa La Maciega refuerzan la idea de que la playa Barra Puimayen se ve afectada

por la fuerte afluencia de turistas y las actividades recreacionales llevadas a cabo en la misma.

No existe una legislación que regule filtros UV y/o fragancias asociadas en los moluscos bivalvos en Uruguay. Esto se puede deber al escaso entendimiento del comportamiento de estos contaminantes emergentes. Debido a los resultados encontrados en el presente trabajo, sería de vital importancia crear un marco regulatorio para los PPCPs en moluscos bivalvos.

RECOMENDACIONES PARA LA GESTION

- Crear un plan de monitoreo de filtros UV y fragancias asociadas para todas las zonas de extracción de almeja amarilla. Que sea periódico dentro de las diferentes estaciones a lo largo del año, permitiendo conocer el comportamiento de los individuos ante las diferentes presiones antropogénicas.
- Evaluación de PPCPs en almeja amarilla por rango de tallas (juveniles hasta adultez), para evaluar si a mayor tiempo de vida de los organismos la bioacumulación es más factible. Y contemplar la posibilidad de biomagnificación en la cadena trófica alimenticia.
- Complementar los planes de monitoreo con evaluaciones del entorno: muestras de sedimento y de agua; evaluación de presencia/ausencia de turistas, poblaciones cercanas y de industrias, para un mejor entendimiento del comportamiento de los analitos y los individuos.
- Generar plantas de tratamientos que garanticen la eliminación de PPCPs.
- Difundir información a través de charlas abiertas para concientizar a la población sobre las diferentes consecuencias de los filtros UV y fragancias asociadas en el medio acuático.

BIBLIOGRAFIA

- Aminot, Y., Munsch, C., Héas-Moisan, K., Pollono, C. y Tixier, C. (2021). Levels and trends of synthetic musks in marine bivalves from French coastal areas. *Chemosphere*, 268.
- Aminot, Y., Sayfritz, S., Thomas, K., Godinho, L., Botteon, E., Ferrari, F., Boti, V., Albanis, T., Köck-Schulmeyer, M., Diaz-Cruz, M., Farré, M., Barceló, D., Marques A. y Readman, J. (2019). Environmental risks associated with contaminants of legacy and emerging concern at European aquaculture areas. *Environmental Pollution*, 252, 1301-1310.
- Anastassiades, M. y Lehotay, S. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC international*, 86 (2), 412-431.
- Arpin-Pont, L., Martinez, M., Gomez, E., y Fenet, H. (2014). Occurrence of PPCPs in the marine environment: a review. *Pharmaceuticals in the aquatic environment. Environmental Science and Pollution Research*, (23)4978–499. doi:10.1007/s11356-014-3617-x
- Azambuja, F. y Egüez, R. (2020). Detección de microplásticos en almeja amarilla (*Amarilladesma mactroides*) en la costa rochense (2020) [Tesis de grado, Universidad de la República, Facultad de Veterinaria].
- Bachelot, M., Li, Z., Munaron, D., Le Gall, P., Casellas, C., Fenet, H. y Gomez, E. (2012). Organic UV filter concentrations in marine mussels from French coastal regions. *Science of The Total Environment*, 420, 273–279.
- Barceló, D. y Petrovic, M. (2007). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), 1141–1142.
- Bordalo, D., Cuccaro, A., Meucci, V., De Marchi, L., Soares, A., Pretti, C. y Freitas, R. (2023). Will warmer summers increase the impact of UV filters on marine bivalves? *Science of the Total Environment*, 872.

