

Trabajo de fin de máster: Análisis, presencia y efectos de los parabenos en organismos marinos

Irene Cuerva Fernández

Curso 2019-2020

Máster en Oceanografía | Facultad de Ciencias
del Mar | ULPGC

Tutora | Zoraida Sosa Ferrera

Cotutora | Sarah Montesdeoca Esponda



Análisis, presencia y efectos de los parabenos en organismos marinos I

Irene Cuerva Fernández

Análisis, presencia y efectos de los parabenos en organismos marinos

Irene Cuerva Fernández | Bióloga

Máster en Oceanografía | Facultad de Ciencias del Mar | ULPGC

Tutora | Zoraida Sosa Ferrera
Grupo de investigación Análisis
Químico Medioambiental, ULPGC

Cotutora | Sarah Montesdeoca Esponda
Grupo de investigación Análisis
Químico Medioambiental, ULPGC

Firma de la autora: Irene Cuerva Fernández
15/07/2020

Índice

1. Introducción.....	5
2. Metodologías analíticas para la determinación de parabenos en organismos marinos..	7
2.1. Extracción y purificación en muestras de organismos marinos.....	8
2.2. Detección de parabenos.....	10
3. Presencia de parabenos en organismos marinos.....	16
3.1. Presencia de parabenos según el tipo de organismo.....	19
3.2. Presencia de parabenos según el tipo de muestra.....	20
3.3. Presencia de parabenos según el analito estudiado.....	21
3.4. Bioacumulación de parabenos.....	22
4. Efectos de los parabenos sobre organismos marinos.....	23
5. Biorremediación y alternativas al uso de parabenos.....	25
6. Conclusiones.....	25
7. Abreviaturas, tablas y figuras.....	27
8. Referencias.....	28

Resumen

Desde los años 20, el uso de parabenos en la industria se ha ido extendiendo progresivamente, lo que ha facilitado que hayan alcanzado una distribución mundial en productos de uso común, provocando su entrada en los océanos y con ello en los organismos que los habitan. Para poder evaluar las concentraciones de estos compuestos en el medio ambiente, es necesario emplear técnicas analíticas que permitan su extracción y determinación. Con ellas, es posible identificar el alcance de los parabenos en el medio marino, presentes en vegetales y en todos los grupos del reino animal, para así poder establecer las implicaciones de su acumulación, como por ejemplo su capacidad estrogénica y otros efectos adversos sobre los organismos y ecosistemas. Así, se destaca la necesidad de un conocimiento más extenso sobre el efecto de los parabenos en el mundo marino y el potencial daño que generan, así como de las posibles alternativas respetuosas con el medio ambiente en su uso como preservativos.

En este TFM se revisan los procedimientos analíticos empleados para la determinación de parabenos en organismos marinos, haciendo hincapié en las técnicas más recientes empleadas para su extracción y preconcentración. Además, se revisa la información disponible acerca de su presencia en distintas especies marinas y los efectos nocivos sobre las mismas. Finalmente, se ofrece una visión sobre posibles alternativas al uso de parabenos y técnicas de biorremediación.

Abstract

Since 1920s, the industrial use of parabens has been progressively widespread, which has driven them to reach a global distribution in common use products and their incorporation to oceans and the living beings who inhabit them. In order to evaluate their environmental concentrations, interactions and consequences, extraction and detection technics are needed. Using them, it is possible to identify the significance of parabens in marine system, since they are present in plants and all groups from the animal kingdom, and thus be able to establish their estrogenic ability and other adverse effects over organisms and ecosystems. Thereby, the necessity of a wider knowledge about parabens in marine world is highlighted, in addition their potential damage and eco-friendly alternatives in their use as preservatives.

In the present final master project, parabens determination procedures in marine organisms are revised, emphasizing the recent technics used on their extraction and preconcentration. In addition, information about their presence and harmful effects over different marine species are summarized. Finally, a vision about parabens use alternatives and bioremediation technics is provided.

1. Introducción

Los parabenos son ésteres derivados del ácido para-hidroxibenzoico (pHBA, 4-HB), que pueden llevar unidos un grupo alquilo (metilo (MeP), etilo (EtP), propilo (PrP), butilo (BuP), heptilo (HepP), isopropilo (iPrP), isobutilo (iBuP)), un grupo benzilo (BzP), un grupo fenilo (PhP) (Xue *et al.*, 2017) o también aparecer como metabolitos, incluyendo los unidos a un grupo hidroxilo (OH-MeP, OH-EtP), el ácido 3,4-dihidroxibenzoico (3,4-DHB), el ácido 4-hidroxibenzoico (4-HB) y el ácido benzoico (BA) (ver sus estructuras en la figura 1). Tanto 4-HB como BA son, generalmente, productos de la degradación de los parabenos en los organismos (Chiesa *et al.*, 2018). Así, los parabenos pueden clasificarse según su cadena alquímica, considerándose de cadena larga (PrP, iPrP, BuP, iBuP, BzP) o corta (MeP, EtP) (Haman *et al.*, 2015).

Se trata de compuestos químicos que tradicionalmente, desde hace unos 100 años (Yang *et al.*, 2018), se han usado como preservativos anti-microbianos y anti-fúngicos en productos farmacéuticos, para luego enfocar su uso en alimentos y especialmente en cosméticos (Haman *et al.*, 2015). Es decir, a día de hoy, su principal función en la industria, es la de prevenir el deterioro de ciertos productos actuando sobre los microorganismos (Anjos *et al.*, 2019). Concretamente, son efectivos contra el crecimiento de la mayoría de hongos y bacterias Gram-positivas, al interactuar con sus principales rutas metabólicas (Weber 2005). De hecho, los parabenos están presentes en el 80 % de los productos cosméticos o productos de cuidado personal (PCPs), donde su concentración media aproximada es de 0.01-0.3 % (Cabaleiro *et al.*, 2014). Su uso está tan extendido en la industria (Ocaña-González *et al.*, 2015) a causa las propiedades físico-químicas que los conforman (tabla 1), como su gran solubilidad en agua (la mayoría de ellos) o su baja volatilidad (Ramaswamy *et al.*, 2011). Estas características les permiten, además de su capacidad preservativa, ser incoloros, inodoros e insípidos (Raza *et al.*, 2018), haciendo difícil su sustitución por otros compuestos (Błądzka *et al.*, 2014).

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de los principales parabenos de este trabajo (Błądzka *et al.*, 2014, Haman *et al.*, 2015).

	MeP	EtP	PrP	BuP	4-HB
Fórmula química	C ₈ H ₈ O ₃	C ₉ H ₁₀ O ₃	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	C ₇ H ₆ O ₃
Número de registro CAS	99-76-3	120-47-8	94-13-3	94-26-8	99-96-7
Peso molecular (g/mol)	152.16	166.18	180.21	194.23	138.12
Solubilidad en agua a 25 °C (g/100 mL)	2.00	0.86	0.30	0.15	0.5
Log coeficiente de partición octanol-agua (log <i>k</i> _{ow})	1.66	2.19	2.71	3.24	1.58

Basándonos en su estructura (ver figura 1), es la longitud de la cadena alquímica que los forma, la que determina en gran medida sus diferentes propiedades. De este modo, cuanto más larga sea la cadena, el compuesto presentará un mayor coeficiente de partición octanol-agua (log *k*_{ow} BuP: 3.24 > log *k*_{ow} MeP: 1.66), siendo menos solubles en agua, pero a su vez tendrán mejores propiedades antibacterianas (de Lucas-Gil *et al.*, 2017) (ver tabla 1). Por otra parte, se considera que aquellos parabenos de cadena larga tendrán mayores dificultades para penetrar en la piel humana

(Ramaswamy *et al.*, 2011), lo que hace que no sean los más usados en la industria cosmética. Esto sí ocurre con MeP y PrP, que, además, son más resistentes a la biodegradación (Kang *et al.*, 2019) y suelen usarse conjuntamente para potenciar su efecto preservativo (Peck, 2006). Otra de sus ventajas, y que ha propiciado su amplio uso, es el bajo coste de síntesis química que requieren (Anjos *et al.*, 2019).

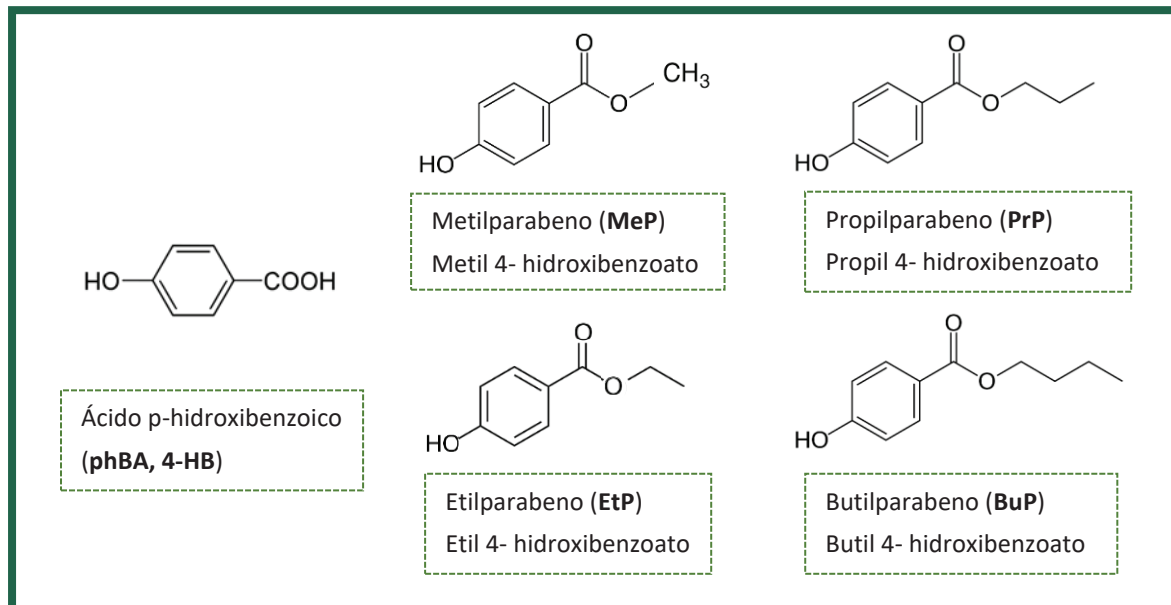


Figura 1. Estructuras de los principales parabenos incluidos en este trabajo.

Para su uso industrial, el origen de los parabenos es sintético (Yang *et al.*, 2018) ya que de forma natural se encuentran en proporciones ínfimas (Raza *et al.*, 2018). Generalmente se sintetizan a través de la esterificación del ácido hidroxibenzoico con el alcohol requerido en cada ocasión y en presencia de un catalizador (Nowak *et al.*, 2018).

Algo destacable sobre los parabenos es su inclusión en el grupo de los contaminantes emergentes (ECs) (www.norman-network.net), considerados un problema ambiental por la falta de una regulación adecuada, su constante entrada al medio y los efectos nocivos que pueden causar sin ser especialmente recalcitrantes (Petrović *et al.*, 2003). Su introducción al medio ambiente se relaciona esencialmente con el vertido de aguas residuales procedentes de la industria (Lee *et al.*, 2018), o aguas residuales urbanas que contienen PCPs. Así mismo, se habla de una pseudo-persistencia en el medio ambiente, a causa de su vertido continuado (Tanoue *et al.*, 2015).

Aunque tradicionalmente se consideraban de una toxicidad mínima (Ocaña-González *et al.*, 2015), con el tiempo se han ido añadiendo nuevas investigaciones donde se afirma la existencia de efectos adversos sobre el sistema endocrino causados por los parabenos (son ejemplo de ello Routledge *et al.*, 1998, Błędzka *et al.*, 2014, Cabaleiro *et al.*, 2014 y Anjos *et al.*, 2019). Concretamente, en diversos trabajos como Routledge *et al.*, (1998), Raza *et al.*, (2018) o Kang *et al.*, (2019) se habla sobre un efecto estrogénico, es decir, imitan los efectos que los estrógenos generan en los organismos (Lee *et al.*, 2018). Por otra parte, su fácil absorción cutánea en humanos, junto con los efectos como disruptores hormonales (Boberg *et al.*, 2010) documentados para diversas especies, ha dado lugar a que se considere su potencial toxicidad. A esto se añade el hecho de que su

introducción en el medio ambiente procede mayormente de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), por lo que los parabenos pueden reaccionar con las sustancias cloradas que se utilizan en las mismas, dando lugar a compuestos derivados del cloro (como Cl₂MeP o ClMeP), de gran toxicidad para los organismos acuáticos (Błędzka *et al.*, 2014).

