



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Bioquímica y Farmacia

Evaluación de los métodos de recolección, identificación y cuantificación de
Microplásticos en ecosistemas hídricos.

Trabajo de titulación previo a
la obtención del título de
Bioquímico Farmacéutico

Autores:

Edisson Xavier Balarezo Cambi
CI: 0106544588
exbc5181@gmail.com

Edisson Javier Barbecho Quizhpi
CI: 0105320691
edisson.barbecho1@gmail.com

Directora:

PhD. María Elena Cazar Ramírez
CI: 0602243800

Cuenca - Ecuador

03 - Febrero - 2021



UNIVERSIDAD DE CUENCA



RESUMEN:

La contaminación descontrolada producida en la actualidad por el uso desmesurado de productos plásticos y el incorrecto manejo de técnicas de reciclaje, han producido un daño considerable a los ecosistemas hídricos viéndose reflejado con la aparición de microplásticos en las distintas fuentes hídricas. El análisis de este caso, se centra en los ecosistemas hídricos debido a los distintos usos que estos prestan para la población de nuestra localidad, usos incluidos como: residenciales, industriales, comerciales, urbanos y agrícolas. Actualmente, el desconocimiento sobre las técnicas para la detección de microplásticos genera una limitante en la incorporación de procesos de identificación y cuantificación de microplásticos. En el presente estudio se compilaron las principales técnicas de recolección, identificación y cuantificación de microplásticos en los ecosistemas hídricos. Con el objetivo de generar una revisión bibliográfica de las técnicas más adecuadas para la caracterización de microplásticos en los ecosistemas acuáticos de nuestro entorno. Además, este proyecto reporta una base de datos con los principales polímeros de microplásticos reportados en Sudamérica.

Palabras Clave: Ecosistema Hídrico. Microplásticos. Polímeros.



ABSTRACT:

The uncontrolled pollution produced at present by the excessive use of plastic products and the incorrect handling of recycling techniques, have produced considerable damage to water ecosystems, being reflected with the appearance of microplastics in different water sources. The analysis of this case focuses on water ecosystems due to the different uses that these provide for the population of our town, including uses such as: residential, industrial, commercial, urban and agricultural. Currently, the lack of knowledge about the techniques for the detection of microplastics generates a limitation in the incorporation of identification and quantification processes of microplastics. In this study, the main techniques for collecting, identifying and quantifying microplastics in hydric ecosystems were compiled. With the aim of generating a bibliographic review of the most appropriate techniques for the characterization of microplastics in the aquatic ecosystems of our environment. In addition, this project reports a database with the main microplastic polymers reported in South America.

Key Words: Water Ecosystem. Microplastics. Polymers.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	3
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	6
ÍNDICE DE CUADROS	7
ABREVIATURAS.....	8
INTRODUCCIÓN:.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
JUSTIFICACIÓN	13
HIPÓTESIS.....	14
Objetivo General:.....	15
Objetivos Específicos:.....	15
CONTENIDO TEÓRICO	16
1. CONTAMINACIÓN PLÁSTICA DE LOS ECOSISTEMAS HÍDRICOS.....	16
1.1. PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS EN EL AGUA.	17
1.1.2. DEGRADACIÓN AMBIENTAL DE LOS MICROPLÁSTICOS.....	18
1.2. BIOACUMULACIÓN DE LOS MICROPLÁSTICOS.	21
1.2.1. PROBLEMAS A NIVEL DE TRATAMIENTO DE AGUA.....	22
2. MICROPLÁSTICO.....	24
DEFINICIÓN	24
2.1. CLASIFICACIÓN DE MICROPLÁSTICOS	25
3. ANTECEDENTES DE CONTAMINACIÓN EN ECOSISTEMAS HÍDRICOS.....	26
3.1. DAÑOS A LA SALUD	26
4. MUESTREO PARA MICROPLÁSTICOS.....	27
4.1. Muestreo.....	27
4.1.1. MUESTRAS DE AGUA.....	28
4.1.2. Muestras de sedimentos.....	29
4.1.3. Sedimentos submareales	29
5. PREPARACIÓN DE MUESTRAS	29
5.1.1. Tamizado	30
5.1.2. Remoción de materia orgánica	30
5.2. Extracción de microplásticos.....	31
5.2.1. Extracción por diferencia de densidad.....	31



5.2.2.	Fraccionamiento de tamaño	31
5.3.	PURIFICACIÓN DE LA MUESTRA	32
5.4.	Remoción de materia orgánica	33
6.	MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE MICROPLÁSTICOS.	33
6.1.1.	Identificación Visual	33
6.1.2.	Microscopía de fluorescencia	34
6.1.3.	Identificación de microplásticos por su composición química	35
6.1.4.	Pirólisis-GC / MS.....	36
6.1.5.	Espectroscopía Raman	36
6.1.6.	Espectroscopía IR	37
7.	METODOLOGÍA:	41
7.1.	Diseño:	41
7.2.	Estrategia de búsqueda de información	41
7.3.	Criterios de inclusión y exclusión:.....	41
8.	RESULTADOS	43
8.1.	Muestreo.....	43
8.1.2.	TIPO DE REDES	43
8.2.	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	44
8.3.	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	47
8.3.1.	Técnicas de identificación de microplásticos.....	47
9.	DISCUSIONES.....	49
9.1.	Métodos de muestreo.....	49
9.2.	Características de las mallas y redes para el muestreo	49
9.3.	Filtración, separación y digestión del material orgánico.	50
9.4.	Métodos de caracterización y cuantificación de MP.	53
10.	CONCLUSIONES	56
11.	RECOMENDACIONES.	58
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	59
ANEXO 1 Concentraciones de microplásticos en playas de diferentes países de Latinoamérica		73
ANEXO 2		73
Lista de modos de vibración y asignaciones de modo para los espectros ATR FT-IR de polímeros plásticos. Las bandas de absorción enumeradas son representativas de las vibraciones críticas para la identificación del polímero.....		74



ANEXO 3 77
Espectros producidos a partir de bienes de consumo de plástico..... 77



ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Vías de degradación de polímeros sintéticos en el medio acuático con procesos de degradación involucrados y etapas intermedias hasta la mineralización completa.	19
Ilustración 2 Procesos típicos de un de tratamiento de aguas residuales.	23
Ilustración 3 Descripción general de las bandas vibratorias características de los grupos funcionales comunes para el análisis microplástico.....	39
Ilustración 4 Procedimiento empleado para la separación en base de la densidad según la literatura revisada	45
Ilustración 5 Procedimiento empleado para la digestión de las muestras según la literatura revisada.....	46
Ilustración 6 Procedimientos empleados en los métodos de identificación de MP.	48



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Rango de la clase de tamaño de residuos plásticos acuáticos.....	25
Cuadro 2 Tipos de muestreo recurrentes para la recolección de muestras de agua....	43
Cuadro 3 Resultados de los tipos de redes empleados para la recolección de microplásticos.	44
Cuadro 4 Métodos de extracción.....	45
Cuadro 5 Separación de tipos de polímeros en función de la densidad empleando diferentes soluciones.....	45
Cuadro 6 Procesamiento de muestras: eliminación de materia orgánica.....	46
Cuadro 7 Resultados de los métodos de identificación empleados para la recolección de microplásticos.	47



ABREVIATURAS

MP: microplásticos

PCB: policlorobifenilos

HAP : Hidrocarburos aromáticos policíclicos

HCH: Hexaclorociclohexano

PE: polietileno

PP: polipropileno

PS : poliestireno

PVC: poli (cloruro de vinilo)

PET: poli (tereftalato de etileno)

PU: poliuretano

PA: poliamida (nailon)

POM: polioximetileno

PVA: alcohol polivinílico

PMA: acrilato de polimetilo

PTAR: plantas de tratamiento de agua y aguas residuales

m.s.n.m metros sobre el nivel del mar

ETAPA: Empresa de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y saneamiento de Cuenca.



Cláusula de Propiedad Intelectual

Edisson Xavier Balarezo Cambi, autor del trabajo de titulación “Evaluación de los métodos de recolección, identificación y cuantificación de Microplásticos en ecosistemas hídricos”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Cuenca, 03 febrero del 2021

Edisson Xavier Balarezo Cambi

0106544588



Cláusula de Propiedad Intelectual

Edisson Javier Barbecho Quizhpi autor del trabajo de titulación “Evaluación de los métodos de recolección, identificación y cuantificación de Microplásticos en ecosistemas hídricos”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de los autores

Cuenca, 03 febrero del 2021

Edisson Javier Barbecho Quizhpi

0105320691



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Edisson Xavier Balarezo Cambi, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Evaluación de los métodos de recolección, identificación y cuantificación de Microplásticos en ecosistemas hídricos”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN” reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 03 febrero del 2021

Edisson Xavier Balarezo Cambi

0106544588



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Edisson Javier Barbecho Quizhpi en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Evaluación de los métodos de recolección, identificación y cuantificación de Microplásticos en ecosistemas hídricos”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN” reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 03 febrero del 2021

Edisson Javier Barbecho Quizhpi

0105320691



INTRODUCCIÓN:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El plástico es el material de nuestra era, dadas sus innumerables aplicaciones en la vida cotidiana, su uso excesivo unido la falta de conciencia e incorrectas técnicas de reciclaje han dado lugar a la acumulación marcada de estos en varios ecosistemas. En 2012 se reportó que la humanidad produjo 288 millones de toneladas de plástico en todo el mundo (Plastics Europe, 2012). El nivel de amenaza planteado por la basura plástica, detectada en los ecosistemas acuáticos desde principios de la década de 1960 (Thompson et al., 2004), revela un foco donde aproximadamente el 80% de los microplásticos (MP) se origina en fuentes continentales y estudios recientes identifican a los ríos como las principales vías de conducción de MP hacia los mares (Castaneda et al., 2014, McCormick et al., 2014).

Este problema promueve a la búsqueda de técnicas fiables y aplicables en nuestro entorno para la identificación y cuantificación de microplásticos en las redes fluviales que cumple diversas funciones para lo población en general.

El desconocimiento de la presencia de microplásticos en algunos ríos podrían afectar seriamente a los cultivos, ya que estas aguas son usadas para regar más de 1450 hectáreas de cultivos que se localizan en las zonas rurales de la ciudad (Secretaría Nacional del Agua ,2015)., debido a que estos se acumulan en el suelo dando lugar a la formación de un mantillo de plástico que afectan el desarrollo normal de las plantas por intervenir en la captación de agua y nutrientes (Qi, et al., 2018).

JUSTIFICACIÓN

Los ríos, arroyos, y los depósitos de agua constituyen un soporte vital para la población en general; por la prestación de varios servicios que generan. Uno de estos servicios es la provisión de agua para ser potabilizada, esta importante función promueve a la realización de este proyecto con la finalidad de recopilar de manera práctica las principales técnicas y métodos para identificar y cuantificar microplásticos en las distintas fuentes fluviales debido a que el proceso de potabilización actual no contempla protocolos o técnicas de detección, eliminación de microplásticos y estos al presentar un tamaño muy pequeño, no pueden ser



eliminados por sistemas de filtración de aguas residuales y terminan en ríos y océanos (Mason, S. A., Welch, V. G., & Neratko, J., 2018).

Los daños que puede ocasionar la ingesta de microplásticos rara vez conduce a la mortalidad inmediata en los organismos; sin embargo, diversos estudios en animales marinos demuestran que puede presentarse consecuencias a largo plazo como: obstrucción del tracto intestinal, la inhibición de la secreción de la enzima gástrica, la reducción de los estímulos a la alimentación, disminución de los niveles de hormonas esteroides (Azzarello y Vleet, 1987; McCauley y Bjorndal, 1999; Wright et al., 2013; Derraik ,2002; Novotna, Cermakova, L., etc; 2019).

Otro factor importante por el cual este proyecto opta por la recopilación de información de microplásticos en las fuentes fluviales es por la falta de protocolos y acciones sobre el control de las descargas que realizan ciertas industrias que residen en las cercanías de ríos y arroyos, las mismas que actualmente no cuentan con un proceso legislativo que regule el control de MP o como tratarlos. Información actual provista por ETAPA EP.(Empresa de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y saneamiento de Cuenca.), afirma que todos los desechos industriales son enviados por una red especial para su posterior tratamiento. Sin embargo, la Comisión de Gestión Ambiental (CGA) afirma que existen varias denuncias sobre la descarga directa de desechos industriales en este sector otorgando a las aguas en varias ocasiones coloraciones diferentes a la normal, pudiendo ser consideradas como fuentes de contaminación directa a los ríos de la ciudad de Cuenca, Ecuador (CGA, 2015).

Estos aspectos promueven a la determinación de microplásticos en los ecosistemas hídricos, y así promover futuros estudios que evalúen el grado de afección en los distintos ambientes naturales, así como las consecuencias que puede traer al no existir lineamientos que controlen el tratamiento de agua en relación con los microplásticos.

HIPÓTESIS.

“El empleo desmesurado de plásticos y el desconocimiento de protocolos, técnicas de identificación y cuantificación de microplásticos en la región, conlleva



a la falta de acciones para su adecuado tratamiento generando daños en los ecosistemas hídricos”.

Objetivo General:

Evaluar las principales técnicas de recolección, identificación y cuantificación de microplásticos en los ecosistemas hídricos.

Objetivos Específicos:

- Revisión bibliográfica sobre los distintos métodos para la recolección de muestras para el análisis de microplásticos.
- Identificar los métodos de análisis de microplásticos aplicables a las condiciones de nuestro entorno.
- Establecer las distintas técnicas que se emplean para la identificación y cuantificación de microplásticos.
- Generar una base de datos con los principales polímeros de microplásticos presentes en los ríos de Sudamérica



CONTENIDO TEÓRICO

1. CONTAMINACIÓN PLÁSTICA DE LOS ECOSISTEMAS HÍDRICOS

El descubrimiento de los plásticos proporcionó a la sociedad un material con posibilidades casi ilimitadas, debido a sus características beneficiosas (económico, duradero, liviano, abundante y se puede producir en cualquier forma deseada) (Andrady & Neal, 2009 ; Geyer, Jambeck y Law, 2017). Se calcula una producción mundial que supera los 300 millones de toneladas por año desde 2014 (Europe, P, 2016). Debido a las bajas tasas de reciclaje, mala gestión de residuos y uso marítimo, una parte significativa de los plásticos producidos en todo el mundo ingresa y persiste en los ecosistemas acuáticos (Barnes, ... & Barlaz, 2009). Esto incluye costa, el lecho marino, las columnas de agua y los entornos de la superficie del mar de los océanos del mundo (Derraik, J. G., 2002).

Las redes fluviales pueden facilitar el transporte de desechos plásticos a largas distancias hacia el mar (Schmidt et al., 2017). Dado que las fuentes terrestres se consideran un importante contribuyente a los desechos plásticos marinos, los ríos son una vía importante para el transporte de plástico hacia los mares (Jambeck, ... Law, K. L., 2015). Recientemente, Lebreton et al. (2017) estimaron que ~3–19% de las emisiones plásticas costeras son facilitadas por el transporte fluvial (Lebreton et al., 2017). Una vez en el medio ambiente, el destino de los plásticos varía según las propiedades del plástico. Las distancias de viaje, la probabilidad de acumulación y la tasa de degradación pueden variar considerablemente entre el polímero plástico y los tipos de elementos. La identificación de polímeros es crítica para desarrollar expectativas sobre el destino y el efecto de un plástico debido a sus propiedades. Por ejemplo, la densidad afecta la extensión del transporte en ambientes acuáticos (Schwarz et al., 2019). Además, también la forma de los plásticos afecta fuertemente el área de superficie expuesta, lo que puede ser importante para los procesos de transporte y las fugas químicas (Schwarz et al., 2019).



1.1. PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS EN EL AGUA.

Una parte considerable del total de la basura plástica marina se origina en la tierra, que es transportada por los ríos al océano (Jambeck et al., 2015 ; Jang et al., 2014). Los plásticos en el océano son transportados por los vientos predominantes y las corrientes superficiales (Eriksen et al., 2014). Aunque se han encontrado plásticos en todas las regiones oceánicas, las concentraciones más altas de plástico en el agua superficial se han reportado en los giros subtropicales. Estos giros se identifican como las cinco principales zonas de acumulación de plásticos de superficie (Cózar et al., 2014 ; Eriksen et al., 2014 ; Lebreton et al., 2017). Se pronostica que el giro del Océano Pacífico Norte, infamemente conocido como el Gran Parche de Basura del Pacífico, transportará al menos 45–129 mil toneladas de desechos plásticos y todavía está creciendo exponencialmente (Lebreton et al., 2018; Horton y Dixon, 2018 ; Windsor, Tilley, Tyler y Ormerod, 2019).

Las fuentes de desechos plásticos en y alrededor de los sistemas de agua dulce pueden estar directamente relacionadas con la actividad humana, ya que las cantidades de plástico en los ríos muestran una alta correlación con la densidad de población, la urbanización, el tratamiento de aguas residuales y el manejo de desechos (Best, 2019). Los desechos plásticos ingresan a los sistemas fluviales a través de procesos de transporte natural o mediante el vertido directo. Los procesos naturales incluyen viento (Bruge et al., 2018) y escorrentía superficial inducida por la lluvia (Bruge et al., 2018 ; Moore et al., 2011 ; Tramoy, Gasperi, Dris, Colasse, Fisson, Sananes et al., 2019) . En los últimos años, más estudios tomaron muestras de aguas superficiales de los ríos. En Europa, los estudios estimaron que el río Danubio libera 530–1,500 toneladas de plástico al Mar Negro anualmente (van der Wal,.... & Kovac Viršek, M., 2015; Lechner, ... & Schludermann, E., 2014). El estudio también informó las concentraciones más altas de microplásticos medidas (desde 1.6 miligramos por metro cúbico hasta 1.73 partículas por metro cúbico) que ocurren después de eventos de lluvia.

En Chile, el monitoreo de científicos y voluntarios en los ríos Elqui, Maipo, Biobio y Maule, demostró un patrón consistente entre la concentración numérica de microplásticos (en un rango 0.05–0.74 partículas por metro cúbico) y la presencia de depósitos de basura en las orillas de los ríos (Rech, ..., & Thiel, M. 2015). En



2014, Desforges y colaboradores documentaron la abundancia, composición y distribución de microplásticos en el noreste del Océano Pacífico y la costa de Columbia Británica. Se observó un rango de concentración que varía de 8 a 9200 partículas por m³.

Una vez que ingresa a un río el transporte de plástico está influenciado por factores hidrológicos como el nivel del agua, la velocidad del flujo y la descarga (van Emmerik et al., 2018). El aumento de los niveles de agua puede volver a movilizar los plásticos que se acumulan temporalmente en las riberas de los ríos o en zonas ribereñas con vegetación. Por otro lado, durante las inundaciones, los plásticos también se acumulan, por ejemplo, en la vegetación (van Emmerik, Strady et al., 2019). Además, la infraestructura hidráulica, como presas y esclusas, actúa como sumideros temporales para desechos plásticos fluviales (Honingh, 2018 ; Lebreton et al., 2017).

