



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Determinación de contaminantes emergentes en aguas superficiales

Alumno/a: Irene García Zamora

Julio, 2023



Universidad de Jaén



Trabajo Fin de Grado

Determinación de contaminantes emergentes en aguas superficiales

Alumna: Irene García Zamora

Jaén, Julio, 2023

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA.....	9
4. MÉTODOS DE MUESTREO	12
4.1. Métodos de muestra concentrada.....	12
4.1.1. Redes de arrastre	12
4.1.2. Bombas para reducir la muestra in situ	15
4.2. Métodos de muestra global... ..	15
4.3. Control de calidad en muestro de las aguas.....	16
5. (PRE)TRATAMIENTO DE MUESTRA	17
5.1. Separación por densidad	17
5.2. Filtración	19
5.3. Tamizado	19
5.4. Digestión química.....	20
6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS	21
6.1. Método visual.....	21
6.2. Espectroscopia por transformada de Fourier.....	23
6.3. Espectroscopia RAMAN.....	29
6.4. Degradación térmica junto a espectroscopia de masas.....	34
7. TABLA DE RESULTADOS	39
8. DISCUSIÓN.....	42
9. BIBLIOGRAFÍA.....	44

1. RESUMEN/ABSTRACT

Los contaminantes emergentes son sustancias químicas o materiales que pueden afectar al medio ambiente, a la salud humana y los seres acuáticos. Los microplásticos son un tipo de contaminante emergente y se han convertido en un gran problema a nivel mundial debido a su amplia distribución y su capacidad para acumularse en los ecosistemas. Gran parte de los microplásticos proviene de la industria, la agricultura, la pesca y el consumo de productos plásticos. Durante las últimas décadas se han realizado numerosos estudios para su identificación y análisis. El muestreo de los mismos se suele llevar a cabo con redes de arrastre. Después, se someten a técnicas de pretratamiento y tratamiento para aislarlos e eliminar impurezas del resto de la matriz. Por último, se identifican con determinadas técnicas de análisis. Las técnicas más comunes son la clasificación visual, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, la espectroscopia RAMAN y la pirólisis acoplada a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. En esta revisión bibliográfica se hablará de todo ello, además de mostrar diferentes estudios sobre la contaminación por microplásticos en aguas superficiales y la metodología para su identificación.

Emerging contaminants are chemicals or materials that can affect the environment, human health, and aquatic life. Microplastics are a type of emerging contaminant and they have become a serious problem worldwide due to their wide distribution and their ability to accumulate in ecosystems. Much of the microplastics comes from industry, agriculture, fishing and the consumption of plastic products. During the last decades, numerous studies have been carried out for its identification and analysis. The sampling of the microplastics is usually carried out with trawl nets. After, they are subjected to pretreatment and treatment techniques to isolate them and remove impurities from the rest of the matrix. Finally, they are identified with certain analysis techniques. The most common techniques are visual classification, Fourier transform infrared spectroscopy, RAMAN spectroscopy, and pyrolysis coupled to gas chromatography coupled to mass spectrometry. In this bibliographical review, all this will be discussed, in addition to showing different studies about contamination by microplastics in surface waters and the procedure that has been followed for their identification.

2. INTRODUCCIÓN

A medida que pasan los años, una cantidad cada vez mayor del agua potable en Europa se prepara a partir de las aguas superficiales. Debido a esto, se han descubierto, y se siguen descubriendo con el paso del tiempo, los denominados contaminantes emergentes en aguas superficiales. El análisis de estos contaminantes es claramente un reto para los químicos analíticos debido a la disparidad de propiedades, complejidad de las matrices y las concentraciones tan bajas a las que se encuentran, del orden de nanogramos o picogramos por litro (C.J. Houtman 2010). Aun así, gracias al desarrollo de las técnicas analíticas de detección, se han podido observar estos compuestos de origen antropogénico a niveles traza durante las últimas décadas puesto que el alcance de estas técnicas es mayor y pueden detectarse e identificarse muchos más compuestos con propiedades muy variadas (A. Gogoi et al. 2018)

