



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MEXICO

Instituto Tecnológico de Toluca



DEPARTAMENTO DE ADSCRIPCIÓN
Departamento de Posgrado e Investigación

Opción elegida
Estancia de Investigación:
Determinación de plásticos en los alimentos

Informe técnico final
Division of IAEA Marine Environment Laboratories (NAML)

AUTOR:
Dra. Genoveva García Rosales

DICTAMEN No.

RESPONSABLE DEL PROYECTO
Dr. Carlos Manuel Alonso Hernández

cal 100 puntos

REVISOR:
Dra. Yolanda Alvarado Pérez

Mónaco, 30 de Agosto del 2023



2. Agradecimientos

Agradezco al Organismo Internacional de Energía atómica y al Laboratorio de Medio Ambiente Marino de Mónaco por la beca y el apoyo que me brindó para realizar esta estancia.

Especialmente agradezco al director para América Latina y el Caribe (IAEA) Dr. Luis Carlos Longoria Gándara por su apoyo, así como al Dr. Calos M. Alonso por esta gran oportunidad y confianza

Quiero agradecer a la secretaria de Energía y a las autoridades del Gobierno mexicano por apoyarme en todo momento para que esta estancia pudiera ser una realidad

Al Tecnológico Nacional de México y al Sindicato del ITTOL que me brindó su apoyo y respaldo en todo momento

A mi familia, pilar y apoyo en las decisiones más importantes de mi vida



3 Resumen del Proyecto

En los últimos años el uso de los plásticos se ha incrementado drásticamente y con el problema de COVID 19 a nivel mundial se disparó su consumo (Kahru, 2022; Einfeld-Pierantonio et al., 2022; Parashar and Hait, 2021). Tan solo en la comunidad europea en 2018 hubo un crecimiento exponencial en la fabricación de plástico alcanzando los 380 millones de toneladas anuales y se estimaba que para el 2050 esta cantidad se triplicará. La falta de estrategias e infraestructuras para su eliminación han facilitado la formación de islas de desechos plásticos en los océanos (Fiagiano et al., 2022), cerca del 830 millones de toneladas se han acumulado en el sistema marino y de agua dulce como desechos plásticos, lo que convierte al plástico en una preocupación ambiental, debido a que se fragmentan gradualmente en partículas pequeñas que se convierten en microplásticos y nanoplásticos. Los microplásticos alcanzan tamaños menores a 5 mm (Constant et al., 2021), estas partículas presentes en el medio ambiente pueden ingresar al cuerpo humano a través de diferentes vías de exposición como la inhalación, consumo de algunos productos alimenticios y exposición dérmica. Estos también pueden ser incorporados al cuerpo humano con el uso de productos de cuidado personal y cosméticos que los contienen y pueden provocar daños a la salud (Mupatsi y Gwenzil, 2022). Los microplásticos pueden incorporarse fácilmente a la cadena alimenticia y estar presentes en diferentes matrices como los productos marinos entre estos los peces pequeños, crustáceos y moluscos entre otros (Amarieri et al., 2022). Sin embargo, la información actualmente es limitada, esta situación complica el poder llevar a cabo la evaluación de riesgo. Por esta razón el objetivo de este trabajo de investigación es determinar la presencia de microplásticos en alimentos, a través de la espectroscopia RAMAN y/o cromatografía. La generación de los resultados de este estudio podrá permitir evaluar el riesgo a la salud humana y serán de utilidad para implementar estrategias para su monitoreo. Así mismo, permitirá adquirir las competencias necesarias en esta temática para su implementación en propuestas nuevas de investigación y a través de los proyectos regionales de colaboración ARCAL en los que ha estado participando el ITTOL y en el que participará para el 2025 con esta temática debido a la importancia de la problemática a nivel mundial.



4 Índice de contenido

	Tema	Pág.
2	Agradecimientos.....	1
3	Resumen.....	2
4	Índice.....	3
5	Introducción.....	5
6	Descripción de la empresa, área de trabajo del docente.....	7
7	Problemas para resolver.....	8
8	Objetivos (General y Específico)	8
9	Justificación.....	8
10	Marco Teórico	9
10.1	Plásticos y sus propiedades.....	9
10.2	Microplásticos.....	10
10.3	Fuentes de los microplásticos.....	10
10.4	Estructura de los plásticos.....	10
10.5	Espectroscopia RAMAN.....	11
10.6	LDIR.....	11
11	Procedimientos y descripción de las actividades realizadas.....	11
11.1	Búsqueda bibliográfica y presentación power point.....	12
11.2	Muestreo de agua de mar y arena.....	12
11.3	Manejo del equipo RAMAN y LDIR.....	12
11.4	Conteo de partículas de polietileno en el estereoscopio.....	12
11.5	Determinación del porcentaje de recuperación de esferas de polietileno.....	12
11.6	Método de digestión de los bivalvos.....	13
11.7	Eficiencia de digestión.....	13
11.8	Identificación de los microplásticos.....	13
11.8.1	Espectroscopia Raman.....	13
11.8.2	LDIR.....	14
12	Resultados.....	14
12.1	Muestreo de agua de mar y arena.....	14
12.2	Conteo de partículas de esferas de polietileno.....	15
12.3	Método de digestión de los bivalvos.....	16
12.4	Eficiencia de digestión.....	20
12.5	Proceso de Validación.....	21
12.5.1	Recuperación.....	21
12.5.2	Evaluación de la integridad de los microplásticos: Estabilidad de la coloración y efectos químicos.....	23
12.6	Detección y cuantificación de microplásticos en mejillones.....	25



12.7	Tamaño y características de los microplásticos.....	28
12.8	Estimación del número de microplásticos por gramo de mejillón y posible riesgo a la salud humana.....	30
13	Conclusiones del estudio	32
14	Competencias desarrolladas y/aplicadas.....	33
15	Fuentes de consulta.....	34
16	Productividad.....	43
17	Anexos.....	44



5. Introducción

Los plásticos se han utilizado ampliamente desde su descubrimiento en el siglo XIX debido a sus numerosas ventajas, que incluyen su fácil disponibilidad, ligereza, flexibilidad, resistencia, asequibilidad y durabilidad. Han encontrado aplicaciones en diversas industrias, como la automotriz, el envasado de alimentos, la fabricación textil y la biomedicina (Huang et al., 2021; Thompson et al., 2019; Fobil & Hogarh, 2016). Sin embargo, la creciente demanda de plásticos y los desafíos asociados con la gestión y degradación de los desechos plásticos han llevado a una crisis ambiental global, con la acumulación de desechos plásticos en todo el mundo. Se estima que para 2050 se habrán generado aproximadamente 15 mil millones de toneladas métricas de residuos plásticos (Vimal et al., 2020). Con el tiempo, los plásticos se descomponen en microplásticos, que son partículas diminutas que varían en tamaño de 1 μm a 5 milímetros. Estos microplásticos pueden tener su origen en varias fuentes, la liberación directa de productos que contienen microesferas, como productos de cuidado personal (microplásticos primarios) y la descomposición de artículos de plástico más grandes como botellas y bolsas (microplásticos secundarios) (Binbin Xi et al., 2022; Vujić et al., 2023; Arthur et al., 2009). Los microplásticos plantean preocupaciones ambientales significativas debido a su naturaleza persistente, distribución generalizada y posibles efectos adversos en los ecosistemas y la salud humana.

Estudios recientes han detectado microplásticos en el aire, el suelo, el agua e incluso en las regiones polares (O'Brien et al., 2023; Yuxin Huo et al., 2022; Courtene-Jones et al., 2022; Citterich et al., 2023). En los océanos, los plásticos constituyen del 50 al 80 % del total de los desechos, lo que representa una amenaza para las especies marinas. Los organismos acuáticos, incluidos los peces, las aves y los mamíferos marinos, pueden ingerir microplásticos, confundiéndolos con alimentos, incorporándolos así a sus cuerpos y a la cadena trófica (Lehel & Murphy, 2021; Esposito et al., 2022; Bošković et al., 2022). Los microplásticos también pueden bioacumularse a medida que las especies más grandes consumen las más pequeñas (Carbery et al., 2018). Actualmente, más de 690 especies marinas se han visto afectadas por plásticos y microplásticos, estudios recientes han revelado la presencia de hasta 10 tipos diferentes de microplásticos en el tracto digestivo y las branquias de varios organismos, incluidos los bivalvos (Białowas et al., 2022; Patterson et al., 2021; Zhang Fe et al., 2019). Los plásticos pueden contener varios aditivos, como estabilizadores UV, retardantes de llama y partículas antibacterianas, que pueden constituir hasta el 4 % de la composición del plástico (Alexandrescu et al., 2017). Además, tienen la capacidad de adsorber contaminantes orgánicos e inorgánicos en su superficie, aumentando su toxicidad (Sauda et al., 2023). Los aditivos plásticos comunes y los contaminantes adsorbidos incluyen ftalatos, bisfenol A (BPA), éteres de difenilo polibromados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y bifenilos policlorados (PCB), que tienen el potencial de afectar la capacidad reproductiva y alterar el sistema endocrino (Bellanger et al., 2015; Habumugisha et al., 2023; Rios-Fuster et al., 2022; Prüst et al., 2020).



Si bien los mariscos, como los mejillones, las ostras y las almejas, ofrecen numerosos beneficios para la salud como excelente fuente de proteínas de alta calidad y nutrientes esenciales como los ácidos grasos omega-3 y minerales (EFSA, 2014; Marqués et al., 2021), es importante ser consciente de la presencia de posibles contaminantes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) recomiendan limitar el consumo de mariscos a una o dos porciones por semana (FAO/OMS, 2011). Para abordar el problema de los microplásticos en la seguridad alimentaria, las agencias reguladoras y la industria alimentaria han estado implementando programas de monitoreo e investigación para comprender mejor las fuentes, los niveles y los riesgos potenciales de contaminación por microplásticos en los alimentos. Aunque actualmente no existen límites máximos de residuos legislados específicamente para microplásticos (Reglamento de la Comisión (UE), 2011), la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2016) recomienda identificar y cuantificar la presencia de microplásticos en los alimentos (EFSA, 2016; Koketso Ncube et al., 2021). Adicionalmente, algunos países han tomado medidas para reducir el uso de plástico en un intento de mitigar la generación de estas partículas y, en consecuencia, su presencia en los alimentos (European Strategy for Plastics in a Circular Economy by the European Commission, 2018). Los mariscos, incluidos los mejillones, las ostras y las almejas, a menudo se consumen enteros y pueden servir como vías para la exposición humana a los microplásticos. Para evaluar los riesgos potenciales asociados con su consumo, es crucial determinar la concentración de microplásticos por gramo de mejillón consumidos. Se han empleado varios métodos para determinar e identificar microplásticos, pero existen variaciones significativas en la preparación de muestras, técnicas de digestión y procesos de separación en función de las diferencias de densidad, así como las técnicas espectroscópicas utilizadas para la identificación y cuantificación.

En esta investigación se probaron matrices de jaibas, mejillones y camarones con buenos resultados, pero debido al alto consumo de mejillones se eligió trabajar con la especie *Mytilus galloprovincialis* para implementar y validar un protocolo para cuantificar e identificar microplásticos. Los objetivos principales fueron: (i) Implementar un método enzimático-oxidativo innovador para la extracción de microplásticos, (ii) Implementar un sistema en cascada que separe efectivamente los microplásticos, simplificando el análisis de MPs en los mejillones, (iii) Establecer una metodología simple y robusta que permita la identificación directa de microplásticos mediante espectroscopía LDIR y Raman, (iv) evaluar la concentración de microplásticos que una persona podría ingerir al consumir una porción de 250 g de mejillones y analizar los riesgos potenciales que dicha ingestión podría representar para los seres humanos salud.



6. Descripción de la empresa u organización

La División consta de tres laboratorios que, juntos, constituyen los Laboratorios del OIEA (Organismo Internacional de Energía Atómica) para el Medio Ambiente Marino. En esos laboratorios se emplean técnicas nucleares e isotópicas para interpretar y proponer estrategias e instrumentos destinados a mitigar los efectos ambientales de los radionucleidos, los oligoelementos y los contaminantes orgánicos, así como el cambio climático, la destrucción del hábitat y la pérdida de biodiversidad. El Laboratorio ayuda a los Estados Miembros a evaluar la contaminación costera y marina y aumentar la inocuidad de los alimentos marinos mediante la elaboración y validación de métodos analíticos para la medición de contaminantes, la elaboración de material de referencia certificado y la aplicación de técnicas de isótopos estables para estudiar los procesos de contaminación y determinar las huellas de las fuentes de contaminantes. El Laboratorio centra su trabajo en la elaboración y validación de métodos analíticos para la medición de contaminantes en muestras marinas, lo que incluye oligoelementos, metilmercurio, contaminantes orgánicos persistentes e hidrocarburos de petróleo y microplásticos. La información que se genera ayuda a los encargados de tomar decisiones de los Estados Miembros a aplicar programas de vigilancia de la contaminación que protegen el medio marino y apoyan la prestación de servicios de los ecosistemas. El Laboratorio también desarrolla y aplica técnicas de isótopos estables, como, por ejemplo, la espectrometría de masas de relaciones isotópicas para determinar las fuentes y los procesos de contaminación en las costas y estudiar el cambio climático. El Laboratorio elabora material de referencia certificado de oligoelementos y contaminantes orgánicos en matrices marinas, que incluyen sedimentos y biota (organismos), para que los laboratorios puedan calibrar sus instrumentos con los mismos patrones de referencia, mejorar la calidad y la fiabilidad de los resultados de las mediciones y comparar sus resultados con los de otros laboratorios. Con el fin de que los laboratorios de los Estados Miembros puedan evaluar la calidad de los resultados de sus mediciones en relación con los de otros laboratorios, el Laboratorio de Estudios del Medio Ambiente Marino organiza comparaciones entre laboratorios y pruebas de competencia. Ello ayuda a los laboratorios participantes a mejorar su capacidad de generar los datos fiables y de calidad garantizada que precisan los encargados de tomar decisiones para adoptar decisiones fundamentadas con miras a proteger el medio marino y prestar servicios sostenibles de los ecosistemas. Otra esfera importante de trabajo es la creación de capacidad. El Laboratorio organiza cursos de capacitación para científicos de los Estados Miembros sobre el análisis de contaminantes en muestras del medio marino con las técnicas de análisis y los principios de garantía de calidad y de control de calidad utilizados más habitualmente. Los cursos de capacitación comprenden sesiones prácticas sobre recolección, tratamiento y análisis de muestras con el uso de instrumentos adecuados.