- Byrro, N., Scavone, F., Fonseca, V., Roselet, F., Romano, L. y Olivera, R. (2023). Towards the Control of the Reproduction of the Yellow Clam *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854) in Captivity: Effects of Different Stimuli on the Spawning of Laboratory-Conditioned and Unconditioned Breeders. *Fishes*, 8(1), 37. <https://doi.org/10.3390/fishes8010037>
- Cadena, M. (2022). Evaluación e impacto de la presencia de filtros ultravioleta orgánicos por actividades antropogénicas en el medio marino costero [Tesis de Doctorado, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria].
- Cadena, M., Montesdeoca, S., Sosa, Z. y Santana, J. (2022). Occurrence and environmental hazard of organic UV filters in seawater and wastewater from Gran Canaria Island (Canary Islands, Spain). *Environmental Pollution*, 300.
- Carve, M., Allinson, G., Nugegoda, D. y Shimeta, J. (2021). Trends in environmental and toxicity research on organic ultraviolet filters: A scientometric review. *Science of the Total Environment*, 773.
- Castro, M., Fernandes, J., Pena, S. y Cunha, S. (2018). Occurrence, profile and spatial distribution of UV-filters and musk fragrances in mussels from Portuguese coastline. *Marine Environmental Research*. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.04.005>
- Cerqueira, M., Guilherme, J., Caldas, S., Martins, M., Zanella, R., y Primel, E. (2014). *Evaluation of the QuEChERS method for the extraction of pharmaceuticals and personal care products from drinking-water treatment sludge with determination by UPLC-ESI-MS/MS*. *Chemosphere*, 107, 74–82.
- Chaves Lopes, F., Rosa de Castro, M., Caldas Barbosa, S., Primel, E. y de Martinez Gaspar Martins, C. (2020). Effect of the UV filter, Benzophenone-3, on biomarkers of the yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) under different pH conditions. *Marine Pollution Bulletin*, 158.
- Chaves, F., Rosa de Castro, M., Toledo, G., da Silveira Guerreiro, A., Caldas Barbosa, S., Gilberto Primel, E., de Martinez Gaspar Martins, C. (2022). Detoxification and effects of the UV filter Benzophenone-3 in the

digestive gland and hemocytes of yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) under a perspective of global warming scenario. *Marine Pollution Bulletin*, 185.

Chaves, F., Toledo, G., Castro, M. y de Martinez, C. (2023). En el congreso Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Latin America 15th Biennial Meeting, Montevideo, Uruguay, 139.

D'Ambrosio, L., Martínez, G., González, V., Keldjian, E., Clavijo, I. y Cuberos, V. (2020) (a). Permanencias, transformaciones y desafíos en dos pesquerías artesanales de la Región Este de Uruguay. Tekoporá. *Revista Latinoamericana de Humanidades Ambientales y Estudios Territoriales*, 2 (1).

D'Ambrosio, L., Martínez, G., Clavijo, I. y Cuberos, V. (2020) (b). Articulaciones del conocimiento ecológico desarrollado en las prácticas de localidad con el conocimiento científico: una etnografía de una pesquería artesanal en Uruguay. Tekoporá. *Revista Latinoamericana de Humanidades Ambientales y Estudios Territoriales*, 2 (2).

Decreto N° 300/017. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (24 de octubre de 2017). <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-originales/300-2017>

Defeo, O., Layerle, C. y Masello, A. (1986). Spatial and temporal structure of the yellow clam *Mesodesma mactroides* (Deshayes, 1854) in Uruguay. *Medio ambiente*, 8, 48-57.

Dong, F., Zheng, M., Wang, H., Jing, C., He, J., Liu, S., Zhang, W. y Hu, F. (2022). Comparative transcriptome analysis reveals immunotoxicology induced by three organic UV filters in Manila clam (*Ruditapes philippinarum*). *Marine Pollution Bulletin*, 185.

European Commission, 2015. Directorate-general for health and food safety. Safety of the food chain, pesticides and biocides. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11945/2015.