Además, su estabilidad en el medio acuoso y su capacidad de bioacumularse potencian la facilidad con la que se ven afectados los organismos marinos, pudiendo influir sobre el sistema reproductivo de peces y mamíferos, o incluso en su sistema inmunológico (Anjos *et al.*, 2019).

En relación a la creciente documentación sobre los efectos negativos de los parabenos, en la actualidad existen algunas regulaciones vigentes en la Unión Europea (EU) (EU Cosmetics Directive 76/768/EEC) y los Estados Unidos de América (USA) (Cabaleiro *et al.*, 2014), donde las concentraciones máximas permitidas en productos comerciales son de 0.4 % de peso/peso (w/w, weight/weight) para cada parabeno individualmente y 0.8 % (w/w) para el conjunto de ellos presentes en cada producto, dado que se usan tanto de forma aislada como combinados (Ocaña-González *et al.*, 2015).

Por ello, resulta de vital importancia evaluar y monitorizar la presencia de parabenos en los ecosistemas marinos, buscando optimizar las técnicas empleadas en su determinación, para poder estudiar los potenciales efectos de estos compuestos sobre los organismos desde el nivel de especie hasta el de toda una comunidad o incluso red trófica. Así, un conocimiento más completo de los parabenos en el medio marino facilitaría, a su vez, descubrir posibles mecanismos biorremediadores, además de las pertinentes medidas preventivas.

2. Metodologías analíticas para la determinación de parabenos en organismos marinos

Los parabenos, al igual que muchos otros compuestos contenidos en tejidos de organismos marinos, presentan dos grandes dificultades en su detección: su baja concentración (Montesdeoca *et al.*, 2018) y la complejidad de la matriz en la que están contenidos, susceptible de contener compuestos que generen interferencias con los análisis (Ocaña-González *et al.*, 2015). Por ello, es necesario que exista un tratamiento previo de separación y limpieza de las muestras (extracción y purificación) antes de ser determinadas de manera selectiva, para obtener una cuantificación fiable de los mismos a los niveles de concentración requeridos (Núñez *et al.*, 2017). Los procedimientos necesarios para su determinación implican el uso de equipos de alta sensibilidad y capacidad selectiva, que proporcionan límites de detección (LODs, limits of detection) a los niveles de concentración requeridos (hasta niveles de pg g⁻¹). Esto explica que en la mayoría de los trabajos consultados, la técnica de determinación preferida sea la cromatografía de líquidos con espectrometría de masas para la detección de parabenos (Zagorevskii, 2003), siendo capaz de identificar compuestos aislados a partir una mezcla, en función de su masa atómica y carga. A veces se aplica en tándem, es decir, con varias fases que implican diferentes análisis espectrométricos, como se detallará más adelante.

En los últimos diez años, se han empleado distintos procedimientos para analizar parabenos, a veces incrementando su complejidad, con objeto de encontrar metodologías que no supongan una amenaza para el medio ambiente (Ocaña-González *et al.*, 2015).

2. 1. Extracción y purificación de parabenos en muestras de organismos marinos

En lo referente al proceso de extracción de contaminantes en organismos marinos, se parte de una matriz sólida (tejido o fragmento del organismo), la cual ha sido previamente congelada y/o deshidratada y homogeneizada para su análisis (Núñez *et al.*, 2017, Chiesa *et al.*, 2018).

En muchos casos, los principales problemas en la extracción y purificación de compuestos en matrices tan complejas, son el gran consumo de tiempo y de disolvente (Kim *et al.*, 2011). Ya que, generalmente, la técnica de extracción de parabenos más común se basa en el uso de disolventes orgánicos (Ocaña-González *et al.*, 2015). Es ejemplo de ello la técnica convencional Soxhlet, cuyo procedimiento se basa en el paso de un disolvente a través de la muestra, de forma reiterada, a la vez que el disolvente va retirando los analitos hasta completar la extracción, lo cual requiere un periodo de tiempo extenso (de Castro y García-Ayuso, 1998). La extracción por Soxhlet no es usual en los trabajos más recientes extracción de parabenos (por ello no aparece en la tabla 2), ya que suele conllevar un potencial riesgo contaminante para el medio ambiente debido al volumen de disolvente orgánico que emplea (Seidel, 2012).

Los avances tecnológicos han permitido el descubrimiento de otras técnicas, que conllevan menos coste material, de tiempo y menor manipulación, ya sea directamente añadiendo disolventes orgánicos a la muestra (SE, solvent extraction), en un estado presurizado (PLE, pressurized liquid extraction) o con un extractor de alta velocidad (HSSE, high-speed solvent extraction). En las anteriores técnicas, se aplica energía (generalmente de agitación) durante el procesamiento de la muestra, al igual que en la extracción mediante ultrasonido (UAE, ultrasound-assisted extraction) o mediante microondas (MAE, microwave assisted extraction) (Álvarez-Ruiz y Picó, 2020). Tras esto, las muestras suelen ser purificadas a través de una extracción en fase sólida (SPE, solid phase extraction), donde un cartucho sólido adsorbe los analitos al entrar en contacto con la muestra. Se emplea la técnica de SPE por su eficacia en la separación de compuestos de naturaleza química variada contenidos en una misma matriz (Raza *et al.*, 2018) y por su bajo coste (Han *et al.*, 2016), siendo común el uso del cartuchos adsorbentes de sílice como C18, especialmente para compuestos apolares (Żwir-Ferenc y Biziuk, 2006). También es usual la técnica de extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE, dispersive-solid phase extraction), en la que la dispersión del material de soporte permite un mayor contacto entre la muestra y el adsorbente (Barker, 2007) y así una mejor extracción.

SE

La extracción por disolvente, consiste en la aplicación directa de disolventes orgánicos, como metanol (MeOH) o acetonitrilo (ACN), en los que los analitos son solubles, y así son extractados de la muestra (Todd, 2014). Aunque puede suponer un consumo de tiempo de 60 minutos o más (Xue y Kannan, 2016) y un volumen de disolvente relativamente alto (Núñez *et al.*, 2017), es una técnica sencilla, precisa y de muy bajo coste (Cadena-Aizaga *et al.*, 2020). Es así la técnica de extracción más común, dominando en su frecuencia de uso sobre todas las demás, como se muestra en la

figura 2. Por ejemplo, Liao *et al.* (2013), extrajeron 5 parabenos (MeP, EtP, PrP, BuP y BzP) en pescado y marisco empleando 6 mL de ACN, durante 60 minutos en un agitador, para luego ser purificados mediante SPE con un cartucho de NH₂. En Martín *et al.* (2017), un trabajo algo posterior, se emplean 2x7 mL de ACN durante 2 minutos para luego utilizar d-SPE con un cartucho C18 para purificar MeP, EtP, PrP y PhP en muestras de *Holothuria tubulosa* (Martín *et al.*, 2017). Tanto para Martín *et al.* (2017) como para Liao *et al.* (2013), la eficacia de esta metodología fue bastante alta, en torno a 85-107 % y 82-112 % respectivamente.

Además, muchas veces el disolvente va acompañado de modificadores como el ácido fórmico, en el método de SE. Rosende *et al.* (2019) usan ACN y MeOH combinado con ácido fórmico en muestras de moluscos, y luego purifica con una micro extracción en fase sólida (μ SPE, micro solid phase extraction) renovado de forma automática, que es posible al llevar acoplado en línea un mecanismo denominado sequential-injection-lab-on-valve (SI-BI-LOV) que integra el concepto bead-injection (BI). Este mecanismo consiste en el uso de microesferas que purifican o extraen los analitos en un flujo continuo (Hartwell *et al.*, 2004). Rosende *et al.* (2019) son pioneros en el uso del SI-LOV en la extracción de productos de cuidado personal y fármacos de muestras orgánicas, mostrando una eficacia de 99 \pm 14 % en la extracción de MeP en moluscos.

También la acetona suele formar parte de los disolventes orgánicos usados en la extracción de parabenos. Xue *et al.* (2015, 2017) y Xue y Kannan (2016) emplean 5 mL de acetona, junto con 2 mL de una mezcla de MeOH y ACN en proporción 1:1 siendo agitados durante 60 minutos. La eficacia de esta metodología parece ser menor que la de las explicadas anteriormente, alcanzando como máximo un 64-109 % para los distintos parabenos analizados.

UAE

Usando disolventes orgánicos y aplicando energía en forma de ultrasonido, la técnica UAE facilita la interacción entre disolvente y muestra (Nuñez *et al.*, 2017), para la extracción de los compuestos buscados. En los trabajos revisados no se superan los 10 minutos en el tiempo de extracción, por lo que se trata de una técnica rápida, además de implicar una manipulación y consumo de disolvente relativamente reducidos (Baghdikian *et al.*, 2016), similares a los de la SE. Esto hace que sea la segunda técnica más usualmente empleada en los trabajos recopilados, como se observa en la figura 2. En Azzouz *et al.* (2019), se extraen los parabenos con 6 mL de ACN, y se le aplica UAE durante 10 minutos, para luego usar SPE con el cartucho adsorbente LiChrolut EN. Las eficiencias de extracción de este procedimiento fueron prácticamente idénticas a las encontradas en Martín *et al.* (2017) y Liao *et al.* (2013), con un 84-105 %. El uso de UAE con un mayor volumen de ACN (8 mL) y una extracción SPE con C18 en Lu *et al.* (2019), proporcionaron una eficacia menor a la de Azzouz *et al.* (2019) (63-85 %). Chiesa *et al.* (2018), parten de muestras de 54 especies diferentes de peces a las que añaden 5 mL de ACN junto con un 1% de ácido fórmico y aplicándoles energía ultrasonidos durante 10 minutos. En el propio estudio se determina la combinación con ácido fórmico como una mejora ante otro estudio con una purificación por SPE, lo que se corrobora con unos buenos resultados de eficiencia de extracción (82-114 %).

PLE

En la extracción por líquido presurizado, se emplean disolventes a alta presión y temperatura, dando lugar a una extracción más eficaz, con un menor requerimiento de disolvente y tiempo para extraer los analitos de la matriz (Carabias-Martínez *et al.*, 2005). De hecho, PLE se considera una técnica más eficiente que UAE y que Soxhlet en términos de tiempo y volumen de solvente empleado (Han *et al.*, 2016). En contraposición a las ventajas que presenta, PLE no siempre presenta el nivel de eficacia deseado y conlleva un elevado coste (Dawidowicz y Wianowska, 2005), lo que puede explicar que sea la técnica menos usual documentada en este trabajo (ver figura 2). En el caso de Han *et al.* (2016), para la extracción de MeP, EtP, PrP y BuP (en algas, peces y camarones), emplean 10 mL de MeOH en una PLE a 70 °C y 1500 psi. En este caso, se aplica a los extractos un paso de SPE usando un cartucho de MCX, sumando el método una eficacia de 81-106 %.

HSSE

Kim *et al.* (2011) emplean la HSSE, que es una extracción basada en la aplicación de un flujo de disolvente a alta velocidad sobre la muestra, requiriendo esta técnica menor tiempo de extracción (30 minutos) que SE y Soxhlet. Kim *et al.* (2011) y Ramaswamy *et al.* (2011) combinan acetona y hexano en una proporción 1:1 un flujo de 10 mL min⁻¹ en la extracción de 4 parabenos en diferentes especies de peces, empleando HSSE, que en 30 minutos y a 30 °C es capaz de extraer los compuestos con una eficacia de 79-89 %.

MSPD

En la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD, matrix solid phase dispersión), el material adsorbente dispersa la muestra, que luego pasa por una jeringuilla de polypropileno que contiene otro compuesto adsorbente que retiene las impurezas (Cabaleiro *et al.*, 2014). Djamika *et al.* (2016) utilizan esta técnica para extraer 4 parabenos (MeP, EtP, PrP y BuP) de muestras de peces y camarones, usando cartuchos de gel de sílice y C18, para luego eluir la muestra con 12 mL de ACN. La eficacia de la técnica MSPD en este trabajo fue de 96-112 %. Con una eficacia algo menor (7 -117 %), Villaverde-de-Sáa *et al.* (2016) aplican también un cartucho C18 y añade 10 mL de ACN para purificar MeP, EtP, iPrP, iBuP y compuestos clorados de MeP, a partir de muestras de moluscos. MSPD ha ido sustituyendo a otras técnicas (Núñez *et al.*, 2017), debido a su gran poder de extracción, y registrando el rango de eficiencia de extracción más alto de los trabajos revisados (106-112 %). Por estas características, es la tercera técnica más común, junto con HSSE, en el análisis de parabenos de los trabajos revisados (ver figura 2).