1.1.2. DEGRADACIÓN AMBIENTAL DE LOS MICROPLÁSTICOS.

Los polímeros sintéticos poseen una degradación extremadamente baja y largos tiempos de residencia debido a su alta resistencia contra las influencias ambientales. Durante el proceso de degradación, los polímeros se convierten en unidades moleculares más pequeñas (por ejemplo, oligómeros, monómeros o versiones modificadas químicamente) y posiblemente se mineralizan por completo (Eubeler, ..., & Knepper, T. P. 2009). Los procesos más importantes para la degradación de los polímeros sintéticos se pueden evidenciar en la (Figura 1):

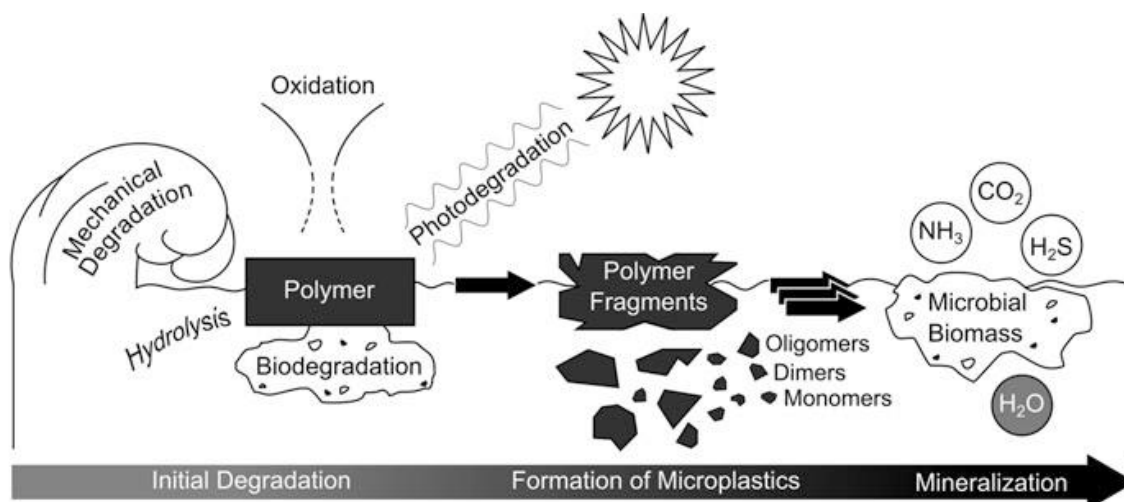
- Degradación física (fuerzas abrasivas, calentamiento / enfriamiento, congelación / descongelación, humectación / secado)
- Fotodegradación (generalmente por luz UV)
- Degradación química (oxidación o hidrólisis)
- Biodegradación por organismos (bacterias, hongos, algas)

La degradación mecánica es un factor importante con respecto a los plásticos en el medio ambiente acuático. En la mayoría de los casos, el envejecimiento del polímero por influencias ambientales, como la fotodegradación o la degradación química de los aditivos, cambia las propiedades del polímero y conduce a la fragilidad del polímero. El material recalcitrante luego se tritura en partículas más

pequeñas por las fuerzas de fricción que ocurren durante el movimiento a través de diferentes hábitats ambientales (Kooi, M., ..., & Koelmans, A. A., 2018).

La degradación mecánica conduce a una disminución en el tamaño de partícula y, en consecuencia, a un aumento en el área superficial de las partículas de polímero, lo que resulta en una degradación más rápida debido a una mayor reactividad (Lambert, S., & Wagner, M., 2016; Rist, S., & Hartmann, N. B. 2018).

Ilustración 1. Vías de degradación de polímeros sintéticos en el medio acuático con procesos de degradación involucrados y etapas intermedias hasta la mineralización completa.



Fuente: (McNeill, I. C., 1985)

En condiciones ambientales normales en sistemas acuáticos, la temperatura no es lo suficientemente alta como para iniciar los cambios químicos de los polímeros sintéticos; por lo tanto, la degradación térmica no es significativa para las aguas dulces (Anderson, D. A., 1961; McNeill, I. C., 1985). La degradación de los polímeros sintéticos en el medio ambiente a nivel molecular generalmente se inicia por fotooxidación (con radiación UV) o por hidrólisis y finalmente es seguida por oxidación química (Andrady, A. L., 2011). Los mecanismos predominantes dependen en gran medida del tipo de polímero, ya que existen numerosas composiciones diferentes de polímeros sintéticos producidos (es decir, poliolefinas, poliésteres, poliamidas). Después de las reacciones iniciales, el peso molecular del polímero disminuye y los grupos reaccionados están disponibles para la degradación microbiana. La fotooxidación suele ser un proceso rápido,



pero la velocidad de degradación también depende de la extensión de los aditivos en un polímero particular que podría prevenir los procesos de oxidación (es decir, antioxidantes). Además, la fotodegradación de los plásticos que flotan en el medio ambiente acuático es más lenta en comparación con la degradación en la exposición terrestre (Andrady, A. L., Pegram, J. E., & Song, Y., 1993; Leonas, K. K., & Gorden, R. W. 1993). Por esta razón, muchos plásticos pueden permanecer en el medio ambiente acuático durante décadas o cientos de años.

La biodegradación de polímeros sintéticos puede ocurrir en dos ambientes diferentes (aeróbico y anaeróbico). El grado de degradación de los polímeros en CO₂, H₂O, N₂, H₂, CH₄, sales, minerales y biomasa (mineralización) puede ser total o parcial (Grima, S., ..., & Silvestre, F., 2000). La degradación parcial o primaria de la cadena de polímero conduce a productos de transformación estables o temporalmente estables. La biodegradación se combina con tres criterios esenciales:

1. Deben estar presentes microorganismos que puedan despolimerizar la sustancia objetivo y mineralizar los compuestos monoméricos con enzimas de una ruta metabólica apropiada.
2. Los parámetros ambientales, como la temperatura, el pH, la humedad y la salinidad deben proporcionar las condiciones necesarias para la biodegradación.
3. La morfología de las partículas de polímero debe hacer que la unión de microorganismos y la formación de una biopelícula, mientras que la estructura del sustrato polimérico, por ejemplo, enlaces químicos, grado de polimerización, grado de ramificación y parámetros, tales como hidrofobicidad o cristalinidad, No debe obstaculizar las acciones microbianas.

Dado que el tamaño de los polímeros sintéticos es generalmente demasiado grande para penetrar en las membranas celulares de los microorganismos, el primer paso de la degradación biótica es la escisión de las cadenas laterales o el esqueleto del polímero y la formación de unidades más pequeñas (monómeros, oligómeros) por enzimas extracelulares (Gu, J. G., & Gu, J. D., 2005). En la mayoría de los casos, este primer paso de la despolimerización implica una



hidrólisis catalizada enzimáticamente de amidas, ésteres o enlaces de uretano. Estas moléculas más pequeñas pueden ser absorbidas por microorganismos y metabolizadas. Por supuesto, la hidrólisis abiótica también puede dar como resultados intermedios que luego son metabolizados por microorganismos (Gu, J. G., & Gu, J. D., 2005). Sin embargo, la mayoría de los plásticos que se encuentran en el medio ambiente son insolubles en agua, y muchos de los polímeros sintéticos presentes en el medio ambiente acuático.

Las poliolefinas, como el PE y el PP, representan una clase de sustancias con altos volúmenes de producción industrial y se determinan con frecuencia en muestras ambientales. Estos polímeros generalmente no son biodegradables, ya que el esqueleto de alquilo no es accesible para los microorganismos y debe sufrir una transformación abiótica. La cadena principal de alquilo de las poliolefinas ofrece una alta resistividad contra la hidrólisis, pero generalmente es susceptible a la degradación oxidativa. Para evitar esto, se agregan aditivos durante el proceso de producción, y la degradación oxidativa o fotooxidativa del polímero se retrasa hasta que se consumen los antioxidantes. Después de la oxidación inicial de la superficie de las poliolefinas, la degradación podría ocurrir en varias semanas pero da como resultado la formación de microplásticos como posibles intermedios (Weinstein, J. E., Crocker, B. K., & Gray, A. D., 2016). Estos fragmentos plásticos más pequeños y oxidados son más susceptibles al ataque microbiano, por ejemplo, *Pseudomonas* sp describe la biodegradación de PE para fragmentos preoxidados del material original (Reddy, M. M., ..., & Parthasarathy, R. 2009).

1.2. BIOACUMULACIÓN DE LOS MICROPLÁSTICOS.

Los microplásticos tienden a absorber y acumular contaminantes del agua circundante (Holmes et al., 2012; Hodson et al., 2017; Holmes et al., 2014; Brennecke et al., 2016; Karapanagioti et al., 2011; Fries and Zarfl, 2012; Bakir et al., 2014a; Li et al., 2018) debido a su pequeño tamaño y su gran relación superficie / volumen. Las concentraciones de contaminantes en microplásticos tienen variabilidad espacial (Ashton et al., 2010; Holmes et al., 2012; Turner, 2016; Vedolin et al., 2017; Filella y Turner, 2018). Las concentraciones de PCB, HAP y HCH en los microplásticos dependen de la proximidad a las fuentes de contaminación (F. Wang et al., 2018). El comportamiento de sorción de los



microplásticos está relacionado con las propiedades de los microplásticos y contaminantes (Holmes et al., 2012; Guo et al., 2012; Turner y Holmes, 2015; Zhang et al., 2018; Hu et al., 2017). Se ha informado que el PE absorbe más contaminantes orgánicos que otros tipos de microplásticos (Bakir et al., 2012; Wang y Wang, 2018a, 2018b). Y los microplásticos envejecidos tienden a absorber más contaminantes que los vírgenes (Brennecke et al., 2016; Müller et al., 2018).

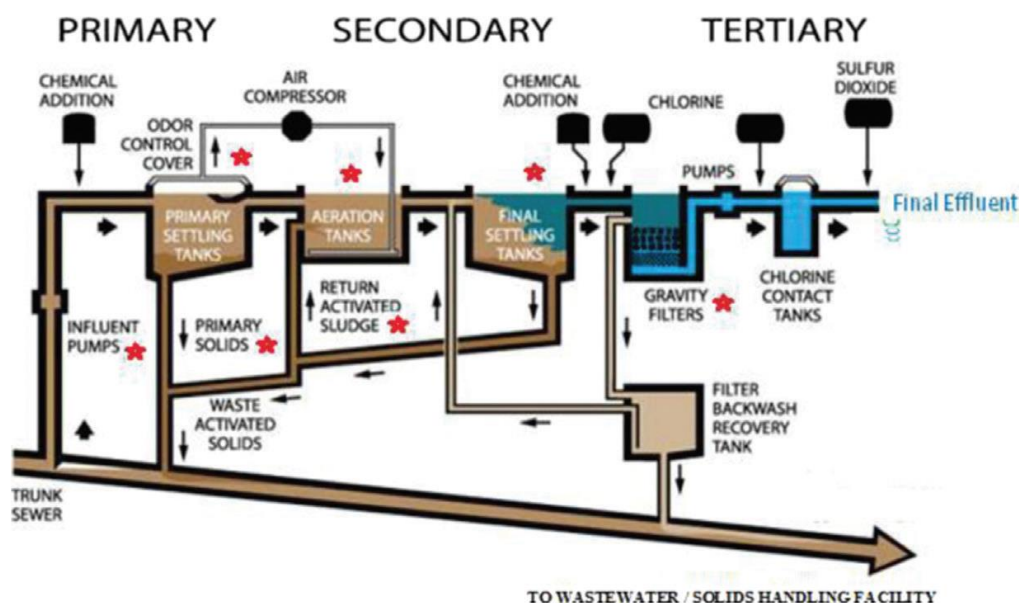
1.2.1. PROBLEMAS A NIVEL DE TRATAMIENTO DE AGUA

Las plantas de tratamiento de agua y aguas residuales (PTAR) reciben aguas residuales de hogares, instituciones, establecimientos comerciales e industrias y, a veces, también de la escorrentía de aguas pluviales de las zonas urbanas. Las PTAR se centran en la eliminación de grandes desechos sólidos y reducen la concentración de nutrientes y material orgánico. Para completar esto, se utiliza una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos. Algunas instalaciones también incluyen un tratamiento final con filtro de disco o biorreactor de membrana (MBR) para reducir la cantidad de material en partículas en el agua efluente (Magnusson, K., & Norén, F., 2014).

Típicamente, una planta de tratamiento de aguas residuales se divide en tres pasos principales, como se muestra en la Figura 2: tratamientos primarios, secundarios y terciarios (Carr, S. A., Liu, J., & Tesoro, A. G., 2016). Por lo general, se aplica un tratamiento preliminar para eliminar materiales sólidos que pueden dificultar los siguientes pasos del proceso, que pueden incluir el cribado grueso, la eliminación de arena y la molienda de objetos grandes (Pescod, M. B., 1992). El tratamiento primario utiliza sedimentación y descremado para eliminar sólidos orgánicos e inorgánicos sedimentables, y además de eliminar la demanda bioquímica de oxígeno y el aceite y la grasa, puede alcanzar una eliminación del 50-70% del total de sólidos suspendidos (Pescod, M. B., 1992). El tratamiento secundario se centra en la eliminación de residuos orgánicos y sólidos en suspensión. Usualmente aplica tratamientos biológicos como lodo activado, filtros de goteo y contactores biológicos rotativos (Pescod, M. B., 1992). Algunas instalaciones aplican un tratamiento terciario o avanzado para eliminar nitrógeno,

fósforo, sólidos suspendidos adicionales, compuestos orgánicos refractarios, metales pesados y sólidos disueltos (Pescod, M. B., 1992).

Ilustración 2 Procesos típicos de un de tratamiento de aguas residuales.



(Carr, S. A., Liu, J., & Tesoro, A. G., 2016)

Actualmente, la contribución de las PTAR a la descarga de grandes cantidades de microplásticos al medio ambiente sigue siendo un debate. Además, la falta de estandarización en la metodología aplicada para recopilar e interpretar datos hace que sea más difícil llegar a un sentido común sobre el vínculo entre la contaminación microplástica en los sistemas acuáticos y las PTAR. Según los estudios publicados, existen tres rutas principales de contaminación para los sistemas de agua dulce: efluentes descargados de las PTAR, desbordamiento de alcantarillas de aguas residuales durante eventos de alta lluvia y esorrentía de lodos aplicados a tierras agrícolas (Anderson, J. C., ... , & Palace, V. P., 2016 ; Eriksen, M., ..., & Amato, S., 2013). La mayoría de los microplásticos del afluente se eliminan en las zonas de tratamiento primario en las que se aplican procesos de sedimentación sólida y sedimentación de lodos. En un estudio publicado en 2016, se investigaron las descargas de efluentes de plantas ternarias y secundarias en el sur de California. Se destacó la importancia de comprender el destino y las rutas de los microplásticos en cada paso de las PTAR. Para las plantas ternarias, se observó que la descarga de efluentes no es una fuente significativa de microplásticos. Por otro lado, para efluentes secundarios, los



microplásticos estaban presentes y pueden contribuir a la contaminación de los océanos y las aguas superficiales (Carr, S. A., Liu, J., & Tesoro, A. G., 2016).

Otro estudio realizado en Australia por Ziajahromi investigó la composición del efluente a lo largo del tratamiento primario, secundario y terciario. Este estudio detectó 0.28, 0.48 y 1.54 microplásticos por litro en cada paso de tratamiento respectivo. Dyachenko, A., Mitchell, J., & Arsem, N., 2017., observaron la presencia de 0,09 partículas cada aproximadamente 4 L de efluente, pero este número podría alcanzar 0,64 partículas en el flujo máximo de una PTAR en los EE. UU., Que utiliza oxidación con peróxido húmedo. La mayoría de las partículas se clasificaron como secundarias, y la presencia de microperlas representó solo el 10% del total (Ziajahromi, S., .., ... & Luo, Y., 2018). Estahbanati y Fahrenfeld investigaron la contribución de las PTAR para la contaminación por microplásticos en el medio ambiente de agua dulce en los Estados Unidos. En un estudio del patrón de distribución espacial de MP en una PTAR, se observó la mayor presencia de microplásticos secundarios a lo largo del proceso de tratamiento, pero se observó la concentración de microplásticos primarios aumentados aguas abajo de la PTAR. Según Ziajahromi, aunque el número de partículas no parece ser muy amenazante, al tener en cuenta la enorme cantidad de agua que estas instalaciones tratan y descargan diariamente, estos números pueden representar una gran cantidad de microplásticos que ingresan a un ambiente acuático (Mintenig, S. M., ... , & Gerdts, G., 2017).

2. MICROPLÁSTICO

DEFINICIÓN

Thompson et al. (2004) acuñaron inicialmente el término microplástico para describir la acumulación de piezas microscópicas de plástico conformados por polímeros derivados del petróleo en sedimentos marinos y en la columna de agua de las aguas europeas, pudiendo tener su origen de la degradación de plásticos compuestos de polímeros como el polietileno, poliestireno, nylon, polipropileno, cloruro de polivinilo o por micro esferas presentes en productos de cuidado personal (Sarria-Villa, R. A., & Gallo-Corredor, J. A., 2016). En 2008, la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA) se propuso un límite de tamaño superior para el término inicial y se definió a microplásticos como



partículas de plástico menores de 5 mm” (Arthur, C., Baker, J., & Bamford, H., 2008).

2.1. CLASIFICACIÓN DE MICROPLÁSTICOS

La contaminación microplástica en ambientes acuáticos da lugar a una clasificación de MP de acuerdo al tipo de fuente del cual proviene, pudiendo ser primarios o secundarios (Gregory, 1996; Fendall y Sewell, 2009).

- Los microplásticos primarios están comprendidos por partículas con un tamaño microscópico, destacan entre ellos las microesferas (< 500 µm) contenidas en algunos productos cosméticos y también empleados como vectores de medicamentos en productos de cuidado personal, estando la gran mayoría de estos están compuestas por microperlas de polietileno y propileno, que luego de ser utilizados se lavan en los desagües y los microplásticos se transportan a través de aguas residuales que posteriormente pueden llegar al medio ambiente (3)(4) (Rojo Nieto & Montoto, 2017).
- Los microplásticos secundarios son los productos de la degradación de material plástico más grande, a partir de vías mecánicas o fotooxidativas, de plásticos o fibras de mayor tamaño, que llegan al medio ambiente por una mala gestión de los residuos (5) (Rojo Nieto & Montoto, 2017)

En el cuadro 1 se especifica la clasificación de microplásticos de acuerdo a las dimensiones que estos presentan

Cuadro 1 Rango de la clase de tamaño de residuos plásticos acuáticos.