7 Problemas para resolver, priorizándolos

El principal problema es implementar una metodología validada que pueda ser utilizada por los países miembros para determinar la concentración de microplásticos en alimentos marinos, específicamente los mejillones. Como parte del proyecto NUTEC del OIAEA en el que forman parte miembros de países de los diferentes continentes se tiene contemplado el realizar un monitoreo para determinar los niveles de microplásticos en alimentos marinos, aplicando una misma metodología validada. Así mismo, la estimación de la concentración de microplásticos en un plato de mejillones de 250g es parte de los objetivos de este trabajo.

8 Objetivos

Objetivo General

Determinar la presencia de microplásticos en alimentos

Objetivos Específicos

- Definir la matriz de estudio
- Implementar y aplicar la metodología para la identificación de los microplásticos
- Realizar el muestreo para obtener las muestras para el estudio
- Identificar el tipo de plástico extraído
- Evaluar el riesgo asociado al consumo de las matrices de estudio

9 Justificación

Este trabajo de Investigación forma parte del proyecto NUTEC Plastics que es la iniciativa emblemática del OIEA para abordar el desafío global de la contaminación plástica. Reúne a países y socios de todo el mundo para luchar contra la contaminación plástica en dos frentes: en el punto de origen, mediante la introducción de nuevas tecnologías para mejorar el reciclaje de plástico; y en el océano, donde termina la mayor parte de los desechos plásticos. A través de la iniciativa NUTEC Plastics del OIEA, 63 países participan en el monitoreo marino de microplásticos y 30 en todo el mundo están desarrollando tecnologías de reciclaje innovadoras. El objetivo del componente de monitoreo de plásticos marinos de NUTEC Plastics es equipar a más de 50 laboratorios en todo el mundo con la tecnología y los conocimientos necesarios para tomar muestras y analizar microplásticos marinos en los océanos, y permitir informar los resultados.



Los laboratorios formarán una red de Laboratorios de Monitoreo de Plásticos de NUTEC para apoyar la armonización de protocolos de muestreo y análisis y el intercambio de experiencias, mejores prácticas y datos sobre la contaminación por microplásticos marinos. Actualmente, sesenta y tres países participan en el componente de seguimiento de plásticos marinos de NUTEC Plastics. Ayudará a desarrollar la capacidad de laboratorios de todo el mundo para implementar técnicas nucleares e isotópicas y monitorear y evaluar el impacto de la contaminación plástica marina. La información basada en evidencia sobre la abundancia y el impacto de la contaminación plástica marina también contribuirá a la Asociación Global sobre Basura Marina, una asociación de múltiples partes interesadas liderada por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente que reúne a todos los actores que trabajan en la prevención de la contaminación plástica y la basura marina y reducción.

10 Marco Teórico

10.1 Plásticos y sus propiedades

Los plásticos son polímeros sintéticos que se originan de residuos naturales como los petroquímicos y carboquímicos (Van der Vegt, 2002; Wang et al., 2019). Estos materiales se hicieron populares debido al costo beneficio que representan, su alta durabilidad, ligereza, resistencia entre otras características que los hacen atractivos para su uso (Shim et al., 2018). Los plásticos pueden ser caracterizados de acuerdo con su estructura química, su polaridad y aplicación, el comportamiento químico se relaciona con los cambios que sufre según el cambio de temperatura y se dividen en termoplásticos, termoestables y elastómeros. En cuanto a la polaridad esta relacionada con el arreglo atómico y el tipo de enlaces que presenta en su estructura, con presencia de enlaces covalentes los electrones se desplazan hacia el átomo más electronegativo y crea un dipolo. Si la polaridad se incrementa también lo hace la resistencia mecánica, dureza, rigidez y otras propiedades, mientras que si disminuye también se reduce la dilatación térmica, el poder de aislamiento eléctrico, la tendencia a acumular cargas electroestáticas. En lo que respecta a los termoplásticos se dividen en: a) Plásticos estándar entre los que se encuentra el polietileno (PE), el polipropileno (PP), el poliestireno (PS), el policloruro de vinilo (PVC) o el copolímero acrilonitrilo butadieno estireno (ABS). b) Plásticos técnicos: poliamida (PA), el poliacetal (POM), el policarbonato (PC), el politereftalato de etileno (PET), el poliéter de fenileno (PPE) y el politereftalato de butileno (PBT) y c) los plásticos especiales: polimetacrilato de metilo (PMMA), con una gran transparencia y estabilidad a la luz, o el politetrafluoroetileno (teflón), que tiene una gran resistencia a la temperatura y a los productos químicos y finalmente d) Plásticos de altas prestaciones: son en su mayoría termoplásticos con una gran resistencia al calor, es decir, con una buena resistencia mecánica a altas temperaturas, concretamente a más de 150 °C. La poliimida (PI), la polisulfona (PSU), la polietersulfona (PES), la poliarilsulfona (PAS), el polisulfuro de fenileno (PPS) y los liquid crystal polymers (LCP) son plásticos que resisten al trato rudo (Schwarz et al., 2019). Cabe señalar que para mejorar las propiedades de los plásticos se utilizan diferentes tipos de aditivos (Hahladakis et al., 2018), y durante el proceso de fabricación en algunos casos son adheridos diferentes metales pesados como Pb, nickel, copper and cobalt (Cherif Lahimer et al., 2017).



10.2 Microplásticos

El término plástico proviene del griego “plastikos”, que significado moldeable. Esta definición hace referencia a las propiedades de plasticidad y maleabilidad (Crawford, 2017). El plástico se descubrió en los años 30, cuando se fabricó por primera vez el polietileno y posteriormente se comenzaron a fabricar otros plásticos como el poliestireno o el nylon, lo que incrementó su uso en varias aplicaciones y fue en 1972 cuando Carpenter y Smith descubrieron la presencia de residuos plásticos en la superficie del mar de los Sargazos. A partir de entonces, esa preocupación empezó a aumentar de forma progresiva y se comienza a investigar sobre la presencia de plásticos en el medioambiente. A raíz de esta investigación se descubrió además que los plásticos de tamaños grandes no son los únicos causantes de la contaminación del medioambiente, sino que existen otros de tamaño microscópico, los microplásticos, los cuales se definen como pequeñas partículas o fragmentos de plástico cuyo límite superior de tamaño se establece en los 5 mm de diámetro y como límite inferior de 1 μm , aunque pocos estudios ambientales son capaces de identificar partículas con tamaños inferiores a 50 μm , debido a la metodología utilizada. Los microplásticos suponen un gran riesgo medioambiental, ya que producen una contaminación invisible. Este tipo de contaminación no se encuentra incluido en el monitoreo de programas de tratamiento de aguas, además de la escasa existencia de estudios sobre su efecto en la salud humana y los hábitats, tanto terrestres como marinos.

10.3 Fuentes de los microplásticos

Los microplásticos pueden ser divididos en: a) primarios son aquellos que se fabrican con tamaños de micras, como los utilizados en abrasivos industriales, gránulos de plástico de preproducción en productos para el cuidado personal como agentes exfoliantes o cremas y productos de limpieza (Cole et al., 2011). b) Microplásticos secundarios: son los microplásticos formados como resultado de la fragmentación de residuos de meso (5 - 200 mm) y macroplásticos (> 200 mm), como botellas, bolsas, redes, boyas de pesca, provenientes de las telas de ropa. Estos plásticos de mayor tamaño van a romperse en otros de menor por los efectos que produce la radiación de rayos UV o las altas temperaturas provocando cambios químicos en su estructura que los hacen más frágiles y susceptibles a la ruptura. Los principales factores fragmentadores de los microplásticos en los medios marinos son la acción de las olas y la exposición a la luz solar, mientras que en los medios terrestres la exposición directa a la radiación UV, con la ayuda de los cambios de temperatura (Andrady, 2011). Un estudio detallado de las fuentes de los microplásticos es reportado por Belloso, en 2009.

10.4 Estructura de los plásticos

Los plásticos son materiales poliméricos que consisten en moléculas similares a cadenas largas. Su configuración estructural afecta muchas de sus propiedades, el polímero más simple es el polietileno para los plásticos. Durante la polimerización del monómero etileno el doble enlace se abre permitiendo que los enlaces simples de carbono se vinculen con las unidades vecinos para formar una larga cadena de grupos CH_2 , en todos los grupos a lo largo de la cadena, el ángulo de enlace es fijo. Para un peso molecular típico de 300 000, hay alrededor de 21 000 átomos de carbono. Los polímeros pueden formarse mezclado diferentes tipos de monómeros durante el proceso de la polimerización (Appendix, 2020).



10.5 Espectroscopia RAMAN

La espectroscopia RAMAN es considerada como una técnica fotonica de alta resolución que proporciona en pocos segundos información química y estructural de un material orgánico e inorgánico permitiendo su identificación. El análisis mediante espectrometría RAMAN se basa en el examen de la luz dispersada por un material al incidir sobre él un haz de luz monocromático (dispersion de Rayleigh). Una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de la luz incidente. El efecto Raman fue descrito por primera vez por el químico indio Chandrasekhara en 1928, lo que le permitió ganar el premio Nobel. Sus trabajos se basaron en los realizados por Rayleigh. La figura 1 muestra la dispersión de la luz al interaccionar con las moléculas (Tureli y Coset 1996). Los picos que aparecen en el espectro Raman son consecuencia de la vibración molecular o de la red cristalina. Su posición aporta información sobre los grupos funcionales y la cristalinidad, la concentración es proporcional al área bajo la curva, el estre residual se determina apartir de la forma y anchura del pico (Skoogy y West, 1980).

10.6 LDIR

Las imágenes por infrarrojos directos con láser (LDIR) proporcionan un camino rápido y simplificado hacia la obtención de imágenes moleculares utilizando un láser de cascada cuántica (QCL) junto con una óptica de escaneo rápido. El sistema LDIR, emplea como fuente un láser de cascada cuántica (QCL). El QCL es un láser de semiconductor en el que los electrones pasan por una serie de pocillos cuánticos y emiten luz, lo que permite una sintonización rápida en el rango de número de onda (λ^{-1}); en este caso, de 1.800 cm^{-1} a 975 cm^{-1} . Si se combina con un detector de telururo de mercurio y cadmio (MCT) de un solo punto (refrigerado de forma termométrica) y un sistema óptico de barrido rápido, surgen dos modos de funcionamiento muy útiles. En el primero de ellos, el sistema LDIR selecciona una sola longitud de onda y hace un barrido a través del objetivo mientras se mueve sobre la muestra a gran velocidad. En el segundo modo, el objetivo permanece fijo en un único punto mientras el QCL hace un barrido de todo el rango, obteniendo un espectro completo en menos de un segundo (Jia et al., 2022).

11. Procedimientos u actividades realizadas

Debido a que este trabajo forma parte del Proyecto Internacional Nutec, son varias las matrices de estudio entre ellas el agua del océano, los sedimentos y los organismos marinos, en este contexto fue necesario involucrarme con los trabajos que se realizan al interior del equipo de trabajo por lo que se me incluyó en los muestreos de arena y agua de mar además de aprender a realizar el muestreo, que comprendió desde la preparación de los materiales hasta el procesamiento de las muestras, que aunque no era el objetivo de mi estudio si fue importante para tener una formación integral en este tipo de proyectos.



11.1 Búsqueda bibliográfica y presentación power point

Como parte de la formación en la extracción e identificación de micro plásticos, como primera etapa se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva sobre los métodos de extracción de microplásticos y nanoplásticos en matrices alimentarias marinas. Se me solicitó una presentación power point y exposición para proponer alternativas de solución para la implementación de una metodología novedosa que permitiera la extracción de MPs.

11.2 Muestreo de agua de mar y arena

En virtud de que el proyecto contempla la determinación de microplásticos en diferentes matrices para realizar el monitoreo, se realizan muestreos de arena, agua y animales acuáticos. Para esto se prepararon previamente todos los materiales a utilizar para la toma de muestras y que consistieron en tamices, espátulas recipientes de acero inoxidable y aluminio, frascos de vidrio, papel aluminio, charolas frascos metálicos, GPS. Para el muestreo de agua el muestreo se realizó con un barco especial para monitoreo de agua y que pertenece al Principado de Mónaco y que cuenta con las Instalaciones adecuadas así como con el personal para manejarlo.

11.3 Manejo del equipo RAMAN y LDIR

Durante la estancia de Investigación fue necesario aprender a conocer el principio, funcionamiento y herramientas de los equipos con los que se analizaron las muestras de MPs, las técnicas empleadas fueron las de espectroscopia Raman y LDIR, ambas son herramientas importantes para la cuantificación e identificación de los microplásticos. Para lograr ese objetivo se tuvieron sesiones de capacitación con el personal que maneja ambos equipos además de que me fueron proporcionados los manuales para conocer a fondo el funcionamiento de ambos equipos, así como las consideraciones que se deben tener en cuenta para garantizar la calidad del análisis, y que van desde la calibración, ajuste de los parámetros de medición hasta la generación del reporte correspondiente. El uso y manejo de los equipos se llevó a cabo durante toda la estancia para la identificación y cuantificación de los microplásticos en las muestras de estudio.

11.4 Conteo de partículas de polietileno en el estereoscopio

Con la finalidad de adquirir habilidad en el conteo de las partículas de plástico, se practicó repetidas veces el conteo de esferas de polietileno hasta hacerlo con precisión y rapidez, en un primer momento los ensayos se realizaron con partículas de 100 μm y posteriormente este proceso se repitió con partículas de 35, 50 y 70 μm hasta que se logró la eficiencia deseada, esto fue como parte de la formación y con el objetivo de practicar el conteo de partículas e identificación de los micro plásticos.

11.5 Determinación del porcentaje de recuperación de esferas de polietileno

Para determinar el % de recuperación de las esferas de polietileno en fase acuosa, se colocó un número conocido en solución, en seguida se realizó la separación por filtración y se realizaron los conteos en el estereoscopio para determinar la eficiencia de la recuperación del polietileno. Este procedimiento tuvo como propósito el adquirir habilidad y práctica en el conteo de microplásticos.