2. 2. Determinación de parabenos

Una vez extraídos y purificados, el siguiente paso en el análisis de parabenos es su determinación instrumental, donde juega un papel esencial la sensibilidad del equipamiento utilizado, debido a la baja concentración en la que se encuentran estos compuestos en las muestras de organismos marinos (a veces del orden de 10⁻³ ng g⁻¹, Chiesa *et al.*, 2018). De forma general, se emplea una separación mediante cromatografía, seguida de una detección por espectrometría de masas (MS, mass spectrometry).

La cromatografía es una técnica de separación de compuestos presentes en una muestra en función de la velocidad a la que atraviesan una matriz porosa, generalmente relacionada a su polaridad. Si la fase móvil que acompaña a la muestra es líquida, se trata de cromatografía líquida o LC y si se encuentra en estado gaseoso, cromatografía de gases o GC. Como ventaja, la técnica de LC no requiere de derivatización para muchos compuestos orgánicos polares (Kim *et al.*, 2011), siendo gran parte de los parabenos moléculas de moderada polaridad (Cabaleiro *et al.*, 2014).

El avance en la capacidad de separación, identificación y cuantificación ha ido evolucionando desde los sistemas cromatográficos de alta resolución (HPLC, high performance liquid chromatography), a los de ultra alta resolución (UHPLC, ultra high performance liquid chromatography), más rápida y sensible (Xu 2013), aunque aún no está tan extendido su uso (ver figura 2).

Se repite también en muchos trabajos el uso de la GC como técnica de separación (Núñez *et al.*, 2017) de parabenos, todos acoplados a MS como sistema de detección, quedando GC/MS como la segunda técnica más usual, como se ve en la figura 2. Recopilamos información de algunos de ellos, todos acoplados a MS, destacando por presentar valores de LODs menores a 10^{-1} ng g⁻¹ (Djatkina *et al.*, 2016, Azzouz *et al.*, 2019), siendo más altos los encontrados para LC (siempre acoplada a MS/MS). Se añade como ventaja, el hecho de no necesitar el uso de disolventes orgánicos poco respetuosos con el medio ambiente que emplea LC (Raza *et al.*, 2018). Sin embargo, implica una etapa más al análisis (Montesdeoca-Esponda *et al.*, 2018), ya que la técnica de GC requiere, generalmente, de la derivatización de los compuestos hacia formas más volátiles (Xu, 2013), o bien menos polares, mediante acetilación o sililación (Azzouz *et al.*, 2019).

Según Núñez *et al.* (2017), la detección de parabenos en muestras de organismos marinos usualmente implica separación por LC acoplada a un espectrómetro de masas en tándem (MS/MS, tándem mass spectrometry) lo cual coincide con gran parte de los trabajos recopilados en este estudio (Ramaswamy *et al.*, 2011, Liao *et al.*, 2013, Xue *et al.*, 2015 y 2017, Xue y Kannan 2016, Han *et al.*, 2016, Villaverde-de-Sáa *et al.*, 2016 y Rosende *et al.*, 2019) (ver figura 2). MS/MS se utiliza con objeto de realizar un análisis más selectivo, sensible y específico (Núñez *et al.*, 2017), que el que se podría obtener con un análisis espectrométrico simple (MS). Al usar el modo MRM (multiple reaction monitoring), se seleccionan de nuevo los fragmentos resultantes de la primera fragmentación, buscando así una mayor sensibilidad en la adquisición de datos (Kim *et al.*, 2011). Es el caso de Kim *et al.* (2011), Liao *et al.* (2013), Han *et al.* (2016) y Lu *et al.* (2019).

También puede usarse un espectrómetro de masas de alta resolución (HRMS, high resolution mass spectrometry), capaz de mostrar un espectro completo de los compuestos contenidos en las muestras, obteniendo un resultado mucho más exacto (Álvarez-Ruiz y Picó, 2020). Chiesa *et al.* (2018), analizan numerosas muestras de peces usando HPLC-HRMS, obteniendo algunos datos de precisión intra-día relativamente altos para compuestos como PrP, BzP o 4-HB (8 %, 8 % y 12 %, respectivamente) con valores de LODs bastante bajos (0.8, 0.8 y 3.5 ng g⁻¹, respectivamente). Por otra parte, Kim *et al.* (2011), emplean UHPLC-MS/MS, obteniendo resultados más precisos que los de Chiesa *et al.* (2018), de, por ejemplo, 6.6-11.8 % intra-día para PrP. La precisión expresada según repeticiones inter-día, también es notablemente mayor para el caso de PrP en Kim *et al.* (2011) (10.7-13.9 %, siendo de 4 % en Chiesa *et al.* (2018)). Sin embargo, Lu *et al.* (2019), con HPLC

acoplado a MS/MS son capaces de obtener LODs menores a todos los trabajos recopilados (0.9 pg g⁻¹).

En la tabla 2, quedan presentados los datos referentes a las técnicas de extracción, purificación y detección de parabenos en organismos marinos en los últimos 10 años, ordenados cronológicamente.

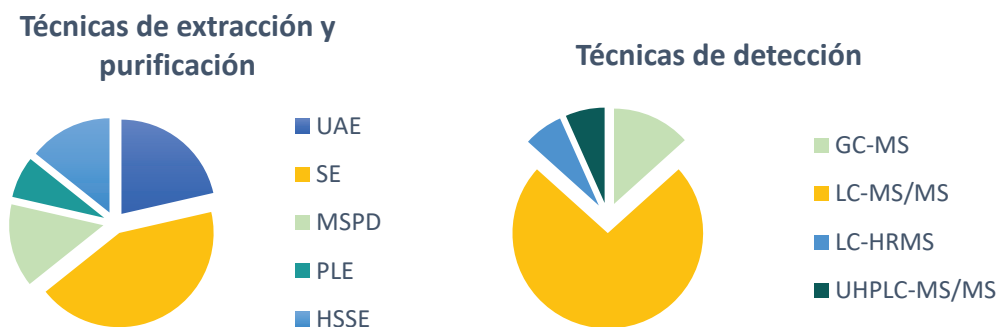


Figura 2. Frecuencia de uso de las diferentes técnicas de extracción y detección de parabenos en organismos marinos, según la información de la tabla 2.

Tabla 2. Métodos de extracción, purificación y determinación de parabenos en organismos marinos.

Parabenos	Organismos	Extracción y purificación	Determinación	Eficacia (%)	Precisión (%)		LODs (ng·g ⁻¹)	Referencia
					Intra-día	Inter-día		
MeP EtP PrP BuP BzP iBuP iPrP	Peces (anchoas, sardinas, merluza, pescadilla, bacalao, salmón, trucha, lubina, besugo) y marisco (calamar, pulpo, calamar, camarón, gambas, moluscos, ostras, almejas)	UAE: 6 mL ACN 10 min, SPE cartucho (LiChrolut EN)	GC/MS	84-105	4.1-5.1 4.2-4.3 4.1-5.8 4.3-4.9 4.2-4.6 5.0-5.1 5.1-5.5	5.8-6.3 5.0-5.4 5.8-7.0 5.5-5.7 5.7-6.1 6.7-7.2 6.2-6.3	0.0041 0.0042 0.0043 0.0044 0.0046 0.0029 0.0028	Azzouz <i>et al.</i> , 2019
MeP Etp PrP BuP BeP	186 crustáceos y moluscos de especies de 8 familias <i>Buccinidae</i> , <i>Veneridae</i> , <i>Haliotidae</i> , <i>Mytilidae</i> , <i>Pectinidae</i> , <i>Ostreidae</i> , <i>Corbiculidae</i> , <i>Pteriidae</i>	UAE: 8 mL ACN 15 min, SPE cartucho C18	HPLC-MS/MS, MRM	63.9-85			0.9-229 (pg g ⁻¹) (dw)	Lu <i>et al.</i> , 2019
MeP BuP	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco)	SE: MeOH, ACN y ác. fórmico 85%	LC-MS/MS	99±14			2.3 2.5	Rosende <i>et al.</i> , 2019

Tabla 2. Métodos de extracción, purificación y determinación de parabenos en organismos marinos.

Parabenos	Organismos	Extracción y purificación para SI-LOV-BI- μ SPE	Determinación	Eficacia (%)	Precisión (%)		LODs (ng·g ⁻¹)	Referencia
					Intra-día	Inter-día		
MeP	54 especies de peces ^a	UAE: 5 mL ACN + 1% ác. fórmico, 10 min	HPLC, HRMS	96-109	0.3 ^b	2.0 ^b	0.65	Chiesa <i>et al.</i> , 2018
EtP				77-100	1.0 ^b	2.0 ^b	1.2	
PrP				93-118	8.0 ^b	9.0 ^b	0.8	
BuP				104-114	4.0 ^b	12.0 ^b	0.9	
BzP				82-102	8.0 ^b	8.0 ^b	0.8	
4-HB				88-118	12.0 ^b	19.0 ^b	3.5	
MeP	Holothuria tubulosa (Holothuria)	SE: 2 × 7 mL ACN, 2 min dSPE cartucho C18	LC-MS/MS	88-100 ^c	2.1-8.3 (k = 6, n = 3)		0.01	Martín <i>et al.</i> , 2017
EtP				88-93 ^c	3.9-11 (k = 6, n = 3)		0.01	
PrP				85-94 ^c	2.6-13.2 (k = 6, n = 3)		0.01	
PhP				95-107 ^c	4.2-8.5 (k = 6, n = 3)		0.01	
4-HB				98-103 ^c	5.3-9 (k = 6, n = 3)		0.01	
MeP, PrP, BuP, BzP, HepP metabolitos (OH-MeP, OH-EtP, 3,4-DHB y 4-HB)	Peces de 35 especies e Invertebrados de 18 especies (<i>Syringodium filiforme</i> , <i>Halodule wrightii</i> , <i>Ruppia maritima</i> (alga), <i>Caulerpa prolifera</i> (alga), <i>Avicennia germinans</i> , <i>Rhizophora mangle</i> , <i>Laguncularia racemosa</i> (manglar)	SE: 5 mL acetona + 2 mL MeOH: ACN	LC-MS/MS	Xue <i>et al.</i> , 2015 y Xue y Kannan, 2016		Xue <i>et al.</i> , 2015 y Xue y Kannan, 2016	Xue <i>et al.</i> , 2017	
MeP	Camarón, pez	MSPD: Florisil gel de sílice y C18 12 mL ACN	GC-MS	107-111 ^d	6 (n = 5)	5 (n = 20)	0.06 (dw)	Djarmika <i>et al.</i> , 2016
EtP				93-102 ^d	6 (n = 5)	8 (n = 20)	0.12 (dw)	
PrP				106-112 ^d	3 (n = 5)	6 (n = 20)	0.12 (dw)	
BuP				101-102 ^d	7 (n = 5)	3 (n = 20)	0.30 (dw)	
MeP	<i>Sargassum fusiforme</i> , <i>Porphyra</i> , kelp (alga), peces (<i>Larimichthys polyactis</i>), camarones	PLE, 10 mL MeOH a 1500 psi y 70 °C cartucho MCX	LC-MS/MS, MRM	81-105 ± 2.5-7.8 ^e (n = 6)	4.47 ^d	4.49 ^d	10	Han <i>et al.</i> , 2016
EtP				83-106 ± 2.5-7.2 ^e (n = 6)				
PrP				83-106 ± 2.6-8 ^e (n = 6)				

Tabla 2. Métodos de extracción, purificación y determinación de parabenos en organismos marinos.