Los contaminantes emergentes son sustancias químicas que presentan un riesgo potencial para la salud humana o el medio ambiente, con el agravante de que no se ha establecido ninguna norma o legislación que los controle. Se pueden encontrar en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales o aguas residuales sin tratar, en aguas superficiales y en aguas subterráneas (C.A.M. Junior et al. 2019), pero en este caso nos vamos a centrar en el estudio de aguas residuales. Estos engloban, entre otros, compuestos disruptores endocrinos (hormonas, por ejemplo), productos farmacéuticos, drogas ilícitas y no controladas, edulcorantes, productos para el cuidado personal, agentes complejantes, nanopartículas, compuestos perfluorados, retardantes de llama, pesticidas, aditivos para combustibles y plásticos (C.J. Houtman 2010). Dichos contaminantes provienen de abundantes fuentes y las rutas de incorporación al medio ambiente también son variadas. Estas sustancias, actualmente, se encuentran de forma habitual en la sociedad moderna debido al crecimiento de la urbanización de grandes ciudades, al aumento de la población, de la calidad de vida y desarrollo industrial. Además, están ocasionando mucha preocupación dentro del mundo científico, puesto que se ha notificado un impacto nocivo en toda la biosfera, en los diferentes formatos de vida acuática y terrestre, y en la salud humana (A. Gogoi et al. 2018).

La red NORMAN, la cual favorece el intercambio de información acerca de sustancias ambientales emergentes y fomenta la aprobación y armonización de métodos de medición y herramientas de control comunes, identificó, hasta el año 2019, setecientas sustancias emergentes en el medio acuático europeo. Incluso a las concentraciones tan bajas que se encuentran los contaminantes emergentes, son capaces de provocar efectos indeseables y riesgos para la salud humana, la fauna y la flora ambiental, como se ha comentado anteriormente (C.A.M. Junior et al. 2019).

Los contaminantes emergentes presentes en el medio ambiente tienen diversos efectos. Estos pueden ser cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos o alterar el sistema endocrino de los organismos.

Los contaminantes cancerígenos aumentan la posibilidad de que aparezca un cáncer en aquellos organismos que están expuestos a ellas. La acrilamida, por ejemplo, que se utiliza industrialmente para producir plásticos y tintes, es una de ellas. Además, se ha estudiado la concentración tan elevada de este compuesto en productos de alimentación fritos u horneados a una temperatura de 120°C y diversos estudios han concluido que el cáncer es el principal efecto tóxico de esta sustancia.

Las sustancias mutagénicas aumentan la probabilidad de que se produzca una mutación en las células de los organismos.

Los elementos teratogénicos son sustancias que pueden provocar alteraciones en el embrión o feto durante su desarrollo. Se ha comprobado que algunos fármacos utilizados en quimioterapia y algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos causan estos efectos adversos en los organismos.

Por último, los contaminantes emergentes también son capaces de alterar el sistema endocrino. Este sistema es el responsable de sintetizar hormonas; las biomoléculas responsables de las tres funciones vitales en los seres vivos. Cuando los contaminantes entran en los organismos vivos, pueden alterar la homeostasis hormonal debido a que alteran la relación hormona-célula (M. Sanz 2017).

En este trabajo de fin de grado, me voy a centrar, concretamente, en la presencia de microplásticos (MPs) en aguas superficiales, ya que éstos se encuentran en numerosos productos de uso diario. Cuando hablamos de aguas superficiales nos referimos a lugares como son los ríos, lagos, mares, océanos, estanques, lagunas, pantanos, humedales, etc.

Los plásticos se han convertido en uno de los principales factores de contaminación del mar. En 2018 se informó que 13 millones de toneladas de plásticos fluyen al mar cada año y alrededor de 100000 especies acuáticas mueren anualmente. La mayoría de los plásticos provenían de los desechos domésticos o se tiraban al vertedero directa o indirectamente. La gestión inadecuada de los desechos contribuye al problema de la contaminación del agua y del aire, así como a los problemas de salud. Generalmente, los plásticos se conocen como materiales no biodegradables y requieren mucho tiempo para descomponerse. El plástico se usa preferentemente en la industria porque es significativamente fácil de fabricar, de bajo costo de producción y más ingenioso (UNEP 2018).

En el año 2013, un joven de 18 años, llamado Boyan Slat, desarrolló un proyecto llamado The Ocean Cleanup. Dicho proyecto consiste en desarrollar nuevas tecnologías para eliminar la mayor cantidad posible de plástico de los océanos de todo el mundo e impedir que el plástico de los ríos llegue a los mares y océanos. A día de hoy, se encuentran trabajando en La Gran Mancha de Basura del Pacífico y en los ríos más contaminados. El objetivo de esta organización es reducir el 90% del plástico presente en océanos, sobre todo el plástico flotante, para 2040. Su idea, para un futuro, es asociarse con varias empresas que utilicen su plástico recolectado para fabricar sus productos (The Ocean Cleanup).



Figura 2.1. Fuente: The Ocean Cleanup

Según sus tamaños, los desechos plásticos en el medio ambiente se pueden dividir en cuatro categorías: nanoplásticos (<0,03 cm), microplásticos (<0,5 cm), mesoplásticos (0,5-5 cm), macroplásticos (5-50 cm) y megaplásticos (>50 cm) (Wu et al., 2019).