- García-Vara, M., Postigo, C., Palma, P. y López de Alda, M. (2023). Development of QuEChERS-based multiresidue analytical methods to determine pesticides in corn, grapes and alfalfa. *Food Chemistry*, 405.
- Gauthier, N., Goes, F., Quaresma, L., Pedrosa, V., Roselet, F., Romano, L. y Cavalli, R. (2022). Design and optimization of an experimental maintenance system for yellow clam broodstock *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854) *Brazilian Journal of Biology*, vol. 82.
- Gómez, M., L. Martín, L., Cantarero, S., Hidalgo, F. y Zafra, A. (2021). Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of UV filters in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the southern coast of Spain. *Microchemical Journal*, 171.
- González, M., Socas, B., Herrera, A., González, J., Hernández, J. y Rodríguez, M. (2015). Evolution and applications of the QuEChERS method. *TrAC, Trends in Analytical Chemistry*, 71, 169–185.
- González, M., Vilas, A., Beiras, R. (2022). Ecotoxicological Evaluation of Sunscreens on Marine Plankton. *Cosmetics*, 9 (20). <https://doi.org/10.3390/cosmetics9010020>
- Grum, T. (22 de agosto de 2019). *Sunscreen regulations across the globe: What industry need to know*. www.cosmeticsdesign-europe.com
- Han, J., Qin, Z., Zhang, J., Wang, W., Wu, J., Lu, Y., y Sun, L. (2021). Acute toxicity and ecological risk assessment of 4,4'-dihydroxybenzophenone, 2,4,4'-trihydroxybenzophenone and 4-MBC in ultraviolet (UV)-filters. [10.1371/journal.pone.0249915](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249915)
- Hernández, D. y Beretta, N. (2019). Calidad de agua del Arroyo del Chuy: percepción y monitoreo. II Congreso de Agua, Ambiente y Energía. Asociación de Universidades Grupo Montevideo. Universidad de la República, Uruguay.
- Jesus, A., Sousa, E., Cruz, M., Cidade, H., Sousa, J. y Almeida, I. (2022). UV Filters: Challenges and Prospects. *Pharmaceuticals*, 15(3), 263. <https://doi.org/10.3390/ph15030263>

- Keerthanan, S., Jayasinghe, C., Biswas, J. K., & Vithanage, M. (2020). Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in the environment: Plant uptake, translocation, bioaccumulation, and human health risks. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(12), 1221–1258.
- Lee, I., Kim, U., Oh, J., Choi, M. y Hwang, D. (2014). Comprehensive monitoring of synthetic musk compounds from freshwater to coastal environments in Korea: With consideration of ecological concerns and bioaccumulation. *Science of the Total Environment*, 1502–1508.
- Lestido-Cardama, A., Petrarca, M., Monteiro, C., Ferreira, R., Marmelo, I., Maulvault, A., Anacleto, P., Marques, A., Fernandes, J. y Cunha, S. (2023). Seasonal occurrence and risk assessment of endocrine-disrupting compounds in Tagus estuary biota (NE Atlantic Ocean coast). *Journal of Hazardous Materials*, 444.
- Levine, A. (2021). Reducing the prevalence of chemical UV filters from sunscreen in aquatic environments: Regulatory, public awareness, and other considerations. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 17(5), 982–988.
- Liu, J. y Wong, M. (2013). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): A review on environmental contamination in China. *Environment International*, 59, 208-224.
- Łobos-Moysa, E., Kudlek, E. y Felis, E. (2022). Occurrence of Cosmetic Ingredients as an Anthropogenic Threat to the Seas and Oceans. *Earth and Environmental Science*, 1046.
- Maneiro, P. (2014). Patrones de distribución vertical y transversal de la Almeja Amarilla *Mesodesma mactroides* en una playa didipativa de Uruguay. [Unidad de Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica].
- Martinez Bueno, M., Boillot, C., Fenet, H., Chiron, S., Casellas, C., Gomez, E. (2013). Fast and easy combined QuEChERS extraction and high resolutionmass spectrometry methodology for residue analysis of two