Parabenos	Organismos	Extracción y purificación	Determinación	Eficacia (%)	Precisión (%)		LODs (ng·g ⁻¹)	Referencia
					Intra-día	Inter-día		
BuP				83–105 ± 2.4–8.4 ^e (n = 6)				
MeP EtP BzP iPrP iBuP ClMeP Cl ₂ MeP	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco), <i>Ruditapes philippinarum</i> (almeja manila), <i>Cerastoderma edule</i> (berberecho)	MSPD: 2x10 mL ACN, cartucho C18	LC-MS/MS, MRM	71-117±21			0.10-1.43 (LOQ) (dw)	Villaverde-de-Sáa et al., 2016
MeP	Peces de 12 especies (<i>Micropterus dolomieu</i> , <i>Micropterus salmoides</i> , <i>Lota lota</i> , <i>Salvelinus namaycush</i> , <i>Acipenser fulvescens</i> , <i>Catostomus commersonii</i> , <i>Ictalurus punctatus</i> , <i>Stizostedion vitreum</i> , <i>Catostomus catostomus</i> , <i>Mugil cephalus</i> , <i>Sciaenops ocellatus</i> , <i>Rhizoprionodon terraenovae</i>)	SE: 5 mL acetona +2 mL MeOH: ACN (1:1), 60 min	LC-MS/MS	40.4–108 ± 3.75–10.9 ^f			1.93–8.21 (LOQ) ^f (ww)	Xue y Kannan, 2016
EtP				39.4–99.7 ± 3.76–9.11 ^f			1.93–8.01 (LOQ) ^f (ww)	
PrP				43–104 ± 3.35–15.1 ^f			1.93–4.10 (LOQ) ^f (ww)	
BuP				46.3–112 ± 2.81–23 ^f			1.99–3.85 (LOQ) ^f (ww)	
BzP				40.7–110 ± 3.22–10.8 ^f			1.93–4 (LOQ) ^f (ww)	
HepP				62.8–98.9 ± 3.42–14.6 ^f			2–19.9 (LOQ) ^f (ww)	
OH-MeP, metabolito				21.4–58.2 ± 3.44–12.2 ^f			2.02–19.9 (LOQ) ^f (ww)	
OH-EtP, metabolito				27.6–62.1 ± 1.60–16.1 ^f			2.02–19.9 (LOQ) ^f (ww)	
3,4-DHB, metabolito				28.9–65.3 ± 3.97-12 ^f			8.06-139 (LOQ) ^f (ww)	
4-HB, metabolito				45.5-119 ± 1.86-48.1 ^f			2.05-40 (LOQ) ^f (ww)	
MeP	<i>Kogia breviceps</i> (ballena), <i>Stenella clymene</i> (delfín), <i>Steno bredanensis</i> (delfín), <i>Stenella coeruleoalba</i> (delfín), <i>Tursiops truncatus</i> (delfín), <i>Enhydra lutris nereis</i> (nutria), <i>Enhydra lutris kenyonii</i> (nutria), <i>Ursus maritimus</i> (oso polar)	SE: 5 mL acetona +2 mL MeOH: ACN (1:1), 60 min	LC-MS/MS	53–103 ^g			4.10–20.5 (LOQ) ^g (ww)	Xue et al., 2015
EtP				54–86 ^g			2.05–8.21 (LOQ) ^g (ww)	
PrP				56–97 ^g			2.05–8.21 (LOQ) ^g (ww)	
BuP				49–90 ^g			2.05–20.5 (LOQ) ^g (ww)	
BzP				45–99 ^g			0.82–4.10 (LOQ) ^g (ww)	
HepP				60–105 ^g			4.10–20.5 (LOQ) ^g (ww)	

Tabla 2. Métodos de extracción, purificación y determinación de parabenos en organismos marinos.

Parabenos	Organismos	Extracción y purificación	Determinación	Eficacia (%)	Precisión (%)		LODs (ng·g ⁻¹)	Referencia
					Intra-día	Inter-día		
OH-MeP, metabolito				11–50 ^g			4.10–8.21 (LOQ) ^g (ww)	
OH-EtP, metabolito				10–55 ^g			0.82–4.10 (LOQ) ^g (ww)	
3,4-DHB, metabolito				29–55 ^g			20.5–41.1 (LOQ) ^g (ww)	
4-HB, metabolito				64–109 ^g			41.1–205 (LOQ) ^g (ww)	
BzP	Peces, camarones, cangrejos, almejas	SE: 6 mL ACN ×2, 60 min cartucho NH ₂	LC–MS/MS, MRM	82 ± 12 (n = 16)	6.3–13.1 ^c	4.1–17 ^c	0.01 (LOQ)	Liao <i>et al.</i> , 2013
BuP				103 ± 7 (n = 16)				
EtP				107 ± 19 (n = 16)				
MeP				112 ± 20 (n = 16)				
PrP				94 ± 21 (n = 16)				
MeP	Peces de tres especies (<i>Valamugil buchanani</i> , <i>Epinephelus corallicola</i> , <i>Mugil cephalus</i>)	HSSE, Hexano:acetona (1:1, v/v) a 10 mL/min, 30 min and 30 °C gel desactivado de sílice	UHPLC–MS/MS, MRM	87 ± 3.7 ^c	6.3–13.1 ^c	4.1–17 ^c	15 (pg g ⁻¹) (lw)	Kim <i>et al.</i> , 2011
EtP				89 ± 3.6 ^c				
PrP				85 ± 2 ^c				
BuP				87 ± 4.4 ^c				
MeP	20 especies de peces de las familias Carangidae, Mugilidae, Clupeidae, Gerreidae, Teraponidae, Engraulidae, Scombridae, Polynemidae, Sillaginidae, Mullidae, Scatophagidae, Labridae, Serranidae	HSSE, Hexano:acetona (1:1, v/v) a 10 mL/min, 30 min y 30 °C gel desactivado de sílice	LC–MS/MS	79–89 ± 2.0–6.8 ^c	6.3–13.1 ^c	4.1–17 ^c	0.001–0.015 (lw)	Ramaswamy <i>et al.</i> , 2011
EtP								
PrP								
BuP								

n = número de réplicas

dw = peso seco (dry weight)

k = número de días

ww = peso húmedo (wet weight)

^a = 54 especies de peces (*Gadus morhua*, *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Dicentrarchus labrax*, *Lophius budegassa*, *Gadus morhua*, *Sparus aurata*, *Pangasianodon hypophthalmus*, *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus nerka*, *Melicertus kerathurus*, *Sepia officinalis*, *Pleuronectes platessa*, *Pleoticus muelleri*, *Pagrus pagrus*, *Lates niloticus*, *Xiphias gladius*, *Scophthalmus rhombus*, *Scomber scombrus*, *Solea solea*, *Thunnus albacares*, *Salmo trutta*, *Isurus oxyrinchus*, *Squalus acanthias*) y bivalvos (*Mytilus galloprovincialis*, *Chamelea gallina*)

^b = nivel de concentración 2 ng g⁻¹^c = 3 niveles de concentración

^d = experimentos intra-día e inter-día

^e = 3 niveles de concentración y 6 especies (3 algas, 2 peces y 1 camarón)

^f = hígado, riñón, huevos, grasa y músculo

^g = siete matrices (riñón, hígado y cerebro de nutria marina, hígado y grasa de delfín, hígado de oso polar)

3. Presencia de parabenos en organismos marinos

Los parabenos penetran al medio marino, esencialmente, a través del vertido de aguas residuales tratadas, originarias de las diferentes industrias que los emplean y de su uso doméstico (Haman *et al.*, 2015). Dentro de su producción industrial, MeP y PrP son los dos compuestos mayoritarios empleados en PCPs (Nowak *et al.*, 2018), lo que coincide con su dominio, respecto a la presencia de otros parabenos, en aguas residuales, tanto antes como después de su paso por las EDAR (Haman *et al.*, 2015).

Por otra parte, también los parabenos son producidos de forma natural, como es el caso de algunas bacterias contenidas en plantas, capaces de fabricar grandes cantidades de MeP (Raza *et al.*, 2018), o el género de bacterias marinas *Microbulbifer sp.*, que producen parabenos para evitar la intrusión de otras bacterias en la esponja que las hospeda (Quévrain *et al.*, 2009). Incluso, Quévrain *et al.* (2009) explican que los parabenos producidos de forma natural por *Microbulbifer sp.*, poseen una mayor capacidad antimicrobiana que los mismos compuestos, pero de origen sintético. Sin embargo, la producción de parabenos del medio natural es muy inferior, en proporción a la de la industria química (Raza *et al.*, 2018).

La tabla 3 resume diferentes concentraciones de parabenos en varias matrices, encontrados en organismos distribuidos globalmente. A simple vista, los datos de la tabla 3 arrojan una idea de lo ampliamente distribuidos que se encuentran los parabenos, dada su presencia en organismos originarios de zonas del mundo muy dispares. Los resultados disponibles en la bibliografía generalmente pertenecen a regiones costeras, sabiendo que en muchas ocasiones están influenciadas por aguas residuales contaminadas (Kim *et al.*, 2011, Xue *et al.*, 2017).

Una vez se encuentran en el medio ambiente, los parabenos pueden alcanzar el océano, donde su solubilidad facilita que sean incorporados a los tejidos de los organismos marinos, bien a través de las branquias (Ramaswamy *et al.*, 2011), por ingestión o por absorción dérmica (Jeong *et al.*, 2019), y su bioacumulación en los mismos (Martín *et al.*, 2020) (ver figura 4). Añadido a esto, una vez penetran en el medio marino, pueden alcanzar el fondo, donde los sedimentos se convierten en una nueva fuente de parabenos hacia la columna de agua y los organismos filtradores de arena (Błędzka *et al.*, 2014).

Tabla 3. Tabla resumen con los valores más altos registrados de parabenos en diferentes estudios y matrices a nivel global.

Parabeno	Organismo marino	Concentración ng g ⁻¹ (DF%)	Zona geográfica	Referencia
MeP	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco)	243 ± 24 (67%)	Bahía de Vizcaya, España	Rosende <i>et al.</i> , 2019
	<i>Buccinidae, Veneridae, Haliotidae, Mylittidae, Pectinidae, Ostreidae, Corbiculidae, Pteriidae</i>	0.129 – 24.8 (100%) (ww) ^a	Bahía de Hong Kong, China	Lu <i>et al.</i> , 2019
	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco), <i>Ruditapes philippinarum</i> (almeja manila), <i>Cerastoderma edule</i> (berberecho)	<0.1 - 7 (80%) (dw)	Costa Norte, España	Villaverde-de-Sáa <i>et al.</i> , 2016
	<i>Delphinus capensis</i> (mamífero marino, delfín)	133 ± 61 (100%) (ww) (riñón)	Costas este y oeste, Korea	Jeong <i>et al.</i> , 2019
	<i>Neo-phocaena asiaorientalis</i> (mamífero marino, marsopa)	402 ± 110 (100%) (ww) (hígado)	Costas este y oeste, Korea	
	<i>Trematomus bernachii</i> (pez)	2.4 (100%) (dw) (hígado)	Mar de Ross, Antártida	Emnet <i>et al.</i> , 2015
	<i>Sterichinus neumayeri</i> (equinodermo, erizo de mar)	5.7 (100%) (dw)	Mar de Ross, Antártida	
	Peces de 54 especies y 2 moluscos bivalvos	0.8 - 32 (41%) ^b	Pacífico, Atlántico y Mediterráneo	Chiesa <i>et al.</i> , 2018
	<i>Epinephelus awoara</i> (pez)	6.05 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019
	<i>Neverita didyma, Rapana venosa, Mya arenaria, Cyclina sinensis, Chlamys farreri, Scapharca subcrenata, Meretrix meretrix, Mytilus edulis, Crassostrea talienshanensis, Amusium y Mactra veneriformis</i> (moluscos)	1.38 - 298 (100%) (dw)	Mar de Bohai, China	Liao y Kannan, 2018
	<i>Platichthys flesus</i> (pez)	1.3 ± 0.4 (100%) (dw)	Bélgica	Álvarez-Muñoz <i>et al.</i> , 2015
	<i>Liza aurata</i> (pez)	9.7 ± 0.8 (100%) (dw)	Estuario del río Tajo, Portugal	
	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco)	11.3 ± 0.7 (100%) (dw)	Mar Adriático, Italia	
	<i>Holothuria tubulosa</i> (equinodermo)	1.03 - 2015 (100%) (dw)	Mar Mediterráneo, España	Martín <i>et al.</i> , 2017
	PrP	<i>Buccinidae, Veneridae, Haliotidae, Mylittidae, Pectinidae, Ostreidae, Corbiculidae, Pteriidae</i>	<0.0032-0.406 (99,5%) (ww) ^a	Bahía de Hong Kong, China
<i>Laternula elliptica</i> (molusco bivalvo)		<2.1 - 5.8 (57%) (dw)	Mar de Ross, Antártida	Emnet <i>et al.</i> , 2016
<i>Liza aurata</i> (pez)		1.5 ± 0.08 (100%) (dw)	Estuario del río Tajo, Portugal	Álvarez-Muñoz <i>et al.</i> , 2015