Prefijo	Clase de tamaño	Rango de tamaño	Fuente
	Nanoplástico	<0.2 mm	(Wagner, 2014)
Micro	Microlitter	~ 0.06 a 0.5 mm	(Gregory, 2003)
	Microplástico	<0.5 mm	(Arthu, 2008)



	Micro desechos	<2 mm	(Lechner, 2014)
	Pequeño microplástico	<1 mm	(Vianello, 2013)
	Microplástico grande	1–5 mm	(Galgani, 2013)

3. ANTECEDENTES DE CONTAMINACIÓN EN ECOSISTEMAS HÍDRICOS

Los microplásticos presentes en el medio marino son el resultado de la fragmentación de desechos plásticos más grandes o pueden introducirse en el agua y los sedimentos ya como partículas de tamaño micro o nano, se calcula una producción mundial que supera los 300 millones de toneladas por año siendo la mayor parte del total de la basura plástica marina se origina en la tierra (Europe, P, 2016; Jambeck et al., 2015 ; Jang et al., 2014). Estos microplásticos frecuentemente no son removidos en las plantas de tratamiento de aguas residuales debido a su pequeño tamaño y flotabilidad y de esta manera siendo liberados a los cuerpos de agua causando un gran impacto ambiental (Browne, 2011).

3.1. DAÑOS A LA SALUD

Al llegar al agua causa un gran impacto a la biota acuática, pudiendo incorporarse en la cadena alimentaria a diferentes niveles entre los cuales se incluyen alimentación por filtro, alimentación por suspensión, inhalación en la superficie de aire-agua y consumo de presas expuestas a microplásticos o por ingestión directa, siendo esta la ruta principal de exposición a microplásticos causando la obstrucción del sistema digestivo y consecuentemente hambre, una falsa sensación de saciedad, reducción de la condición física, cambios en el comportamiento y reproducción y crecimiento afectados (Vickers, 2017; Wu, 2017; Gall, 2015).



Según un estudio de Gall y Thompson (2015), afirman que la frecuencia de los informes respecto a la ingesta de microplásticos aumentan paulatinamente. Los pocos estudios disponibles sobre ingestión en ríos indican tasas de ingestión de hasta 33% en el río Goiana, Brasil (Possatto, 2011). También se ha encontrado plástico en aves y peces en aguas francesas y suizas, con tasas de ingestión de hasta 12.5% (Faure et al., 2015)

Además, la presencia de microplásticos en el agua puede afectar el desarrollo de especies acuáticas, siendo el más importante el de las algas al ser los productores primarios y la base de la cadena alimenticia en los cuerpos de agua. Estudios indican que los nanoplasticos pueden inhibir la fotosíntesis en la microscópica alga *Chlorella* al someterla a concentraciones de 1.8 mg/L de poliestireno (Bhattacharya, 2010; Rummel, 2017).

4. MUESTREO PARA MICROPLÁSTICOS

El método empleado para la recolección de muestras varía dependiendo del objetivo del estudio ya que las muestras pueden proceder del agua, de sedimentos o biota, además las muestras han de ser representativas, lo cual supone un reto ya que la muestra debe tomarse de zonas muy extensas (playas, mares, océanos,etc.). A pesar de ello, la NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) tiene desarrolladas unas recomendaciones de métodos de cuantificación de MP en muestras de agua, arena y sedimentos.

4.1. Muestreo

Dependiendo del objetivo del estudio, el medio de muestreo y la metodología también serán diferentes. Es importante tener en cuenta que la distribución de los microplásticos en determinados medios puede ser variable y dependerá de las condiciones meteorológicas, temporales o geográficas, lo que dificulta la reproducibilidad de los estudios.

A la hora del muestreo se debe tener como primera medida de precaución el evitar la contaminación cruzada por partículas de plástico procedente de otras fuentes, por lo tanto, todos los procedimientos de recogida y de pretratamientos deben estar exentos de elementos que contengan plástico para evitar la contaminación de las muestras. El ICES (International Council for the Exploration of the Sea) establece en su protocolo preliminar de 2016111 una serie de premisas básicas a



la hora de realizar el muestreo de recogida de especies marinas, aunque muchas de las directrices se pueden aplicar también para otro tipo de muestras. Se ha de detallar e informar del tipo de redes en el caso de que se empleen, las cuales deben estar limpias previas al muestreo. Los peces han de ser representativos de la zona o tratarse de especies ampliamente disponibles en todo el espacio marítimo. Para la zona pelágica se debería seleccionar *Scomber scombrus*, y *Clupea harengus*, para la zona bentónica *Gadus morhua* y *Limanda limanda*, para la zona costera *Platyichthys flesus* y para estuarios mejillones del tipo *Mytilus edulis* o *M. galloprovincialis*. Las muestras consistirán en unos 50 individuos por especie, tomados aleatoriamente, conservándose a -20°C en papel de aluminio o en etanol en botellas de vidrio. Para transportar las muestras se pueden utilizar contenedores de metal¹¹², botellas de vidrio⁷, ¹¹³, ¹¹⁴, filtros de metal¹¹²⁻¹¹⁴ o papel¹¹², ¹¹⁵. Se aconseja el uso de batas de laboratorio y ropa de algodón y guantes de nitrilo. Los utensilios que se vayan a utilizar deben lavarse rigurosamente y puede utilizarse papel de aluminio para protegerlos antes de su uso¹¹⁶.

4.1.1. MUESTRAS DE AGUA

La búsqueda de partículas microplásticas requiere grandes volúmenes de muestra. Las muestras de aguas se toman con redes de plancton de diferentes tamaños de malla (Eriksen et al.2013; Doyle y col.2011; Morét-Ferguson et al. 2010). En la superficie de mar para muestrear microplásticos flotantes se prefiere el empleo de redes de arrastre de manta o redes de neuston (Eriksen et al.2013).

El volumen filtrado por una red generalmente se registra mediante un medidor de flujo montado en la abertura de la red, lo que permite la normalización del volumen de agua filtrada y, por lo tanto, un cálculo de las concentraciones de microplásticos (partículas / gramos) por unidad de volumen de agua. El tamaño de las partículas retenidas y también el volumen filtrable es una consecuencia directa del tamaño de malla utilizado. Los tamaños de malla utilizados para el muestreo en estudios anteriores varían entre 50 y 3000 μm (Hidalgo-Ruz et al.2012) Otro factor que influye en el volumen filtrado es el tamaño neto, es decir, el área, que actúa como filtro. Dependiendo de la concentración de seston (componentes biológicos como el plancton, las bacterias, las larvas y los huevos de pescado, que tienen densidades similares al agua y con bajas velocidades de sedimentación, tienden a permanecer en suspensión permanente) (Fitzsimons, ..., & Millward, G. E.,



2012) en el agua, se pueden filtrar desde unos pocos miles de litros hasta varios cientos de metros cúbicos hasta que una red se obstruya.

Las redes suelen tener una longitud de 3–4,5 m y se utiliza con mayor frecuencia un tamaño de malla de alrededor de 300 μm . Estas redes no toman muestras de partículas microplásticas $<300 \mu\text{m}$ cuantitativamente, pero permiten el muestreo de grandes volúmenes de agua. El tiempo de arrastre se encuentra entre unos minutos y varias horas (Boerger et al.2010). Es importante asegurar que no quede ninguna muestra residual en la red, lo que conduciría a una transferencia de microplásticos a la siguiente muestra (Hidalgo-Ruz et al.2012).

4.1.2. Muestras de sedimentos

En la actualidad ha ido creciendo la frecuencia del análisis de los microplásticos en los sedimentos mas no tanto en las columnas de agua, el enfoque del análisis dependerá del tipo de sedimento, pudiendo ser en las playas o también los sedimentos de los fondos ya sean marinos, de lagos o ríos (Hidalgo-Ruz et al. 2012).

4.1.3. Sedimentos submareales

Los sedimentos submareales se pueden tomar de muestras de recipientes con garras, por ejemplo, Van Veen o Ekman, o con núcleos de diseño diferente, por ejemplo, un núcleo múltiple. Las pinzas tienden a dispersar el sedimento y son adecuadas para la superficie (por ejemplo, los cinco centímetros superiores) o el muestreo a granel, mientras que las muestras de núcleos no perturbadas permiten el muestreo simultáneo de las capas de superficie y profundidad, pero producen volúmenes de muestra más pequeños. El tamaño del instrumento aplicado, así como el tiempo necesario para su recuperación, dependen en gran medida de la profundidad del agua en el lugar de muestreo. El uso de núcleos permite el muestreo a una profundidad de agua de más de 5,000 m, una vez realizado el muestreo del sedimento generalmente se almacenan congeladas o secas y se mantienen en la oscuridad hasta su posterior análisis (Van Cauwenberghe et al.2013).

5. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras procedentes de playas o sedimentos que presenten humedad y las procedentes del filtrado de agua de mar deberán someterse a un secado a 90°C



hasta que la muestra esté completamente seca, determinándose posteriormente el peso de la muestra seca con la que se va a trabajar (Arthur, C., Baker, J., & Bamford, H., 2008).

5.1.1. Tamizado

Independientemente de la técnica utilizada para la identificación posterior de microplásticos, es de gran importancia el fraccionamiento de las muestras en por lo menos dos clases de tamaño (Hidalgo-Ruz et al. 2012), recientemente se sugirió una separación en fracciones de 1–5 mm y 20 μm – 1 mm (Hanke et al. 2013). Las muestras de agua se pueden fraccionar fácilmente mediante tamizado. Los microplásticos de las muestras de sedimento se fraccionan fácilmente por tamaño después de la extracción. En este caso, la muestra debe manipularse con cuidado durante el tamizado para evitar la generación mecánica de partículas microplásticas adicionales a partir de material plástico más grande y quebradizo. Se puede utilizar un tamiz de 500 μm , idealmente de acero, para la separación por tamaño. El uso de una cascada de tamices de diferentes tamaños de malla permite la separación de tamaños y la cuantificación de diferentes clases de tamaño de microplásticos (Moore et al., 2002; McDermid y McMullen, 2004).

Las partículas microplásticas > 500 μm pueden clasificarse manualmente bajo un microscopio estereoscópico usando pinzas y posteriormente analizadas. El esfuerzo involucrado en la clasificación manual de partículas aumenta para la fracción <500 μm debido a dificultades en el manejo de partículas pequeñas. Además, una cantidad creciente de partículas de matriz de fondo de diferente origen orgánico o inorgánico puede impedir una separación adecuada. Por lo tanto, esta fracción debe purificarse y concentrarse en filtros para su posterior análisis (Hidalgo-Ruz et al. 2012).

5.1.2. Remoción de materia orgánica

Las muestras ambientales contienen material biológico y a menudo se confunde con los plásticos (por ejemplo, fragmentos de algas más oscuros), lo que lleva a una sobrestimación de microplásticos. Por lo tanto, existe la necesidad de reducir la materia orgánica sin afectar la integridad estructural o química de los polímeros (Felsing et al. 2018; Miller et al. 2017).

El material orgánico se degrada mediante oxidación con peróxido húmedo (0.05 mol/L de Fe (II) y peróxido de hidrógeno al 30%). El plástico resiste la oxidación



con peróxido húmedo, mientras que el material orgánico se degrada (Baker et al. 2011, Eriksen et al. 2013, Tagg et al. 2015). Andrady (2011), sugiere el uso de ácidos minerales para desintegrar las impurezas orgánicas en las muestras, es por ello que para la digestión del tejido blando de muestras bióticas, Claessens et al. (2013) utilizaron ácido, base y oxidante (peróxido de hidrógeno) o una mezcla específica de los mismos

5.2. Extracción de microplásticos

Existe una gran variabilidad en las técnicas de extracción aplicadas. Los enfoques varían desde simplemente agitar la muestra de sedimento en una solución de sal saturada (Thompson et al.2004; Claessens y col.2011) al uso de una elutriación / fluidización con flotación posterior (Claessens et al. 2013; Nuelle y col.2014) o la extracción con un instrumento novedoso como el "Separador de sedimentos microplásticos" (MPSS) (Imhof et al. 2012).

5.2.1. Extracción por diferencia de densidad

También llamada extracción clásica, se realiza por diferencia de densidades. Las densidades de los polímeros plásticos de consumo comunes oscilan entre 0,8 (silicona) y 1,4 g/cm⁻³ (tereftalato de polietileno (PET), cloruro de polivinilo (PVC)), mientras que las espumas de plástico expandido tienen solo una fracción de las densidades del polímero original (por ejemplo, poliestireno expandido (EPS) <0.05 g cm⁻³). Las partículas microplásticas pueden separarse de las matrices con densidades más altas, como los sedimentos (2,65 g cm⁻³), por flotación con soluciones salinas saturadas de alta densidad (Hidalgo-Ruz et al. 2012).

La muestra de sedimento seco se mezcla con la solución de cloruro de sodio saturada donde se agita por varios minutos, por las diferencias de densidad, las partículas de plástico flotan hacia la superficie o permanecen en suspensión mientras que las partículas pesadas, como los granos de arena, se depositan rápidamente en el fondo del recipiente. Posteriormente, los microplásticos se recuperan filtrando el sobrenadante (Thompson et al., 2004; Browne y col., 2010; Ng y Obbard, 2006; Claessens y col., 2011; Browne y col., 2011).

5.2.2. Fraccionamiento de tamaño

Independientemente de la técnica utilizada para la identificación posterior de microplásticos, es de gran importancia el fraccionamiento de las muestras en por lo menos dos clases de tamaño (Hidalgo-Ruz et al. 2012), recientemente se sugirió una separación en fracciones de 1–5 mm y 20 µm – 1 mm (Hanke et



al.2013). Las muestras de agua se pueden fraccionar fácilmente mediante tamizado, si grandes cantidades de matriz biológica obstruyen el tamiz, puede ser útil un paso de purificación antes del tamizado. Los microplásticos de las muestras de sedimento se fraccionan fácilmente por tamaño después de la extracción. En este caso, la muestra debe manipularse con cuidado durante el tamizado para evitar la generación mecánica de partículas microplásticas adicionales a partir de material plástico más grande y quebradizo. Se puede utilizar un tamiz de 500 μm , idealmente de acero, para la separación por tamaño. El uso de una cascada de tamices de diferentes tamaños de malla permite la separación de tamaños y la cuantificación de diferentes clases de tamaño de microplásticos (Moore et al., 2002; McDermid y McMullen, 2004).

Las partículas microplásticas > 500 μm pueden clasificarse manualmente bajo un microscopio estereoscópico usando pinzas y posteriormente analizadas. El esfuerzo involucrado en la clasificación manual de partículas aumenta para la fracción <500 μm debido a dificultades en el manejo de partículas pequeñas. Además, una cantidad creciente de partículas de matriz de fondo de diferente origen orgánico o inorgánico puede impedir una separación adecuada. Por lo tanto, esta fracción debe purificarse y concentrarse en filtros para su posterior análisis (Hidalgo-Ruz et al. 2012).

5.3. PURIFICACIÓN DE LA MUESTRA

La purificación de muestras microplásticas es obligatoria, especialmente para análisis instrumentales (espectroscopía FTIR / Raman, pirólisis-GC / MS). Biofilms y otros adherentes orgánicos e inorgánicos deben eliminarse de las partículas microplásticas para evitar artefactos que impidan una identificación adecuada. Además, el paso de purificación es necesario para minimizar el residuo del filtro no plástico en los filtros en los que se concentra la fracción microplástica <500 μm (McDermid y McMullen, 2004).

La forma más delicada de limpiar muestras de plástico es remover y enjuagar (McDermid y McMullen, 2004), también se puede usar la limpieza ultrasónica (Cooper y Corcoran, 2010) debe considerarse cuidadosamente porque el material plástico viejo y quebradizo podría romperse durante el tratamiento, lo que da como



resultado la generación artificial de microplásticos secundarios (Löder y Gerdt, observación personal).

5.4. Remoción de materia orgánica

Las muestras ambientales contienen material biológico y a menudo se confunde con los plásticos (por ejemplo, fragmentos de algas más oscuros), lo que lleva a una sobrestimación de microplásticos. Por lo tanto, existe la necesidad de reducir la materia orgánica sin afectar la integridad estructural o química de los polímeros (Felsing et al. 2018; Miller et al. 2017).

El material orgánico se degrada mediante oxidación con peróxido húmedo (0.05 mol / L de Fe (II) y peróxido de hidrógeno al 30%). El plástico resiste la oxidación con peróxido húmedo, mientras que el material orgánico se degrada (Baker et al. 2011, Eriksen et al. 2013, Tagg et al. 2015). Andrady (2011), sugiere el uso de ácidos minerales para desintegrar las impurezas orgánicas en las muestras, es por ello que para la digestión del tejido blando de muestras bióticas, Claessens et al. (2013) utilizaron ácido, base y oxidante (peróxido de hidrógeno) o una mezcla específica de los mismos

Separación en base a la densidad. El método utilizado para la separación de microplásticos del sedimento está influenciado por las características físicas (tamaño, densidad, forma) tanto del sedimento como de los microplásticos. En la separación de densidad los materiales de diferentes densidades se colocan en un líquido de densidad intermedia, en donde el material menos denso se esparce y se separa del material de hundimiento más denso. Al cambiar la densidad del líquido, comúnmente una solución de salmuera permite el remojo de partículas de diferente densidad, en relación con la densidad de la solución (Quinn, B., Murphy, F., & Ewins, C., 2017).

6. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE MICROPLÁSTICOS.

Las partículas microplásticas de todo tipo y tamaño pueden analizarse debido a una variedad de técnicas y accesorios diferentes. Dentro de los cuales constan:

6.1.1. Identificación Visual

De acuerdo con Hidalgo-Ruz et al. (2012) la clasificación visual para separar microplásticos potenciales de otro material orgánico o inorgánico en los residuos b de la muestra es un paso obligatorio para la identificación de microplásticos. Si



los microplásticos grandes son el objetivo de un estudio, esto puede hacerse mediante inspección visual (Morét-Ferguson et al.2010) mientras que las partículas microplásticas más pequeñas generalmente deben clasificarse bajo un microscopio de disección (Doyle et al. 2011).

La identificación visual no debe aplicarse a partículas $<500 \mu\text{m}$ ya que la probabilidad de una identificación errónea es muy alta. Hidalgo-Ruz y col. (2012) sugieren un límite de tamaño aún mayor de 1 mm para la identificación visual.

Según Norén (2007), la selección de partículas de acuerdo con criterios estandarizados, sugiere los siguientes criterios:

1. No deben verse estructuras de origen orgánico en la partícula de plástico o fibra.
2. Las fibras deben ser igualmente gruesas y tener una flexión tridimensional para excluir un origen biológico.
3. Las partículas deben ser claras y de color homogéneo,
4. Las partículas transparentes o blanquecinas deben examinarse con gran aumento y con la ayuda de microscopía de fluorescencia para excluir un origen biológico (Norén2007).

Los aspectos generales que se utilizan para describir los microplásticos visualmente ordenados son la fuente, el tipo, la forma, la etapa de degradación y el color de las partículas (Hidalgo-Ruz et al.2012).