11.6 Método de digestión de los bivalvos

La especie definida para este estudio pertenece a los bivalvos, que tienen como origen las costas y supermercados de Mónaco. Los ensayos en el laboratorio se realizaron probando diferentes condiciones experimentales y cantidades de reactivos empleados. De acuerdo con los resultados que fueron obteniéndose, se realizaron múltiples cambios experimentales con la finalidad de poder extraer adecuadamente a los microplásticos, se cambiaron cantidades de tejido de los bivalvos con los que se realizaron los experimentos, se cambiaron las condiciones de filtrado y tipos de filtro, así como el tamaño de poro de estos, el proceso de lavado, el proceso de extracción, la temperatura, la agitación, etc., hasta obtener una metodología que permitiera extraer adecuadamente a los microplásticos de la matriz. Este procedimiento no fue sencillo y tomó tiempo definir las condiciones apropiadas para el proceso de extracción. En este proceso se evaluó la eficiencia de digestión, porcentaje de recuperación. Una vez implementada la metodología de extracción se realizó su validación.

11.7 Eficiencia de digestión

Para evaluar la eficacia del proceso de digestión, se pesaron los filtros de acero inoxidable antes y después del procedimiento de filtración. Al emplear la Ecuación 1 (Karami et al., 2017), la eficiencia se calculó en función de los pesos registrados antes y después del proceso de digestión de los filtros. Este protocolo se replicó cinco veces en cada diferente tipo de muestra que se analizó, para garantizar resultados confiables y válidos.

$$\% De = \left(\frac{W_i - (W_a - W_b)}{W_i} \right) \times 100 \dots \dots \dots (\text{Eq.1})$$

Donde: *De* es la eficiencia de digestión (%), *W_i*=Peso inicial del material biológico, *W_a*= peso en seco del filtro después del proceso de filtración y *W_b*= peso en seco del filtro antes del proceso de filtración.

11.8 Identificación de los microplásticos

11.8.1 Espectroscopia Raman

En este estudio, se analizaron los microplásticos en un rango de 0 a 3500 cm⁻¹ utilizando un espectrómetro Alpha 3000 Raman Microscope Oxford®. Para la calibración del equipo (software Control SIX 6.0) se utilizó un estándar de silicio con objetivo de apertura 20X, la longitud de onda utilizada fue 532 nm, se realizaron las correcciones de señal necesarias para mejorar la calidad del espectro, el Confocal o agujero abierto. dependiendo del caso hasta alcanzar una intensidad cercana a 5000 considerando: paso = 50 y cuadrado = 1/8. Para el análisis de las muestras las condiciones de potencia del láser se fijaron en 10mV; Tiempo de integración = 0.5s y Acumulación =10, el equipo genera una fotografía de la muestra en un tiempo que varía dependiendo de la cantidad de partículas que se encuentren presentes, posteriormente la imagen es analizada con el software Witec ParticleScout 6.0 y automáticamente todas las propiedades de la partícula se muestran las partículas por ejemplo área, HQI, Flagged, longitud, etc.



Posteriormente se compararon los espectros obtenidos con los de la biblioteca creada a partir de patrones de diferentes tipos de plástico y se consideran aquellos con una coincidencia $\geq 90\%$.

11.8.2 LDIR

En este estudio, se utilizó el sistema de imágenes químicas Agilent® 8700LDIR para analizar las muestras. Para garantizar mediciones consistentes y confiables, las muestras se colocaron cuidadosamente en un soporte debajo del haz infrarrojo. Las especificaciones del láser incorporado son: potencia máxima: 9,6 mW, frecuencia de pulso: 500 kHz, duración del pulso: 80 ns, longitud de onda: 5-11 μm . Divergencia máxima del haz: medio ángulo del 45 grados que llega a un foco en el centro del compartimento de la muestra y diverge a partir de entonces. El instrumento se calibró utilizando un material de referencia estándar y el rango de longitud de onda de 975-1800 cm^{-1} y la resolución se ajustaron de acuerdo con los requisitos de análisis específicos. Durante la adquisición de datos, se empleó un método dedicado para lograr la relación señal-ruido deseada y garantizar datos de alta calidad. Después de la adquisición de datos, los datos espectrales recopilados se procesaron y analizaron utilizando un software especializado (Clarity 1.5). El equipo realiza una comparación entre la biblioteca y el espectro de la muestra, solo se consideraron los resultados con una coincidencia mayor al 90%.

12 Resultados

12.1 Muestreo de agua de mar y arena

Para el agua de mar, se obtuvieron diferentes muestras que fueron recolectadas usando un barco para muestreo del principado de Mónaco equipado con una bomba especial, en donde se establecieron diferentes puntos de muestreo y en los que las muestras de agua fueron obtenidas variando el volumen y profundidad en la toma de las muestras del mar que rodea Mónaco (Fig. 1-a), posteriormente se realizó la separación e identificación de los plásticos encontrados.

Para la recolección de la arena de playa fue complicado porque la principal característica de las playas de Mónaco es la ausencia de esta, en su lugar se encuentran rocas de diferentes tamaños, pero en su mayoría de alrededor de entre 1cm a 5 m aproximadamente, esta característica dificultó la tarea obteniéndose únicamente pocas muestras en Mónaco, por lo que se realizó el muestreo también en las playas de Francia cercanas al principado de Mónaco (Fig. 1 b-c).

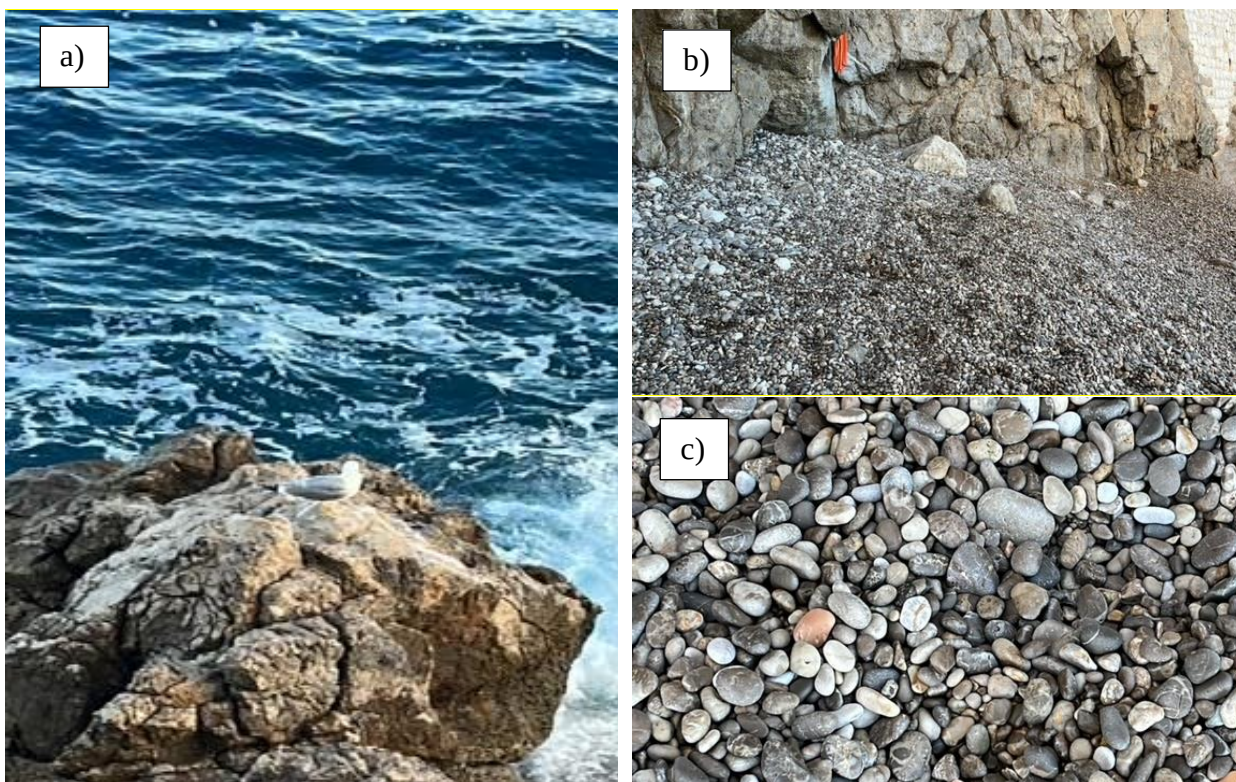


Fig. 1 a) Playa de Mónaco, b-c) Imágenes de las rocas que se encuentran en las playas de Mónaco

12.2 Conteo de partículas de esferas de polietileno

Para determinar el % de recuperación de las esferas de polietileno en fase acuosa, se colocó un número conocido en solución, en seguida se realizó la separación por filtración y se realizaron los conteos en el estereoscopio para determinar la eficiencia de la recuperación del polietileno. En los primeros experimentos la eficiencia fue $\leq 70\%$, en esta etapa fue necesario analizar en dónde se estaban perdiendo las partículas, así tuve que practicar “n” cantidad de veces hasta obtener resultados de recuperación del 100% (Fig. 2 a-c). Todos los experimentos fueron realizados con microplásticos de 35, 50 y 70 μm .

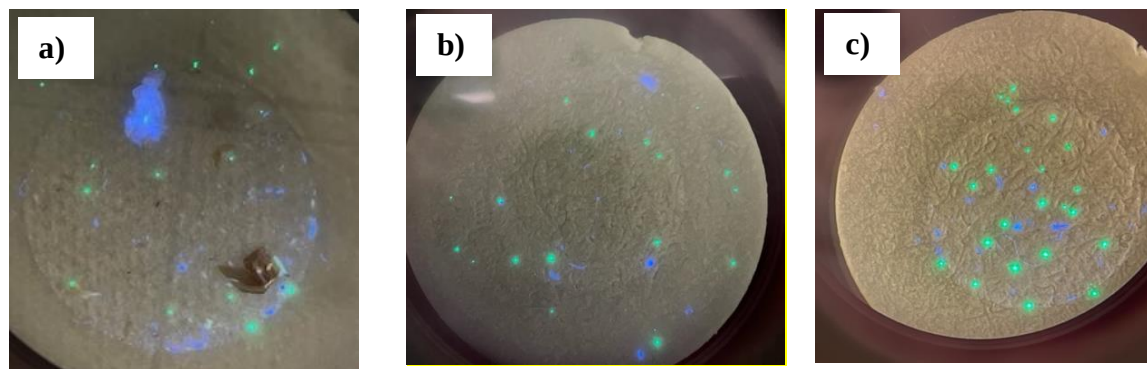


Fig. 2 a) Esferas de polietileno después de 18 horas de contacto, b) 1 hora de contacto, c) 3 horas de contacto y se puede observar que el polietileno no presenta ningún daño después del tiempo de exposición.

12.3 Método de digestión de los bivalvos

La especie definida para este estudio pertenece a los bivalvos, que tienen como origen las costas y supermercados de Mónaco. Los ensayos en el laboratorio se realizaron probando diferentes condiciones experimentales y cantidades de reactivos empleados. De acuerdo con los resultados que fueron obteniéndose, se realizaron múltiples cambios experimentales con la finalidad de poder extraer adecuadamente a los microplásticos, se cambiaron cantidades de tejido de los bivalvos con los que se realizaron los experimentos, se cambiaron las condiciones de filtrado y tipos de filtro, así como el tamaño de poro de estos, el proceso de lavado, el proceso de extracción, la temperatura, la agitación, etc., hasta obtener una metodología que permitiera extraer adecuadamente a los microplásticos de la matriz. Este procedimiento no fue sencillo y tomó tiempo definir las condiciones apropiadas para el proceso de extracción.

Una vez que se realiza la extracción de los MPs en los mejillones un primer paso fue cuantificarlos a través del estereoscopio por lo que se realiza en los filtros un procedimiento de tinción con el colorante Rojo para que puedan ser observados. Parte de los resultados obtenidos se presentan en la Fig 3 donde se observa que existe la presencia de plásticos en las muestras, aunque en este caso también se observa una fracción de materia orgánica.

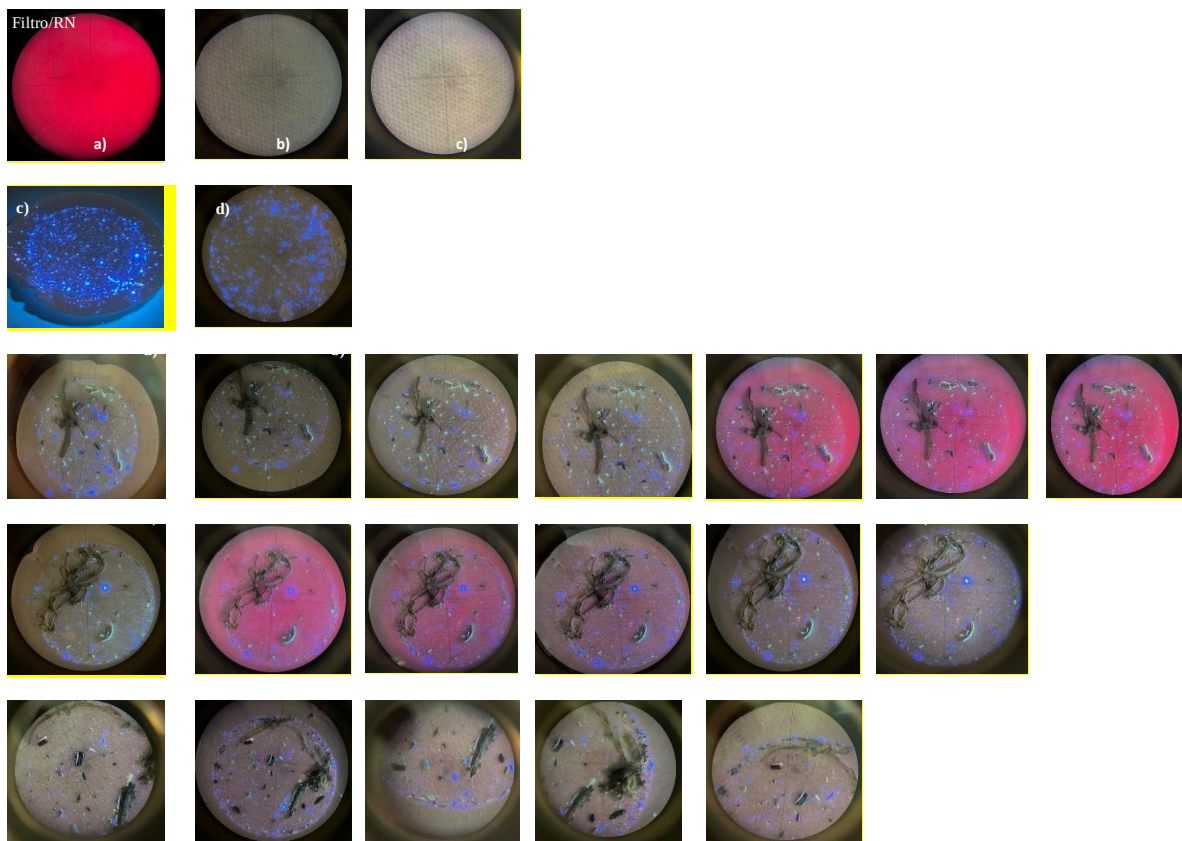


Fig 3. Bivalvos: a-c) sin muestra; b) blanco. Muestras analizadas

Cuando las condiciones del método de extracción fueron mejoradas al realizarse algunos cambios de los reactivos y procedimiento en el laboratorio se obtuvieron los resultados que se observan en la Fig.4 donde se nota una clara mejoría con una significativa disminución de la cantidad de materia orgánica.