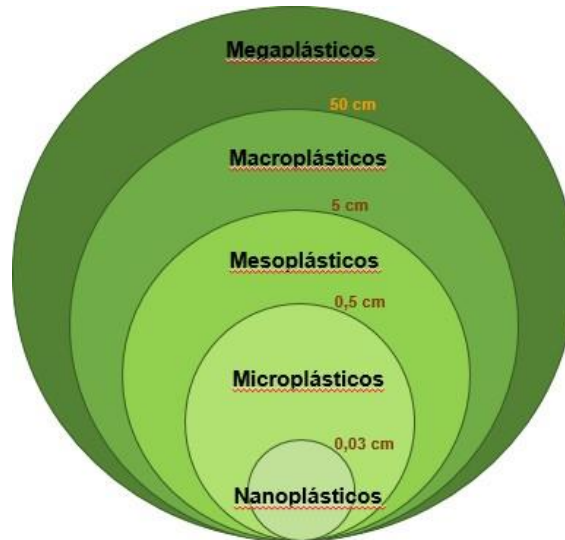


Figura 2.2. Clasificación del plástico según su tamaño.

Una gran cantidad de desechos plásticos se incorporan al océano cada año. Se estima que para 2025, 250 toneladas de plásticos estarán acumulados en el océano.

Recientemente, además de los MPs, otra clase de materiales plásticos ha generado preocupación; los nanoplásticos. Dichos materiales presentan riesgos similares a los que presentan los MPs, pero estas amenazas se ven exacerbadas por el potencial de ser ingeridos por organismos que se encuentran en la base de la cadena alimentaria, como los organismos planctónicos. No solo desde una perspectiva ambiental, sino también desde una perspectiva de salud pública, es quizás aún más preocupante que se haya demostrado que los nanoplásticos, una vez ingeridos, se distribuyen a través de diferentes tejidos y órganos, como lo demuestra la presencia de nanopartículas de látex acumuladas en los testículos, hígado, sangre, branquias e intestino de algunos peces de agua dulce.

En esta revisión bibliográfica sobre contaminantes emergentes en aguas superficiales, se va a centrar la búsqueda en los MPs.

En los últimos 75 años, la producción de plástico y por consiguiente de MP, ha incrementado de 1,5 millones a 322 millones de toneladas cada año nivel mundial (A. Hernández et al. 2019).

Los MPs están omnipresentes en los ecosistemas marinos y terrestres. Las proyecciones actuales indican que, si no se obstaculizan, alrededor de 12000 millones de toneladas métricas de desechos plásticos estarán en vertederos o en el medio ambiente natural para 2050, en comparación con los 900 millones de toneladas métricas (el 60 % de todos los plásticos jamás producido) encontradas en 2015.

Los MPs se han definido como partículas constituidas por una mezcla variada e irregular de materiales de forma mixta denominados fragmentos, fibras/filamentos, perlas/esferas, películas/láminas y gránulos con un tamaño inferior a 5 milímetros. Se pueden clasificar en primarios y secundarios.

Los MPs primarios son aquellos plásticos que tienen un tamaño casi microscópico y se pueden encontrar en muchos productos de cosméticos y de cuidado personal como lociones, jabones, exfoliantes, pasta dental, etc, los cuales se utilizan a diario en todo el mundo. Por ejemplo, las microesferas se encuentran en exfoliantes y también son empleados como vectores de medicamentos en productos de cuidado personal). Se van a encontrar en la naturaleza en el mismo estado o muy similares a como fueron sintetizados en su origen. Se encuentran mayoritariamente en forma de gránulos o microesferas y cuando se utilizan, se pierden directamente por el desagüe (E. Balarezo 2021).

Los MPs secundarios se generan por la fragmentación de partículas de plástico más grandes. La fragmentación puede ocurrir durante el uso de materiales como textiles, pintura y neumáticos, o una vez que los plásticos han sido liberados al medio ambiente (J. Talvitie et al 2017). Los MPs secundarios provienen de la degradación química o física del plástico más grande en piezas más pequeñas que se producen debido a la fotodegradación, la intemperie o el proceso de hidrólisis (E. Balarezo 2021)..

En resumen, los primarios son los ya emitidos por su origen, fabricados de manera intencionada y los secundarios son el resultado de la desintegración de elementos plásticos más grandes, como son los macroplásticos.