6.1.2. Microscopía de fluorescencia

En la microscopía de fluorescencia, la muestra se ilumina (excita) con luz de una longitud de onda relativamente corta, generalmente azul o ultravioleta (UV) (Sullivan, K. D., & Gugliada, V., 2018). El espécimen se examina a través de un filtro de barrera que absorbe la luz de onda corta utilizada para la iluminación y transmite la fluorescencia, que, por lo tanto, se ve brillante contra un fondo oscuro. Debido a que la fluorescencia se observa como luminosidad en un fondo oscuro, los componentes fluorescentes de la muestra se pueden ver incluso en cantidades extremadamente pequeñas. La microscopía de absorción convencional de luz transmitida es apropiada para objetos coloreados de tamaño resoluble, e instrumentalmente es la forma más simple de microscopía.

Se pueden estudiar objetos incoloros y transparentes. solo mediante técnicas de retardo (polarización, contraste de fase, interferencia); Estas técnicas dependen



de la conversión del retardo de fase en cambios de intensidad que el ojo puede ver. Una excepción es la iluminación de fondo oscuro, que puede revelar objetos transparentes incoloros por reflexión o refracción en interfaces de diferentes índices de refracción. La microscopía de fondo oscuro es adecuada principalmente para partículas, y (como la microscopía de fluorescencia) puede revelar las posiciones de las partículas demasiado pequeñas para ser resueltas. La microscopía de fluorescencia está estrechamente relacionada con la microscopía de transmisión (absorción) en su rango de aplicación, pero posee ventajas particulares: gran sensibilidad para la detección y cuantificación de pequeñas cantidades de sustancias fluorescentes o partículas pequeñas, y la posibilidad de aplicación a objetos opacos. Dado que la fluorescencia involucra dos bandas de longitud de onda (excitación y emisión), la especificidad óptica puede aumentarse sustancialmente mediante una cuidadosa selección de combinaciones de filtros para favorecer la excitación y emisión de algún fluoróforo particular, y los desarrollos modernos también permiten la resolución temporal de la vida útil de la fluorescencia.

Dentro del estudio de la caracterización de microplásticos, se conoce que los plásticos están compuestos de hidrocarburos derivados del petróleo, gas natural o biomasa, y son hidrófobos. Los tintes lipofílicos se pueden usar para visualizar microplásticos bajo un microscopio de fluorescencia (Andrady, 2011). El Nilo Rojo (9-dietilamino-5H-benzo [α] fenoxazina-5-ona; NR), es un tinte fluorescente, que se ha usado para teñir lípidos neutros en muestras biológicas (Greenspan y Fowler, 1985) y puede usarse para teñir polímeros sintéticos en la química de polímeros (Jee et al., 2009). NR es un fluoróforo hidrófobo que se une específicamente a lípidos neutros y es fuertemente fluorescente solo en presencia de un entorno hidrófobo (Greenspan et al., 1985).

6.1.3. Identificación de microplásticos por su composición química

La composición molecular repetitiva similar a una huella digital de los polímeros plásticos permite una asignación clara de una muestra a un determinado origen de polímero. A continuación daremos una breve descripción de los métodos



aplicados para la identificación de polímeros con un enfoque en los análisis de microplásticos FTIR y Raman de uso frecuente en la actualidad.

6.1.4. Pirólisis-GC / MS

La cromatografía de gas de pirólisis (GC) en combinación con la espectrometría de masas (MS) se puede utilizar para evaluar la composición química de posibles partículas microplásticas mediante el análisis de sus productos de degradación térmica (Fries et al. 2013). La pirólisis de polímeros plásticos da como resultado pirogramas característicos, que facilitan la identificación del tipo de polímero. Este enfoque analítico ya se utiliza después de la extracción y clasificación visual de microplásticos a partir de sedimentos. El origen del polímero de las partículas se identifica comparando sus productos de combustión característicos con pirogramas de referencia de muestras conocidas de polímeros vírgenes (Nuelle et al.2014; Fries y col.2013) Si una etapa de desorción térmica precede a la pirólisis final, los aditivos plásticos orgánicos pueden analizarse simultáneamente durante las pruebas de pirólisis-GC / MS (Fries et al.2013) Aunque el enfoque de pirólisis-GC / MS permite una asignación relativamente buena de microplásticos potenciales al tipo de polímero, tiene la desventaja de que las partículas deben colocarse manualmente en el tubo de pirólisis. Dado que solo las partículas de cierto tamaño mínimo pueden manipularse manualmente, esto da como resultado una limitación de tamaño menor de partículas que pueden analizarse. Además, la técnica solo permite el análisis de una partícula por ejecución y, por lo tanto, no es adecuada para procesar grandes cantidades de muestra, que se recolectan durante campañas de muestreo o programas de monitoreo de rutina.

6.1.5. Espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman es una técnica sencilla que se ha utilizado con éxito para identificar partículas microplásticas en diferentes muestras ambientales con alta confiabilidad (Van Cauwenberghe et al. 2013; Cole y col.2013; Murray y Cowie2011; Imhof y col.2012, 2013) Durante el análisis con espectroscopía Raman, la muestra se irradia con una fuente láser monocromática. El láser depende del sistema utilizado: las longitudes de onda láser disponibles generalmente oscilan entre 500 y 800 nm. La interacción de la luz láser con las moléculas y los átomos de la muestra (vibraciones, rotaciones y otras interacciones de baja frecuencia) da como resultado diferencias en la frecuencia



de la luz retrodispersada en comparación con la frecuencia de irradiación del láser. Este llamado cambio de Raman se puede detectar y conduce a espectros de Raman específicos de la sustancia. Dado que los polímeros plásticos poseen espectros Raman característicos, la técnica se puede aplicar para identificar polímeros plásticos en cuestión de minutos en comparación con los espectros de referencia. La espectroscopía Raman es una "técnica de superficie", por lo que se pueden analizar partículas microplásticas grandes clasificadas visualmente y la técnica también se puede combinar con microscopía. En consecuencia, la espectroscopía micro-Raman permite la identificación de una amplia gama de clases de tamaños hasta partículas plásticas muy pequeñas de tamaños inferiores a 1 μm (Cole et al.2013) Si la microscopía Raman se combina con imágenes espectrales Raman, es posible generar imágenes químicas espaciales basadas en los espectros Raman de una muestra. Las imágenes de Micro-Raman teóricamente permiten el análisis espectral de filtros de membrana completa a una resolución espacial inferior a 1 μm . Esto facilitaría la detección de incluso las partículas microplásticas más pequeñas en muestras ambientales, pero la aplicabilidad para la investigación de microplásticos aún no se ha demostrado. La espectroscopía Raman también se puede combinar con microscopía confocal de escaneo láser para localizar partículas de polímero dentro de los tejidos biológicos con precisión subcelular (Cole et al.2013) Un inconveniente de la espectroscopía Raman es que las muestras fluorescentes excitadas por el láser (por ejemplo, residuos de origen biológico de las muestras) no pueden medirse ya que evitan la generación de espectros Raman interpretables. Generalmente, las longitudes de onda láser más bajas, que transfieren una alta energía, dan como resultado una alta intensidad de señal pero también una alta fluorescencia. La fluorescencia se puede minimizar usando láseres con longitudes de onda más altas (> 1,000 nm). Sin embargo, la energía más baja del láser da como resultado una señal más baja de la muestra de polímero. Se necesita más investigación para encontrar la longitud de onda de láser óptima para un compromiso entre la fluorescencia suprimida y la baja intensidad de la señal para las evaluaciones de microplásticos en muestras ambientales.

6.1.6. Espectroscopía IR

En 1904/1905, Paul Drude y William Weber Coblentz descubrieron que las moléculas no son sistemas estáticos sino vibratorios. Con respecto a esto, una



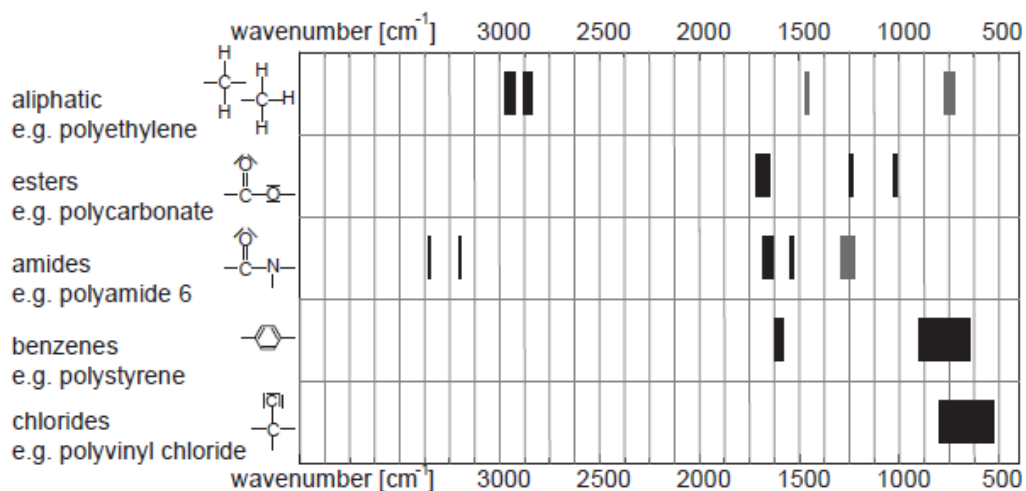
vibración molecular de monóxido de carbono debería comportarse de manera similar a una vibración mecánica de dos masas conectadas por un resorte. La frecuencia de este movimiento puede deducirse mediante un enfoque basado en la Ley de Hooke utilizando una constante de fuerza específica, que caracteriza la fuerza del enlace, y las masas correspondientes (Renner, G., ..., & Schram, J. 2017). Esta idea básica incluye el principio de la espectroscopía infrarroja debido al hecho de que la muestra absorba la radiación infrarroja cambiando su estado de energía vibracional y rotacional. En general, los modos de vibración en la espectroscopía infrarroja se pueden dividir en dos grupos diferentes: estiramiento, que está asociado con un cambio en la longitud de enlace, y deformación, que está asociada con un cambio en el ángulo de enlace. Existen modos vibracionales normales para distinguir (Renner, G., ..., & Schram, J. 2017). Dentro de un polímero, hay grupos vibratorios típicos de la cadena principal de carbono como CH, CH₂, CH₃, CO, CN etc. y cada uno de ellos realiza modos vibratorios característicos con frecuencias específicas. En la Fig. 4 se enumera una selección de los grupos vibracionales más importantes para el análisis de microplásticos (Socrates, G., 2004; Renner, G., ..., & Schram, J. 2017).

La espectroscopía infrarroja (IR) ofrece la posibilidad de identificación precisa de partículas de polímero plástico de acuerdo con sus espectros IR característicos (Thompson et al. 2004; Ng y Obbard 2006; Vianello y col.2013; Harrison y col.2012; Frias y col.2010; Reddy y col.2006) La espectroscopía FTIR y Raman son técnicas complementarias. Las vibraciones moleculares, que son Raman inactivas, son IR activas y viceversa y, por lo tanto, pueden proporcionar información complementaria sobre muestras microplásticas. La espectroscopía IR aprovecha el hecho de que la radiación infrarroja excita las vibraciones moleculares cuando interactúa con una muestra. Las vibraciones excitables dependen de la composición y estructura molecular de una sustancia y son específicos de longitud de onda. La energía de la radiación IR que excita una vibración específica, dependiendo de la longitud de onda, se absorberá en cierta cantidad, lo que permite la medición de espectros IR característicos. Los polímeros plásticos poseen espectros IR altamente específicos con patrones de bandas distintos que hacen de la espectroscopía IR una técnica óptima para la identificación de microplásticos (Hidalgo-Ruz et al.2012) La espectroscopía FTIR



puede proporcionar más información sobre la meteorización fisicoquímica de partículas de plástico muestreadas mediante la detección de la intensidad de la oxidación (Corcoran et al.2009). En cuanto a la espectroscopía Raman, la comparación con los espectros de referencia es necesaria para la identificación del polímero. Las partículas grandes se pueden analizar fácilmente mediante una técnica de superficie FTIR (espectroscopia FTIR de "reflectancia total atenuada" (ATR)) con alta precisión en menos de un minuto. Un paso adelante con respecto a la caracterización de partículas de pequeño tamaño es la aplicación de microscopía FTIR. En este contexto, el uso de dos modos de medición es factible: reflectancia y transmitancia. El modo de reflectancia tiene la desventaja de que las mediciones de microplásticos de forma irregular pueden dar lugar a espectros no interpretables debido a un error de refracción (Harrison et al.2012) El modo de transmitancia necesita filtros transparentes IR (por ejemplo, óxido de aluminio) y, debido a los patrones de absorción total, está limitado por un cierto grosor de la muestra de microplásticos. Sin embargo, el uso adicional de objetivos de micro-ATR en combinación con microscopía puede eludir esto ya que los espectros IR se recogen en la superficie de una partícula permitiendo la medición directa en el filtro de muestra sin la necesidad de manipulación manual de partículas. Por lo tanto, un enfoque que combine mediciones de transmitancia con mediciones de micro-ATR de partículas que muestren absorción total podría ser una solución prometedora para la medición de partículas <math><500\ \mu\text{m}</math> recolectadas en los filtros.

Ilustración 3 Descripción general de las bandas vibratorias características de los grupos funcionales comunes para el análisis microplástico.



Las barras negras describen las posiciones de las vibraciones de estiramiento, mientras que las barras grises describen las vibraciones de deformación

Fuente: (Schram, J. 2017)

El espectro infrarrojo se puede dividir en dos partes. El infrarrojo medio varía de 400 a 4000 cm^{-1} (MIR), mientras que el infrarrojo cercano varía de 4000 a 12,500 cm^{-1} (NIR). Dentro del espectro MIR, se producirán transiciones de vibraciones de estiramiento de grupos de heteroátomos unidos entre 2800 y 3500 cm^{-1} . Las vibraciones de estiramiento de los grupos de doble enlace y todos los tipos de modos vibratorios de deformación aparecen entre 400 y 1800 cm^{-1} . El último rango MIR es a menudo muy complejo, lo que significa que las transiciones necesitan valores de energía similares y las señales a menudo se superponen entre sí. En consecuencia, sería difícil asignar todas las señales a sus correspondientes transiciones. Sin embargo, el conjunto completo de señales MIR dentro de este rango proporciona una huella digital muy característica para cada tipo de polímero. El espectro NIR (4000 - 12,500 cm^{-1}) contiene todos los armónicos y bandas de combinación mencionados. Los espectros correspondientes consisten en señales superpuestas, que resultan en bandas vibratorias muy amplias.



7. METODOLOGÍA:

En nuestros días, la investigación sobre microplásticos aborda algunas dificultades con las técnicas de selección de muestreo y caracterización debido a la amplia gama de opciones disponibles. Esta revisión, pretende aportar una descripción de los métodos más relevantes de muestreo e identificación de MP en ecosistemas hídricos, proporcionando una revisión crítica, perspectivas del futuro, y técnicas que puedan ser utilizadas en nuestro entorno. Se empleó términos de búsqueda como: Plásticos y microplásticos; Efectos de microplásticos en el ecosistema, Metodologías de caracterización de microplásticos, entre otros relacionados.

7.1. Diseño: Se realizó una revisión sistemática enfocada a las diferentes técnicas empleadas para el muestreo, extracción y caracterización de microplásticos en ecosistemas hídricos.

7.2. Estrategia de búsqueda de información: Se llevó a cabo una búsqueda en bases digitales, tesis, y artículos científicos y trabajos que fueron publicados por grupos de investigación y sociedades científicas tanto ecuatorianas como extranjeras dedicados al estudio de microplásticos. Se realizó, una búsqueda de 77 obras de literatura científica en Google Scholar directamente relacionado con el desarrollo de procedimientos de muestreo para microplásticos.

La información se ha organizado en pasos de muestreo: muestra a granel, separación, digestión, y la identificación de MP.

Los espectros de absorción infrarroja de microplásticos serán recopilados de bases de datos de la Sociedad Española de Espectroscopía Aplicada, Base de datos de Espectros FTIR-ATR del Centro Nacional de Conservación y Restauración de Chile (CNCR) e IR Spectral Database de BIORAD.

7.3. Criterios de inclusión y exclusión: Se aplicó como criterio de inclusión los estudios sobre muestreo de microplásticos tanto en español como en inglés, que hayan sido publicados en un periodo de tiempo comprendido entre el 2010 y el 2020. Además, se seguirá la clasificación presentada por: (Galgani, 2013; Wagner, 2014) en donde definen el tamaño de microplástico a partículas menores a 5mm que



están presentes en los diversos ecosistemas hídricos entre los que tenemos: lagos, ríos, agua de consumo y mares. Se considerará como criterio de exclusión aquellos artículos que no presenten información sobre estudio de microplásticos en partículas de tamaño superior a 5 mm y arena de mar.



8. RESULTADOS

Se evaluaron un total de 77 estudios de microplásticos de los cuales se consideraron tres aspectos principales del proceso analítico: (1) muestreo, (2) tratamiento y (3) métodos de identificación. A partir de la literatura investigada, se recopiló información, la cual es presentada en los siguientes cuadros.

8.1. Muestreo.

Cuadro 2 Tipos de muestreo recurrentes para la recolección de muestras de agua.

Muestras de agua		
TIPO	Resultado en base a la literatura revisada	Estudios de Referencia
Selectivo	No hay una profundidad estandarizada o especificada para el muestreo de agua, por lo que los investigadores utilizan varias profundidades de muestreo. Sirve para investigar la ocurrencia de MP	(Hidalgo-Ruz y col. 2012) (Eriksen et al.2013; Yu y col.2016; Zhao y col.2014)
Granel	Se recogen volumen de muestras de agua de hasta 100-L	(Hidalgo-Ruz y col. 2012); Song et al. 2014)
Volumen reducido	Se recoge un volumen de 100 ml o 2 L	(Dubai 2013); (Leslie et al. 2017); (Hidalgo-Ruz y col., 2012)

8.1.2. TIPO DE REDES

El criterio de luz de malla elegido por varios investigadores es de 330 mm (Ryan et al., 2009; Hidalgo-Ruz et al., 2012; Eriksen et al., 2013; Zhao et al., 2014; Mani et al., 2015; Baldwin et al., 2016; Su et al., 2016; Anderson et al., 2017). Dicha selección se debe principalmente al límite de menor tamaño de los microplásticos de 333 mm sugeridos por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de los EE.UU. (Arthur et al., 2009).