Parabeno	Organismo marino	Concentración ng g ⁻¹ (DF%)	Zona geográfica	Referencia
4-HB	<i>Delphinus capensis</i> (mamífero marino, delfín)	2132 ± 796 (100%) (ww) (estómago)	Costas este y oeste, Corea	Jeong <i>et al.</i> , 2019
	<i>Neo-phocaena asiaorientalis</i> (mamífero marino, marsopa)	6882 ± 3164 (100%) (ww) (estómago)	Costas este y oeste, Corea	
	<i>Moerella iridiscens</i> (molusco bivalvo)	1846 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019
	<i>Tursiops truncatus</i> (delfín, mamífero marino)	875 – 26500 (100%) (ww) (hígado) 268-1654 (100%) (ww) (gónadas)	Florida, EEUU	Xue <i>et al.</i> , 2015
	<i>Neverita didyma</i> , <i>Rapana venosa</i> , <i>Mya arenaria</i> , <i>Cyclina sinensis</i> , <i>Chlamys farreri</i> , <i>Scapharca subcrenata</i> , <i>Meretrix meretrix</i> , <i>Mytilus edulis</i> , <i>Crassostrea talienwhanensis</i> , <i>Amusium</i> y <i>Macrta veneriformis</i> (moluscos)	978 - 161000 (100%) (dw)	Mar de Bohai, China	Liao y Kannan, (2018)
EtP	<i>Buccinidae</i> , <i>Veneridae</i> , <i>Haliotidae</i> , <i>Mytilidae</i> , <i>Pectinidae</i> , <i>Ostreidae</i> , <i>Corbiculidae</i> , <i>Pteriidae</i>	<3.2 - 0.330 (99,5%) (ww) ^a	Bahía de Hong Kong, China	Lu <i>et al.</i> , 2019
	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (molusco), <i>Ruditapes philippinarum</i> (almeja manila), <i>Cerastoderma edule</i> (berberecho)	<0.1 - 0.37 (80%) (dw)	Costa Norte, España	Villaverde-de-Sáa <i>et al.</i> , 2016
	<i>Holothuria tubulosa</i> (equinodermo)	0.19 - 1476 (100%) (dw)	Mar Mediterráneo, España	Martín <i>et al.</i> , 2017
	<i>Molva sp.</i> (pez)	0.86 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019
BuP				
BA	<i>Anodonta sp.</i> (molusco bivalvo)	7529 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019
	<i>Neverita didyma</i> , <i>Rapana venosa</i> , <i>Mya arenaria</i> , <i>Cyclina sinensis</i> , <i>Chlamys farreri</i> , <i>Scapharca subcrenata</i> , <i>Meretrix meretrix</i> , <i>Mytilus edulis</i> , <i>Crassostrea talienwhanensis</i> , <i>Amusium</i> y <i>Macrta veneriformis</i> (moluscos)	344 - 49700 (100%) (dw)	Mar de Bohai, China	Liao y Kannan, 2018
OH-MeP	<i>Anodonta sp.</i> (molusco bivalvo)	49.5 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019
OH-EtP	<i>Stomatopoda sp.</i> (crustáceo)	52.6 (100%)	Mar del Sur, China	Zhao <i>et al.</i> , 2019

Parabeno	Organismo marino	Concentración ng g ⁻¹ (DF%)	Zona geográfica	Referencia
3,4-DHB	<i>Enhydra lutris kenyoni</i> (mamífero marino, nutria marina)	<10.26 - 412 (5-25%) (ww) (riñón)	California, EEUU	Xue <i>et al.</i> , 2015
	<i>Stenella clymene</i> (mamífero marino, delfín)	<20.5 - 161 (5-25%) (ww) (hígado)	Golfo de México, México	

DF (%) = frecuencia de detección

^a = 186 ejemplares de 8 especies de crustáceos y moluscos

^b = 64 muestras de 54 especies de peces (*Gadus morhua*, *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Dicentrarchus labrax*, *Lophius budegassa*, *Gadus morhua*, *Sparus aurata*, *Pangasianodon hypophthalmus*, *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus nerka*, *Melicertus kerathurus*, *Sepia officinalis*, *Pleuronectes platessa*, *Pleoticus muelleri*, *Pagrus pagrus*, *Lates niloticus*, *Xiphias gladius*, *Scophthalmus rhombus*, *Scomber scombrus*, *Solea solea*, *Thunnus albacares*, *Salmo trutta*, *Isurus oxyrinchus*, *Squalus acanthias*) y 2 bivalvos (*Mytilus galloprovincialis*, *Chamelea gallina*)

3. 1. Presencia de parabenos según el tipo de organismo

Los parabenos, como ECs, son estudiados mayormente en peces, seguidos por moluscos bivalvos, crustáceos, algas, mamíferos y equinodermos, según un orden decreciente de protagonismo (Álvarez-Ruiz y Picó, 2020). Basándonos en la tabla 3, prácticamente en todos los estudios compilados, los parabenos muestran una frecuencia de detección del 100 % en muestras de peces. Mientras que, por otra parte, no siempre se encuentra contaminación por parabenos en las muestras de moluscos y crustáceos. Así mismo, Álvarez-Muñoz *et al.* (2015) destacan a los peces como los mejores bioindicadores para compuestos disruptores hormonales.

Desde otro punto de vista, aunque la presencia de parabenos en peces esté ampliamente documentada, es destacable sin embargo, una mayor concentración en organismos bentónicos (como crustáceos y moluscos), alcanzando valores muy superiores a los de peces (ver tabla 3). Es el caso de Rosende *et al.* (2019), donde se sobrepasan concentraciones de 200 ng g⁻¹ para MeP en muestras del molusco *Mytilus galloprovincialis*. De hecho, estos organismos bentónicos son capaces de almacenar una proporción de parabenos mayor a la de los peces, ya que habitan en el sedimento marino, donde estos compuestos se acumulan (Zhao *et al.*, 2019). Terasaki *et al.* (2012) explican este fenómeno en relación a la mayor proporción de los parabenos como sólidos en suspensión, en lugar de disueltos. Concretamente, en Zhao *et al.* (2019), los mayores valores en ng g⁻¹ de parabenos siempre son encontrados en moluscos, alcanzando diferencias de un orden de magnitud (de cientos a miles), respecto a los de los peces. Esto se corresponde con otro estudio ubicado también en China, realizado por Liao y Kannan (2018), donde las concentraciones halladas en diferentes especies de moluscos son incluso mayores, de 344-161000 ng g⁻¹ para los metabolitos de parabenos y de 2.66-299 ng g⁻¹ para los parabenos.

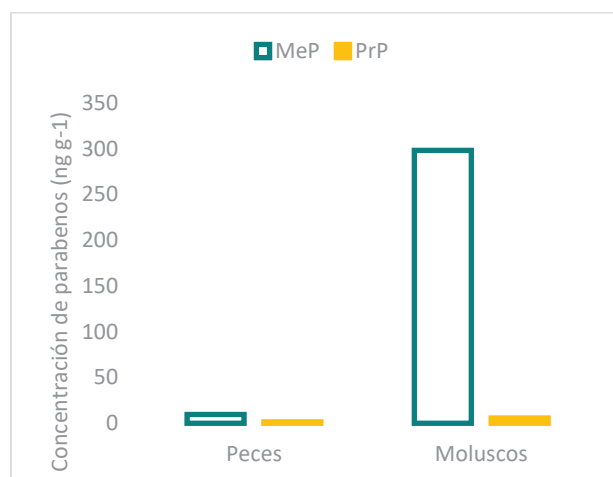


Figura 3. Gráfico de las concentraciones máximas de parabenos (ng g^{-1}) en peces y moluscos para MeP y PrP, según los datos extraídos de la tabla 3.

En base a las concentraciones de MeP y PrP, en la figura 3, basada en la información de la tabla 3, se ilustra de forma sencilla un ejemplo de la dominancia de los moluscos sobre los peces, respecto a los ng g^{-1} que pueden acumular de estos parabenos. Con respecto a organismos autótrofos, Álvarez-Muñoz *et al.* (2015) trabajan con macroalgas, entre otros, aunque no se encuentran cantidades de parabenos que superen los LODs. Cabe destacar que no son frecuentes los trabajos sobre parabenos enfocados en organismos con capacidad fotosintética, mientras que abundan los estudios sobre las principales clases del reino animal (moluscos, crustáceos, equinodermos, peces y mamíferos). Entre los trabajos expuestos en la tabla 3, los valores referentes a muestras de *Stomatopoda sp.* (crustáceo) y *Holoturia tubulosa* (equinodermo) no pueden ser ignoradas, pues alcanzan más de 50 o incluso de 2000 ng g^{-1} de parabenos contenidos en sus organismos, respectivamente.

Finalmente, para los cetáceos (mamíferos marinos), al tratarse de organismos de larga esperanza de vida (Jeong *et al.*, 2019), es de notar la gran concentración de parabenos (MeP y 4-HB) que pueden bioacumular (almacenar en sus tejidos, de Lucas-Gil *et al.*, 2017) respecto a otros organismos estudiados en este trabajo, encontrándose valores medios del orden de cientos o miles de ng g^{-1} , en función del parabeno detectado. Además, podemos llamar la atención sobre el posible efecto de biomagnificación, debido a su posición, bastante elevada, en la cadena trófica (Jeong *et al.*, 2019).

3. 2. Presencia de parabenos según el tipo de muestra

Ahora con una perspectiva más específica, la matriz más común en la que son analizados y detectados contaminantes emergentes en organismos marinos, principalmente en peces, es el tejido muscular (Núñez *et al.*, 2017). También Emnet *et al.* (2015), registran los mayores valores de concentración de parabenos en el tejido muscular de peces (*Trematomus bernachii*), con valores para todo el organismo de 5.1-26.9 ng g^{-1} (dw).

Jeong *et al.* (2019), destacan los valores de concentraciones de diferentes parabenos en el estómago, hígado y riñón de las dos especies estudiadas, delfín común (*Delphinus capensis*) y

marsopa negra (*Neo-phocaena asiaeorientalis*), aunque en proporción al organismo completo, el tejido muscular albergaba el 80 % del total de parabenos en el delfín.

Como puede observarse en los trabajos recogidos en la tabla 3, los parabenos han sido estudiados en otros tejidos, además del muscular, el hígado, el cuerpo completo, el riñón o el estómago (esquematisados en la figura 4), en consonancia con los resultados de Álvarez-Ruiz y Picó (2020) respecto al conjunto de los ECs. Por una parte, cada estudio enfoca sus análisis en diferentes órganos y tejidos dentro de un mismo organismo. Añadido a esto, según el tipo de organismo, son diferentes los tejidos y órganos en los que se registran las concentraciones más altas de parabenos (ver tabla 3).

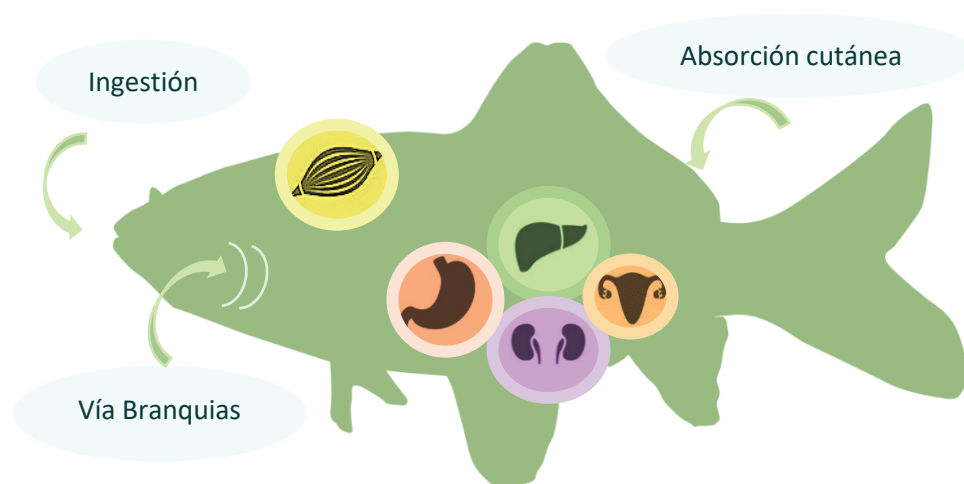


Figura 4. Esquema de los principales órganos (músculo, estómago, hígado, riñones y gónadas) en los que se documentan concentraciones de parabenos en organismos marinos, según los datos de la tabla 3, junto con las vías de entrada a sus tejidos.