Los MPs se pueden clasificar también por sus características morfológicas: tamaño, forma y color. El tamaño es un factor muy importante al estudiar los MPs, ya que dicta el rango de organismo a los que puede afectar. La alta relación entre el área superficial y el volumen de partículas pequeñas les proporciona un alto potencial de lixiviación y absorción de productos químicos, es decir, cuanto mayor es el contenido

de MPs, mayor es la probabilidad de actuar como vehículos de otros contaminantes tóxicos como metales, plaguicidas o contaminantes orgánicos persistentes (J.R. Cabrera et al. 2019).

Los MPs se convierten en un problema para la contaminación marina porque son muy pequeños y no se pueden filtrar durante el proceso de tratamiento del agua, que luego fluye hacia las vías fluviales marinas. Además de sus pequeños tamaños, son de varios colores, por lo que los seres vivos acuáticos pueden consumirlos como alimento por equivocación.

Los estudios ecotoxicológicos han mostrado la acumulación de MPs en varios organismos acuáticos, incluyendo organismos planctónicos, invertebrados y vertebrados. Sin embargo, la evidencia de la ingestión de MPs en organismos de agua dulce es mucho más limitada que en los organismos marinos puesto que se han realizado menos investigaciones y se ha investigado un menor número de especies (D.C. Dioses-Salinas et al. 2019).

Desde 2014, los problemas relacionados con los MPs se han convertido en un hecho muy preocupante debido a sus efectos negativos en la cadena alimentaria y la red alimentaria, que en última instancia afectan al ser humano como principal receptor de la red alimentaria.

Un creciente cuerpo de evidencia sugiere que los MPs se están integrando en alimentos de consumo generalizado a través de animales que ingieren MPs en el medio ambiente por contaminación durante la producción y/o contaminación por envases de plástico. Las partículas microplásticas de menos de 130 μm de diámetro tienen el potencial de trasladarse a los tejidos humanos, desencadenar una respuesta inmunitaria localizada y liberar monómeros constituyentes, sustancias químicas tóxicas agregadas durante la producción de plástico y contaminantes absorbidos del medio ambiente, incluidos metales pesados y contaminantes orgánicos persistentes como los PCB (policlorobifenilos) y DDT (dicloro difenil tricloroetano) (S.L. Wright et al. 2017).

Los MPs presentan una alta toxicidad, ya que cuando entran a los organismos vivos llegan a causar estrés por ingestión, adherencia y desprendimiento de compuestos químicos, suponiendo una exposición a los contaminantes asociados, lo cual puede llevar a una bioacumulación de compuestos como son los hidrocarburos aromáticos policíclicos o agentes endocrinógenos (Castañeta et al. 2020).

Es evidente el impacto que generan los MPs en el medioambiente. Sin embargo, aún no se ha logrado verificar con exactitud los efectos perjudiciales en la salud de las personas. La vía principal de ingreso de estos MPs en las personas sería a través del consumo de alimentos, de agua potable e incluso por inhalación (D. Fimia 2019).

A continuación, se va a hacer una pequeña introducción de los métodos de análisis más usuales que se emplean para la detección y cuantificación de MPs. Posteriormente, serán descritas con más detalle en otro apartado.

El muestreo de agua, normalmente, se lleva a cabo con redes o filtros de exclusión de organismos bentónicos y nectónicos. Después, se emplea la diferencia de densidades para separar los MPs de las aguas o los sedimentos. Para finalizar, los MPs se separan en función de sus tamaños mediante técnicas de filtración o tamizado.

Tras el aislamiento y purificación de MPs de la matriz de la que se toman muestras de estas partículas, es necesario cuantificarlas y caracterizarlas con precisión. Los estudios registrados hasta ahora incluyen el examen visual de los MPs aislados para su detección, dimensionamiento, identificación y conteo. Por tanto, se considera que, para los MPs, la clasificación visual es un paso esencial y obligatorio. En otros estudios realizados en laboratorios de investigación se han empleado otros métodos posteriormente al análisis visual, siendo los más comunes: microscopio de fluorescencia, espectroscopia infrarroja por transformada de micro-Fourier, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas acoplada a pirólisis (Py-GC/MS) y espectroscopía RAMAN (J. Pinto da Costa et al. 2019).

3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El objetivo fundamental de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica de la contaminación por contaminantes emergentes, concretamente de los MPs, en aguas superficiales. Otros objetivos principales son: analizar los diferentes muestreos, incluyendo sus ventajas y desventajas; estudiar las técnicas de tratamiento de aguas más utilizadas; y resumir los niveles de contaminación por MPs en función de los artículos disponibles hasta el día de hoy, extrayendo finalmente conclusiones a partir de ellos. Las tareas que se han llevado a cabo son las siguientes:

- Revisión de la toxicidad y efectos perjudiciales que pueden ocasionar los MPs.