- anticonvulsants and their metabolites in marine mussels. *Journal of Chromatography A*.1305, 27–34.
- McDougall, A. (22 de febrero de 2011). *European commission bans "health hazard" fragrance*. www.cosmeticsdesign-europe.com
- Mercosur/gmc/res. N° 44/15. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (16 de octubre de 2017). *Reglamento técnico mercosur sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para productos de higiene personal, cosméticos y perfumes (derogación de la res. gmc n° 25/05)*. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-internacional/300-2017>
- Mo, J., Guo, J., Iwata, H., Diamond, J., Qu, C., Xiong, J. y Han, J. (2022). What Approaches Should be Used to Prioritize Pharmaceuticals and Personal Care Products for Research on Environmental and Human Health Exposure and Effects? *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Moreira, M. (2016). Assessment of musk and UV filter compounds in wild mussels collected in Portugal coast. [Master in Quality Control, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto].
- Municipios de Uruguay- Coronilla. (s.f) <https://www.municipio.uy/localidad-palmares-de-la-coronilla-ro.html>. Localidad palmares de la coronilla (01/10/2023).
- Municipios de Uruguay- Barra del Chuy. (s.f.) <https://www.municipio.uy/localidad-barra-del-chuy-ro.html>. Localidad Barra del Chuy (01/10/2023).
- Narchi, W. (1981). Aspects of the adaptive morphology of *Mesodesma mactroides* (Bivalvia: mesodesmatidae). *Malacologia*, 21 (1-2), 95-110.
- Narla, S. y Lim, H. (2019). Sunscreen: FDA Regulation, and Environmental and Health Impact. *Photochemical and Photobiological Sciences*. The Royal Society of Chemistry and Owner Societies.

- O'Malley, E., McLachlan, M., O'Brien, J., Verhagen, R. y Mueller, J. (2021). The presence of selected UV filters in a freshwater recreational reservoir and fate in controlled experiments. *Science of The Total Environment*, 754.
- Ortega, L. y Lecari, D. (2013). Modelo edad-estructurado de la almeja amarilla (*Mesodesma mactroides*) con la inclusión de variables ambientales en los procesos de su dinámica poblacional. Evaluación de recursos pesqueros de Uruguay mediante modelos dinámicos. Proyecto Gestión Pesquera en Uruguay. Montevideo: MGAP-DINARA – FAO. 55-64.
- Pareja, L., Pérez-Parada, A., Azcune, G., Agustina Muela, A. y Colazzo, M. (2022). Determination of multiclass emerging contaminants using QuEChERS method. *Emerging Contaminants in the Environment, Challenges and Sustainable Practices*, 335-380.
- Parolini, M., Magni, S., Traversi, I., Villa, S., Antonio Finizio, A. y Binelli, A. (2015). Environmentally relevant concentrations of galaxolide (HHCB) and tonalide (AHTN) induced oxidative and genetic damage in *Dreissena polymorpha*. *Journal of Hazardous Materials*, 285, 1–10.
- Picot Groz, M., Martinez Bueno, M., Rosain, D., Fenet, H., Casellas, C. Pereira, C, Maria, V., Bebianno, M. y Gomez, E. (2014). Detection of emerging contaminants (UV filters, UV stabilizers and musks) in marine mussels from Portuguese coast by QuEChERS extraction and GC–MS/MS. *Science of the Total Environment*, (493) 162–169.
- Picot-Groz, M., Fenet, H., Martinez, M., Rosain, D. y Gomez, E. (2018). Diurnal variations in personal care products in seawater and mussels at three Mediterranean coastal sites. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1100-1>.
- Proverbio, C., Carnevia, D., Jorge-Romero, G., & Lercari, D. (2019). Herramientas para el mantenimiento de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* en condiciones experimentales de cautiverio. *INNOTEC*, 124–141.