**Cuadro 3 Resultados de los tipos de redes empleados para la recolección de microplásticos.**

Técnica	Resultado en base a la literatura revisada	Tipo de Redes		
		Ventajas	Desventajas	Estudios de Referencia
Tamiz metálico	Empleados en la investigación de la concentración de MP que sirven mejor que los métodos de muestreo (como el arrastre y el bombeo.) El tamaño de malla de redes de arrastre de 100 a 500 µm	No requiere equipo especializado ni embarcación; Fácil de recolectar muestras.	Laborioso y lento; Muestras de volúmenes medios; Transferencia manual de agua con baldes	(Singapur. Song y col. 2014; Song et al. 2015b)
Redes de Neuston y manta	Permiten el muestreo de grandes volúmenes de agua y se utilizan ampliamente, lo que permite cierta estandarización de los métodos.	No requiere equipo especializado ni embarcación; Fácil de recolectar muestras.	Laborioso y lento; Muestras de volúmenes medios; Transferencia manual de agua con baldes	Singapur. Song y col. (2014) Song et al. (2015b)
Redes de plancton	Permiten el muestreo de grandes volúmenes de agua y se utilizan ampliamente, lo que permite cierta estandarización de los métodos.	Fácil de usar; Toma de muestras de grandes volúmenes de agua; Muy utilizado (bueno para comparar entre ubicaciones); Produce una gran cantidad de microplásticos para realizar pruebas.	Equipo caro; Requiere barco; Pérdida de tiempo; Contaminación potencial por embarcaciones y cables de remolque; El límite inferior de detección es 333 mm.	(Free et al., 2014). (Ryanetal., 2009; Hidalgo-Ruz et al., 2012; Eriksen et al., 2013)

8.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

8.2.1. Separación de microplásticos

Cuadro 4 Métodos de extracción

Técnica	Resultado en base a la literatura revisada	Estudios de Referencia
filtración o tamizado	En las obras reseñadas, el tamaño de poro o malla varía entre 0,3 y 200 mm	(Quinn, B., et, al, 2017)
Separación de densidad: flotación y elutriación	Se acepta que se requieren soluciones > 1,4 g/cm ³ para separar los microplásticos de los sedimentos, ya que su densidad depende del tipo de polímero	(Rocha-Santos, et, al, 2015; Quinn, B., et, al, 2017; Zhang, S., et, al, 2018)

Cuadro 5 Separación de tipos de polímeros en función de la densidad empleando diferentes soluciones.

Polímero	Densidad del polímero g/cm ³	Agua	NaCl	NaI	ZnBr ₂
PP	0,9 – 0,91	+	+	+	+
PE	0,92-0,97	+	+	+	+
PA	1,02 – 1,05	-	+	+	+
PS	1,04-1,1	-	+	+	+
Acrylic	1,09-1,20	-	+	+	+
PMA	1,17-1,2	-	+	+	+
PU	1,2	-	+	+	+
PVC	1,16-1,58	-	±	+	+
PVA	1,19 – 1,31	-	±	+	+
Alkyd	1,24 – 2,10	-	-	+	+
Polyester	1,24 – 2,3	-	-	+	+
PET	1,37 – 1,45	-	-	+	+
POM	1,41 – 1,61	-	-	±	+

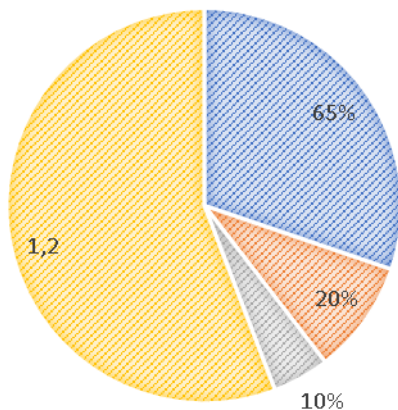
Etiqueta: +: separación, ±: posible separación, -: no separada.

Polímeros: PE: polietileno, PP: polipropileno, PS: poliestireno; PA: poliamida (nailon), POM: polioximetileno, PVA: alcohol polivinílico, PVC: cloruro de polivinilo, PMA: acrilato de polimetilo, PET: tereftalato de polietileno, PU: poliuretano (Hidalgo-Ruz, ...etc, & Thiel, M., 2012).

Ilustración 4 Procedimiento empleado para la separación en base de la densidad según la literatura revisada

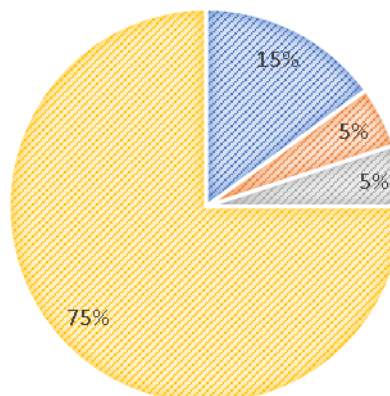
SEDIMENTO

■ NaCl ■ NaI ■ ZnCl₂ ■ Agua



AGUA

■ NaCl ■ ZnCl₂ ■ Agua de mar ■ NO

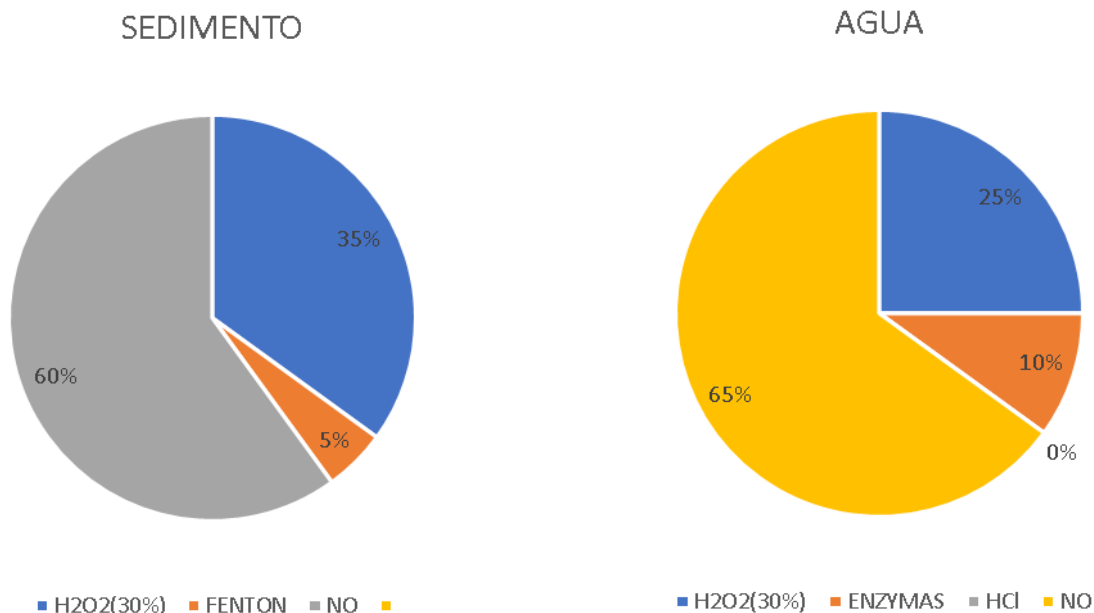


Cuadro 6 Procesamiento de muestras: eliminación de materia orgánica

Técnica	Resultado en base a la literatura revisada	Estudios de Referencia
Digestión ácida	El ácido nítrico (HNO ₃) se usa ampliamente	
Digestión de álcalis	Los protocolos que utilizan KOH (10%) a 60°C durante la noche o 60°C durante 24 h demostraron ser uno de los tratamientos digestivos más eficaces, así como el NaOH	(Maes, T., et, al 2017; Cole, M., et, al 2014; Dehaut, A., et, al 2016)
Agentes oxidantes	El peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂ , 30-35%) es un agente oxidante capaz de digerir la materia orgánica de manera más eficiente que el NaOH y el HCl, con poca o ninguna degradación de los polímeros	(Nuelle, et, al, 2014; Qiu, Q., et, al, 2017)
Digestión enzimática	La proteína K se ha utilizado para digerir el material biológico retenido en las muestras recogidas por la red de plancton, lo que permite una eficiencia de digestión de hasta el 97% a 50°C . tripsina, colagenasa y papaína con eficiencias de digestión de 72 a 88%	(Cole, M., et, al 2014; Courtene-Jones, et, al 2019)

Ilustración 5 Procedimiento empleado para la digestión de las muestras según la literatura revisada.

Digestión de las muestras previo al análisis.



8.3. MÉTODOS ANALÍTICOS

8.3.1. Técnicas de identificación de microplásticos

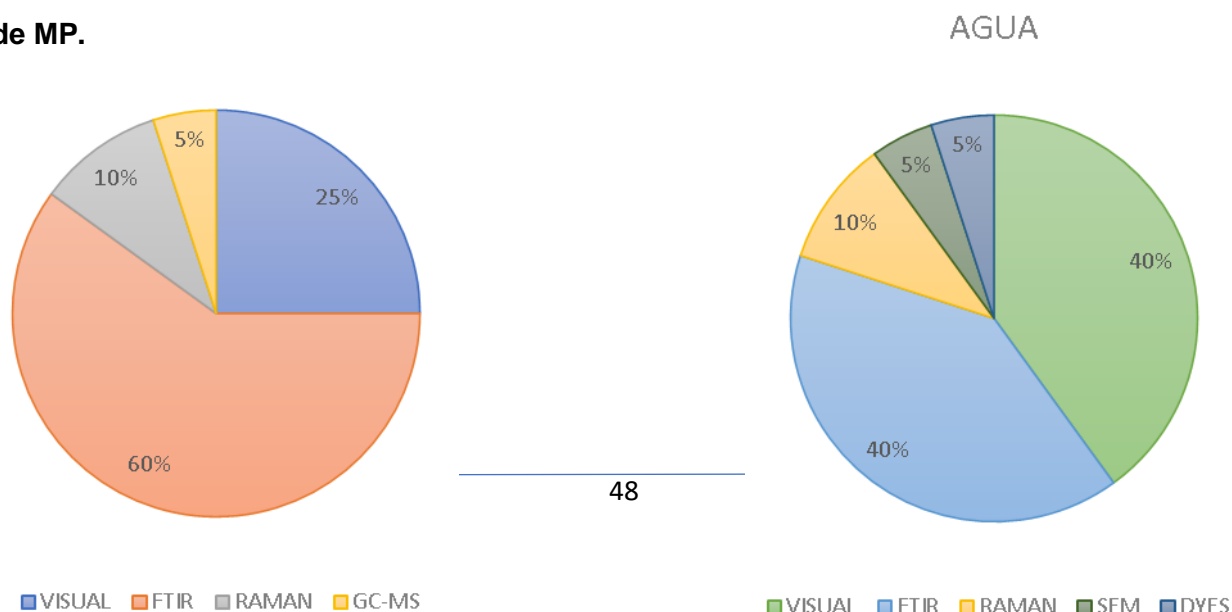
En esta revisión, hemos examinado informes que cuantificaron microplásticos en sedimentos y recopilamos las técnicas analíticas informadas (Tabla 9.5). Se han evaluado un total de 43 estudios de microplásticos.

Cuadro 7 Resultados de los métodos de identificación empleados para la recolección de microplásticos.

Método	Ventajas	Desventajas	Referencias
Identificación Visual	Las muestras con una cantidad alta relativamente grande de microplásticos pueden ser identificadas rápidamente por este método, proporcionando un cuadro global de abundancia del microplásticos.	La naturaleza química de las muestras no puede determinarse y es necesario acoplar con otros métodos de identificación.	(Derraik, 2002; Hidalgo-Ruz et al., 2012; Rochman, 2015; Qiu et al., 2016).
Espectroscopía IR FTIR	Las técnicas basadas en FTIR son métodos no destructivos. Están bien establecidos, son rápidos y bastante fiables. Las imágenes FTIR automáticas, permiten la adquisición rápida de varios miles de espectros dentro de un área a través de una sola medición y el tiempo	Las muestras por debajo de 20 mm pueden no producir suficientes espectros interpretables de absorbancia. Las partículas no transparentes son difíciles de analizar por este método. La detección se ve afectada por la matriz	(Song et al., 2014; Besseling et al., 2015; Qiu et al., 2016)

	de análisis se acorta considerablemente.	ambiental (por ejemplo, la formación de biopelículas en el polímero), lo que crea dificultades en la interpretación de los datos.
Espectroscopía Raman	Es el único método disponible para partículas que caen en el rango de 1 a 20 mm. Es posible analizar partículas oscuras y no transparentes utilizando el método	Existen grandes interferencias de fluorescencia de impurezas biológicas, orgánicas e inorgánicas, lo que dificulta la identificación de microplásticos. La muestra requiere purificación antes del análisis; Los parámetros de adquisición Raman apropiados (por ejemplo, longitud de onda, potencia del láser y fotoblanqueo) son importantes. (Cole et al., 2013; Collard et al., 2015; Imhof et al., 2016; Qiu et al., 2016; Wiesheu et al., 2016; Zhao et al., 2017)
microscopía electrónica de barrido (SEM).	Brinda información detallada sobre el tamaño y la forma de una partícula. SEM puede ayudar a identificar aditivos plásticos inorgánicos y ofrece una imagen clara del tamaño y la topografía de la partícula.	Equipos costosos, y requiere personal cualificado para su empleo (Shim et al., 2016).
cromatografía de gases de pirólisis / espectrometría de masas (GC / MS)	La muestra se puede analizar junto con los aditivos plásticos orgánicos en una sola pasada sin el uso de solventes y así evitar la contaminación de fondo. El método es sensible y confiable. Se encuentran disponibles algunas bibliotecas de datos de espectros de polímeros comunes.	Solo se puede evaluar una partícula con cierto peso por ejecución. La base de datos de pirólisis solo está disponible para polímeros seleccionados, como PE y polipropileno. (Hintersteiner et al., 2015; Elert et al., 2017)

Ilustración 6 Procedimientos empleados en los métodos de identificación de MP.





9. DISCUSIONES.

Los métodos de muestreo y procesamiento son similares para las muestras de agua dulce y salada, lo que permite una estandarización de los métodos. Sin embargo, se pueden encontrar diferencias en la distribución de microplásticos en cada sistema, influenciada por las características ambientales, como los perfiles hidrodinámicos, así como la densidad de cada polímero.

9.1. Métodos de muestreo

En la presente revisión, se analizaron métodos de muestreo actualizados de MP en matrices ambientales (incluyendo agua y sedimentos). En dicha investigación, encontramos tres enfoques predominantes de muestreo: métodos de muestreo selectivo, a granel y de volumen reducido.

El muestreo selectivo se aplicó en 24 de los 44 estudios revisados de sedimentos, 20 de los cuales se centraron exclusivamente en pellets de plástico. El muestreo de pellets de plástico suele ser selectivo, ya que su rango de tamaño (1 a 6 mm de diámetro) los hace fácilmente reconocibles. Sin embargo, cuando los microplásticos se mezclan con otros desechos no tienen formas características existe un gran riesgo de pasarlos por alto, y se debe tener especial cuidado al muestrearlos selectivamente en el campo.

9.2. Características de las mallas y redes para el muestreo.

De los estudios revisados en agua y sedimento se debe recalcar la atribución que genera el tamaño de la malla lo cual puede influenciar en gran medida las concentraciones reportadas de MP. Por ejemplo, una red de nylon (100 μm) reveló concentraciones casi cien veces más altas que una red manta (333 μm), 0.1 y 0.00135 MP /L respectivamente (Vermaire, et al., 2016).

Las redes de plancton también tienen tamaños de malla más pequeños ($\sim 100 \mu\text{m}$), lo que permite tomar muestras en menos de un minuto y recuperar concentraciones 30 veces más altas que las redes de manta (Dris, R., et al, 2015). Sin embargo, al emplear redes de plancton se debe considerar que esta red debe desplegarse durante un corto período de tiempo debido a la obstrucción con material orgánico y mineral en suspensión, lo que limita el volumen de agua muestreada. En cuanto a las fibras, una malla de 80 μm puede filtrar 250 veces más fibras que una red de 330 μm (Dris, R, et al 2018).



9.3. Filtración, separación y digestión del material orgánico.

En relación a los métodos de filtración y separación, el tamizado es el método más frecuente en la separación de microplásticos de muestras de agua y para el sobrenadante. El tamaño de los poros o de la malla determina el tamaño más bajo de microplásticos detectados. Sin embargo, los tamaños pequeños de poros o mallas también pueden resultar en una rápida obstrucción por materia orgánica y mineral. En los sedimentos, las muestras pueden ser sometidas a un pretratamiento como tamices más grandes (por ejemplo, en 4 trabajos de los 26 revisados utilizaron tamizado como pretratamiento para reducir el volumen de la muestra), seguido de separación por densidad y filtración del sobrenadante a través de filtros o tamices. En las obras reseñadas, el tamaño de poro o malla varía entre 0,3 y 200 mm, faltando esta información en 3 obras (Quinn, B., Murphy, F., & Ewins, C., 2017). El método predilecto para la separación de MP es en función de las diferencias de densidad. Se acepta que se requieren soluciones $> 1,4 \text{ g/cm}^3$ para separar los microplásticos de los sedimentos, ya que su densidad depende del tipo de polímero, la concentración de aditivos e incluso las sustancias y organismos adsorbidos (Quinn, B., Murphy, F., & Ewins, C., 2017).

El NaCl es una de las sales más utilizadas para la separación por densidad, ya que es de alta disponibilidad, barata y ecológica (Nuelle, M. T., et, al, 2014). Se recomienda NaCl de grado reactivo ya que alcanza densidades ligeramente más altas y, por lo tanto, tiene una mayor eficiencia de extracción para polímeros ligeramente más pesados, como HDPE (polietileno de alta densidad) (J. S_anchez-Nieva, et, al 2017). Sin embargo, Quinn et al. [80] encontró que el NaCl ($1,2 \text{ g/cm}^3$) tenía tasas de recuperación bajas ($<90\%$) y barras de error más grandes, así como NaBr ($1,4 \text{ g/cm}^3$), mientras que tanto NaI ($1,6 \text{ g/cm}^3$) como ZnBr₂ ($1,7 \text{ g/cm}^3$) pudieron separar polímeros más pesados con buenas tasas de recuperación (99%) y barras de error ajustadas. Además, la separación con NaI y ZnBr₂ requiere un solo lavado del sedimento, mientras que el NaCl requiere tres. Sin embargo, el NaI reacciona con los filtros de celulosa, volviéndolos negros y complicando la identificación visual, mientras que el ZnBr es peligroso para el medio ambiente y costoso, lo que puede superarse mediante la reutilización continua mediante un filtrado cuidadoso y un ajuste de densidad. El NaI también es capaz de recuperar fibras oleofóbicas (93,3%), mejor que el CaCl₂ (69%) (E.M. Crichton, M., et, al, 2017; S. Zhao, et, al, 2017).



La necesidad de digestión varía según la cantidad de materia orgánica en cada muestra. Por ejemplo, no todos los estudios revisados realizaron un paso de digestión, en siete estudios usaron H₂O₂ (30%) y reactivo de Fenton (H₂O₂ con catalizador de hierro ferroso), en otros cinco estudios emplearon únicamente H₂O₂ (30%), dos emplearon digestión enzimática y uno ácido clorhídrico (HCl) (5-10%). Dentro de los diferentes procesos de digestión de material orgánico tenemos que la digestión ácida puede usarse para degradar la materia orgánica. Sin embargo, algunos polímeros (por ejemplo, nailon, PET y tereftalato de polietileno) tienen una baja resistencia a los ácidos y también pueden degradarse, en altas concentraciones y altas temperaturas (Qiu, Q., et, al, 2016).