- Revisión bibliográfica de los diferentes métodos de muestreo que pueden utilizarse en los análisis de agua.
- Revisión bibliográfica de los tratamientos de muestra más comunes.
- Revisión bibliográfica de las técnicas de análisis más utilizadas.
- Resumen de los resultados disponibles y discusión de los mismos en la conclusión final del trabajo.

Para realizar el Trabajo Fin de Grado se han utilizado, principalmente, dos bases de datos muy conocidas; Google Academy y Scopus, así como algún libro de técnicas de análisis, por ejemplo, el libro Fundamentos de Química Análítica, 9ª edición, de Douglas Skoog.

Las etapas llevadas a cabo para realización de dicha revisión bibliográfica son las siguientes: selección de las palabras clave, búsqueda de las mismas en las dos bases de antes mencionadas, filtrado de los resultados imponiendo ciertos criterios, selección de referencias bibliográficas aparentemente válidas para el trabajo, lectura de toda la información, descarte de información inapropiada finalmente, determinación de información apropiada y consulta de referencias citadas en artículos que sí son de interés, lectura crítica de la información seleccionada y, por último, organización para la realización del trabajo.

Las palabras clave que han sido utilizadas en la búsqueda son microplásticos, agua superficial, muestreo, tratamiento, técnicas de análisis, FT-IR, RAMAN, Pyr-GC/MS. También se han combinado ciertas palabras clave para una búsqueda más exacta, utilizando la palabra AND como conector entre ellas. Por ejemplo, microplásticos AND técnicas de análisis AND agua superficial. La mayoría de la búsqueda se ha llevado a cabo en inglés puesto que es el idioma más utilizado en la investigación y divulgación científica.

Los filtros que se han aplicado han sido: año de publicación (entre 2015 y 2023), publicaciones más citadas/relevantes y que fueran artículos, revisiones bibliográficas, revistas y libros. Concretamente, para la realización de la tabla de resultados (capítulo 7), solo se han seleccionado artículos publicados los últimos 5 años, con la finalidad de obtener resultados lo más actuales posible. También se ha seleccionado algún que otro artículo anterior al año 2015 puesto que aparecía citado en un artículo más reciente y, tras ser leído, ha resultado de interés.

En la tabla que se muestra a continuación se pueden ver las diferentes palabras claves junto a los resultados de su búsqueda, antes y después de haber aplicado los filtros.

-GOOGLE ACADEMY: el único filtro que se ha aplicado en esta base de datos es el intervalo de fecha 2015 a 2023.

Tabla 3.1. Búsqueda en Google Academy

PALABRA/S CLAVE/S	BÚSQUEDA SIN FILTROS	RESULTADOS DESPUÉS DE FILTRAR
Microplastics	166000	32100
Microplastics AND surface water	68400	18100
Microplastics AND sampling	52100	17100
Microplastics AND sample treatment	45700	17500
Microplastics AND analysis techniques	44600	17600
Microplastics AND FT-IR	8400	15400
Microplastics AND RAMAN	13100	11000
Microplastics AND Pyr-GC/MS	862	848

Debido a la gran cantidad de artículos, revistas, páginas webs... que aparecen en esta base de datos, se ha seleccionado un total de 60 artículos, los cuales habían sido citados más de 100 veces. Una vez se han recopilado, se ha procedido a leer el resumen de cada uno de ellos, para saber si realmente son de interés. Así, algunas referencias, después de haber leído su título completo y resumen, han sido finalmente descartadas. Las referencias de los artículos elegidos que sí han sido de interés y se han empleado para la realización del presente Trabajo Fin de Grado aparecen en el punto final de bibliografía.

- SCOPUS: también se ha utilizado esta base de datos puesto que, en ella, aparte de filtrar las publicaciones por año (2015-2023), también ha sido posible ordenar directamente las publicaciones científicas de más citadas a menos citadas, algo que Google Academy no ofrece. Concretamente, se ha empleado para afinar la búsqueda, combinando determinadas palabras clave. Para acceder a esta plataforma, se ha utilizado mi usuario y contraseña como estudiante de la Universidad de Jaén.