- Rainieri, S., Barranco, A., Primec, M. y Langerholc, T. (2016). Occurrence and toxicity of musks and UV filters in the marine environment. *Food and Chemical Toxicology*.
- Sánchez, D. y Tovar, A. (2015). Are sunscreens a new environmental risk associated with coastal tourism? *Environment International*, 83, 158–170.
- Sang, Z. y Sze-Yin, K. (2016). Environmental occurrence and ecological risk assessment of organic UV filters in marine organisms from Hong Kong coastal waters. *Science of the Total Environment*, 489–498.
- Santonocito, M., Salernoa, B., Trombini, C., Tonini, F., Pintado-Herrera, M., Martínez-Rodríguez, G., Blasco, J., Lara-Martín, P. y Hampela, M. (2020). Stress under the sun: Effects of exposure to low concentrations of UV-filter 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) in a marine bivalve filter feeder, the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Aquatic Toxicology*, 221.
- Santos, J., Bernardes, J., Ramírez, J., Ramos, C., de Miranda Gomes, C. y Romano, L. (2020). Embryo and larval development of the yellow clam *Mesodesma mactroides* (Reeve, 1854) (Mesodesmatidae) in laboratory. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 92(1).
- Sengar, A. y Vijayanandan, A. (2022). Human health and ecological risk assessment of 98 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) detected in Indian surface and wastewaters. *Science of the Total Environment*, 807.
- Stiefel, C. y Schwack, W. (2015). Photoprotection in changing times – UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. *International Journal of Cosmetic Science*, 37, 2–30.
- Vidal-Liñán, L., Villaverde-de-Sáa, E., Rodil, R., Quintana, J. y Beiras, R. (2018). Bioaccumulation of UV filters in *Mytilus galloprovincialis* mussel. *Chemosphere*, 190, 267-271.
- Wang, P., Huang, Y., Zhao, Y., Zhou, Y., Wang, H., Zhang, L., Shi, H., Sze-Yin, K. y Zhang, Y. (2022). Organic UV filters mixture exposure and childhood

adiposity: A prospective follow-up study in China. *Environment International*, 158.

Wang, T., Zou, H., Li, D., Gao, J., Bu, Q. y Wang, Z. (2023). Global distribution and ecological risk assessment of synthetic musks in the environment. *Environmental Pollution*, 331.

Willenbrink, T., Barker, V. y Diven, D. (2017). The Effects of Sunscreen on Marine Environments. *Cutis*, 100 (6), 369-370.

Anexos

Anexo 1- Legislación vigente en Uruguay para moluscos bivalvos

Uruguay presenta el Decreto N° 140/011 en cual se basa la “Determinación del control sanitario relativo a la producción y comercialización de moluscos bivalvos” en el mismo se describen las condiciones y métodos por los cuales los moluscos bivalvos van a ser producidos y comercializados. Asignándose a la DINARA los controles y análisis correspondiente sobre las zonas de producción y los individuos. En Uruguay se establecen límites máximos de microorganismos en agua dependiendo de su uso (Decreto N° 253/79), pero no establece límites máximos para microorganismos presentes en moluscos bivalvos destinados al consumo humano.

En Uruguay se cuenta con un Plan de Monitoreo de las “Floraciones de Algas Nocivas” (FAN). Según el Decreto del Poder Ejecutivo N° 149/997 artículo 38°, la DINARA es el organismo responsable en caso de emergencias sanitarias que pudieran afectar la salud humana por la aparición de las FAN. Si se comprueba la toxicidad en los moluscos bivalvos que pudiera tener efectos en la salud pública, DINARA lo comunica a las instituciones competentes: Intendencias, Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT), Ministerio de Salud Pública (MSP), Prefectura Nacional Naval (PNN). El Programa de Monitoreo se realiza el año 1980, en el cual la toma de muestras es realizada con la ayuda de las Prefecturas, que aportan locomoción y personal que ayudan a los técnicos de DINARA. Las áreas de muestreo coinciden con las áreas de extracción comercial de moluscos costeros y de altura. Se controla el fitoplancton (es de carácter preventivo) y las toxinas en moluscos bivalvos: veneno paralizante de moluscos (VPM), veneno diarreico de moluscos (VDM) y veneno amnésico de moluscos (VAM) (Ver tabla Anexo 1). Si se confirma la toxicidad en los moluscos bivalvos, se establece una veda para: la captura, comercialización y consumo; de esta forma se previenen

intoxicaciones en los seres humanos (Ministerio de Ganadería, Agricultura y pesca).

Tabla Anexo 1. Especies tóxicas registradas en la costa uruguaya.