3. 3. Presencia de parabenos según el analito estudiado

La mayoría de estudios centran su investigación en analizar MeP, principalmente, ya que, como se ha documentado, es uno de los parabenos más comunes usados en la industria. Aun así, también EtP o PrP han adquirido una importancia cercana a la de MeP, pero no tan alta como la de 4-HB (ver figura 5). Más concretamente, 4-HB es el compuesto que presenta una mayor concentración media, además de aparecer en el 100 % de las muestras analizadas de mamíferos marinos y moluscos en distintos trabajos (Liao y Kannan, 2018, Jeong *et al.*, 2019 y Zhao *et al.*, 2019). A parte de 4-HB, también BA, OH-MeP y OH-EtP están comenzando a estudiarse más recientemente, como demuestran las fechas de los trabajos en los que son analizados, no anteriores al 2018. Concretamente, solo se analizan metabolitos en el 29 % de los trabajos revisados. Sin embargo, mientras que los parabenos registran una máxima concentración de 2015 ng g⁻¹ de MeP (Martín *et al.*, 2017), entre los metabolitos, BA destaca con 49700 ng g⁻¹ en Liao y Kannan (2018), siendo analizado únicamente en dos trabajos. Además, el máximo para los metabolitos y parabenos en conjunto, lo registra 4-HB con 161000 ng g⁻¹ (Liao y Kannan, 2018).

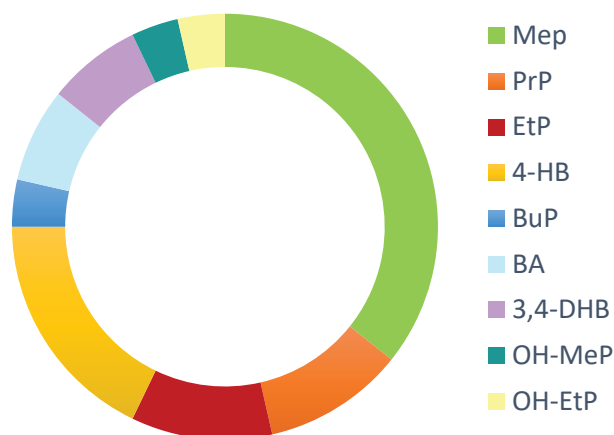


Figura 5. Gráfico que expone el número de estudios en los que fueron determinados los diferentes parabenos en muestras de organismos marinos, según la información de la tabla 3.

3. 4. Bioacumulación de parabenos

Para poder evaluar el nivel de acumulación de compuestos químicos en organismos, se emplea el factor de bioacumulación (expresado como BAF o log BAF, bioaccumulation factor). Según Kelly *et al.* (2007), se considera con capacidad de bioacumulación a aquellos compuestos orgánicos que cumplan que $BAF > 5000$ ($\log BAF > 3.7$). Sin embargo, el número de trabajos en los que se estudia este valor es reducido (Martín *et al.*, 2020), lo que limita la capacidad de valorar el impacto de ECs, como los parabenos, en el ecosistema marino. No obstante, fuera de la norma, Yao *et al.* (2018) documentan valores de log BAF que indican capacidad de bioacumulación (mayores a 3.7) para PrP en 10 especies de peces (*Tilapia aurea*, *Cyprinus carpio*, *Cirrhinus mliorella*, *Ctenopharynodon idellus*, *Ophicephalus argus*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Carassius auratus*, *Parabramis pekinensis*, *Ameiurus nebulosus*, *Clarias fuscus*). Zhao *et al.* (2019) también detallan valores de BAF (log BAF) en diversas especies, desde 25.4 (1.41) para BzP (no considerado bioacumulación) en muestras de pez de osmanto (*Larimichthys polyactis*) hasta superar un valor de 70000 (4.86) para OH-EtP en ejemplares de camarón mantis (Stomatopoda sp.). Justo un año después, Martín *et al.* (2020) publicaron un trabajo donde recopilan datos de BAF en un rango 1.08 - 6.12 para numerosas especies, abarcando muestras de algas, peces, moluscos y crustáceos. De este modo, el concepto de bioacumulación en relación a los parabenos, aunque sea muy reciente, ha ido apareciendo en trabajos de 2018 en adelante.

El trabajo de Zhao *et al.* (2019) es ejemplo de la existencia de bioacumulación para los metabolitos de los parabenos (OH-MeP y OH-EtP), pero no para los principales parabenos (MeP, EtP, Prp, BzP o BuP), encontrándose en baja concentración en los peces, crustáceos o moluscos del estudio. En contraposición, Xue *et al.* (2017) obtienen que no existe magnificación en la red trófica del metabolito 4-HB, mientras que MeP sí está siendo biomagnificado, al presentar un valor mayor a 1 en el factor de magnificación trófica (TMF, trophic magnification factor). Estos resultados fueron evaluados en muestras de peces, invertebrados, algas y macroalgas en Xue *et al.* (2017) y en 21 especies diferentes de peces, moluscos y crustáceos en Zhao *et al.* (2019).

En el caso de biomagnificarse y extenderse en la red trófica, a causa de su constante vertido al medio, podrían acumularse durante más tiempo, y el impacto ambiental de los parabenos se

multiplicaría notablemente, con los efectos sobre la biota marina que esto pueda conllevar (Gago-Ferrero *et al.*, 2014).

Cabe resaltar la presencia de MeP, EtP, PrP, BuP y HeP en muestras de albatros, águilas marinas, gaviotas y cormoranes, según los resultados de Xue y Kannan (2016), siendo estas aves consumidoras de peces, crustáceos y otros organismos marinos. Además, en este mismo trabajo detectan concentraciones de 4-HB de casi 70000 ng g⁻¹ (ww) en muestras de diferentes tejidos de águila marina (*Haliaeetus albicilla*).

Finalmente, en Villaverde-de-Sáa *et al.* (2016) fue analizada la presencia de derivados clorados de parabenos en organismos marinos, pero no fueron detectados en ninguno de los moluscos muestreados en el estudio.

4. Efectos de los parabenos sobre organismos marinos

Los productos que contienen parabenos son usados a escala global, siendo estos compuestos capaces de dispersarse por el aire y el agua, lo cual facilita su incorporación vía ingestión o inhalación al interior de los organismos, donde pueden ser transformados en otros compuestos (Nowak *et al.*, 2018). Una vez dentro de los organismos, pueden causar diversos efectos, entre los que destaca la disrupción hormonal, al tener los parabenos una actividad muy similar a la de los estrógenos, según se ha comprobado en diversos estudios en organismos marinos (como Dambal *et al.* (2017) o Bjerregaard *et al.* (2003)).

Una vez en los organismos, los compuestos extraños o tóxicos, interaccionan con transportadores asociados a ATP (adenosín trifosfato) en las membranas celulares de los órganos, que pueden permitir la acumulación de los mismos en sus tejidos y así desencadenar diferentes respuestas (Tanoue *et al.*, 2015).

Ya en organismos tan pequeños como los copépodos, Kan *et al.* (2019) documentan un retraso en el desarrollo y la fecundidad de *Tigriopus japonicus*, además de aumentar el número de hembras, por el efecto estrogénico de los parabenos MeP, EtP y PrP, siendo PrP el de mayor toxicidad (Kang *et al.*, 2019). De hecho, mientras MeP y EtP prácticamente no causaron efectos sobre la proporción entre machos y hembras a concentraciones de mg L⁻¹, PrP lo consigue con una exposición de µg L⁻¹.

De mayor tamaño y también enorme importancia en los ecosistemas marinos, los corales se ven igualmente afectados por la presencia de parabenos en el medio. En Fel *et al.* (2019), se analizaron los efectos de EtP y BuP sobre la capacidad fotosintética de los simbiontes de *Stylophora pistillata*, en función de la actividad del fotosistema II (PSII, photosystem II), que resultó disminuir tras 35 días bajo una exposición de 100 µg L⁻¹ de BuP. Así mismo, Danovaro *et al.* (2008) estudian el efecto de los parabenos y otros compuestos contenidos en las cremas solares sobre el blanqueamiento en corales, al inducir el ciclo lítico en las algas zooxantelas simbiontes de los corales. En *Acropora* sp. (coral del Mar de Andaman, Tailandia), solo con 33 µg L⁻¹ ya eran visibles graves efectos de blanqueamiento (84 %), comenzando a las 24 horas de la exposición a BuP y perdiendo un 84 % de la zooxantela simbiote. En *Acropora pulchra* (Mar Rojo, Egipto), esta vez con 50 µg L⁻¹, el coral había perdido el 90 % del color tras 96 horas. Los resultados de este estudio, conducen a deducir

que las cremas solares con contenido en parabenos (entre otros), aun estando en muy baja concentración (0.5 %), son una potencial amenaza en el blanqueamiento de los corales, (Danovaro *et al.*, 2008).

En peces, es ejemplo del efecto nocivo de los parabenos, el trabajo de Dambal *et al.* (2017) sobre los embriones del pez zebra (*Danio rerio*) del MeP. Entre dos y tres días tras la fertilización, fueron expuestos a concentraciones de 100 a 800 μM de MeP, resultando en una disminución en la proporción de eclosiones, la aparición de deformidades en embriones y larvas, además de un efecto estrogénico, marcado por el aumento en la expresión del gen vitelogenina I o VTG I (biomarcador estrogénico). Es destacable que el 100 % de los embriones murió tras una exposición de 1000 μM de MeP (Dambal *et al.*, 2017).

En peces algo mayores, en Pedersen *et al.* (2000) también se detectan efectos estrogénicos de EtP, PrP y BuP sobre la proteína vitelogenina (precursor del vitelo contenido en los huevos), al disparar su concentración en sangre en juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). De hecho, en solo 6 días, 200 mg kg^{-1} de BuP fueron suficientes para aumentar hasta 700 veces la concentración de vitelogenina, o 300 mg kg^{-1} de PrP para multiplicarla por 1000, mientras que los efectos estrogénicos causados por EtP fueron 60 veces menores a los de PrP, al tener una cadena de menor tamaño (Pedersen *et al.*, 2000). Confirman el efecto estrogénico de PrP en *Oncorhynchus mykiss*, los experimentos de Bjerregaard *et al.* (2003) donde se expone un aumento aproximado de la vitelogenina en sangre en unos 4 órdenes de magnitud con una dosis de 359 mg kg^{-1} , aunque no se observaron cambios en el ratio de machos y hembras pero sí cierto grado de bioacumulación. Por otra parte, los resultados de Inui *et al.* (2003) respecto a PrP en el pez-arroz japonés (*Oryzias latipes*), superan un aumento en 1 millón de veces la expresión del ARNm (VTG-1 y VTG-2) de vitelogenina en el plasma sanguíneo, pero con 55 mM de PrP, siendo este pez de mucho menor en tamaño a la trucha.

Hasta ahora se han visto efectos aislados de los parabenos, aunque quizá en organismos más complejos se dificulte la identificación de efectos sinérgicos entre diferentes compuestos químicos, por lo que Oliver *et al.* (2020) los estudian en el hongo *Saccharomyces cerevisiae* y en *Vibrio fischeri*, una bacteria común en organismos marinos, como la sepia *Euprymna scolopes*, al ser su órgano luminoso (Boettcher y Ruby, 1990). En este estudio, determinan, entre otros, un efecto potenciado en la acción conjunta de BuP con el compuesto triclosan, otro agente antimicrobiano, común en la industria cosmética y muy contaminante (Oliver *et al.*, 2020).

De forma general, PrP y BuP parecen destacar entre los demás, por sus efectos estrogénicos de mayor impacto (Brausch y Rand, 2011) sobre los organismos marinos. Para parabenos de menor longitud en su cadena alquílica, como MeP y EtP, la toxicidad se ve reducida, bien por la necesidad de una dosis mayor, o bien por no causar efectos detectables, según los trabajos citados.

5. Biorremediación y alternativas al uso de parabenos

De forma genérica, la eliminación de compuestos orgánicos del medio acuático se ha estudiado en microorganismos bacterianos, por su gran capacidad biorremediadora (Hashim *et al.*, 2017), aunque la ciencia lleva a explorar, dentro de las medidas respetuosas con el medio ambiente, otros organismos capaces de retirar contaminantes del medio.