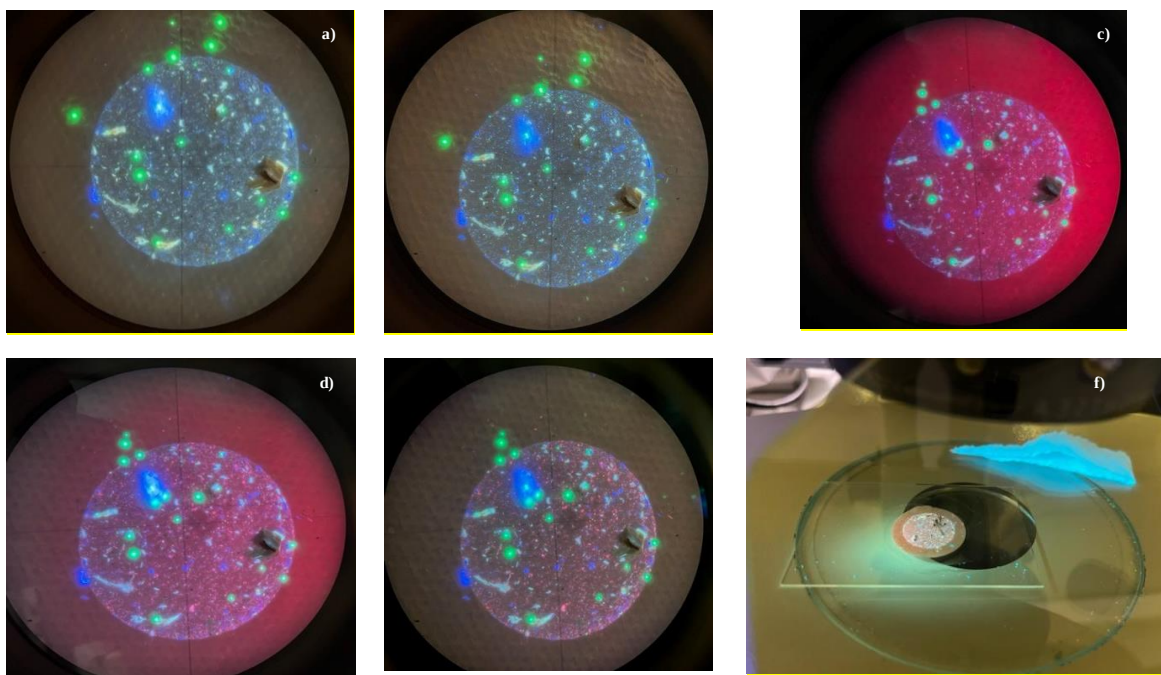


Figura 4. a-e) Algunas de las muestras analizadas con la metodología modificada

Finalmente la metodología de extracción quedó definida tal como se representa en el diagrama de la Fig 5.

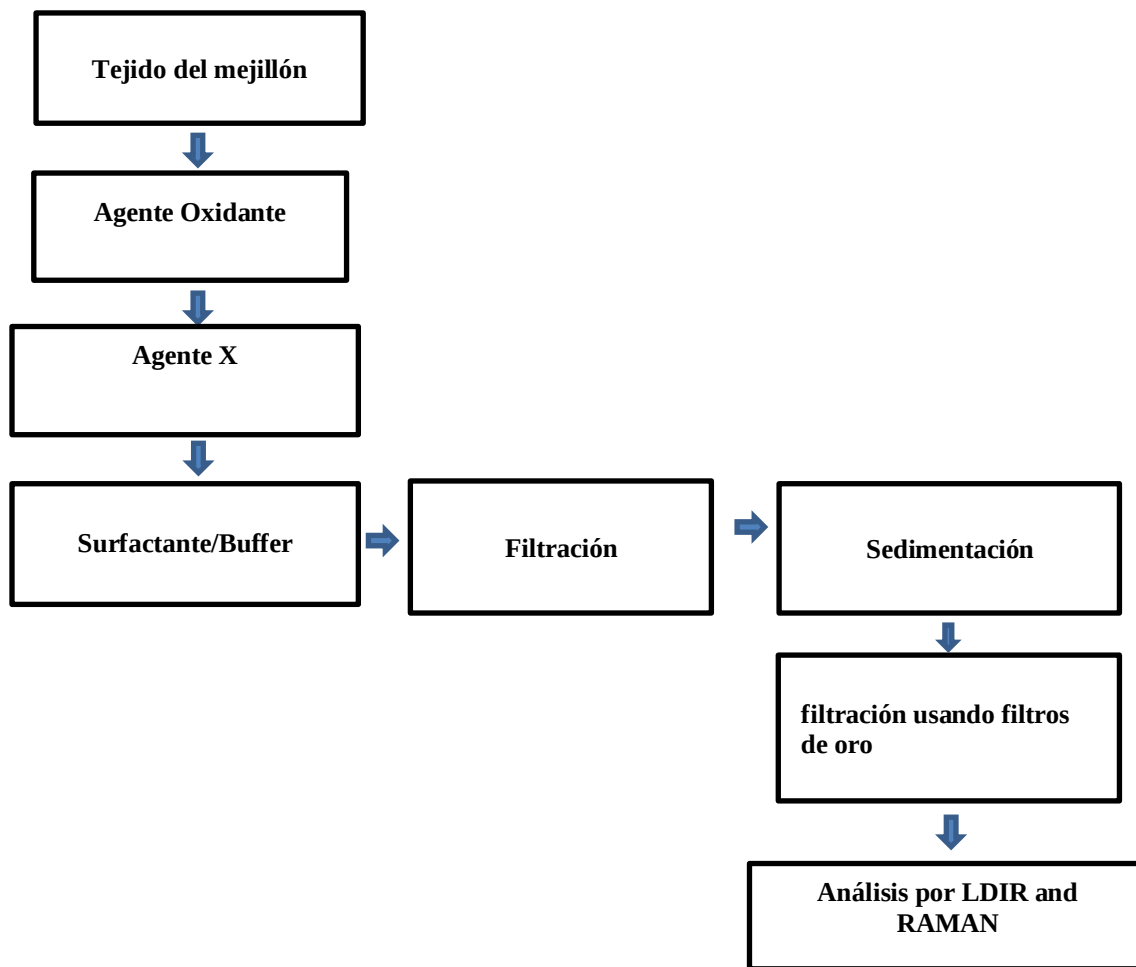


Fig 5 Método de extracción de MPs en mejillones

En donde puede observarse que en la primera etapa es necesario utilizar una cantidad conocida de tejido del mejillón para que en base a esta se adicionen las cantidades de reactivos adecuadas. Para la obtención del tejido es necesario sacar el contenido del mejillón de sus valvas a través de un proceso de disección con un bisturí (Figura 6).



Tejido fibroso del mejillón



Tejido blando del mejillón



Fig. 6) Disección del mejillón donde se observa una parte blanda y la otra rígida o fibrosa

12.4 Eficiencia de digestión

Para evaluar la eficacia del proceso de digestión, se pesaron los filtros de acero inoxidable antes y después del procedimiento de filtración. Al emplear la Ecuación 1, la eficiencia se calculó en función de los pesos registrados antes y después del proceso de digestión de los filtros. Este protocolo se replicó cinco veces en cada diferente tipo de muestra que se analizó, para garantizar resultados confiables y válidos. Algunos de los resultados obtenidos de eficiencia del proceso de digestión de la muestra de mejillón se pueden observar en la Tabla 1 en donde los valores son obtenidos variando las cantidades del agente X durante el proceso.



Tabla 1. Efecto del contenido de X en el proceso de digestión

No	Reactivo ($\mu\text{g/g}$)	Peso del bivalvo inicial (g)	Cantidad del reactivo (mL)	Peso del Bivalvo (g)	Peso inicial del filtro (g)	Peso final del filtro (g)	Eficiencia de la digestión (%)
1	500	2.813	1.5	0.32	0.136	0.137	99.69
2	800	2.175	1.8	0.25	0.137	0.139	99.20
3	1000	1.956	2	0.22	0.137	0.139	99.11
4	1500	1.817	3	0.21	0.138	0.139	99.52

12.5 Proceso de Validación

12.5.1. Recuperación

La validación del proceso de recuperación es crucial para garantizar la recuperación y cuantificación exitosa de los microplásticos. Se realizan experimentos de control utilizando cantidades y tipos conocidos de partículas de microplástico para determinar la eficacia del método para recuperar los microplásticos introducidos. En este estudio, se prepararon muestras para cada rango de tamaño de partículas esféricas fluorescentes de polietileno (Cospheric® Innovations en microtecnología) con diámetros de 32-38 μm , 53-65 μm y 106-125 μm respectivamente. Para ello se seleccionó el polietileno, un contaminante frecuente en el medio ambiente. A cada muestra de mejillones se le agregaron x esferas, lo que garantiza una cantidad conocida de microplásticos para evaluar el proceso de recuperación. Las muestras enriquecidas se sometieron a la metodología de extracción propuesta (Fig. 5), que implicó digestión, filtración y separación basada en densidad. Estos pasos son cruciales para aislar y recuperar partículas microplásticas de las muestras de mejillón. Tras el proceso de recuperación, las partículas microplásticas recogidas se cuantificaron utilizando un estereoscopio Leica® y una lámpara UV Nightsea® B - Royal Blue ($\lambda_e = 440\text{-}460\text{ nm}$). Luego se comparó la cantidad medida de microplásticos recuperados con la cantidad inicial agregada. La eficiencia de recuperación se calculó dividiendo la cantidad medida de microplásticos recuperados por la cantidad inicial conocida y expresándola como porcentaje. Los datos de eficiencia de recuperación se analizaron para evaluar la eficacia del método de recuperación empleado en el estudio.



Las Figuras 7 a-c presentan los resultados y revelan que las tasas de recuperación más sustanciales se lograron con las partículas más pequeñas (100%), lo que demuestra una divergencia insignificante en comparación con sus contrapartes de mayor diámetro. En todos los escenarios, los porcentajes de recuperación oscilaron entre el 96% y el 100%. Estos valores trascienden los documentados en investigaciones alternativas que utilizan NaCl como medio segregante (Song et al., 2022). Este comportamiento implica que el procedimiento de extracción mantiene la integridad de la superficie del PET, produciendo una separación más eficiente en el NaI.

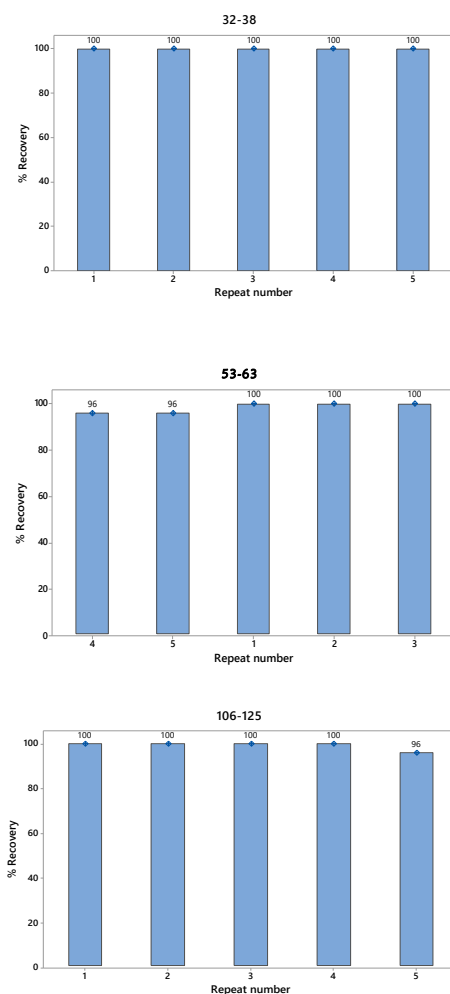


Figura 7. Recuperación de microplásticos esféricos de polietileno fluorescentes aplicando el proceso de extracción: a) 32-38 μm ; b) 53-63 μm y c) 106-126 μm .



12.5.2 Evaluación de la integridad de los microplásticos: Estabilidad de la coloración y efectos químicos.

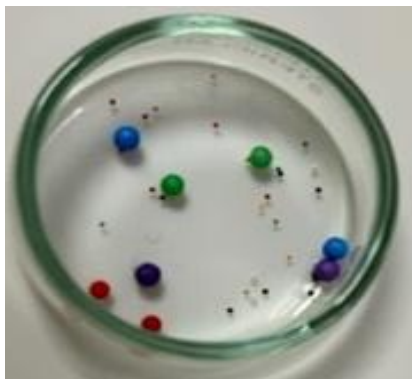
Evaluar la integridad química y el color de los microplásticos es importante para comprender su composición y sus posibles efectos en el medio ambiente. Por lo tanto, para evaluar el efecto del proceso de extracción sobre el color de los microplásticos y su estabilidad química, en este estudio se seleccionaron esferas de microplásticos de diferentes colores y se dividieron en grupos de control y grupos de prueba. Los grupos de prueba se sometieron al proceso de extracción, mientras que los grupos de control no recibieron tratamiento y sirvieron de referencia. Las esferas de colores fueron sometidas al proceso de extracción mediante el método descrito en la fig 5. Luego del proceso de extracción, se realizó un análisis de color de las muestras de microplástico utilizando el diagrama de cromaticidad del espacio de color, donde se obtuvieron los valores como el brillo (L^*) y componentes de color (a^* y b^*). Además, las muestras fueron analizadas mediante espectroscopia Raman.