Espece	Productora de:
<i>Pseudonitzschia</i>	Veneno Amnésico de Moluscos (VAM)
<i>Dinophysis acuminata</i>	
<i>Dinophysis ovum</i>	Veneno Diarreico de Moluscos (VDM)
<i>Dinophysis caudata</i>	
<i>Dinophysis tripos</i>	
<i>Gymnodinium catenatum</i>	Veneno Paralizante de Moluscos (VPM)
<i>Alexandrium catenella</i>	
<i>Protoceratium reticulatum</i>	Yessotoxinas

Los límites de los contaminantes de alimentos en Uruguay se establecen en el Reglamento Bromatológico Nacional de la República Oriental del Uruguay, Decreto N° 315/994 de la fecha 05/07/1994. En el Capítulo 14 del Reglamento Bromatológico Nacional se definen las normas para los “ Pescados y Productos Pesqueros ” que a su vez están conectados a los siguientes 2 decretos:

Decreto 213/997. Compétase al Instituto Nacional de Pesca (INAPE) (actualmente DINARA) el control de higiene y sanidad de los productos de la pesca y la caza acuática. El INAPE “ actualiza la normativa reglamentaria vigente respecto a los controles de higiene y sanidad de los productos pesqueros, embarcaciones de pesca, establecimientos, fábricas y locales de venta de productos de la pesca y caza acuática ” .

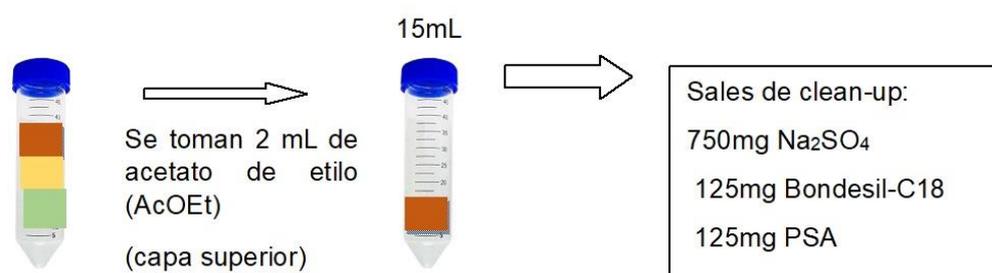
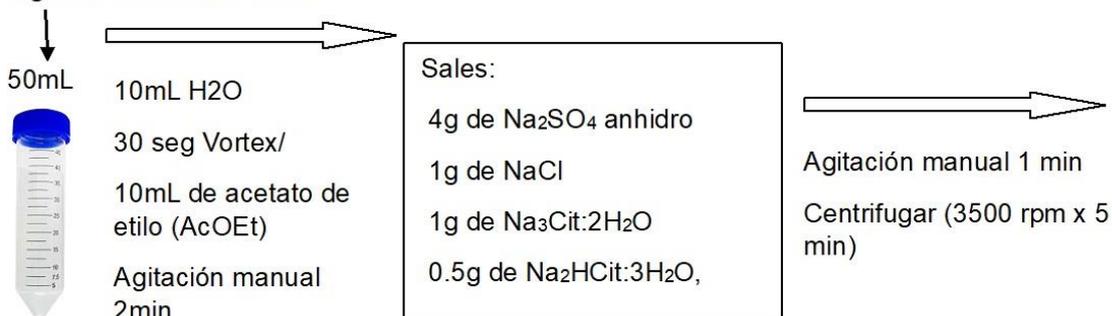
Decreto 358/999. Agregase al Capítulo I- Disposiciones Generales en su Sección 1- Definiciones, el Artículo 1.1.738 del Reglamento Bromatológico Nacional (Decreto 315/994). “La Comisión Técnica Asesora en Materia de Alimentos eleva propuesta de modificación e incorporación de definiciones generales, disposiciones y lista de aditivos para productos pesqueros”.