Teniendo en cuenta que el principal origen de los parabenos son las EDAR, Anjos *et al.* (2019) plantean un trabajo de fitorremediación, llevado a cabo por las algas macrófitas *Lemna minor* y *Landoltia punctata*, en aguas domésticas residuales de Brasil (São Paulo). En tanques con unos $150 \mu\text{g L}^{-1}$ de PrP y MeP, en un total de 20 días, *L. minor* consiguió retirar MeP del medio en un 90.7 %, muy similar al 89.2 % de PrP que pudo retirar *L. punctata* (Anjos *et al.*, 2019), demostrando ambas especies su contribución biorremediadora sobre los parabenos en aguas residuales.

Así, la biorremediación como mecanismo de eliminación de parabenos del medio marino, podría plantearse, no solo empleando algas, sino otros organismos capaces de almacenarlos en una mayor proporción y eliminarlos, como puede ser el caso de los moluscos bivalvos (Álvarez-Ruiz y Picó, 2020). Por otra parte, cabe destacar la potencial capacidad biorremediadora de los hongos en compuestos orgánicos (Harms *et al.*, 2011), como demuestran Mizuno *et al.* (2009) con *Trametes versicolor*, cuya enzima laccasa, unida al mediador redox HBT (1-hidroxibenzotriazol), es capaz de inhibir el 100 % de la actividad estrogénica de iBuP tras dos días de tratamiento.

Añadido a esto, con una idea de disminuir los efectos negativos de contaminantes químicos en el medio, parece imprescindible fomentar su sustitución por otros compuestos igual de eficaces pero respetuosos con el ambiente. En el caso de los parabenos, Lucas-Gil *et al.* (2017) proponen un preservativo inorgánico, al que llaman B4, basado en una matriz de arena (con ZnO y principios activos de Ag^+), de una toxicidad mucho menor, bajo coste y reducción de materiales necesarios, además de su versatilidad en diferentes PCPs.

También Weber (2005) propone como sustituto a los parabenos, los ácidos orgánicos. En concreto, una solución acuosa con diazolidinil urea (Germal II), y ácidos orgánicos que sustituyen la capacidad fungicida de los parabenos, en este caso, benzoato de sodio y sorbato de potasio (E-202), siendo además una mezcla incolora (Weber 2005).

De hecho, a día de hoy, ya existen productos comercializados que sustituyen a los parabenos, pudiendo competir, incluso, con su mezcla y efecto sinérgico (Leschke y Wustermann, 2006).

6. Conclusiones

Nos encontramos en un punto de fragilidad en el equilibrio de los ecosistemas (Schimel *et al.*, 2013), y los parabenos parecen sumarse, como un nuevo obstáculo, ante la lucha por la supervivencia de las especies a la era del Antropoceno (Newman, 2019). Entre los numerosos contaminantes que se vierten a los océanos por su uso industrial, los parabenos han sido clasificados como contaminantes emergentes, ya que no son inocuos al medio. Desde los ejemplares más pequeños, como los copépodos, estando ampliamente distribuidos en peces, en altas concentraciones en moluscos, y presentes en crustáceos, o incluso los cetáceos, los organismos marinos son capaces de incorporar

parabenos desde el medio, y que éstos sean transferidos por la red trófica. En su paso por la misma, existen estudios que demuestran efectos negativos sobre algunos de los organismos que conforman las relaciones tróficas en el océano. Contamos entre estos efectos, deformidades en los estados larvarios o de desarrollo, cambios en el sex-ratio, u otras modificaciones relacionadas con las propiedades estrogénicas de los parabenos, además de contribuir al blanqueamiento de los corales.

Dentro de los parabenos, MeP es el más estudiado, aunque PrP reúne requisitos para ser el documentado como más dañino en su toxicidad como compuesto estrogénico. Por otra parte, aumenta el interés por los metabolitos de parabenos, como 4-HB, destacando por su alta concentración en diferentes organismos marinos.

El enfoque de los estudios sobre los parabenos en el medio marino es muy reciente, por lo que aún queda mucho por conocer sobre sus efectos a largo plazo, su potencial bioacumulación (Brausch y Rand, 2011) y las consecuencias del efecto sinérgico de diferentes parabenos. Así, el desarrollo de técnicas eficaces de extracción y detección de parabenos, además de protocolos unificados para su análisis parecen imprescindibles para conocer el impacto de estos preservativos en el medio y hallar posibles soluciones como la biorremediación para su eliminación.

A pesar de existir cierta variabilidad en los métodos de análisis de parabenos revisados, se han encontrado patrones comunes de dominancia en el uso de ciertos procedimientos. Entre las técnicas que se han usado en los últimos 10 años, la extracción por disolvente y la determinación por cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas en tándem parece ser el procedimiento más usual. Por otro lado, sería recomendable el uso de otras técnicas algo más avanzadas como la UAE, ya que se ha constatado que proporciona mejores eficiencias de extracción. También, aunque no está presente en los trabajos detallados anteriormente, el método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) es una técnica que destaca, al igual que MSPD, por su capacidad extractiva y reducido coste material (Barker, 2007). Esta técnica no necesita equipamiento de alto coste, además de ser más rápida y eficiente que otras, como PLE, que no es especialmente selectiva (Ocaña-González *et al.*, 2015), por lo que se está introduciendo su uso en la extracción de ECs en organismos marinos (Núñez *et al.*, 2017).

Por otra parte, las diferencias entre los datos recopilados en cada estudio, en relación a la presencia de parabenos según el tipo de organismos marinos y de parabeno analizado, hacen visible una falta de unificación que permita conocer cuál es el verdadero impacto que pueden generar en el medio marino. Ya que esta revisión aporta un punto de vista global, se recomienda un enfoque más específico respecto a aquellos parabenos con mayor presencia o que puedan causar efectos nocivos más graves, para futuros trabajos.

Finalmente, en una postura conservacionista (Ridder, 2008) hacia las especies y ecosistemas existentes, cabe llamar la atención sobre la necesidad de sustitución y eliminación de los parabenos en industrias tan extendidas como la cosmética y la alimentaria. Para ello, la ciencia se topa con la dificultad de encontrar sustitutos que los igualen en durabilidad y eficacia preservativa, además de ser respetuosos con el medio ambiente.

7. Abreviaturas, lista de tablas y lista de figuras

3,4-DHB ácido 3,4-dihidroxibenzoico	MAE extracción asistida por microondas (microwave assisted extraction)
4-HB ácido para-hidroxibenzoico	MeOH metanol
ACN acetonitrilo	MeP metilparabeno
ARNm ácido ribonucleico mensajero	MRM monitorización de reacción múltiple (multiple reaction monitoring)
ATP adenosín tri fosfato	MS espectrometría de masas
BA ácido benzoico	MS/MS espectrometría de masas en tándem
BAF factor de bioacumulación (bioaccumulation factor)	MSPD dispersión de matriz en fase sólida (matrix solid phase dispersion)
BuP butilparabeno	PCPs productos de cuidado personal (personal care productos)
BzP benzilparabeno	pHBA ácido para-hidroxibenzoico
d/w peso seco (dry weight)	PhP fenilparabeno
d-SPE extracción en fase sólida dispersiva (dispersive-solid phase extraction)	PLE extracción líquida presurizada (pressurized liquid extraction)
ECs contaminantes emergentes (emerging contaminants)	PrP Propilparabeno
EDAR estaciones depuradora de aguas residuales	PSII fotosistema II
EtP etilparabeno	SE extracción por disolvente (solvent extraction)
EU Unión Europea	SI-BI-LOV (Sequential injection–bead injection–lab-on-valve)
GC cromatografía de gases (gas chromatography)	SPE extracción en fase sólida (solid phase extraction)
HBT 1-hidroxibenzotriazol	TMF , factor de magnificación trófica (trophic magnification factor)
HepP Heptilparabeno	UAE extracción asistida por ultrasonido (ultrasound-assisted extraction)
HPLC cromatografía líquida de alta resolución (high performance liquid chromatography)	UHPLC cromatografía líquida de ultra resolución (ultra high performance liquid chromatography)
HRMS espectrómetro de masas de alta resolución (high resolution mass spectrometry)	USA Estados Unidos de América
HSSE extracción por disolvente a alta velocidad (high-speed solvent extraction)	VTG-1, VTG-2 vitelogenina 1, vitelogenina 2
iBuP isobutilparabeno	ww peso húmedo (wet weight)
iPrP isopropilparabeno	w/w peso /peso (weight/weight)
Kow coeficiente de partición octanol-agua	μSPE micro extracción en fase sólida (micro solid phase extraction)
LC cromatografía líquida (liquid chromatography)	
LODs límites de detección (limits of detection)	
LOQs límites de cuantificación (limits of quantification)	

Tablas y figuras		Nº Pág.
Tabla 1	Propiedades físico-químicas de los principales parabenos de este trabajo (Błądzka <i>et al.</i> , 2014, Haman <i>et al.</i> , 2015).	3
Tabla 2	Métodos de extracción, purificación y determinación de parabenos en organismos marinos.	10
Tabla 3	Tabla resumen con los valores más altos registrados de parabenos en diferentes estudios y matrices a nivel global.	14
Figura 1	Estructuras de los principales parabenos contenidos en este trabajo.	4
Figura 2	Frecuencia de uso de las diferentes técnicas de extracción y detección de parabenos en organismos marinos, según la información de la tabla 2.	6
Figura 3	Gráfico de las concentraciones máximas de parabenos (ng g^{-1}) en peces y moluscos para MeP y PrP, según los datos extraídos de la tabla 3.	17
Figura 4	Esquema de los principales órganos (músculo, estómago, hígado, riñones y gónadas) en los que se documentan concentraciones de parabenos en organismos marinos, según los datos de la tabla 3, junto con las vías de entrada a sus tejidos.	19
Figura 5	Gráfico que expone el número de estudios en los que fueron determinados los diferentes parabenos en muestras de organismos marinos, según la información de la tabla 3.	19

8. Referencias

- Álvarez-Muñoz, D., Rodríguez-Mozaz, S., Maulvault, A. L., Tediosi, A., Fernández-Tejedor, M., Van den Heuvel, F., Kotterman, M., Marqués, A. & Barceló, D. (2015). Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe. *Environmental Research*, 143, 56-64.
- Álvarez-Ruiz, R., & Picó, Y. (2020). Analysis of emerging and related pollutants in aquatic biota. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, e00082.
- Anjos, M. L., Isique, W. D., Albertin, L. L., Matsumoto, T., & Henares, M. N. P. (2019). Parabens Removal from Domestic Sewage by Free-Floating Aquatic Macrophytes. *Waste and Biomass Valorization*, 10(8), 2221-2226.
- Azzouz, A., Colón, L. P., Souhail, B., & Ballesteros, E. (2019). A multi-residue method for GC-MS determination of selected endocrine disrupting chemicals in fish and seafood from European and North African markets. *Environmental research*, 178, 108727.
- Baghdikian, B., Filly, A., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Mabrouki, F., Chemat, F., & Ollivier, É. (2016). Extraction by solvent using microwave and ultrasound-assisted techniques followed by HPLC analysis of Harpagoside from Harpagophytum procumbens and comparison with conventional solvent extraction methods. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 692-698.
- Barker, S. A. (2007). Matrix solid phase dispersion (MSPD). *Journal of biochemical and biophysical methods*, 70(2), 151-162.
- Błądzka, D., Gromadzińska, J., & Wąsowicz, W. (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environment international*, 67, 27-42.