Por otro lado, para evaluar la estabilidad química de los microplásticos, se prepararon muestras utilizando algunos gramos de mejillón agregando partículas plásticas de referencia: polietileno de baja densidad (LDPE), polipropileno (PP) y nylon poliamida de Goodfellow® Cambridge, Inglaterra. Las partículas de plástico, inicialmente de un tamaño de 2 a 3 mm, se redujeron a partículas de entre 30 y 150 μm , elegidas por su prevalencia en la naturaleza. Posteriormente, las muestras de plástico digeridas se analizaron mediante espectroscopia Raman para identificar posibles cambios en la composición química de los microplásticos tras el proceso de extracción. Una vez validada y optimizada la metodología, se aplicó a mejillones comerciales del océano Atlántico con la intención de determinar la concentración de microplásticos por gramo de músculo de mejillón y estimar la cantidad que se puede ingerir en un plato de 250g.

En la Figura 8a-b se muestran las esferas sometidas al proceso de digestión, donde se puede observar que su color se mantuvo sin cambios. Así lo demuestra el análisis de coordenadas cromáticas y valores de luminosidad: azul profundo ($a^* = +70$, $b^* = -70$, $L^* = 17$), rojo vibrante ($a^* = +87$, $b^* = +87$, $L^* = 70$), verde lima ($a^* = -60$, $b^* = +60$, $L^* = 58$), violeta radiante ($a^* = +58$, $b^* = -58$, $L^* = 32$), amarillo óxido ($a^* = -63$, $b^* = +63$, $L^* = 74$), blanco y negro; todos conservaron sus tonos originales, lo que indica que el proceso de digestión no afecta el color de los microplásticos. Este resultado está respaldado por los espectros Raman (no presentados aquí), donde se puede observar que los espectros de los microplásticos se superponen con los de la base de datos, sin alteraciones en las intensidades o posiciones de los picos. Esto sugiere que el proceso de extracción no promueve la degradación o modificación química mediante la despolimerización, como se ha observado en algunos estudios no enzimáticos (Karami et al., 2017).



a)



b)



Fig 8 Efecto del proceso de digestion en la estabilidad del color.

12.6. Detección y cuantificación de microplásticos en mejillones

Los filtros que contenían microplásticos, junto con los blancos de control y de referencia, se analizaron mediante espectroscopía LDIR y Raman. Los blancos de control exhibieron un número limitado de fibras dentro del área de trabajo. LDIR identificó nueve tipos diferentes de polímeros: polietileno (PE), etilenoacetato de vinilo (EVA), tereftalato de polietileno (PET), polimetacrilato de metilo (PMMA), polipropileno (PP), politetrafluoroetileno (PTFE), poliuretano (PU), polivinilo. cloruro (PVC) y polisulfuro de fenilo (PPS) (Figura 9).

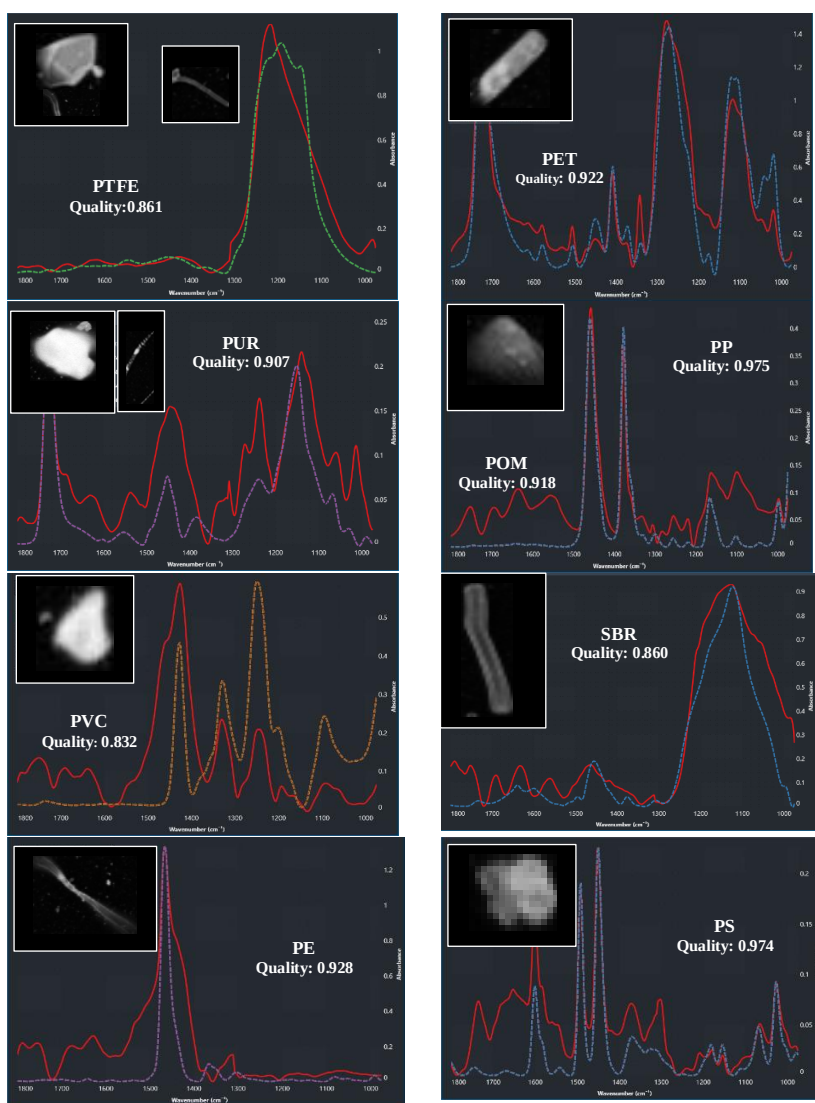


Fig. 9 Espectros LDIR de algunos de los microplásticos identificados en las muestras de mejillón.

Por el contrario, mediante espectroscopia Raman, sólo se encontró un número limitado de partículas de MMA (Fig 10).

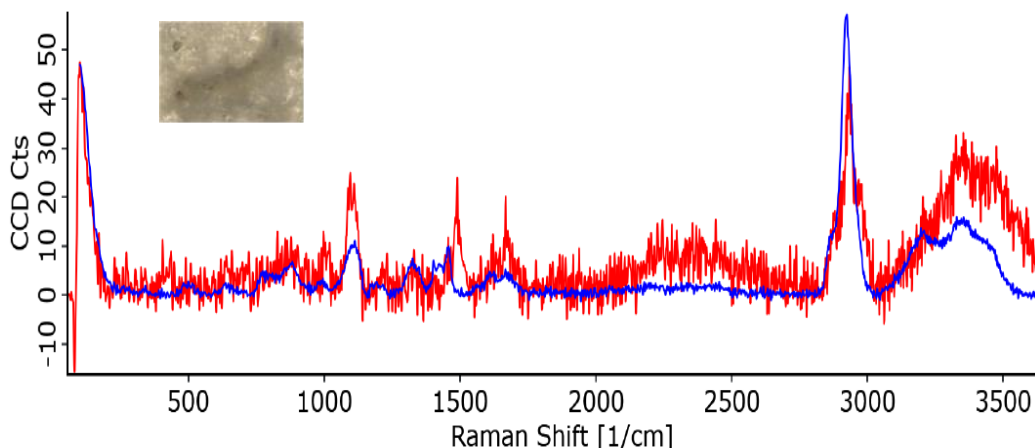


Fig 10. Espectro del PMMA identificado en las muestras de mejillón

La prevalencia de microplásticos en las muestras reveló una variabilidad significativa, dependiendo de los criterios utilizados para evaluar la calidad del espectro y las comparaciones de bases de datos. A medida que aumentó el rigor de los criterios, el número de partículas consideradas en el estudio disminuyó notablemente. Esta tendencia se ilustra claramente en las Figuras 11a-c: con un umbral de calidad $\geq 0,9$, el recuento de partículas por gramo de tejido de mejillón se situó en 5; este recuento aumentó a 35 partículas/g con un umbral de $\geq 0,85$ y aumentó aún más hasta 255 partículas/g con un umbral de $\geq 0,75$. La ausencia de un criterio estandarizado ha dado lugar a inconsistencias sustanciales en los hallazgos informados en la literatura existente. Mientras que Hansen et al. (2023) abogan por un valor Q de 0,9 para mitigar los falsos positivos, otros estudios han adoptado umbrales más bajos (Ourgaud et al., 2022; Tian et al., 2021). Para abordar esta variabilidad, el presente estudio emplea tres niveles de confidencialidad: bajo ($Q=0,75$), medio ($Q=0,85$) y alto ($Q=0,90$), según lo especificado por el proveedor del equipo (Agilent®). La Figura 10 describe la prevalencia de microplásticos bajo diferentes umbrales de calidad (Q). Con $Q \geq 0,75$, la jerarquía de prevalencia es la siguiente: PE (84%) > PET (4%) > PTFE (3,8%) > PMMA (3,6%) > PP (2,70%) > EVA (1,2) > PU (0,3) % > PVC (0,2%) $\approx$ PPS (0,21%). En particular, PE, PET, PETFE, PMMA y PP exhiben los porcentajes de prevalencia más altos y se han asociado con aditivos identificables (Fries et al., 2013; Ivleva, 2021). Cuando $Q \geq 0,85$, la distribución cambia a PE (82,24%) > PP (12,3%) > PET (2,8%) > PTFE (2,5%) > PVC (0,30%), con EVA, PMMA, PU y PPS cada vez menos. prominente. En este contexto, los microplásticos más abundantes son PE, PP y PET.



Con $Q \geq 90\%$, el PP (58,3%) emerge como el polímero predominante, seguido del PE (33,3%) y el PET (8,3%) (

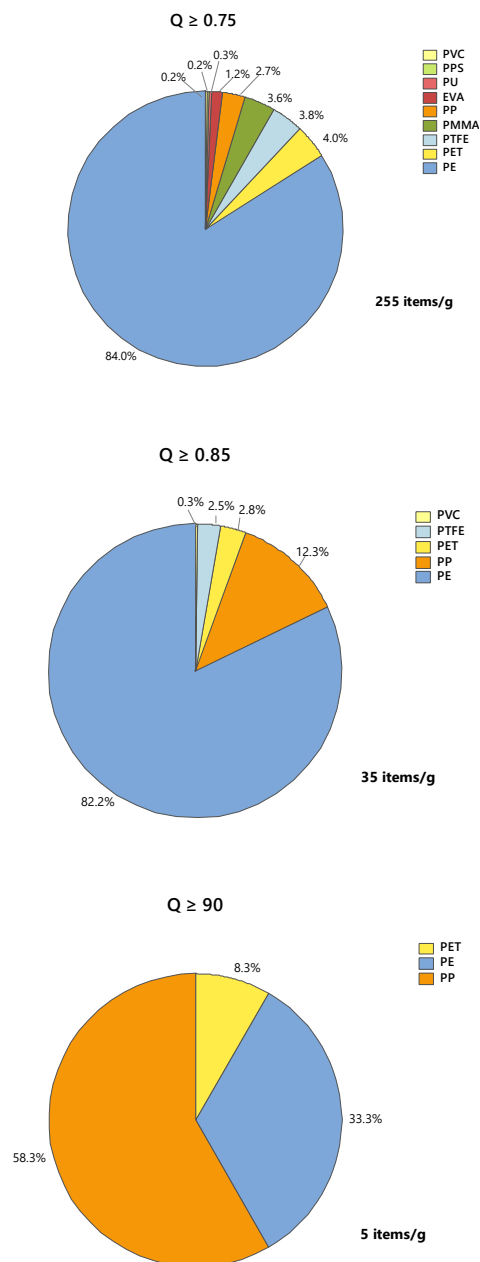


Fig. 11 Identificación de microplásticos en las muestras de mejillón a diferentes valores de Q.



Es evidente que, dentro de los parámetros de confidencialidad medios y altos, PE, PP y PET constituyen los constituyentes primarios en términos de abundancia ($22 \pm 0,68$ MPs mejillón⁻¹; $5 \pm 0,27$ ítems g⁻¹). Estos mismos polímeros se han detectado constantemente en ambientes marinos y especímenes de mejillones del Atlántico (Shidhar et al., 2022; Lusher et al., 2017; Erni-Cassola et al., 2019; Bajt, 2021).

La prevalencia de estos microplásticos está estrechamente relacionada con su exposición a organismos marinos, particularmente en la columna de agua. Las diferencias de densidad desempeñan un papel crucial: los microplásticos más densos que el agua salada tienden a hundirse, mientras que aquellos con densidades más bajas permanecen flotando. Sin embargo, el envejecimiento y la despolimerización pueden afectar este comportamiento, aumentando potencialmente la accesibilidad de los microplásticos a los organismos marinos (De la Fuente et al., 2021; Erni-Cassola et al., 2019; Lenaker et al., 2019).

Como consecuencia del envejecimiento y las alteraciones de la superficie, pueden surgir discrepancias entre los espectros de la base de datos y los obtenidos de microplásticos procedentes de organismos marinos cuando se someten a espectroscopía LDIR o Raman, influenciadas por las condiciones y la duración de la exposición. En consecuencia, estas variaciones pueden conducir a valores de calidad (Q) disminuidos. Por lo tanto, se recomienda una selección juiciosa de espectros con un criterio moderadamente específico para una cuantificación precisa. Si bien un índice de correlación $\geq 0,9$ es adecuado para el análisis de microplásticos prístinos, se podría considerar un umbral más adaptable para los microplásticos del mundo real. Sin embargo, se debe tener precaución para evitar asignaciones erróneas en casos de valores excesivamente bajos (Dong et al., 2022).