El HCl parece ser el tratamiento menos eficaz para tratar grandes cantidades de material biológico (Cole, et, al 2014; Maes, T., et, al, 2017; Zhao, S, et, al, 2017). No obstante, Karami et al. 2017 informó que el HCl (37%) a 25°C tenía una eficiencia de digestión > 95% pero con la fusión del PET.

El ácido nítrico (HNO₃) se usa ampliamente en la digestión ácida. Sin embargo, el ácido nítrico puede dejar residuos aceitosos o restos de tejido, provocar la pérdida de nailon y la fusión de PS (poliestireno), LDPE (polietileno de baja densidad), PET y HDPE, o coloración amarillenta de polímeros, incluidos Claessens et al. 2013 PP (polipropileno), PVC (cloruro de polivinilo) y PET. Naidoo y col. 2017 informa que PE, HDPE, PS, poliéster y PVC sobrevivieron al HNO₃ (55%) a temperatura ambiente durante un mes, solo con la degradación del nailon y el blanqueamiento del PVC. (Catarino, A. I., et, al, 2017; Dehaut, A., et, al, 2016)

La digestión con álcalis es una alternativa a la digestión ácida con gran potencial. Sin embargo, la digestión con álcalis también puede dañar o decolorar los plásticos (Qiu, Q., et, al, 2016), dejar residuos aceitosos y fragmentos (Dehaut, A., et, al 2016; Maes, T., al, 2017) o volver a depositar residuos de tejido en superficies plásticas, lo que complica la caracterización por espectroscopia vibratoria (Wagner, J., et, al, 2017). El KOH tiene una buena digestión de materia orgánica y recuperación de plásticos (Catarino, A. I., et, al, 2017; Munno, K., et, al, 2018). Los protocolos que utilizan KOH (10%) a 60°C durante la noche (Maes, T., et, al, 2017) o 60°C durante 24 h (Dehaut, A., et, al, 2016) demostraron ser uno



de los tratamientos digestivos más eficaces, así como el NaOH (Cole, M., et al, 2014). No obstante, el KOH puede causar decoloración del nailon, PE y PVC (, degradación del nailon, poliéster, PE, PC (policarbonato), PET, PVC, LDPE, CA (acetato de celulosa) (Cole, M., et al, 2014; Karami, A., et al, 2017; Kühn, S., et, al, 2017; Maes, T., et, al, 2017; Munno, K., et, al, 2018). El NaOH también puede causar degradación de CA, PA, PET y cambio de color en PVC y PET (Dehaut, A., et, al, 2016). Con respecto a la eficiencia de la digestión, Kühn et al. 2017 analizaron varias muestras de materia orgánica que se encuentran a menudo en las playas (es decir, algas, picos de calamar, picos de Polychaeta, lana de oveja, bigotes de foca, otolitos de pescado, plumas de aves, cuerda de manila, anzuelo de metal, parafina y grasa de palma), revelando que los peces otolitos, picos de calamar, parafina y grasa de palma sobrevivieron al proceso de digestión con KOH (1 M) durante 2 días a temperatura ambiente. Por lo tanto, las partes duras y las grasas parecen no ser completamente digeridas por los álcalis.

El empleo de agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂, 30-35%) es un agente capaz de digerir la materia orgánica de manera más eficiente que el NaOH y el HCl, con poca o ninguna degradación de los polímeros (Nuelle, M., et, al, 2014; Qiu, Q., et, al, 2016; Zhao, S., et, al, 2017). Nuelle y col. 2014 reportaron resistencia de PVC, PET, nailon, ABS (acrilonitrilo butadieno estireno), PC, PUR (poliuretano), PP, LDPE, LLDPE (LDPE lineal), HPDE a H₂O₂, con cierta decoloración, mientras que Karami et al. 2017 informaron sobre la degradación del nailon y el cambio de color del PET después del tratamiento con H₂O₂ (35%) a 50°C durante 96 h. La digestión también puede provocar la producción de espuma que puede conducir a la reducción de los microplásticos recuperados (Maes, T., et, al, 2017). La temperatura de incubación parece ser un factor determinante de la eficiencia del H₂O₂. Por ejemplo, Cole et al. 2014 informó que la incubación con H₂O₂ (35%) a temperatura ambiente durante 7 días solo degradaba el 25% de la materia orgánica, mientras que Avio et al. 2015 informó haber utilizado H₂O₂ (15%) a 50°C durante la noche para eliminar eficazmente la materia orgánica. Zhao y col. 2017 informa que se prefiere el 15% al 20% de H₂O₂, y ambos tratamientos tienen mejores resultados que el HCl. Por lo tanto, los tratamientos con H₂O₂ pueden eliminar de manera eficiente la materia orgánica con poco efecto sobre la integridad de los microplásticos.



El empleo de enzimas como métodos alternativos para la digestión de material orgánico, es menos peligrosa y es menos probable que provoque daños en los microplásticos (Maes, T., et al, 2017). Sin embargo, la eficacia de la enzima variará según el tipo de material orgánico presente en la muestra (Courtene-Jones, W., et al, 2017). Los protocolos de enzimas incluyen la predigestión de sedimentos con una mezcla de enzimas industriales (2,5%) a 45°C durante 60 min, seguida de la eliminación de desechos con H₂O₂ (30%) (Crichton, E. M., et al, 2017). Para digerir tejidos de pescado Karlsson et al. 2017 usó proteinasa K (500 mg/ml) con CaCl₂ incubado a 50°C durante 2 h, seguido de agitación (20 min) y más incubaciones (60°C, 20 min), luego tratado con H₂O₂ (30%) con recuperaciones del 97% pero con depósito de calcio sobre partículas que pueden complicar una caracterización adicional. La proteína K también se ha utilizado en el agua de mar para digerir el material biológico retenido en las muestras recogidas por la red de plancton, lo que permite una eficiencia de digestión de hasta el 97% a 50°C (Cole, M., et al, 2017).

Courtene-Jones y col. 2017 probó tripsina, colagenasa y papaína con eficiencias de digestión de 72 a 88% y sin efecto sobre los polímeros probados. Loder et al. 2017 propuso el uso de un protocolo de purificación enzimática básica con 98,3% de eficiencia, basado en el uso de detergente (5% p / p de dodecilsulfato de sodio), un uso secuencial de enzimas (proteasa, celulasa, quitinasa) y dos peróxido de hidrógeno tratamientos (uno entre tratamientos enzimáticos y otro al final), sumando hasta 13 días de procesamiento de muestras. Sin embargo, el uso de enzimas está limitado por su alto precio. La Corolase 7089 industrial, vendida en forma líquida, se ha presentado como una enzima menos costosa que podría usarse en el muestreo de microplásticos con mejores resultados que los tratamientos químicos (Catarino, A. I., et al, 2017).

9.4. Métodos de caracterización y cuantificación de MP.

Dentro de los distintos métodos para la identificación de MP, la inspección visual permite la clasificación de las partículas plásticas basado en sus características físicas, u observado directamente al estereoscopio o microscopio. Este es uno de los métodos más utilizados y ampliamente disponibles para la identificación y cuantificación de MP, incluso se utiliza como preselección cuando la caracterización química se lleva a cabo. Sin embargo, este método es subjetivo, ya que puede producir grandes variaciones entre los observadores. La detección



visual de microplásticos en sedimentos por múltiples observadores tienden a detecciones de 60 - 100%, variando con el individuo, lo que conduce a una sobreestimación o subestimación de ciertos tipos y colores de microplásticos (Lavers et al. 2016). Aproximadamente el 20% de partículas inicialmente identificadas como microplásticos por observación visual, luego se identificaron como silicato de aluminio a partir de cenizas de carbón mediante microscopio electrónico de barrido (SEM) (Eriksen, M., et, al 2013)

La recuperación de los métodos de conteo visual es muy poco confiable y la cuantificación con muestras de control de calidad demuestra que el color de los microplásticos con un 70-100% de recuperación para tonos azules, violetas, verdes y 0-40% de recuperación para microplásticos amarillos, naranjas, rosas y naranjas con transparentes los microplásticos se recuperaron alrededor del 45–63% .(Stolte, A., Forster,...; & Schubert, H., 2015)

La aplicación de la espectroscopía en la confirmación de la presencia de MP es extremadamente importante y puede aumentar la precisión del conteo visual. Los estudios han utilizado una combinación de microscopía y espectroscopía (es decir, microscopio y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para contar primero las posibles partículas microplásticas, seguido de la confirmación o la negación de que sean MP.

Aunque el mapeo FTIR, es decir, la medición secuencial del espectro IR en puntos definidos espacialmente y definidos por el usuario en la superficie de la muestra, es una técnica que consume mucho tiempo cuando se dirige a toda la superficie del filtro de la muestra a una resolución espacial alta porque utiliza un solo elemento detector (Vianello et al. 2013; Harrison y col.2012) Harrison y col. (2012) concluyeron que una extensión de FTIR muy prometedora, son imágenes de FTIR basadas en matriz de plano focal (FPA) (Levin y Bhargava 2005), lo cual permite un análisis detallado e imparcial de alto rendimiento de microplásticos totales en un filtro de muestra. Esta técnica permite el registro simultáneo de varios miles de espectros dentro de un área con una sola medición y, por lo tanto, la generación de imágenes químicas. Al combinar campos FPA, se pueden analizar filtros de muestra completos a través de imágenes FTIR. Cabe señalar que la resolución lateral de la espectroscopía FTIR es limitada por difracción y, en contraste con la



espectroscopía Raman, las muestras deben secarse antes de la medición mediante espectroscopía IR con agua de naturaleza alcalina.

La combinación de SEM con otras técnicas de identificación como FTIR puede ser ventajosa, donde ciertos tipos de plástico podrían ser formas particulares. Un estudio mostró que la mayoría de sus muestras de polietileno eran redondeadas, y la mayoría de sus muestras de polipropileno eran fragmentos. (Zbyszewski, M., & Corcoran, P. L., 2011). Esta información puede ayudar a dar una indicación de la fuente de los plásticos muestreados, es decir, fragmentos rotos de plástico grande o nurdles primarios. (Reddy, M. S., et, al 2006; Zbyszewski, M., & Corcoran, P. L., 2011).



10. CONCLUSIONES

La evaluación completa del impacto de los MP en los ecosistemas hídricos requiere una caracterización completa en términos de distribución y composición química. Un primer paso para evaluar las consecuencias ambientales de los microplásticos es el establecimiento de metodologías confiables y verificadas para cuantificar sus cantidades y composición. Esto permitirá comparaciones espaciales y temporales a gran escala de suma importancia para comprender el problema de la contaminación plástica.

En la presente revisión, se discutió numerosos métodos utilizados en el estudio de MP: muestreo, extracción, identificación en ecosistemas hídricos. Con el propósito de aplicar dicho conocimiento en estudios futuros sobre la contaminación plástica en la ciudad de Cuenca, debido a que esta ciudad se presenta como un territorio con un sistema de drenaje natural que consta de valles principales y secundarios que forman relieves mayores y menores por donde discurre una red fluvial, la cual constituyen un soporte vital para la población cuencana por la prestación de servicios que se generan a partir de este recurso hídrico. Y por la falta de protocolos y acciones sobre el control de las descargas que realizan ciertas industrias que residen en las cercanías de ríos y arroyos, las mismas que actualmente no cuentan con un proceso legislativo que regule el control de MP o como tratarlos

Uno de los puntos más complejos a considerar es la estandarización de ciertos protocolos de muestreo, según lo revisado la selección del sitio de muestreo genera un impacto significativo de la abundancia y el tipo de plástico reportado.

Al considerar los aspectos hidrológicos de nuestra zona, establecemos que el método de muestreo más adecuado es el muestreo selectivo. Optando por elegir sitios para la recolección de muestras como la orilla, y aguas profundas (sitios donde exista una visible contaminación plástica).

Las redes que se podrían emplear en futuros estudios en esta ciudad, pueden ser redes de Neuston o redes de plancton con un tamaño de poro entre 100 y 300 μm .

El método predilecto para la separación de MP es en función de las diferencias de densidad. Se acepta que se requieren soluciones $> 1,4 \text{ g/cm}^3$ para separar los microplásticos de los sedimentos, (Quinn, B., Murphy, F., & Ewins, C., 2017). El



NaCl es una de las sales más utilizadas para la separación por densidad, ya que es de alta disponibilidad, barata y ecológica (Nuelle, M. T., et al, 2014).

La digestión ácida y alcalina también se puede utilizar de forma secuencial (p. Ej., NaOH y HNO₃) con una buena digestión del material biológico y altas tasas de recuperación (Roch, S., & Brinker, A., 2017).

El análisis y la caracterización de los microplásticos se ven profundamente obstaculizados por la reducción de tamaño. Las técnicas de microscopía se han vuelto las predilectas para visualizar partículas de dimensión submicrométrica, sirviendo como el método de espectroscopia que permiten la caracterización de polímeros. El método analítico para la caracterización de MP, el cual se ajusta al entorno en nuestra región es la Espectroscopía Infrarroja (FTIR). Basado en la alta concentración de estudios que dependen de la espectroscopía FTIR, estamos seguros de que esta es una técnica apropiada que brinda información sobre el tipo de polímero dentro de las muestras, además de ser una técnica de naturaleza no invasiva, la cual se utiliza para obtener un espectro infrarrojo de espectros de emisión o absorción, así como para recopilar datos de alta resolución espectral, lo que facilita la determinación de la estructura de las moléculas. Sumada a esta la espectroscopia de RAMAN, es la técnica que complementa el proceso de identificación ya que permite la cuantificación de las partículas plásticas.



11. RECOMENDACIONES.

Es preocupante la falta de datos sobre concentraciones de MP en nuestros ecosistemas, por lo cual inicialmente se consideró la ejecución práctica de este proyecto, sin embargo este se vio afectado por la pandemia del SARS - CoV – 2. Es por ello que se recomienda emplear la información recopilada en este proyecto la cual constituye una innovación en el campo de análisis de aguas.

En el protocolo de muestreo cuando se tiene una superficie de mar con olas altas se prefiere usar catamaranes de neuston; en cambio en aguas tranquilas para evitar saltar sobre las olas y dar el dispositivo se prefiere una red de arrastre de manta.

En el proceso de remoción de materia orgánica la NOAA recomienda el uso de H₂O₂ (30%) con solución de Fe (II) (0.05 M) (sulfato (reactivo de Fenton) calentado a 75°C en un vaso de precipitados de vidrio que contenga la fracción de microplásticos para muestras de agua y sedimentos. Se recomienda el uso de un paso de digestión cuando la identificación se basa principalmente en la inspección visual. Sin embargo, la mayoría de los trabajos no eliminaron la materia orgánica de sus muestras, posiblemente porque los autores las consideraron bajas en materia orgánica.

En la caracterización química los microplásticos a menudo difieren de los materiales de referencia puros y, en estos casos, la búsqueda en bibliotecas no es adecuada y debe combinarse con la interpretación manual de espectros. En este contexto, la posibilidad de interpretar espectros de diferentes polímeros degradados depende de la resolución espectral. La comparación de esta huella digital con los espectros de referencia será una buena manera de distinguir e identificar polímeros.



12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Anderson, J. C., Park, B. J., & Palace, V. P. (2016). Microplastics in aquatic environments: implications for Canadian ecosystems. *Environmental Pollution*, 218, 269-280.
- Anderson, D. A., & Freeman, E. S. (1961). The kinetics of the thermal degradation of polystyrene and polyethylene. *Journal of Polymer Science*, 54(159), 253-260.
- Andrady, A. L., Pegram, J. E., & Song, Y. (1993). Studies on enhanced degradable plastics. II. Weathering of enhanced photodegradable polyethylenes under marine and freshwater floating exposure. *Journal of environmental polymer degradation*, 1(2), 117-126.
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977– 1984.
- Ashton, K., Holmes, L., & Turner, A. (2010). Association of metals with plastic production pellets in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 60(11), 2050-2055.
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.
- Asensio, R.C., Moya, M.S.A., de la Roja, J.M., Gómez, M., 2009. Analytical characterization of polymers used in conservation and restoration by ATR-FTIR spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (7), 2081–2096.
- Asefnejad, A., Khorasani, M.T., Behnamghader, A., Farsadzadeh, B., Bonakdar, S., 2011. Manufacturing of biodegradable polyurethane scaffolds based on polycaprolactone using a phase separation method: physical properties and in vitro assay. *Int. J. Nanomedicine* 6, 2375.
- Avio, C. G., Gorbi, S., & Regoli, F. (2015). Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: first observations in commercial species from Adriatic Sea. *Marine environmental research*, 111, 18-26.
- Azzarello, M.Y., Vleet, E.S., 1987. Marine birds and plastic pollution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 37, 295–303.



Bakir, A., Rowland, S. J., & Thompson, R. C. (2014). Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution*, 185, 16-23.

Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998.

Beltran, M., Marcilla, A., 1997. Fourier transform infrared spectroscopy applied to the study of PVC decomposition. *Eur. Polym. J.* 33 (7), 1135–1142.

Best, J. (2019). Anthropogenic stresses on the world's big rivers. *Nature Geoscience*, 12(1), 7-21.

Boerger, C. M., Lattin, G. L., Moore, S. L., & Moore, C. J. (2010). Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2275–2278.

Bond, A. L., & Lavers, J. L. (2013). Effectiveness of emetics to study plastic ingestion by Leach's storm-petrels (*Oceanodroma leucorhoa*). *Marine Pollution Bulletin*, 70(1–2), 171–175.

Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., & Canning-Clode, J. (2016). Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 178, 189-195.

Browne, M. A., Galloway, T., & Thompson, R. (2007). Microplastic—an emerging contaminant of potential concern?. *Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal*, 3(4), 559-561.

Bruge, A., Barreau, C., Carlot, J., Collin, H., Moreno, C., & Maison, P. (2018). Monitoring litter inputs from the Adour River (Southwest France) to the marine environment. *Journal of Marine Science and Engineering*, 6(1), 24.

Catarino, A. I., Thompson, R., Sanderson, W., & Henry, T. B. (2017). Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(4), 947-951.



Castañeda, RA, Avlijas, S., Simard, MA, y Ricciardi, A. (2014). Contaminación microplástica en los sedimentos del río San Lorenzo. *Revista canadiense de pesca y ciencias acuáticas*, 71(12), 1767-1771.

Carr, S. A., Liu, J., & Tesoro, A. G. (2016). Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water research*, 91, 174-182.

Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B., & Janssen, C. R. (2013). New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Marine pollution bulletin*, 70(1-2), 227-233.

Coates, J., 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In: Meyers, R.A. (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, pp.10815–10837.

Conchubhair, D. Ó., Fitzhenry, D., Lusher, A., King, A. L., van Emmerik, T., Lebreton, L., ... O'Rourke, E. (2019). Joint effort among research infrastructures to quantify the impact of plastic debris in the ocean. *Environmental Research Letters*, 14(6), 065001.

Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., et al. (2013). Microplastic ingestion by zooplankton. *Environmental Science and Technology*, 47(12), 6646–6655.

Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific Reports*, 4, 4528.

Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F., & Narayanaswamy, B. E. (2017). Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics. *Analytical Methods*, 9(9), 1437-1445.

Corcoran, P. L., Biesinger, M. C., & Grifi, M. (2009). Plastics and beaches: A degrading relation- ship. *Marine Pollution Bulletin*, 58(1), 80–84.

Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F., & Narayanaswamy, B. E. (2017). Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics. *Analytical Methods*, 9(9), 1437-1445.



Crichton, E. M., Noël, M., Gies, E. A., & Ross, P. S. (2017). A novel, density-independent and FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic sediments. *Analytical Methods*, 9(9), 1419-1428.

Cózar, A., Echevarría, F., González-Gordillo, J. I., Irigoien, X., Úbeda, B., Hernández-León, S., ... Fernández-de-Puelles, M. L. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(28), 10239– 10244.

Dennison, D. M. (1931). The infrared spectra of polyatomic molecules part I. *Reviews of Modern Physics*, 3(2), 280.

Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., ... & Duflos, G. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223-233.

Derraik, J. G. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 842-852.

Desforges, J. P. W., Galbraith, M., Dangerfield, N., & Ross, P. S. (2014). Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine pollution bulletin*, 79(1-2), 94-99.

Doyle, M. J., Watson, W., Bowlin, N. M., & Sheavly, S. B. (2011). Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific Ocean. *Marine Environmental Research*, 71(1), 41–52.

Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., Saad, M., Renault, N., & Tassin, B. (2015). Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris. *Environmental Chemistry*, 12(5), 592-599.

Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., & Tassin, B. (2018). Synthetic and non-synthetic anthropogenic fibers in a river under the impact of Paris Megacity: Sampling methodological aspects and flux estimations. *Science of The Total Environment*, 618, 157-164.

Dyachenko, A., Mitchell, J., & Arsem, N. (2017). Extraction and identification of microplastic particles from secondary wastewater treatment plant (WWTP) effluent. *Analytical Methods*, 9(9), 1412-1418.

E.M. Crichton, M. Noel, E.A. Gies, P.S. Ross. (2017). A novel, density-independent and FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic sediments, *Anal. Meth.* 9 1419e1428.



Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., et al. (2013a). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1–2), 177–182.

Eriksen, M., Maximenko, N., Thiel, M., Cummins, A., Lattin, G., Wilson, S., et al. (2013b). Plastic pollution in the South Pacific subtropical gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 68(1–2), 71–76.

Eubeler, J. P., Zok, S., Bernhard, M., & Knepper, T. P. (2009). Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(9), 1057-1072.

Europe, P. (2016). *Plastics—the Facts. An analysis of European plastics production, demand and waste data*. Retrived from: <http://www.plasticseurope.org>.

Felsing, S., Kochleus, C., Buchinger, S., Brennholt, N., Stock, F. y Reifferscheid, G. (2018). Un nuevo enfoque para separar los microplásticos de las muestras ambientales en función de su comportamiento electrostático. *Contaminación ambiental* , 234 , 20-28.

Fendall, L. S., & Sewell, M. A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. *Marine pollution bulletin*, 58(8), 1225-1228.

Filella, M., & Turner, A. (2018). Observational study unveils the extensive presence of hazardous elements in beached plastics from Lake Geneva. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 1.

Fitzsimons, M. F., Lohan, M. C., Tappin, A. D., & Millward, G. E. (2012). The role of suspended particles in estuarine and coastal biogeochemistry.

Fries, E., & Zarfl, C. (2012). Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to low and high density polyethylene (PE). *Environmental Science and Pollution Research*, 19(4), 1296-1304.

Fries, E., Dekiff, J. H., Willmeyer, J., Nuelle, M. T., Ebert, M., & Remy, D. (2013). Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environmental Science-Processes & Impacts*, 15(10), 1949–1956.

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), e1700782.



Gregory, M. R. (1996). Plastic 'scrubbers' in hand cleansers: a further (and minor) source for marine pollution identified. *Marine pollution bulletin*, 32(12), 867-871.

Greenspan, P., Mayer, E. P., & Fowler, S. D. (1985). Nile red: a selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets. *The Journal of cell biology*, 100(3), 965-973.

Grima, S., Bellon-Maurel, V., Feuilloley, P., & Silvestre, F. (2000). Aerobic biodegradation of polymers in solid-state conditions: a review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations. *Journal of Polymers and the Environment*, 8(4), 183-195.

Gu, J. G., & Gu, J. D. (2005). Methods currently used in testing microbiological degradation and deterioration of a wide range of polymeric materials with various degree of degradability: a review. *Journal of Polymers and the Environment*, 13(1), 65-74.

Haugland, R. P. (1996). *Handbook of fluorescent probes and research chemicals*. Molecular Probes, Eugene, 8

Harrison, J. P., Sapp, M., Schratzberger, M., & Osborn, A. M. (2011). Interactions between microorganisms and marine microplastics: A call for research. *Marine Technology Society Journal*, 45(2), 12–20.

Harrison, J. P., Ojeda, J. J., & Romero-Gonzalez, M. E. (2012). The applicability of reflectance micro-Fourier-transform infrared spectroscopy for the detection of synthetic microplastics in marine sediments. *Science of the Total Environment*, 416, 455–463.

Higgins, F. (2013). Rapid and reliable phthalate screening in plastics by portable FTIR spectroscopy. Agilent Technologies, Application Note, Publication no, 5991-3649.

Hodson, M. E., Duffus-Hodson, C. A., Clark, A., Prendergast-Miller, M. T., & Thorpe, K. L. (2017). Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environmental Science & Technology*, 51(8), 4714-4721.

Holmes, L. A., Turner, A., & Thompson, R. C. (2012). Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environmental Pollution*, 160, 42-48.

Holmes, L. A., Turner, A., & Thompson, R. C. (2014). Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. *Marine Chemistry*, 167, 25-32.



Honingh, D. (2018). Riverine debris: Interactions between waste and hydrodynamics: Field measurements and laboratory experiments for the Cikapundung River, Bandung. (M.Sc. thesis). Delft University of Technology.

Hidalgo-Ruz, V., & Thiel, M. (2013). Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): a study supported by a citizen science project. *Marine environmental research*, 87, 12-18.

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science and Technology*, 46(6), 3060–3075.

Ilharco, L.M., Brito de Barros, R., 2000. Aggregation of pseudoisocyanine iodide in cellulose acetate films: structural characterization by FTIR. *Langmuir* 16 (24), 9331–9337.

Imhof, H. K., Schmid, J., Niessner, R., Ivleva, N. P., & Laforsch, C. (2012). A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments. *Limnology and Oceanography-Methods*, 10, 524–537.

Imhof, H. K., Ivleva, N. P., Schmid, J., Niessner, R., & Laforsch, C. (2013). Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Current Biology*, 23(19), R867–R868.

Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., ... Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768–771.

Jang, Y. C., Lee, J., Hong, S., Mok, J. Y., Kim, K. S., Lee, Y. J., ... Lee, S. (2014). Estimation of the annual flow and stock of marine debris in South Korea for management purposes. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1–2), 505– 511.

Jee, A. Y., Park, S., Kwon, H., & Lee, M. (2009). Excited state dynamics of Nile Red in polymers. *Chemical Physics Letters*, 477(1-3), 112-115.

Karapanagioti, H. K., Endo, S., Ogata, Y., & Takada, H. (2011). Diffuse pollution by persistent organic pollutants as measured in plastic pellets sampled from various beaches in Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 62(2), 312-317.



J. S_anchez-Nieva, J.A. Perales, J.M. Gonzales-Leal, R. Rojo-Nieto (2017). A new analytical technique for extraction and quantification of microplastics in marine sediments focused on the easy implementation and repeatability, *Anal. Meth.* 9 6371e6378

Karlsson, T. M., Vethaak, A. D., Almroth, B. C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., & Leslie, H. A. (2017). Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: method development and microplastic accumulation. *Marine pollution bulletin*, 122(1-2), 403-408.

Kooi, M., Besseling, E., Kroeze, C., Van Wezel, A. P., & Koelmans, A. A. (2018). Modeling the fate and transport of plastic debris in freshwaters: review and guidance. In *Freshwater microplastics* (pp. 125-152). Springer, Cham.

Krimm, S. C. Y. L., Liang, C. Y., & Sutherland, G. B. B. M. (1956). Infrared spectra of high polymers. II. Polyethylene. *The journal of chemical physics*, 25(3), 549-562.

Kühn, S., Van Werven, B., Van Oyen, A., Meijboom, A., Rebolledo, E. L. B., & Van Franeker, J. A. (2017). The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach to isolate plastics ingested by marine organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1-2), 86-90.

Kuptsov, A. H., & Zhizhin, G. N. (1998). *Handbook of Fourier transform Raman and infrared spectra of polymers*. Elsevier.

Lambert, S., & Wagner, M. (2016). Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere*, 161, 510-517.

Larkin, P. (2011). General outline and strategies for IR and Raman spectral interpretation. *IR and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Oxford, UK: Elsevier, 117-34

Lebreton, L. C., Van Der Zwet, J., Damsteeg, J. W., Slat, B., Andrady, A., & Reisser, J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature communications*, 8, 15611.

Leonas, K. K., & Gorden, R. W. (1993). An accelerated laboratory study evaluating the disintegration rates of plastic films in simulated aquatic environments. *Journal of environmental polymer degradation*, 1(1), 45-51.



- Levin, I. W., & Bhargava, R. (2005). Fourier transform infrared vibrational spectroscopic imaging: Integrating microscopy and molecular recognition. *Annual Review of Physical Chemistry*, 56(1), 429–474.
- Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G., & Grasselli, J. G. (1991). *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Elsevier.
- Löder, M. G., Imhof, H. K., Ladehoff, M., Löschel, L. A., Lorenz, C., Mintenig, S., ... & Gerdt, G. (2017). Enzymatic purification of microplastics in environmental samples. *Environmental science & technology*, 51(24), 14283-14292.
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. G. (2017). A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10.
- Magnusson, K., & Norén, F. (2014). Screening of microplastic particles in and downstream a wastewater treatment plant.
- Mason, S. A., Welch, V. G., & Neratko, J. (2018). Synthetic polymer contamination in bottled water. *Frontiers in chemistry*, 6, 407.
- McCauley, S.J., Bjorndal, K.A., 1999. Conservation implications of dietary dilution from debris ingestion: sublethal effects in post hatchling loggerhead sea turtles. *Conserv. Biol.*
- McCormick, A. R., Hoellein, T. J., London, M. G., Hittie, J., Scott, J. W., & Kelly, J. J. (2016). Microplastic in surface waters of urban rivers: concentration, sources, and associated bacterial assemblages. *Ecosphere*, 7.
- McNeill, I. C., & Leiper, H. A. (1985). Degradation studies of some polyesters and polycarbonates—2. Polylactide: degradation under isothermal conditions, thermal degradation mechanism and photolysis of the polymer. *Polymer degradation and stability*, 11(4), 309-326.
- Miller, M. E., Kroon, F. J., & Motti, C. A. (2017). Recovering microplastics from marine samples: A review of current practices. *Marine Pollution Bulletin*, 123(1-2), 6-18.
- Mintenig, S. M., Int-Veen, I., Löder, M. G., Primpke, S., & Gerdt, G. (2017). Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water research*, 108, 365-372.



- Morét-Ferguson, S., Law, K. L., Proskurowski, G., Murphy, E. K., Peacock, E. E., & Reddy, C.M. (2010). The size, mass, and composition of plastic debris in the Western North Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 60(10), 1873–1878.
- Munno, K., Helm, P. A., Jackson, D. A., Rochman, C., & Sims, A. (2018). Impacts of temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles. *Environmental toxicology and chemistry*, 37(1), 91-98.
- Murray, F., & Cowie, P. R. (2011). Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Pollution Bulletin*, 62(6), 1207–1217.
- Naidoo, T., Goordiyal, K., & Glassom, D. (2017). Are Nitric Acid (HNO₃) Digestions Efficient in Isolating Microplastics from Juvenile Fish?. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(12), 470.
- Nishikida, K., Coates, J., 2003. Infrared and Raman analysis of polymers. In: Lobo, H., Bonilla, J.V. (Eds.), *Handbook of Plastics Analysis*. Marcel Dekker, Inc, New York, pp.186–316.
- Noda, I., Dowrey, A.E., Haynes, J.L., Marcott, C., 2007. Group frequency assignments for major infrared bands observed in common synthetic polymers. In: Mark, J.E. (Ed.), *Physical Properties of Polymers Handbook*. Springer Science +Business Media, LLC, New York, pp. 395–406.
- Norén, F. (2007). *Small plastic particles in coastal Swedish waters*. Lysekil, Sweden: KIMO Sweden, N-Research.
- Norén, F., & Naustvoll, L.-J. (2010). Survey of microscopic anthropogenic particles in Skagerrak. *Klima- og forurensningsdirektoratet TA*, 2779–2011, 1–20.
- Novotna, K., Cermakova, L., Pivokonska, L., Cajthaml, T., & Pivokonsky, M. (2019). Microplastics in drinking water treatment—Current knowledge and research needs. *Science of The Total Environment*.
- Nuelle, M.-T., Dekiff, J. H., Remy, D., & Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*, 184, 161–169.
- Ng, K. L., & Obbard, J. P. (2006). Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 52(7), 761–767.



PlasticsEurope. (2018). *Plastics—The facts 2018. An analysis of European plastics production, demand and waste data*. Brussels, Belgium: PlasticsEurope.

Pescod, M. B. (1992). *Wastewater treatment and use in agriculture*.

Qi, Y., Yang, X., Pelaez, A. M., Lwanga, E. H., Beriot, N., Gertsen, H., ... & Geissen, V. (2018). Macro-and micro-plastics in soil-plant system: Effects of plastic mulch film residues on wheat (*Triticum aestivum*) growth. *Science of the Total Environment*, 645, 1048-1056.

Quinn, B., Murphy, F., & Ewins, C. (2017). Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment. *Analytical Methods*, 9(9), 1491-1498.

Qiu, Q., Tan, Z., Wang, J., Peng, J., Li, M., & Zhan, Z. (2016). Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 176, 102-109.

Rech, S., Macaya-Caquilpán, V., Pantoja, J. F., Rivadeneira, M. M., Campodónico, C. K., & Thiel, M. (2015). Sampling of riverine litter with citizen scientists—findings and recommendations. *Environmental monitoring and assessment*, 187(6), 335.

Reddy, M. M., Deighton, M., Gupta, R. K., Bhattacharya, S. N., & Parthasarathy, R. (2009). Biodegradation of oxo-biodegradable polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science*, 111(3), 1426-1432.

Reddy, M. S., Basha, S., Adimurthy, S., & Ramachandraiah, G. (2006). Description of the small plastics fragments in marine sediments along the Alang-Sosiya ship-breaking yard, India. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 68(3–4), 656–660.

Renner, G., Schmid, T. C., & Schram, J. (2017). Characterization and quantification of microplastics by infrared spectroscopy. *Compr Anal Chem*, 75, 67-118.

Rincon-Rubio, L. M., Fayolle, B., Audouin, L., & Verdu, J. (2001). A general solution of the closed-loop kinetic scheme for the thermal oxidation of polypropylene. *Polymer Degradation and Stability*, 74(1), 177-188.

Rist, S., & Hartmann, N. B. (2018). Aquatic ecotoxicity of microplastics and nanoplastics: lessons learned from engineered nanomaterials. In *Freshwater microplastics* (pp. 25-49). Springer, Cham.



Rochman, C. M., Tahir, A., Williams, S. L., Baxa, D. V., Lam, R., Miller, J. T., ... Teh, S. J. (2015). Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. *Scientific Reports*, 5, 14340.

Roch, S., & Brinker, A. (2017). Rapid and efficient method for the detection of microplastic in the gastrointestinal tract of fishes. *Environmental Science & Technology*, 51(8), 4522-4530.

Rost, F. W. (1992). *Fluorescence microscopy* (Vol. 2). Cambridge University Press.

Secretaría Nacional del Agua SENGUA (2015). DIRECTORIO DEL CONSEJO DE CUENCA DEL RIO MACHÁNGARA. Ministerio del Ambiente. Antonio Borrero Vega GERENTE DE ELECAUSTRO

Socrates, G. (2004). *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*. John Wiley & Sons.

S. Zhao, M. Danley, J.E. Ward, D. Li, T.J. Mincer. (2017). An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy, *Anal. Meth.* 9 1470.

Tunçer, S., Artüz, O. B., Demirkol, M., & Artüz, M. L. (2018). First report of occurrence, distribution, and composition of microplastics in surface waters of the Sea of Marmara, Turkey. *Marine pollution bulletin*, 135, 283-289.

Turner, A. (2016). Heavy metals, metalloids and other hazardous elements in marine plastic litter. *Marine pollution bulletin*, 111(1-2), 136-142.

Van der Wal, M. A. A. R. T. E. N., van der Meulen, M., Tweehuijsen, G. I. J. S. B. E. R. T., Peterlin, M., Palatinus, A., & Kovac Viršek, M. (2015). SFRA0025: Identification and assessment of riverine input of (Marine) litter. Report for Michail Papadoyannakis, DG Environment, United Kingdom, 186.

Schmidt, C., Krauth, T., & Wagner, S. (2017). Export of plastic debris by rivers into the sea. *Environmental science & technology*, 51(21), 12246-12253.

Stolte, A., Forster, S., Gerds, G., & Schubert, H. (2015). Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. *Marine Pollution Bulletin*, 99(1-2), 216-229.



- Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W., ... & Russell, A. E. (2004). Lost at sea: where is all the plastic?. *Science*, 304(5672), 838-838.
- Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., & Janssen, C. R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution*, 182, 495–499.
- Van Emmerik, T., Kieu-Le, T. C., Loozen, M., van Oeveren, K., Strady, E., Bui, X. T., ... Schwarz, A. (2018). A methodology to characterize riverine macroplastic emission into the ocean. *Frontiers in Marine Science*, 5, 372.
- Vedolin, M. C., Teophilo, C. Y. S., Turra, A., & Figueira, R. C. L. (2018). Spatial variability in the concentrations of metals in beached microplastics. *Marine pollution bulletin*, 129(2), 487-493.
- Vermaire, J. C., Pomeroy, C., Herczegh, S. M., Haggart, O., & Murphy, M. (2017). Microplastic abundance and distribution in the open water and sediment of the Ottawa River, Canada, and its tributaries. *Facets*, 2(1), 301-314.
- Verleye, G.A., Roeges, N.P., De Moor, M.O., 2001. *Easy Identification of Plastics and Rubbers*. Rapra Technology Limited, Shropshire, pp. 174.
- Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A., et al. (2013). Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 130, 54–61.
- Wagner, J., Wang, Z. M., Ghosal, S., Rochman, C., Gassel, M., & Wall, S. (2017). Novel method for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices. *Analytical Methods*, 9(9), 1479-1490.
- Weinstein, J. E., Crocker, B. K., & Gray, A. D. (2016). From macroplastic to microplastic: Degradation of high-density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environmental toxicology and chemistry*, 35(7), 1632-1640.
- Wright, S.L., Rowe, D., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Curr. Biol.* 23 (23): 1031–1033.