Tabla 3.2. Búsqueda en Scopus

PALABRA/S CLAVE/S	BÚSQUEDA SIN FILTROS	RESULTADOS DESPUÉS DE FILTRAR
Microplastics AND surface AND water	2841	2807
Microplastics AND sampling	1714	1694
Microplastics AND sample AND treatment	584	545
Microplastics AND surface AND water AND FTIR	71	71
Microplastics AND surface AND water AND RAMAN	238	237
Microplastics AND surface AND water AND Pyr-GC/MS	4	3

Como se puede observar, también aparece una gran cantidad de publicaciones. Lo que se ha hecho es escoger, en cada búsqueda, 8 publicaciones de las más citadas (si ha sido posible) ya que se han ordenado de más a menos citadas. Una vez se ha leído el resumen de todas, se ha realizado un cribado, descartando aquellas que realmente no eran de interés o no aportaban la información necesaria, y eligiendo las que sí eran de interés.

4. MÉTODOS DE MUESTREO

La toma de muestra es el primer paso de la parte experimental de un trabajo. Debe llevarse a cabo de forma que la muestra sea representativa, es decir, que represente el agua objeto de estudio.

El muestreo de MPs ha sido un tema muy interesante debido a que los polímeros tienen distintos tamaños, formas y densidades, así que no se observa lo mismo con un equipo que con otro. Además, la concentración de MPs no es la misma a diferentes profundidades.

A continuación, se van a describir los diferentes métodos que se emplean en el muestreo de MPs en aguas superficiales.

4.1. Métodos de muestra concentrada

Son métodos en los cuales se filtran y/o tamizan las muestras en el sitio de muestreo, reteniendo los MPs para su análisis posterior. Este tipo de muestreo es el que se utiliza generalmente para la toma de muestras en agua (J. Correia-Prata et al. 2019).

4.1.1. Redes de arrastre

El material que se utiliza comúnmente para llevar a cabo el método de muestra concentrada son redes de arrastre mediante embarcación, formadas por un marco rígido con una apertura de red rectangular o circular en la superficie, y en el extremo un recolector donde se va concentrando la muestra.

Estas redes se utilizan preferentemente para el muestreo de aguas superficiales a profundidades de 0 a 0,5 m y el tamaño de malla varía entre 100 y 500 μm , aunque el tamaño recomendado para el muestreo de MPs es alrededor de 300 μm . Un inconveniente que puede surgir es que los MPs más pequeños que las aberturas de la malla de la red pueden atravesarla, produciéndose así una subestimación de la abundancia de partículas microplásticas. Las partículas con un tamaño menor de 300 μm se pueden obtener utilizando bombas u otras técnicas. (L. Mai et al. 2018). Los tipos de red se diferencian entre sí por la profundidad a la cual muestrean y su tamaño de malla:

- Redes de pesca de plancton: es una red básica cuyo tamaño de abertura de los poros de la malla oscila entre 100 y 500 μm . Puede utilizarse para aguas superficiales a distintas profundidades.



Figura 4.3. Red placton

- Red de manta: es una red más pequeña y manejable que la anterior pero el tamaño de poro también se encuentra entre 100 a 500 micrómetros (J. Gong et al. 2020). Se emplea para muestrear MPs en los primeros centímetros de la columna de agua gracias a que el marco de red cuenta con flotadores para impedir que se hunda. Las redes mantas son muy apropiadas para el muestreo de aguas superficiales de forma masiva en lagos o mares, puesto que son capaces de filtrar gran cantidad de agua para recolectar los MPs flotantes (L. Mai et al. 2018).



Figura 4.4. Red manta

- Red de neutson: el tamaño de poro de la malla suele ser superior a 300 μm , incluso llegar a los 3 mm. Este tipo de red puede usarse para aguas próximas a la superficie, entre 60 y 80 metros de cercanía, y generalmente se utiliza en entornos marinos. Permite el muestreo a diferentes profundidades (J. Correia-Prata et al. 2019).

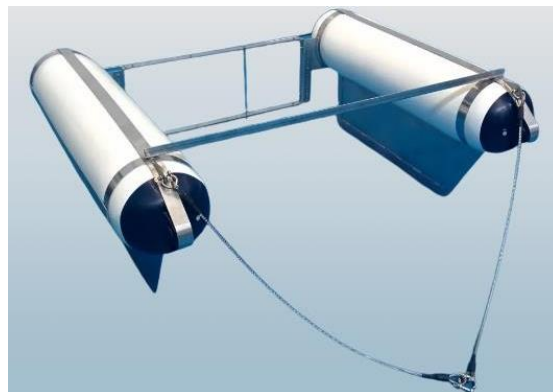


Figura 4.5. Red neutson

- Red bongo: es una red idónea para aguas de nivel medio. Es una estructura constituida por dos aros, cada uno de ellos con una malla, por lo que se obtienen dos muestras simultáneamente en cada muestreo. De esta forma se pueden obtener las muestras por duplicado o muestrear con dos redes de plancton de distinto tamaño (J. Gong et al. 2020).