12.7 Tamaño y características de los microplásticos

Según los resultados de solidez y circularidad proporcionados por LDIR, las partículas se pueden clasificar en gránulos, no gránulos y películas o fibras. Considerando los criterios publicados previamente por Jia et al. (2022), se establece que si la circularidad es $\geq 0,6$, la partícula microplástica puede considerarse un pellet, mientras que valores por debajo de eso indican partículas no pellet. Además, cuando los valores de solidez son $< 0,3$, los microplásticos pueden considerarse fibras, y cuando $\geq 0,3$, se clasifican como películas. En este estudio se observó que el número de fibras encontradas es limitado, mientras que aproximadamente el 69% de las partículas se identifican como películas no pellets y el 31% se clasifican como películas pellets. Los microplásticos encontrados se encuentran en forma de pequeños fragmentos, algunos ejemplos de los cuales se muestran en la Figura 9, que ilustra diversas morfologías.

El tamaño de los microplásticos extraídos se encuentra dentro del rango de 20 a 100 μm (Figura 12), siendo el tamaño de partícula más predominante $<60 \mu\text{m}$. Entre ellos, el PU (24, 182 μm) presenta el rango de diámetro más amplio, seguido del PET (20-96 μm), PP (20-82 μm), PE (20-79 μm), EVA (20-72 μm), PTFE (69-75 μm), PVC (25-52 μm) y PPS (25-34 μm), según los resultados obtenidos.

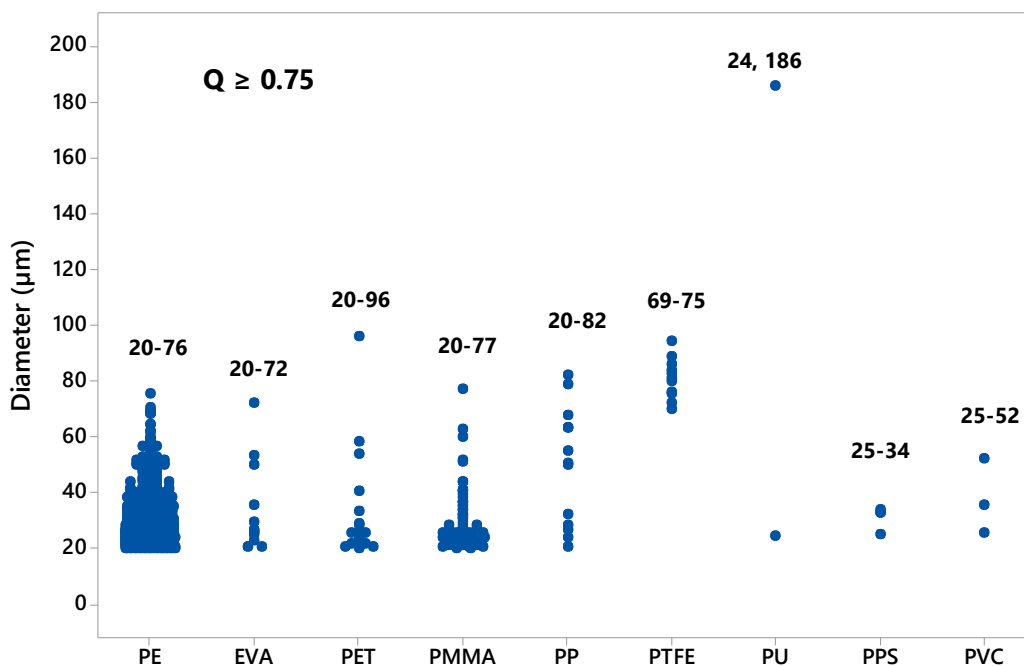


Fig. 12 Relación entre el diámetro y la abundancia de microplásticos.

Estos datos ponen de relieve que la mayoría de las partículas son muy pequeñas, y sólo unas pocas superan los valores de 100 μm . De acuerdo con Eo et al. (2018), los microplásticos más abundantes en el medio marino suelen estar dentro del rango de 1 a 5 mm, lo que coincide con los hallazgos de este estudio. Sin embargo, pueden ocurrir variaciones según la especie de mejillón investigada (Li et al., 2021).



12.8 Estimación del número de microplásticos por gramo de mejillón y posible riesgo a la salud humana

Siguiendo nuestra metodología, el cálculo del volumen de las partículas se multiplicó por su correspondiente densidad para obtener la masa de cada partícula. Sumando las masas individuales se calculó la masa total. Según los resultados obtenidos en este estudio, cuando $Q \geq 0,75$, la masa total es de 7 μg de microplásticos por gramo de mejillón. De manera similar, para $Q \geq 0,85$, la masa calculada es 2 μg , y para $Q \geq 0,90$, la masa estimada es 1 μg por g de mejillón. Estos resultados proporcionan evidencia de la vulnerabilidad de los mejillones a la ingestión de microplásticos. La abundancia de microplásticos registrada en este estudio excede significativamente las cantidades reportadas previamente por varios autores utilizando diferentes métodos de extracción (ver Tabla 2). Según la EFSA, una porción de 225 g de mejillones podría contener hasta 7 μg de microplásticos (EFSA, 2016; Gallo et al., 2018). Sin embargo, según nuestros propios resultados, una porción de 250 mg de mejillones con $Q \geq 0,75$ podría contener hasta 65025 partículas microplásticas con una masa total de 1.890 μg . Considerando $Q \geq 0,85$, este número disminuiría a 870 partículas, con una masa de 552 μg , y para $Q \geq 0,90$, 750 partículas con una masa total de 250 μg de microplásticos. Estas estimaciones difieren considerablemente de las informadas en otros estudios (ver Tabla 2). Estos resultados no solo resaltan la notable capacidad de los mejillones para filtrar eficientemente el ambiente acuático que habitan (Gonçalves et al., 2019; Li et al., 2021; Ward et al., 2019), sino que también señalan un problema potencial en términos de seguridad alimentaria y un riesgo para la salud humana. Esto se debe a que los microplásticos pueden acumular contaminantes en sus superficies (Sauda et al., 2023; Habumugisha et al., 2023; Rios-Fuster et al., 2022; Prüst et al., 2020). El recuento de partículas observado en nuestro estudio podría estar relacionado con la proximidad de fuentes de muestreo en el Océano Atlántico, relación que podría atribuirse a la presencia sustancial de partículas de plástico derivadas de la mancha de basura del Atlántico (Lebreton, 2022).

Tabla 2. Microplásticos identificados en diferentes tipos de mejillones, incluidos los resultados del estudio

No	Sample Species and Origins	Abundance (items/g)	Items/mussel	Microplastic identified	Particle size range (µm)	Reference
1	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Qingdao, China	1.6–2.6	0.8-2.1	PVC, Rayon	7-5000	(Ding et al., 2021)
2	<i>Perna perna</i> Brazil	16.10 ± 14.20	---	Cellulose, PMMA	1-5000	(Vasques Ribeiro, et al., 2023)
3	<i>Mytilus spp.</i> Norway	0.97±2.61	1.5 ±2.3	Cellulose, PET, EVA, PP, SBR, PAN, SAN, PCV, PE	70 -38700	(Lise et al., 2018)
4	<i>M. modiolus</i> , <i>Mytilus spp</i> UK	0.086 ± 0.031 3.5 ± 1.29	3.0 ± 0.9 3.2 ± 0.52	PET, Poly (ether urethane)	0.2-2000	Catarino et al., 2018
5	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Viscaya, Spain	0.26	1.62	rayon, PET, PS, PE, and PDAP	≤10	Masiá et a., 2022
6	<i>Mytilus galloprovincialis</i> North-West Mediterranean	8.17± 10	18.6 ± 23.0	PE, PES, synthetic cellulose, PVDF, PP, PAN, PA, PC, PU, PS	0.02 - 1000	Expósito et al., 2022
7	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Northern Adriatic Sea	1.06–1.33 fragments 0.62-0.63 fibers		PE>PP, PET, and equal amounts of PS, PLY, and PVC	20-40	Gomiero et al., 2019
8	<i>Mytilus edulis</i> French Atlantic coast	0.23 ± 0.09	---	PP, PE, polyester ABS	30- 200	Ngoc Phuong et al., 2018
9	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Montenegrin Adriatic coast	---	---	PP, PE, PU, PS, ABS, PTFE. Viscosa, rayon	---	De Simone et al., 2021
10	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Marseille Bay	4 ± 2	---	PP, PE, PS, PVC, PET	100-200	Ourgaud et al., 2022
11	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Greek waters (Mediterranean Sea)	---	1.9 ± 0.2	PE, PP, PTFE	100-500	Digka et al, 2018
12	<i>M. galloprovincialis</i> Northern Atlantic Sea	5±0.27	22±0.68	PE, PP, PET, PTFE, PVC, PMMA	20-186	This work



13 Conclusiones del estudio

Como resultado de esta investigación, se implementó una nueva metodología para la extracción de partículas microplásticas en mejillones (*Mytilus galloprovincialis*). Este enfoque se ve reforzado por etapas de validación destinadas a mostrar la viabilidad de cuantificar la posible ingestión de microplásticos a través del consumo de mejillones. Es destacable la eficacia de la digestión en la eliminación de materia orgánica, consiguiendo una eficiencia superando el 99%. La concentración y composición de los microplásticos se evaluaron mediante LDIR y espectroscopía Raman, revelando que la calidad (Q) de los espectros en las muestras influye significativamente en el cálculo de los microplásticos presentes y, en consecuencia, en la evaluación de los riesgos asociados en los mejillones. Adoptando una postura cautelosa con $Q \geq 0,90$, se estima que una porción de 250 g de mejillones del Atlántico norte alberga 750 partículas con una masa estimada de 250 μg de microplásticos. Este valor refleja fielmente los hallazgos de Expósito et al. (2022), quienes examinaron muestras provenientes de lugares similares a las de este estudio. Sobre la base de estos resultados, es de suma importancia promover medidas que limiten el uso de plásticos desechables, se adopten prácticas sostenibles para mitigar la contaminación oceánica, para salvaguardar así tanto el bienestar de las especies marinas como la del ser humano. Es pertinente contemplar incorporar información sobre las cantidades de microplásticos en las etiquetas de los productos marinos. Además, se recomienda a las autoridades que aceleren la implementación de regulaciones que establezcan los límites máximos de microplásticos en los productos del mar, especialmente los mejillones, considerando que su consumo es generalizado, especialmente entre la población europea. Estas iniciativas contribuirán a mantener la seguridad alimentaria y producirán ventajas sustanciales para la salud humana.

Adicionalmente a los logros alcanzados cabe señalar que durante esta estancia continúe con la atención a mis estudiantes de Doctorado y de servicio social, obteniendo el grado uno de los alumnos de Doctorado. En conjunto con el estudiante estructuramos un proyecto de investigación que fue sometido a CONACYT para que el egresado continuara con una estancia posdoctoral en el ITTOL para retomar y continuar con el estudio de microplásticos en las Instalaciones del ITTOL bajo mi dirección, el proyecto fue aceptado por CONACYT.



14 Competencias desarrolladas

Las competencias desarrolladas fueron varias, una de ellas fue primero practicar dos idiomas el francés e inglés, relacionarme con gente de diferentes nacionalidades y ser parte de los equipos de trabajo, todos bastante profesionales propositivos y muy comprometidos con el trabajo. Adquirí las competencias y habilidades necesarias en el laboratorio para realizar de forma eficiente la extracción de microplásticos en matrices marinas enfocándome en los mejillones de dos especies. El manejo de los equipos LDIR y Raman fue otra de las competencias adquiridas, así como el aprender a interpretar adecuadamente los resultados que proporciona cada equipo. Una de las competencias aplicadas fue la redacción de artículos científicos y manejo de la información científica.



15 Fuentes de consulta

- Alexandrescu L., Sönmez M., Georgescu M., Nițuică M., Ficăi A., Trusca R., Gurău D. Polymer nanopcomposites PE/PE-g-MA/EPDM/nanoZnO and TiO₂ dynamically crosslinked with sulphur and accelerators. *Procedia Structural Integrity*. 5, 2017, 667-674.
- Arthur, C., Baker, J., Bamford, H., 2009. International research workshop on the occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris. In: Conference Proceedings. Sept, pp. 9-11.
- Bajt, O. From plastics to microplastics and organisms. *FEBS Open Bio*. 11, 2021, 954-966.
- Bellanger M., Demeneix B., Grandjean P., Zoeller R. T., Trasande L. Neurobehavioral Deficits, Diseases, and Associated Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in the European Union. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(4):1256-1266.
- Berdutina, A.V., Neklyudov, A.D., Ivankin, A.I. et al. Comparison of proteolytic activities of the enzyme complex from mammalian pancreas and pancreatin. *Appl Biochem Microbiol*. 36, 2000, 363-367.
- Bessa F., Kogel T., Frias J., and Lusher A. "Harmonized protocol for monitoring microplastics in biota". JPI-Oceans BASEMAN project. Micropoll-Multilevel Assess. DOI: 10.13140/RG.2.2.28588.72321/1.
- Białowas M., Jonko-Sobuś K., Pawlak J., Polak-Juszczak L., Dąbrowska A., Urban-Malinga B. Plastic in digestive tracts and gills of cod and herring from the Baltic Sea. *Science of the Total Environment* 822. 2022, 153333
- Binbin Xi, Bing Wang, Miao Chen, Xinqing Lee, Xueyang Zhang, Shengsen Wang, Zebin Yu, Panfeng Wu. Environmental behaviors and degradation methods of microplastics in different environmental media, *Chemosphere*. 299. 2022. 134354.
- Brate I.L.N., Hurley R., Iversen K., Beyer J., Thomas K.V., Steindal C.C., Green N.W., Olsen M., Lusher A. *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environ. Pollut*. 243, 2018, 383-393.
- Bošković N., Joksimović D., Bajt O. Microplastics in fish and sediments from the Montenegrin coast (Adriatic Sea): Similarities in accumulation. *Sci Total Environ*. 850, 2022, 158074.
- Carbery M, O'Connor W, Palanisami T. Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environ Int*. 2018, 115:400-9.
- Catarino A.I., Thompson R., Sanderson W., Henry T.B. Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues. *Environ Toxicol Chem*. 2017, 6(4):947-951.
- Catarino A.I., Macchia V., Sanderson W.G., Thompson R.C., Henry T.B. Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal. *Environ Pollut*. 237, 2018, 675-684.