- Boberg, J., Taxvig, C., Christiansen, S., & Hass, U. (2010). Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reproductive Toxicology*, 30(2), 301-312.
- Boettcher, K. J., & Ruby, E. G. (1990). Depressed light emission by symbiotic *Vibrio fischeri* of the sepiolid squid *Euprymna scolopes*. *Journal of Bacteriology*, 172(7), 3701-3706.
- Brausch, J. M., & Rand, G. M. (2011). A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere*, 82(11), 1518-1532.
- Cabaleiro, N., De La Calle, I., Bendicho, C., & Lavilla, I. (2014). An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 57, 34-46.
- Cadena-Aizaga, M. I., Montesdeoca-Esponda, S., Torres-Padrón, M. E., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodríguez, J. J. (2020). Organic UV filters in marine environments: An update of analytical methodologies, occurrence and distribution. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 25, e00079.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., & Hernández-Méndez, J. (2005). Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A*, 1089(1-2), 1-17.
- Chiesa, L. M., Pavlovic, R., Panseri, S., & Arioli, F. (2018). Evaluation of parabens and their metabolites in fish and fish products: a comprehensive analytical approach using LC-HRMS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(12), 2400-2413.
- Dawidowicz, A. L., & Wianowska, D. (2005). PLE in the analysis of plant compounds: Part I. The application of PLE for HPLC analysis of caffeine in green tea leaves. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 37(5), 1155-1159.
- de Lucas-Gil, E., Rubio-Marcos, F., Leret, P., Motos-Pérez, B., Monte-Serrano, M., Menéndez, J., & Fernández, J. F. (2017). Opening a new gate to glass preservative with long-lasting antimicrobial activity as replacement of parabens. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(1), 294-302.
- Danovaro, R., Bongiorni, L., Corinaldesi, C., Giovannelli, D., Damiani, E., Astolfi, P., Greci, L. & Pusceddu, A. (2008). Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Environmental health perspectives*, 116(4), 441-447.
- Dambal, V. Y., Selvan, K. P., Lite, C., Barathi, S., & Santosh, W. (2017). Developmental toxicity and induction of vitellogenin in embryo-larval stages of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to methyl Paraben. *Ecotoxicology and environmental safety*, 141, 113-118.
- De Castro, M. L., & Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 369(1-2), 1-10.
- Djatkina, R., Hsieh, C. C., Chen, J. M., & Ding, W. H. (2016). Determination of paraben preservatives in seafood using matrix solid-phase dispersion and on-line acetylation gas chromatography– mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1036, 93-99.
- Emnet, P., Gaw, S., Northcott, G., Storey, B., & Graham, L. (2015). Personal care products and steroid hormones in the Antarctic coastal environment associated with two Antarctic research stations, McMurdo Station and Scott Base. *Environmental research*, 136, 331-342.
- Fel, J. P., Lacherez, C., Bensetra, A., Mezzache, S., Béraud, E., Léonard, M., Allemand, D. & Ferrier-Pagès, C. (2019). Photochemical response of the scleractinian coral *Stylophora pistillata* to some sunscreen ingredients. *Coral Reefs*, 38(1), 109-122.
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., & Barceló, D. (2014). Analysis and Occurrence of Personal Care Products in Biota Samples. In *Personal Care Products in the Aquatic Environment* (pp. 263-291). Springer, Cham.
- Han, C., Xia, B., Chen, X., Shen, J., Miao, Q., & Shen, Y. (2016). Determination of four paraben-type preservatives and three benzophenone-type ultraviolet light filters in seafoods by LC-QqLIT-MS/MS. *Food chemistry*, 194, 1199-1207.
- Harms, H., Schlosser, D., & Wick, L. Y. (2011). Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 177-192.

- Hartwell, S. K., Grudpan, K., & Christian, G. D. (2004). Bead injection with a simple flow-injection system: an economical alternative for trace analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(9), 619-623.
- Hashim, N. H. F., Kassim, M. A., Yusof, N. A., & Sharifuddin, S. S. (2017). Bioremediation of Endocrine Disruptive Chemicals: The Power of Microbial Enzymes. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 1-9.
- Inui, M., Adachi, T., Takenaka, S., Inui, H., Nakazawa, M., Ueda, M., Watanabe, H., Mori, C., Iguchi, T. & Miyatake, K. (2003). Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicology*, 194(1-2), 43-50.
- Jeong, Y., Xue, J., Park, K. J., Kannan, K., & Moon, H. B. (2019). Tissue-specific accumulation and body burden of parabens and their metabolites in small cetaceans. *Environmental science & technology*, 53(1), 475-481.
- Kang, H. M., Kim, M. S., Hwang, U. K., Jeong, C. B., & Lee, J. S. (2019). Effects of methylparaben, ethylparaben, and propylparaben on life parameters and sex ratio in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, 226, 388-394.
- Kelly, B. C., Ikononou, M. G., Blair, J. D., Morin, A. E., & Gobas, F. A. (2007). Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science*, 317(5835), 236-239.
- Kim, J. W., Ramaswamy, B. R., Chang, K. H., Isobe, T., & Tanabe, S. (2011). Multiresidue analytical method for the determination of antimicrobials, preservatives, benzotriazole UV stabilizers, flame retardants and plasticizers in fish using ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(22), 3511-3520.
- Leschke, M., & Wustermann, S. (2006). A reliable alternative for traditional preservative systems. *Sofw Journal*, 132(4), 78.
- Liao, C., Liu, F., & Kannan, K. (2013). Occurrence of and dietary exposure to parabens in foodstuffs from the United States. *Environmental science & technology*, 47(8), 3918-3925.
- Lu, S., Wang, N., Ma, S., Hu, X., Kang, L., & Yu, Y. (2019). Parabens and triclosan in shellfish from Shenzhen coastal waters: bioindication of pollution and human health risks. *Environmental pollution*, 246, 257-263.
- Mizuno, H., Hirai, H., Kawai, S., & Nishida, T. (2009). Removal of estrogenic activity of iso-butylparaben and n-butylparaben by laccase in the presence of 1-hydroxybenzotriazole. *Biodegradation*, 20(4), 533-539.
- Martín, J., Zafra-Gómez, A., Hidalgo, F., Ibáñez-Yuste, A. J., Alonso, E., & Vilchez, J. L. (2017). Multi-residue analysis of 36 priority and emerging pollutants in marine echinoderms (*Holothuria tubulosa*) and marine sediments by solid-liquid extraction followed by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*, 166, 336-348.
- Martín, J., Hidalgo, F., Alonso, E., García-Corcoles, M. T., Vilchez, J. L., & Zafra-Gómez, A. (2020). Assessing bioaccumulation potential of personal care, household and industrial products in a marine echinoderm (*Holothuria tubulosa*). *Science of The Total Environment*, 137668.
- Moberg, F., & Folke, C. (1999). Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecological economics*, 29(2), 215-233.
- Montesdeoca-Esponda, S., Checchini, L., Del Bubba, M., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodriguez, J. J. (2018). Analytical approaches for the determination of personal care products and evaluation of their occurrence in marine organisms. *Science of the Total Environment*, 633, 405-425.
- Newman, E. A. (2019). Disturbance ecology in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 147.
- Núñez, M., Borrull, F., Pocurull, E., & Fontanals, N. (2017). Sample treatment for the determination of emerging organic contaminants in aquatic organisms. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 136-145.

- Ocaña-González, J. A., Villar-Navarro, M., Ramos-Payán, M., Fernández-Torres, R., & Bello-López, M. A. (2015). New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. *Analytica chimica acta*, 858, 1-15.
- Peck, A. M. (2006). Analytical methods for the determination of persistent ingredients of personal care products in environmental matrices. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386(4), 907-939.
- Pedersen, K. L., Pedersen, S. N., Christiansen, L. B., Korsgaard, B., & Bjerregaard, P. (2000). The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an in vivo fish assay. *Pharmacology & toxicology*, 86(3), 110-113.
- Petrović, M., Gonzalez, S., & Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 685-696.
- Quévrain, E., Domart-Coulon, I., Pernice, M., & Bourguet-Kondracki, M. L. (2009). Novel natural parabens produced by a Microbulbifer bacterium in its calcareous sponge host *Leuconia nivea*. *Environmental microbiology*, 11(6), 1527-1539.
- Ramaswamy, B. R., Kim, J. W., Isobe, T., Chang, K. H., Amano, A., Miller, T. W., Siringan, F. P. & Tanabe, S. (2011). Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure. *Journal of hazardous materials*, 192(3), 1739-1745.
- Raza, N., Kim, K. H., Abdullah, M., Raza, W., & Brown, R. J. (2018). Recent developments in analytical quantitation approaches for parabens in human-associated samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 98, 161-173.
- Ridder, B. (2008). Questioning the ecosystem services argument for biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, 17(4), 781-790.
- Rosende, M., Prieto, A., Etxebarria, N., Martorell, G., & Miró, M. (2019). Automatic Mesofluidic System Combining Dynamic Gastrointestinal Bioaccessibility with Lab-on-Valve-Based Sorptive Microextraction for Risk Exposure of Organic Emerging Contaminants in Filter-Feeding Organisms. *Analytical chemistry*, 91(9), 5739-5746.
- Routledge, E. J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J., & Sumpter, J. P. (1998). Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicology and applied pharmacology*, 153(1), 12-19.
- Schimel, D. S., Asner, G. P., & Moorcroft, P. (2013). Observing changing ecological diversity in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(3), 129-137.
- Seidel, V. (2012). Initial and bulk extraction of natural products isolation. In *Natural Products Isolation* (pp. 27-41). *Humana Press*.
- Tanoue, R., Nomiya, K., Nakamura, H., Kim, J. W., Isobe, T., Shinohara, R., ... & Tanabe, S. (2015). Uptake and tissue distribution of pharmaceuticals and personal care products in wild fish from treated-wastewater-impacted streams. *Environmental science & technology*, 49(19), 11649-11658.
- Terasaki, M., Takemura, Y., & Makino, M. (2012). Paraben-chlorinated derivatives in river waters. *Environmental chemistry letters*, 10(4), 401-406.
- Todd, D. (2014). Solvent extraction. Todaro, C. M., & Vogel, H. C. (Eds.). (2014). *Fermentation and biochemical engineering handbook*, 225-238. William Andrew.
- Villaverde-de-Sáa, E., Rodil, R., Quintana, J. B., & Cela, R. (2016). Matrix solid-phase dispersion combined to liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of paraben preservatives in mollusks. *Journal of Chromatography A*, 1459, 57-66.
- Xu, Q. A. (2013). *Ultra-high performance liquid chromatography and its applications*. John Wiley & Sons.
- Xue, J., & Kannan, K. (2016). Accumulation profiles of parabens and their metabolites in fish, black bear, and birds, including bald eagles and albatrosses. *Environment international*, 94, 546-553.

- Xue, J., Sasaki, N., Elangovan, M., Diamond, G., & Kannan, K. (2015). Elevated accumulation of parabens and their metabolites in marine mammals from the United States coastal waters. *Environmental science & technology*, 49(20), 12071-12079.
- Xue, X., Xue, J., Liu, W., Adams, D. H., & Kannan, K. (2017). Trophic magnification of parabens and their metabolites in a subtropical marine food web. *Environmental science & technology*, 51(2), 780-789.
- Wang, J., & Hansen, E. H. (2003). Sequential injection lab-on-valve: the third generation of flow injection analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(4), 225-231.
- Weber, K. (2005). New alternatives to paraben-based preservative blends. *Cosmetics and toiletries*, 120(1), 57-62.
- Yang, H., Zhang, F., & Wu, H. (2018). Review on life cycle of parabens: synthesis, degradation, characterization and safety analysis. *Current Organic Chemistry*, 22(8), 769-779.
- Yao, L., Zhao, J. L., Liu, Y. S., Zhang, Q. Q., Jiang, Y. X., Liu, S., Liu, W.R., Yang, Y.Y. & Ying, G. G. (2018). Personal care products in wild fish in two main Chinese rivers: bioaccumulation potential and human health risks. *Science of The Total Environment*, 621, 1093-1102.
- Zagorevskii, D. (2003). Mass Spectrometry. Constable, E. (2003). Comprehensive coordination chemistry II: from biology to nanotechnology, 367-380. Newnes.
- Zhao, X., Qiu, W., Zheng, Y., Xiong, J., Gao, C., & Hu, S. (2019). Occurrence, distribution, bioaccumulation, and ecological risk of bisphenol analogues, parabens and their metabolites in the Pearl River Estuary, South China. *Ecotoxicology and environmental safety*, 180, 43-52.
- Żwir-Ferenc, A., & Biziuk, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique--Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(5).

Actividades desarrolladas durante la realización del TFT

Este trabajo de TFT ha conllevado una revisión exhaustiva de una amplia variedad de artículos y libros, junto con la extracción e interpretación de datos y gráficos de los mismos.

Formación recibida

No se recibió formación extra relacionada con el TFT.

Nivel de integración e implicación dentro del departamento y relaciones con el personal

A raíz de las circunstancias que ha conllevado el COVID-19, las integración o implicación en el departamento no han sido posible, aunque la relación con el personal ha sido buena, a pesar de los inconvenientes generados por la situación excepcional.

Aspectos positivos y negativos más significativos

La búsqueda y recopilación de trabajos conlleva de un ejercicio largo que requiere de numerosas horas, que a pesar de no implicar el incentivo de un trabajo manual en el laboratorio, igualmente da lugar a un aprendizaje.

Valoración personal

La situación excepcional del curso 2019-2020 repercute en mí, al igual que en todo el sistema educativo, por lo que una exigencia de mejora no tendría cabida aquí.