Figura 4.6. Red bongo

En resumen, los equipos más empleados en el muestreo de aguas superficiales son las redes de arrastre manta y las neutson. Mientras, en columnas de agua se utilizan más las redes de plancton y bongo, los registradores continuos de plancton (CPR), las redes de apertura y cierre múltiples y las redes de arrastre casi de fondo son las técnicas principales (W. Wang et al. 2018).

Estas redes presentan diversas ventajas, así como alguna que otra desventaja. Entre las ventajas se encuentra el poder muestrear grandes volúmenes de agua de forma que la muestra será representativa; se puede muestrear a diferentes profundidades, lo cual es un dato que puede especificarse en la metodología y que muchos estudios lo omiten; y se reduce el costo de material voluminoso para el transporte de las muestras porque se concentran.

Las desventajas que tienen en común todas estas redes son las siguientes: se necesita un medio de transporte acuático; cuando se utilizan tamaños de abertura de malla más pequeños de 300 μm , las redes pueden atascarse y cuando se utilizan mayores, la concentración de MPs puede ser sobreestimada (J. Correia-Prata et al. 2019).

4.1.2. Bombas para reducir la muestra in situ acopladas con filtros o tamices

Las bombas centrífugas, de teflón o de tornillo excéntrico se han utilizado para recoger MPs a diferentes profundidades del agua (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

Cuentan con la ventaja de que pueden ser fabricadas de distintos materiales (normalmente acero inoxidable y politetrafluoroetileno (teflón)) y permiten muestrear desde la superficie hasta una profundidad de 100 metros.

La cantidad de MPs obtenida con este método va a depender del tamaño de poro de los tamices y/o filtros acoplados que se elijan. Algunos autores no recomiendan su uso puesto que pueden contaminar la muestra, pero hay otros que la aconsejan para muestrear MPs menores a 300 μm , ya que es el límite de detección para las redes de arrastre. Aún no hay establecido un tiempo uniforme de muestreo con bombas, ya que son capaces de trabajar durante horas (J. Correia-Prata et al. 2019).

4.2. Método de muestra global

Con este tipo de muestreo se pueden recolectar MPs de todos los tamaños, pero la muestra debe tener un volumen pequeño, lo que puede afectar la representatividad de la misma (W. Wang et al. 2018). La herramienta utilizada para llevar a cabo las muestras globales son los envases de almacenamiento. Comúnmente se utilizan envases de vidrio para transportarlas al laboratorio de análisis con el fin de evitar que la muestra se contamine con trazas de plástico del recipiente.

Una de las ventajas que tiene es que es más económico debido a que el equipo de muestreo es sencillo y, dependiendo de factores como volumen, tamaño de MPs, etc, también se puede llegar a conseguir una buena representatividad (W. Wang et al. 2018).

La desventaja más importante es que los envases de vidrio no pueden almacenar volúmenes grandes para asegurar la calidad de la muestra. Dicho inconveniente puede ser solventado definiendo un volumen mínimo de muestra obtenido después de hacer un análisis de cómo varía la muestra a diferentes volúmenes y establecer el ideal (J. Correia-Prata et al. 2019). Este muestreo se recomienda para MPs menores de 100 micrómetros (W. Wang et al. 2018).

4.3. Control de calidad en muestreo de las aguas

Algunos detalles que deben tenerse en cuenta para mantener la calidad del muestreo se mencionan a continuación.

Hay que incluir un medidor de flujo en los métodos para muestras concentradas

para estimar el volumen de agua filtrada. Aún no está establecido el volumen de agua que debe ser muestreado. Koelmans et al. (2019) han propuesto un volumen mínimo de 500 litros en el caso de agua superficial muestreada con redes (para MPs mayores de 300 μm). También proponen que para MPs entre 100 y 300 μm se tomen volúmenes más pequeños (L. Cabernard et al. 2018).

Según Sedlak et al. (2017), es apropiado combinar los métodos o utilizar varios filtros a la vez, colocando unos sobre otros, de forma que queden superpuestos. Dependiendo del tamaño de los MPs de interés se puede seguir un procedimiento u otro.

Durante el muestreo, las principales fuentes de contaminación pueden ser la ropa, el instrumento que está en contacto con la muestra y los dispositivos utilizados para trasvasar la muestra de los recolectores a los envases de almacenamiento. Por esto

es recomendable utilizar ropa 100 % de algodón, guantes de nitrilo o de látex, y que los instrumentos de laboratorio sean de vidrio o metal.

También es conveniente lavar previamente los utensilios y el equipo de laboratorio con agua destilada o prefiltrada.