- Cau A., Avio C.G., Dessì C., Follesa M.C., Moccia D., Regoli F., Pusceddu A. Microplastics in the crustaceans *Nephrops norvegicus* and *Aristeus antennatus*: Flagship species for deep-sea environments?. *Enviro Pollut.* 2019, 255, 113107.
- Citterich F., Lo Giudice A., Azzaro M. A plastic world: A review of microplastic pollution in the freshwaters of the Earth's poles. *Sci Total Environ.* 869, 2023, 161847.
- Claessens M., Van Cauwenberghe L., Vandegehuchte M.B., Jansenn C.R. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 70, 2013, 227-233.
- Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food Text with EEA relevance. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/10/2020-09-23>. Fecha de consulta 22/06/2023.
- Colombo J., Varisco M., Isola T., Crovetto C., Rost E., Risso S. Composición química proximal y perfil de ácidos grasos del mejillón *Mytilus edulis* provenientes de cultivos y bancos naturales en el Golfo San Jorge, Argentina. *Rev. biol. mar oceanogr.* 51 (2), 2016, 293-299.
- Comunidad Europea. Comunicación de la comisión al parlamento europeo, al consejo, al comité económico y social europeo y al comité de las regiones. Una estrategia europea para el plástico en una economía circular. Estrasburgo 16.1.2018. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/HTML/?uri=CELEX:52018DC0028&from=ES.04/08/2023>.
- Constant M., Billon G., Brton N., Alary C. Extraction of microplastics from sediment matrices: Experimental comparative analysis. *J Hazard Mater.* 420, 2021, 126571.
- Courtene-Jones W., van Gennip S., Penicaud J., Penn E., Thompson R.C. Synthetic microplastic abundance and composition along a longitudinal gradient traversing the subtropical gyre in the North Atlantic Ocean. *Mar Pollut Bull* (185) 2022, 114371.
- Danlian Huang, Jiaxi Tao, Min Cheng, Rui Deng, Sha Chen, Lingshi Yin, Ruijin Li. Microplastics and nanoplastics in the environment: Macroscopic transport and effects on creatures, *J Hazard.* 407, 2021, 124399.
- De la Fuente R., Drótos G., Hernández-García E., López C., van Sebille E. Sinking microplastics in the water column: simulations in the Mediterranean Sea. *Ocean Sci*, 17, 2021, 431-453.
- De Simone S., Perošević-Bajceta A., Joksimovic D., Beccherelli R., Zografopoulos D.C., Mussi V. Study of Microplastics and Inorganic Contaminants in Mussels from the Montenegrin Coast, Adriatic Sea. *J Mar Sci Eng.* 2021, 9, 544.
- Digka N., Tsangaris C., Torre M., Anastasopoulou A., Zeri C. Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Mar Pollut Bull.* 2018, 135, 30-40.
- Ding J., Sun C., He C., Li J., Ju P., Li F. Microplastics in four bivalve species and basis for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Sci Total Environ.* 782, 2021, 146830.

- Di Lorenzo T., Benedetta Cabigliera S., Martellini T., Laurati M., Chelazzi D., Paola Galassi D.M., Cincinelli A. Ingestion of microplastics and textile cellulose particles by some meiofaunal taxa of an urban stream. *Chemosphere*. 310, 2020, 136830.
- Directive (EU) 2019/904 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 on the reduction of the impact of certain plastic products on the environment. *Off. J. Eur. Union* 2019, 155, 1-19.
- Dong Mingtan, She Zhenbing, Xiong Xiong, Ouyang Guang. Automated analysis of microplastics based on vibrational spectroscopy: are we measuring the same metrics?. *Anal Bioanal Chem*. 414, 2022, 3359-3372.
- EFSA, 2014. Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury. *EFSA Journal* 12 (7), 3761.
- EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2016. Statement on the presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA J*. 2016;14(6):4501, 30.
- Eisfeld-Pierantonio S. M., Pierantonio N., Simmonds M. P. The impact of marine debris on cetaceans with consideration of plastics generated by the COVID-19 pandemic. *Environ Pollut*. 300, 2022, 118967.
- Eo Soeun., Hee Hong Sang, Kyoung Song Young, Lee Jongsu, Lee Jongmyoung, Joon Shim Won. Abundance, composition, and distribution of microplastics larger than 20 μm in sand beaches of South Korea. *Environ Pollut*. 238, 2018, 894-902.
- Erni-Cassola G., Zadjelovic V., Gibson M.I., Christie-Oleza J.A. Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. *J Hazard Mater*. 369, 2019. 691-698.
- Esposito G., Prearo M., Renzi M., Anselmi S., Cesarani A., Barcelo D., Dondo A., Pastorino P. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of benthic by catches from an eastern Mediterranean deep-sea environment. *Mar Pollut Bull* 174 (2022) 113231.
- FAO/WHO, 2011. Report of the joint FAO/WHO expert consultation on the risks and benefits of fish consumption. In: Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization, Geneva, p. 50.
- Fobil, J. Hogarth, J. The dilemmas of plastic wastes in a developing economy: Proposals for a sustainable management approach for Ghana. *West Afr J Appl Ecol*. 2006, 10.
- Fries E., Dekiff J.H., Willmeyer J., Nuelle M.T., Ebert M., Remy D. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci Process Impacts*. 2013, 15, 1949.
- Friesen L.W. von, Granberg M.E., Hassellöv M., Gabrielsen G.W., Magnusson K. An efficient and gentle enzymatic digestion protocol for the extraction of microplastics from bivalve tissue. *Mar Pollut Bull*, 142, 2019, 129-134.



- Gallo F., Fossi C., Weber R., Santillo D., Sousa J., Ingram I., Nadal A., Romano D. Marine litter plastics and microplastics and their toxic chemicals components: the need for urgent preventive measures. *Environ Sci Eur*, 2018, 30:13.
- Gomiero A., Strafella P., Birger Øysæd K., Fabi G. First occurrence and composition assessment of microplastics in native mussels collected from coastal and offshore areas of the northern and central Adriatic Sea. *Environ Sci Pollut Res*, (26) 2019, 24407-24416.
- Gonçalves C., Martins M., Sobral P., Costa P.M., Costa M.H. An assessment of the ability to ingest and excrete microplastics by filter-feeders: a case study with the Mediterranean mussel. *Environ Pollut*, 245, 2019, 600-606.
- Guoa Xuan, Wang Jianlong. The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review. *Mar Pollut. Bull*, 142, 2019, 1-14.
- Hansen J., Hildebrandt L., Zimmermann T., El Gareb F., Kerstin Fischer E., Pröfrock D. Quantification, and characterization of microplastics in surface water samples from the Northeast Atlantic Ocean using laser direct infrared imaging. *Mar Pollut Bull*, 190, 2023, 114880.
- Harrington M.J. & Herbert Waite J. pH-Dependent Locking of Giant Mesogens in Fibers Drawn. *Biomacromolecules* 2008, 9, 1480-1486.
- Hoke C., Beregovski Y., Ghetler A., Han Y., Luna C., Tella R., Zhang Z. Avances en imágenes IR directas por láser. *Actas de SciX 2016*, Minneapolis, Minnesota, 16IR07.
- Hurley R. R., Lusher A. L., Olsen M., Nizzetto L. Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices. *Environ Sci Technol*. 52 (13), 2018, 7409-7417.
- Ivleva N.P. Chemical Analysis of Microplastics and Nanoplastics: Challenges, Advanced Methods, and Perspective. *Chem Rev*, 121, 2021, 11886-11936.
- Jia W., Karapetrova A., Zhang M., Xu L., Li K., Huang M., Wang J., Huang Y. Automated identification and quantification of invisible microplastics in agricultural soils. *Sci Total Environ*. 844, 2022, 156853.
- Karami A., Golieskardi C.K., Choo Romano N., Ho Y.B., Slamatinia B. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Sci Total Environ*. 578, 2017, 485-494.
- Karlsson, T. M., Vethaak, A. D., Almroth, B. C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., & Leslie, H. A. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar Pollut Bull*, 122:1-2, 2017, 403-408.
- Koketso Ncube L., Uchenna Ude A., Nifise Ogunmuyiwa E., Zulkifli R., Nongwe Beas I. An Overview of Plastic Waste Generation and Management in Food Packaging Industries. *Recycling* 2021, 6, 12.
- Lebreton L. The status and fate of oceanic garbage patches. *Nat Rev Earth Environ*. 3, 2022, 730-732.



- Lehel J., Murphy S. Microplastics in the Food Chain: Food Safety and Environmental Aspects. Review Rev Environ Contam Toxicol. 259, 2021, 1-49.
- Lenaker P.L., Baldwin A.K., Corsi S.R., Mason S.A., Reneau P.C., Scott J.W. Vertical distribution of microplastics in the Water Column and Surficial Sediment from the Milwaukee River Basin to Lake Michigan. Environ. Sci Technol, 2019, 53, 12227-12237.
- Li Jiana, Qu Xiaoyun, Su Lei, Zhang Weiwei, Yang Dongqi, Kolandhasamy Prabhu, Li Daoji, Shi Huahong. 2016. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. Environ Pollut, 214, 177-184.
- Li Jiana, Wang Zhenglu, Rotchell, J.M., Shen Xiaoteng, Li Qipei, Zhu Jingmin. Where are we? Towards an understanding of the selective accumulation of microplastics in mussels. Environ Pollut. 286, 2021, 117543.
- Liu Yi, Wang Bei, Pileggi Vince, Chang Sheng. Methods to recover and characterize microplastics in wastewater treatment plants. Case Stud Chem Environ Eng. 5, 2022, 100183.
- Löder M.G. J., Imhof H.K., Ladehoff M., Löschel L.A., Lorenz C., Mintenig S., Piehl S., Primpke S., Schrank I., Laforsch C., Gerdt G. Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples. Environ Sci Technol. 51 (24), 2017, 14283-14292.
- López-Martínez S., Perez-Rubín C., Gavara R., Handcock R.N., Rivas M.L. Presence and implications of plastics in wild commercial fishes in the Alboran Sea (Mediterranean Sea). Sci Total Environ. 850, 2022, 158025.
- Lubet P., Brichon G., Besnard J.Y., Zwingelstein G. Composition and metabolism of lipids in some tissues of the mussel *Mytilus galloprovincialis* L. (Moll. bivalvia)-in vivo and in vitro incorporation of 1(3)-[3H]-glycerol. Comp. Biochem Physiol. C Biochem. 82 (3), 1985, 425-431.
- Lusher A., Hollman P., Mandoza-Hill J. 2017. Microplastics in fisheries and aquaculture: Status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper.
- Magnusson K., Norén F. 2014. Screening of microplastic particles in and down screening of microplastic particles in a wastewater Treatment Plant. Swedish Environ Protection Agency. Report no. C 55, 18 pages.
- Mancuso M., Panarello G., Falco F., Di. D., S. Savoca, Capillo G., Romeo T., Presti G., Gullotta E., Spanò N., Bono G., Salvatore G., Bottari T. Investigating the effects of microplastic ingestion in *Scyllorhinus canicula* from the South of Sicily. Sci Total Environ. 850, 2022, 157875.
- Marques F., Vale C., Rudnitskaya A., Moreirinha C., Costa S.T., João Botelho M. Major characteristics of microplastics in mussels from the Portuguese coast. Environ Res. 197, 2021, 110993.
- Marqués M., Torres, C.M. García-Fernández F., Mantur-Vierendeel A., Roe M., Wilson A.M., Reuver M., Nadal M., Domingo J.L. FishChoice 2.0: Information on health benefits / risks and sustainability for seafood consumers. Food Chem Toxicol. 55, 2021, 112387.



- Masiá P., Ardura A, Garcia-Vazquez E. Microplastics in seafood: Relative input of *Mytilus galloprovincialis* and table salt in mussel dishes. *Int Food Res.* 153 (2022) 110973.
- Michielssen M.R., Michielssen E.R., Nia J., Duhaime M.B. Fate of microplastics and other small anthropogenic litter (SAL) in wastewater treatment plants depends on unit processes employed. *Environ Sci Water Res Technol* 2 (6), 2016, 1064-1073.
- Ngoc Phuong N., Zalouk-Vergnoux A., Kamari A., Mouneyrac C., Amiard F., Poirier L., Lagarde F. Quantification and characterization of microplastics in blue mussels (*Mytilus edulis*): protocol setup and preliminary data on the contamination of the French Atlantic coast. *Environ Sci Pollut Res.* 25, 2018, 6135-6144.
- Nuelle M.T, Deckiff J.H., Remy D., Fries E. A new analysis approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environ Pollut.* 184, 2014, 161-169.
- O'Brien S., Rauert C., Ribeiro F., Okoffo E. D., Burrows S.D., O'Brien J.W., Wang X., Wright S. L., Thomas K.V. There's something in the air: A review of sources, prevalence and behavior of microplastics in the atmosphere. *Sci Total Environ.* 874, 2023, 162193.
- Ourgaud M., Ngoc Phuong N., Papillon L., Panagiotopoulos C., Galgani F., Schmidt N., Fauv V. Identification and quantification of microplastics in the marine environment using the Laser Direct Infrared (LDIR) Technique. *Environ Sci Technol.* 56 (14), 2022, 9999-10009.
- Patterson J., Jeyasanta K.I., Laju R.L., Patterson Edward J.K. Microplastic contamination in Indian edible mussels (*Perna perna* and *Perna viridis*) and their environs. *Mar Pollut Bull.* 171, 2021, 112678.
- Pazos R.S., Spaccesi F., Gómez N. First record of microplastics in the mussel *Limnoperna fortunei*. *Reg Stud Mar Sci.* 38, 2020, 101360.
- Pennings, A.J.; Zwijnenburg, Longitudinal growth of polymer crystals from flowing solutions. VI. Melting behavior of continuous fibrillar polyethylene crystals. *AJ Polym Sci Polym Phys Ed.* 1979, 17, 1011-1032.
- Pitt J.A., Kozal J.S., Jayasundara N., Massarsky A., Trevisan R., Geitner N., Wiesner M., Levin E.D., Di Giulio R.T. Uptake, tissue distribution, and toxicity of polystyrene nanoparticles in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat Toxicol.* 194, 2018, 185-194.
- Prüst M., Meijer J. & Westerink R.H.S. The plastic brain: neurotoxicity of micro- and nanoplastics. *Part Fibre Toxicol* 17, 24 (2020).
- Research Laboratories Technical Report (Review) 05-2016 74. EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) (2016) Statement on the presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA J* 14, 6, 4501.
- Rios-Fuster, C. Alomar, G. Paniagua Gonzalez, R. M. Garcinuno Martínez, D. L. Soliz Rojas, P. Fernández Hernando, S. Deudero. Assessing microplastic ingestion and occurrence of bisphenols and phthalates in bivalves, fish, and holothurians from a Mediterranean marine protected area. *Environ Res.* 214, 2022, 114034.