Zbyszewski, M., & Corcoran, P. L. (2011). Distribution and degradation of fresh water plastic particles along the beaches of Lake Huron, Canada. *Water, Air, & Soil Pollution*, 220(1-4), 365-372.

Zhang, S., Yang, X., Gertsen, H., Peters, P., Salánki, T., & Geissen, V. (2018). A simple method for the extraction and identification of light density microplastics from soil. *Science of the Total Environment*, 616, 1056-1065.

Zhao, S., Danley, M., Ward, J. E., Li, D., & Mincer, T. J. (2017). An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. *Analytical Methods*, 9(9), 1470-1478.

Zhou, Q., Zhang, H., Fu, C., Zhou, Y., Dai, Z., Li, Y., ... & Luo, Y. (2018). The distribution and morphology of microplastics in coastal soils adjacent to the Bohai Sea and the Yellow Sea. *Geoderma*, 322, 201-208.

Ziajahromi, S., Neale, P. A., Rintoul, L., & Leusch, F. D. (2017). Wastewater treatment plants as a pathway for microplastics: development of a new approach to sample wastewater-based microplastics. *Water research*, 112, 93-99.



ANEXO 1

Concentraciones de microplásticos en playas de diferentes países de Latinoamérica.

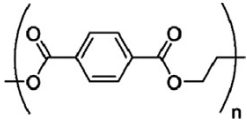
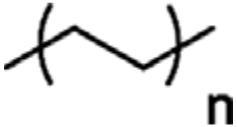
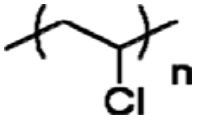
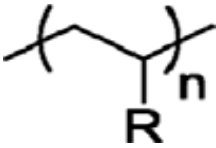
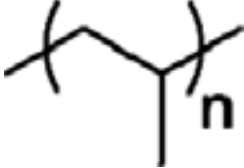
País	Numero de playas	Tamaño de microplásticos (mm)	Concentraciones de microplásticos (MP / m ²)	Tipos de microplásticos	Composición química	Referencias
Brasil	17	N.S	Verano 120-1300 Invierno 30 - 743	Fragmentos (56%), Espuma (26,7%), Pellet (9,9%)	Poliéster (70%), PP (20%), PE (10%) PE (45,98%), PP (19,41%), PS (17,41%) Poliacrilamida, Nylon, Poliacrilato	Wessel et al., 2016 de Carvalho and Baptista Neto 2016
Uruguay	10	0.3 - 5	25	Espumas (15%), Fibras (11%), Fragmentos rígidos y semirrígidos (56%), Fragmentos de película (10%), Pellets y municiones para juguetes (8%)	Fibras: PP, Nylon y Alcohol polivinílico. PS (26,7%)	Lozoya, J.P., Teixeira de Mello, F., Carrizo, D., 2016
Perú	4	1 – 2.5	130	Fragmentos (> 80%), Espumas (8%), Pellets (2%)	Fibras: Rayón (81%). Fragmentos: PP (19,36%) PE y PP	Purca, S., Henostroza, A., 2017.
México	33	1 - 5	31.7 - 545.8 media: 133	Fibras (91%), Film (5%), Esferas (juguetes) (3%)	PE (50%) y PS (20%) PE (56%), PP (21%), PS (12%), otros (11%)	Alvarez-Zeferino, J. C., Ojeda-Benítez, 2020; Piñon-Colin, 2018

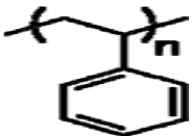
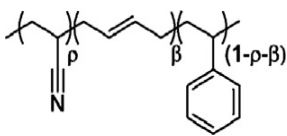
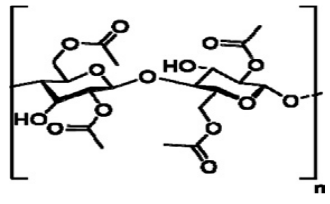
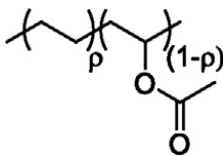
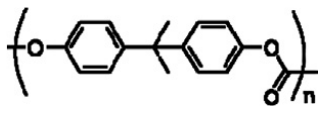
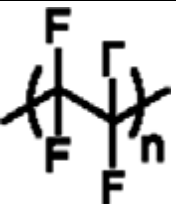
N.S. = No especificado;

PE = polietileno, PP = polipropileno, PS = poliestireno.

ANEXO 2

Lista de modos de vibración y asignaciones de modo para los espectros ATR FT-IR de polímeros plásticos. Las bandas de absorción enumeradas son representativas de las vibraciones críticas para la identificación del polímero.

Polímero	Estructura química	Bandas de absorción (cm ⁻¹) utilizadas para la identificación	Asignación	Estudios de referencia
Tereftalato de polietileno (PETE)		1713 (a) 1241 (b) 1094 (c) 720 (d)	C=O stretch C-O stretch C-O stretch Aromatic CH out-of-plane bend	Asensio et al., 2009; Verleye 1241 (b) CeO stretch et al., 2001; Noda et al., 2007
Polietileno de alta densidad (HDPE)		2915 (a) 2845 (b) 1472 (c) 1462 (d) 730 (e) 717 (f)	C-H stretch C-H stretch CH ₂ bend CH ₂ bend CH ₂ rock CH ₂ rock	Asensio et al., 2009; Noda et al., 2007; Nishikida and Coates, 2003
Cloruro de polivinilo (PVC)		1427 (a) 1331 (b) 1255 (c) 1099 (d) 966 (e) 616 (f)	CH ₂ bend CH bend CH bend C-C stretch CH ₂ rock C-Cl stretch	Beltran and Marcilla, 1997; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007
Polietileno de baja densidad (LDPE)		2915 (a) 2845 (b) 1467 (c) 1462 (d) 1377 (e) 730 (f) 717 (g)	C-H stretch C-H stretch CH ₂ bend CH ₂ bend CH ₂ bend CH ₂ rock CH ₂ rock	Asensio et al., 2009; Noda et al., 2007; Nishikida and Coates, 2003
Polipropileno (PP)		2950 (a) 2915 (b) 2838 (c) 1455 (d) 1377 (e) 1166 (f) 997 (g) 972 (h) 840 (i)	C-H stretch C-H stretch C-H stretch CH ₂ bend CH ₃ bend CH bend, CH ₃ rock C-C stretch CH ₃ rock, CH ₃ bend, CH bend CH ₃ rock, C-C stretch CH ₂ rock, C-CH ₃ stretch	Asensio et al., 2009; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007

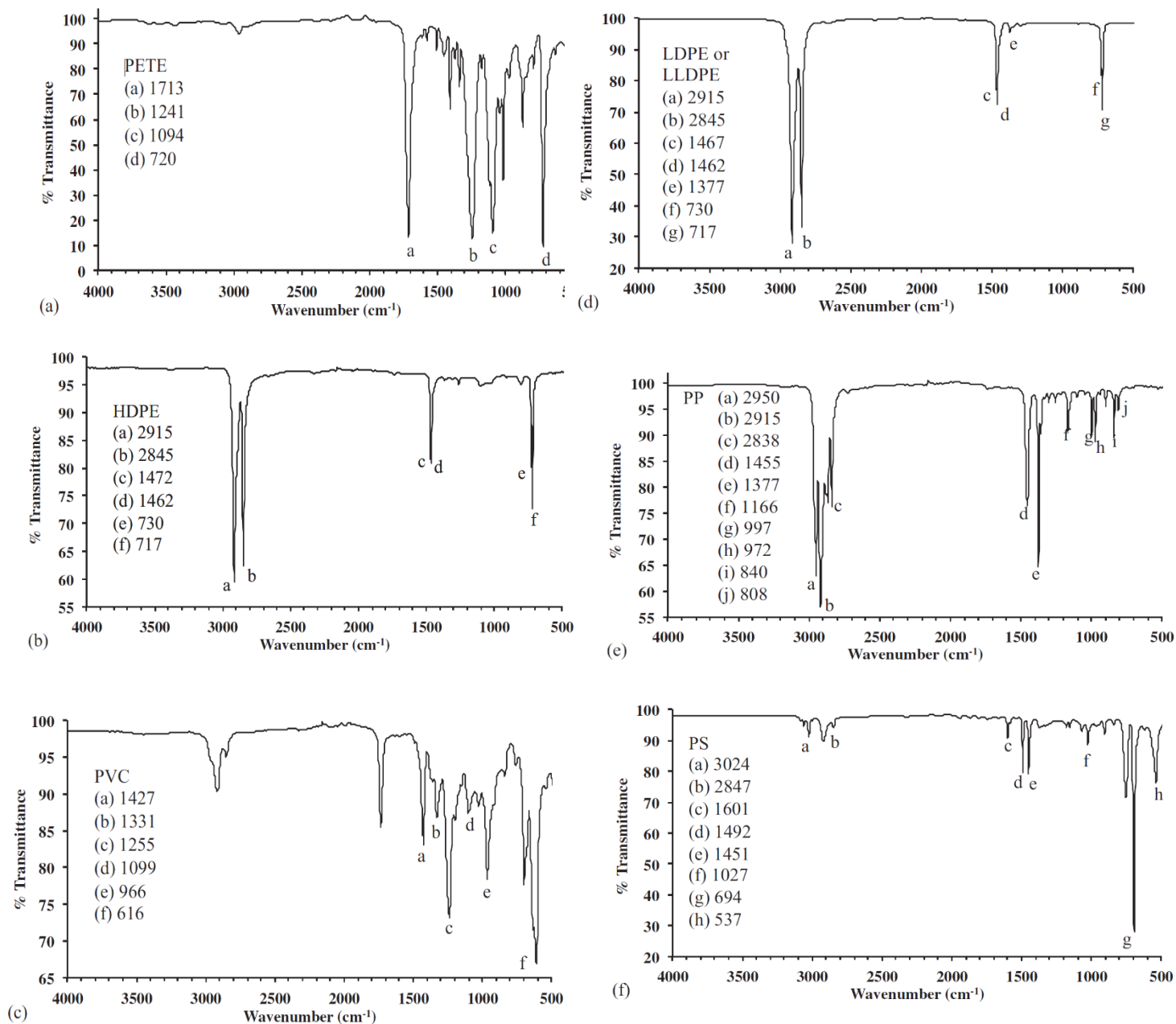
		808 (j)	CH ₂ rock, C - C stretch, C - CH stretch	
Poliestireno (PS)		3024 (a) 2847 (b) 1601 (c) 1492 (d) 1451 (e) 1027 (f) 694 (g) 537 (h)	Aromatic C- H stretch C-H stretch Aromatic ring stretch Aromatic ring stretch CH ₂ bend Aromatic CH bend Aromatic CH out-of plane bend Aromatic ring out-of plane bend	Asensio et al., 2009; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007
Acrilonitrilo butadieno estireno (ABS)		2922 (a) 1602 (b) 1494 (c) 1452 (d) 966 (e) 759 (f) 688 (g)	C - H stretch Aromatic ring stretch Aromatic ring stretch CH ₂ bend =C - H bend Aromatic CH out-of plane bend, = CH bend Aromatic CH out-of plane bend	Ilharco and Brito de Barros, 2000; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007
Acetato de celulosa (CA)		1743 (a) 1368 (b) 904 (c) 600 (d)	C = O stretch CH ₃ bend Aromatic ring stretch or CH bend O - H bend	Ilharco and Brito de Barros, 2000; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007
Etileno acetato de vinilo (EVA)		2917 (a) 2848 (b) 1740 (c) 1469 (d)	C- H stretch C- H stretch C = O stretch CH ₂ bend , CH ₃ bend	Asensio et al., 2009; Verleye et al., 2001
Policarbonato (PC)		2966 (a) 1768 (b) 1503 (c)	C- H stretch C = O stretch Aromatic ring stretch	Verleye et al., 2001
Politetrafluoro etileno (PTFE) o etileno propileno fluorado (FEP)		1201 (a) 1147 (b) 638 (c) 554 (d) 554 (e) 509 (f)	CF ₂ stretch CF ₂ stretch C - C - F bend CF ₂ bend CF ₂ bend	Coates, 2000; Verleye et al., 2001

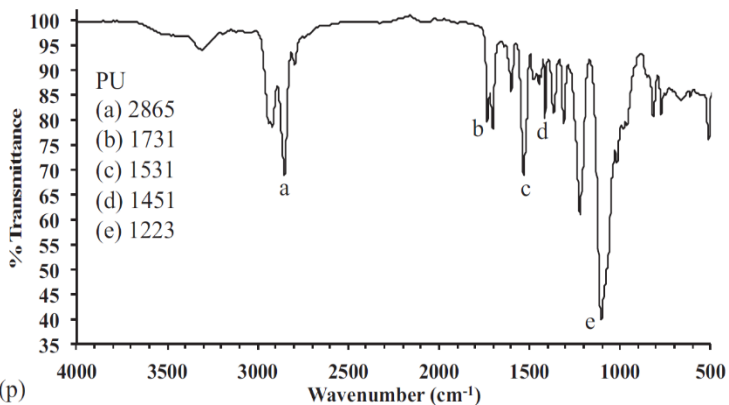
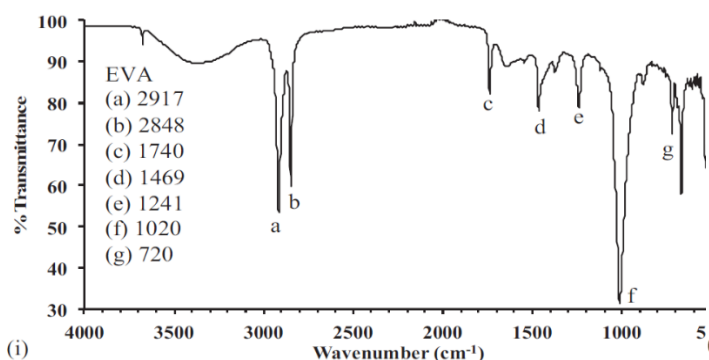
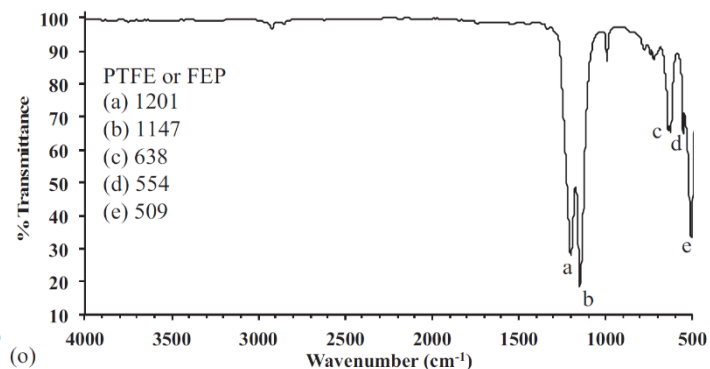
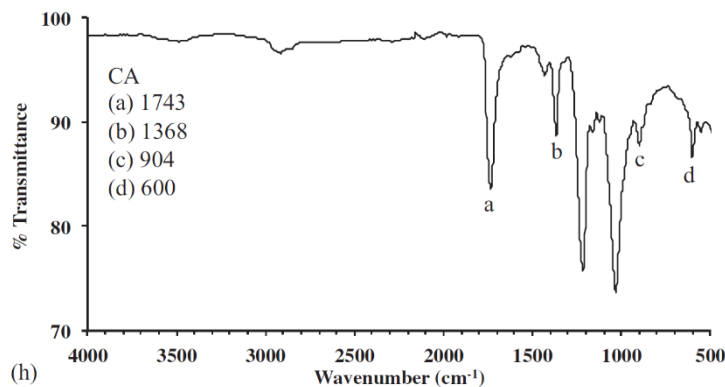
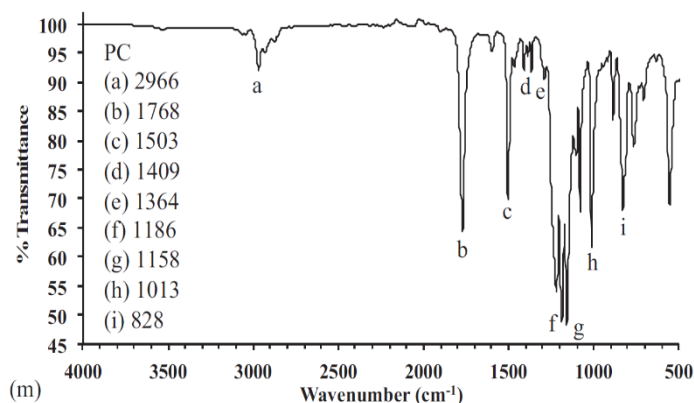
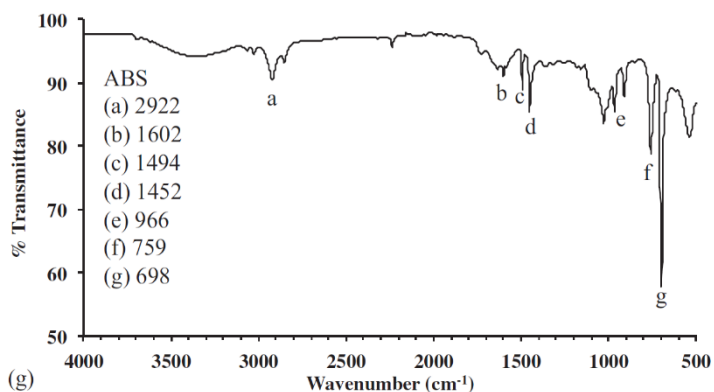


Poliuretano (PU)		2865 (a) 1731 (b) 1531 (c) 1451(d) 1223 (e)	C- H stretch C = O stretch C- N stretch CH ₂ bend C(= O) O stretch	Asefnejad et al., 2011; Verleye et al., 2001; Noda et al., 2007
---------------------	--	---	--	--

ANEXO 3

Espectros producidos a partir de bienes de consumo de plástico (a) tereftalato de polietileno (PETE, # 1), (b) polietileno de alta densidad (HDPE, # 2), (c) cloruro de polivinilo (PVC, # 3), (d) polietileno de baja densidad y polietileno lineal de baja densidad (LDPE y LLDPE, # 4), (e) polipropileno (PP, # 5) y (f) poliestireno (PS, # 6) (g) acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), (h) acetato de celulosa (CA), (i) etileno acetato de vinilo (EVA), (m) policarbonato (PC), (o) politetrafluoroetileno (PTFE) o etileno propileno fluorado (FEP), y (p) poliuretano (PU) utilizando ATR FT-IR. Las letras representan las bandas de absorción características (cm^{-1}) que se utilizan para identificar cada polímero.





(Jung, M. R., ..., et al, 2018)