- Decreto N° 140/011. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (02 de mayo de 2011). Determinación del control sanitario relativo a la producción y comercialización de moluscos bivalvos. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/140-2011>
- Decreto N° 149/997. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (20 de mayo de 1997). Actualización de la reglamentación sobre explotación y dominio sobre riquezas del mar. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/149-1997>
- Decreto N° 358/999. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (24 de noviembre de 1999). Modificaciones al reglamento bromatológico nacional. productos pesqueros. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/358-1999/5>
- Decreto N° 253/979. Artículo 3-CLASE 3. Aprobación de normativa para prevenir la contaminación ambiental, a través del control de las aguas. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/253-1979> (25/07/2023)
- Decreto N° 315/994. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (14 de julio de 1994). Aprobación del reglamento bromatológico nacional. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/315-1994>
- Decreto N° 213/997. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. (07 de julio de 1997). Decreto N° 213/997. Aprobación del reglamento para el control de higiene y sanidad de los productos de la pesca y caza acuática. instituto nacional de pesca. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/213-1997>
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y pesca. (29 de septiembre de 2021). Folleto con fines de divulgación sobre las mareas rojas y su relación con el consumo de moluscos y de otros productos de origen marino. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/mareas-rojas-diptico>
- Resolución N° 10/2023. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. (12 de enero de 2023). Situación actual almeja amarilla. Dirección Nacional de Recursos Acuáticos. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-10023-dinara-situacion-actual-almeja-amarilla>

Anexo 2- Diagrama de extracción- QuEChERS

1° Liofilizar las muestras → Molienda → Mortero

2g de muestra liofilizada



Anexo 3- Guía para uso del Liofilizador

Modelo: BK-FD10PT

Para congelar las muestras:

1. Retirar la campana y bandeja para las muestras.
2. Retirar aro y O-ring.
3. Secar el tanque con papel absorbente (si quedó agua por uso anterior).
4. Limpiar el tanque con alcohol isopropílico y papel absorbente.
 - 4.1. Confirmar que no quedaron restos de agua en el drenador de agua (por uso anterior). Retirar tapón, conectar manguera al drenador y al bidón. Bombear con una pera desde el interior del tanque. Retirar manguera y volver a colocar el tapón.
5. Colocar las muestras, acomodar el sensor de temperatura entre las muestras y tapar el tanque.
6. Encender el liofilizador (botón detrás del liofilizador).
7. Presionar el botón "Compressor" en la pantalla.
 - 7.1. Verificar que el compresor comienza y el equipo comienza a enfriar correctamente.

Secado de muestras:

- 1- Retirar tapa del tanque.
- 2- Retirar sensor de temperatura y bandejas con las muestras.
- 3- Limpiar aro, asiento del O-ring y el O-ring con alcohol isopropílico. Para el O-ring se deben utilizar paños de limpieza libre de pelusa que no dejen pelusa, y luego de limpio no se debe apoyar ni transportar.
- 4- Colocar grasa de vacío en O-ring antes de colocarlo, cuidando que no queden partículas pegadas.
- 5- Colocar aro y O-ring.
- 6- Colocar las bandejas con las muestras y enganchar el sensor de temperatura (cerca de las muestras).
- 7- Tapar las muestras con la campana. Cerciorar que las válvulas de la campana estén cerradas.
- 8- Chequear el nivel de aceite de la bomba de aceite y la transparencia del mismo.
- 9- Chequear que esté correctamente conectada la manguera de escape de gases y colocarla en la ventana para que los gases se expulsen al exterior.

- 10-Encender el botón "Vacuum pump" de la pantalla.
- 11-Abrir válvula de desgaseado de la bomba de aceite durante 10 minutos y volver a cerrar la válvula.
- 12-Verificar que no existan pérdidas de vacío en el equipo.
- 13-Encender botón "Vacuometer".

Luego de tener las muestras liofilizadas:

- 1- Apagar botón "Vacuometer".
- 2- Apagar botón "Vacuum pump".
- 3- Apagar botón "Compressor".
- 4- Abrir cuidadosamente una de las válvulas de la campana y dejar hasta que deje de hacer ruido (que ya no entre más aire).
- 5- Retirar campana
- 6- Retirar muestras
- 7- Sacar tapón del drenaje del agua, conectar manguera al drenador y al bidón. Dejar descongelar el tanque.
- 8- Luego de descongelado, retirar manguera y colocar el tapón.
- 9- Limpiar todo y colocarlo en su lugar.