- Rist S., Steensgaard I.M., Guven O., Nielsen T.G., Møller J.L.F., Hartmann N.B. The fate on microplastics during uptake and depuration phases a blue Mussel exposure system. *Environ. Toxicol. Chem.* 38(1), 2018, 99-105.
- Sauda S., Yanga A., Jianga Z., Ning D., Fahad S. New insights into the environmental behavior and ecological toxicity of microplastics. *J Hazard Mater Adv.* 10, 2023, 100298.
- Song X., Wu X., Song X., Zhang Z. Oil extraction following digestion to separate microplastics from mussels. *Chemosphere* 289, 2022, 133187.
- Sridhar A., Kannan D., Kapoor A., Prabhakar S. Extraction and detection methods of microplastics in food and marine systems: A critical review. *Chemosphere.* 286 (1), 2022, 131653.
- Théogène Habumugisha, Zixing Zhang, Cheng Fang, Changzhou Yan, Xian Zhang. Uptake, bioaccumulation, biodistribution and depuration of polystyrene nanoplastics in zebrafish (*Danio rerio*), *Sci Total Environ.* 2023, 893: 64840.
- Thompson, R.C.; Moore, C.J.; Vom Saal, F.S.; Swan, S.H. Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends. *Philos. Trans. R Soc B: Biol Sci.* 2009, 364, 2153-2166.
- Tian, Y., Chen, Z., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Y., Wang, P., Zhang, T., Pu, J., Sun, H., Wang, L., 2021. An innovative evaluation method based on polymer mass detection to evaluate the contribution of microfibers from laundry process to municipal wastewater. *J Hazard Mater.* 407, 124861.
- Vasques Ribeiro V., Rodrigues Nobre C., Barbosa Moreno B., Semensatto D., Sanz-Lazaro C., Buruaem Moreira L., Braga Castro Í. Oysters and mussels as equivalent sentinels of microplastics and natural particles in coastal environments. *Sci Total Environ.* 874, 2023, 162468.
- Vimal K.E.K., Mathiyazhagan K.; Agarwal V., Luthra S., Sivakumar K. Analysis of barriers that impede the elimination of single-use plastic in developing economy context. *J Clean Prod.* 2020, 272, 122629.
- Von Friesen L.W, Granberg M.E, Hassellöv M., Gabrielsen G.W., Magnusson K. An efficient and gentle enzymatic digestion protocol for the extraction of microplastics from bivalve tissue. *Mar Pollut Bull.* 2019, 42:129-134.
- Vujić M., Vasiljević S., Rocha-Santos T., Agbaba J., Čepić Z., Radonić J., Tubić A. Improving of an easy, effective, and low-cost method for isolation of microplastic fibers collected in drying machines filters. *Sci Total Environ* 892, 2023, 164549.
- Ward J.E., Rosa M., Shumway S.E. 2019. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: a 40-year history. *Anthr Coasts* 2, 39-49.



Wilson R., Jones-Otazo H., Petrovic S., Mitchell I., Bonvalot Y., Williams D., Richardson G.M. Revisiting dust and soil ingestion rates based on hand-to-mouth transfer. *Hum Ecol Risk Assess.* 19, 2013, 158-188.

Yuxin Huo, Feike A. Dijkstra, Malcolm Possell, Balwant Singh, Chapter One - Plastics in soil environments: All things considered, Editor(s): Donald L. Sparks, *Advances in Agronomy*, Academic Press, Volume 175, 2022, Pages 1-132, ISSN 0065-2113, ISBN 9780323989596.

ZeJiao Luo, Durkin C.A., Mock T., Armbrust E.V. Chitin in diatoms and its association with the cell wall. *Eukaryot Cell.* 2009 Jul;8(7):1038-50. doi: 10.1128/EC.00079-09. Epub 2009 May 8. PMID: 19429777; PMCID: PMC2708456.

Zhang Fe, Wang Xiaohui, Xu Jiayi, Zhu Lixin, Peng Guyu, Xu Pei, Li Daoji. Food-web transfer of microplastics between wild caught fish and crustaceans in East China Sea. *Mar Pollut Bull.* 146, 2019, 173-182.



16 Productividad

- Como resultado de esta investigación se envió un artículo científico para su posible publicación a la revista Journal of Hazardous Materials y actualmente se está trabajando en el segundo artículo científico.
- Se envió además un trabajo para participar en el International Symposium on Food Safety and Control a realizarse en Viena para el 2024.
- Debido a la cantidad de resultados y al interés del grupo de trabajo en el laboratorio de Mónaco, fue necesario ampliar mi estancia hasta el mes de Octubre con la finalidad de concluir con todos los pendientes y terminar el segundo artículo científico.
- Durante mi estancia, también atendí y di seguimiento por TEAMS a los estudiantes de tesis, un alumno de doctorado obtuvo el grado el viernes 24 de febrero de 2023.
- Algunos estudiantes de Ingeniería Química también mostraron interés en la investigación y se encuentran trabajando en temas a fines para continuar algunos de ellos con la Residencia.
- Como resultado del trabajo en conjunto a distancia el alumno Edgar Odilón recién graduado del programa de doctorado participó en la convocatoria de CONACYT para solicitar una beca de estancia posdoctoral, con el tema de presencia de microplásticos en alimentos que desarrollará bajo mi dirección y que contará con la colaboración del equipo de trabajo del laboratorio del IAEA en Monaco.
- Durante el periodo de estancia también di seguimiento al trámite para que se pueda sacar de estado de abandono un cromatógrafo de gases que fue donado por el IAEA a través de un proyecto de investigación a mi cargo, consiguiendo que SENER junto con la CNSNS a través del apoyo de los directivos apoyen al ITTOL con los trámites.



17 ANEXOS

1. Envío de un artículo científico para su posible publicación a la Revista Journal of Hazardous Materials

Journal of Hazardous Materials
Assessment of microplastic characteristics in edible mussels (*Mytilus galloprovincialis*)
using LDIR and RAMAN spectroscopy
--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Mussels, Microplastics, Corolase, RAMAN, LDIR.
Corresponding Author:	G. García-Rosales Technological Institute of Toluca Mexico, Mexico MEXICO
First Author:	G. García-Rosales
Order of Authors:	G. García-Rosales C.M Hernandez-Alonso F Oberhaensli
Abstract:	The potential presence of microplastics in shellfish raises significant human health concerns. In this study, we developed and validated an optimized protocol using H₂O₂-Corolase-SDS to efficiently digest tissue from commercial mussels (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) to address this pressing issue. Our comprehensive assessment focused on three key parameters: percentage recovery, repeatability, and chemical integrity and color stability. For accurate and reliable analysis of commercial samples to identify microplastics, we employed LDIR (Low Density Infrared Spectroscopy) and Raman Spectroscopy. Our digestion process demonstrated exceptional efficiency, achieving a remarkable organic matter removal rate of over 99%. We successfully identified a total of nine types of microplastics, with polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), and polypropylene (PP) as the most prevalent (22±0.68 MPs mussel⁻¹; 5±0.27 items g⁻¹). Most of the microplastic particles had diameters ranging from 20-60 µm and were predominantly characterized as films, with some appearing as fragments. These findings underscore the importance of monitoring and understanding microplastic contamination in shellfish for safeguarding human health and the environment.



← Atrás

Archivar

Mover

Borrar

Spam

...



Aries systems
www.ariessys.com

Ir al sitio web →

HAZMAT-D-23-10273 - Confirming your submission to Journal of Hazardous Materials

Yahoo/Buzón



Journal of Hazardous Materials <em@editorialmanager.com>
Para: G. García-Rosales

lun 28 de ago a las 17:47

Dear Dr. G. García-Rosales,
Research Paper

Your submission entitled "Assessment of microplastic characteristics in edible mussels (*Mytilus galloprovincialis*) using LDIR and RAMAN spectroscopy" has been received by Journal of Hazardous Materials. It has been assigned the following manuscript number: HAZMAT-D-23-10273.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/hazmat/>.

Your username is: gegaromx@yahoo.com.mx

If you can't remember your password please click the "Send Password" link on the Login page.

For guidelines on how to track your manuscript in EM please go the following address: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/p/7923/a_id/89

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Manager
Journal of Hazardous Materials

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EM via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

#AU_HAZMAT#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code



2. Envió un resumen para participar en el International Symposium on Food Safety and Control a realizarse en Viena para el 2024.

← Atrás ↩ ⏮ ⏭

📁 Archivar 📁 Mover 🗑️ Borrar 🛡️ Spam ⋮

▲ ▼ ✕

• [Indico] Abstract Submission confirmation (#33)

Yahoo/Buzón ☆



• noreply@iaea.org

Para: gegaromx@yahoo.com.mx, calonso@gmail.com, lclonggan@gmail.com

CC: international-symposium-on-food-safety-and-control-2024@iaea.org, conference.contact-point@iaea.org



mié 23 de ago a las 17:52 ☆

Dear garcia garcia,

Thank you for your submission. This email confirms that we have received your abstract "Microplastics Extraction and Identification from Commercial Samples of Edible Mussels (*Mytilus galloprovincialis*)" which has been assigned ID #33. This is the unique identification number for this paper. You will be required to enter this ID # into the InTouch+ platform on Submission of a Paper (Form B) during registration.

As a next step, please register for the event via the InTouch+ platform (<https://intouchplus.iaea.org>). The platform will auto-generate your Participation Form (Form A) and Submission of a Paper (Form B), and Grant Application Form (Form C, if applicable). Once submitted through the InTouch+ platform, your application will be automatically sent to the required authority for approval. If you are a member of an invited organization and this is not listed, please contact Conference.Contact-Point@iaea.org.

To access your abstract directly, please click on this link: {Submission of Abstracts}

Kind regards,

The organizers of International Symposium on Food Safety and Control

--

Indico :: Call for Abstracts

<https://conferences.iaea.org/event/351/>

↩ ⏮ ⏭ ⋮



3. Titulación de un estudiante de Doctorado



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

CERTIFICACIÓN DE ACTA DE EXAMEN DE GRADO DE DOCTORADO



El suscrito Director del Instituto Tecnológico de Toluca certifica que en el Libro de Actas para Examen de Grado de Doctorado No. uno autorizado el día 22 del mes de agosto del 2014 por la Dirección de Servicios Escolares y Estudiantiles de la Dirección General del Tecnológico Nacional de México, se encuentra asentada en la foja número ochenta y nueve el Acta que a la letra dice:

En la ciudad de Toluca, Edo. de México a los 24 días del mes de febrero de 2023 siendo las 13:00 horas se reunieron en la Sala de Titulación de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Toluca, clave 15DIT0001C, el jurado integrado por:

Presidenta: Doctora en Química: Genoveva García Rosales
No. de cédula. 8140066
Secretario: Doctor en Ciencias opción en Física No Lineal: Celso Hernández Tenorio
No. de cédula. 6074746
Vocal: Doctor en Ingeniería Ambiental: Isaías de la Rosa Gómez
No. de cédula. 6724937
Vocal: Doctor en Ciencias en Ingeniería Química: Mario Alejandro Gómez Jiménez
No. de cédula. 6461427
Vocal: Doctora en Ciencias con orientación en Química Analítica Ambiental: María Dolores Tenorio Castilleros
No. de cédula. 8845080

Y de acuerdo con las disposiciones reglamentarias en vigor, se procedió a efectuar el examen de grado de Doctorado a el C. Edgar Odilon Pérez Gómez número de control 192BD0267, aspirante al grado de Doctor en Ciencias Ambientales

Tomando en cuenta el contenido de la Tesis cuyo título es Remoción de aflatoxina y zearalenona por medio de un carbón acondicionado con surfactante que fue dirigida por Dra. Genoveva García Rosales y Dr. Luis Carlos Longoria Gándara, una vez concluido el examen oral, dictaminó que fuera Aprobado con Mención Honorífica.

La Presidenta del jurado le hizo saber a el sustentante el resultado obtenido, el Código de Ética Profesional y le tomó la protesta de Ley. Dándose por terminado el Acto a las 15:00 y una vez escrita, leída y aprobada, fue firmada para constancia por las personas que en el acto intervinieron, para los efectos legales a que haya lugar se asienta la presente.

Rubrican

Se extiende esta certificación a los 24 días del mes de febrero de 2023.
COTEJO

Mariana Carrillo Lara
Jefa del Departamento de
Servicios Escolares

DIRECTOR
HUGO ERNESTO CUELLAR CARREON



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIRECCIÓN



POLÍTICAS ACADÉMICAS GENERALES DEL AÑO SABÁTICO DEL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

FORMATO DE EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA ESTADÍA TÉCNICA

Instituto, Unidad o Centro: Instituto Tecnológico de Toluca
Nombre del (de la) Docente: Genoveva García Rosales
Nombre del proyecto: Determinación de plásticos en alimentos
Programa Educativo: Sabatismo/Doctorado en C. Ambientales
Período de realización de la estadía técnica: Sep 2022 - Agosto 2023
Evaluación: Final

En qué medida el docente cumple con lo siguiente		
Criterios para evaluar		Valor
Evaluación por el jefe inmediato*	Asiste puntualmente en el horario establecido	5
	Trabaja en equipo y se comunica de forma efectiva (oral y escrita)	10
	Tiene iniciativa para colaborar	5
	Propone mejoras al proyecto	10
	Cumple con los objetivos correspondientes al proyecto	15
	Es ordenado y cumple satisfactoriamente con las actividades encomendadas en los tiempos establecidos del cronograma	15
	Demuestra liderazgo en su actuar	10
	Demuestra conocimiento en el área de su especialidad	20
	Demuestra un comportamiento ético (es disciplinado, acata instrucciones/órdenes, respeta a sus compañeros de trabajo, entre otros)	10
	Evaluación total	100

Observaciones:

Carla Alonso Hernández
Nombre y Firma del Jefe Inmediato

Sello de la empresa, organismo o dependencia

29-08-2023
Fecha de Evaluación

Nota: Este formato se deberá anexar al reporte intermedio y final.