Para disminuir errores, se sugiere realizar un blanco de procedimiento (agua pura) y un blanco enriquecido (agua pura con una cantidad conocida de MPs) (L. Mai et al. 2017).

Para que el método de muestro pueda ser reproducible es fundamental informar sobre todo lo realizado, como la profundidad a la que se realiza el muestreo, la velocidad, duración del arrastre y el resto de parámetros que se hayan elegido (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

5. (PRE)TRATAMIENTO DE MUESTRA

Debido a la complejidad de algunas matrices y composición de los MPs, no es posible analizarlos directamente. Por tanto, después del muestreo, los MPs deben ser extraídos de la muestra para su posterior análisis y caracterización. Los pasos de pre y tratamiento tienen la finalidad de eliminar materiales no plásticos, como son los minerales y la materia orgánica (J. Pinto da Costa et al. 2019).

Las técnicas utilizadas para extraer los MPs de la matriz son la separación por

densidad, el tamizado, la filtración y la digestión (W. Wang et al. 2018).

5.1. Separación por densidad

La separación por densidad aprovecha la diferencia de densidad entre los compuestos de interés y otros no deseados, utilizando la fuerza de flotación de un líquido con una densidad intermedia para separar los compuestos menos densos de los más pesados.

Resumidamente, la muestra se mezcla con una solución de flotación, agitando homogenizar la suspensión y después se deja reposar durante horas para que los materiales más densos se asienten. Por último, las fracciones de sobrenadante son las que se recogen, mediante filtración, para analizarlas posteriormente. Este método suele aplicarse comúnmente después de alguna digestión para remover la materia orgánica. (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

Las densidades específicas para la mayoría de los polímeros varían notablemente, entre 0,8 y 1,70 g/cm³. Existen diferentes soluciones salinas para la separación por densidad. (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

La NOAA recomienda utilizar el NaCl (1,202g/cm³) porque es económico y no dañino para el medio ambiente. Es adecuado emplear la solución de NaCl para extraer los MPs de baja densidad, como el polietileno (PE, 0,917-0,965 g/cm³), el polipropileno (PP, 0,85-0,94 g/cm³) y el poliestireno (PS, 1,04-1,1 g/cm³) (W. Wang et.al, 2018). Sin embargo, su baja densidad (1.2 g/cm³) hace que no separe polímeros de alta densidad, como el PVC (1,3-1,7 g/cm³), PET (1,4-1,6 g/cm³), o polímeros que tienen aditivos (J. Gong et al. 2020), lo que llevaría a una subestimación de polímerosy, por consiguiente, de MPs en general.

Otros autores aconsejan utilizar NaI o ZnCl₂ en sus investigaciones, puesto que, debido a sus densidades, alrededor de 1,6 g/cm³, son capaces de separar polímeros que contengan aditivos o de mayor densidad. El uso de ZnCl₂ tiene varias ventajas: presenta hasta 99 % de recuperación; es económico, y la muestra solo necesita ser lavada, mientras que con NaCl se requieren tres lavados. Pero, la solución de ZnCl₂ es dañina para el medio ambiente y corrosiva. En el caso del NaI, el porcentaje de recuperación es del 91 %, también se necesita lavar la muestra solo una vez, tiene un bajo impacto en el medio ambiente y puede reutilizarse hasta diez veces. Las desventajas que presenta es que es muy costoso y reacciona con los filtros de celulosa, haciendo que se vuelvan negros y resulte muy difícil el análisis visual.

Por otro lado, algunos autores recomiendan realizar dos pasos en este tipo de separación; utilizar primero una sal de baja densidad y después una sal más densa. De esta forma, se disminuye la cantidad de sal dañina utilizada y se pueden recuperar polímeros con densidades muy diferentes, aumentando así el porcentaje de recuperación (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

5.2. Filtración

La filtración es una técnica que se utiliza para separar partículas microplásticas de muestras de agua a granel o soluciones sobrenadantes, obtenidas de la separación por densidad, mediante el uso de un utensilio filtrante que solo deja pasar el líquido.

Los filtros que pueden usarse son de fibra de vidrio, nitrocelulosa, membranas de policarbonato, de zooplancton y de isoporos, siendo el primero el más utilizado. El tamaño de poro de los filtros suele oscilar variar de 0,45 a 20 mm (W. Wang et al. 2018).

A pesar de que la filtración es un proceso simple, a veces ocurren complicaciones porque los líquidos también contienen otros tipos de partículas o desechos microscópicos, que pueden obstruir fácilmente el filtro y, por lo tanto, reducir su eficacia. Este inconveniente se puede solucionar reduciendo el volumen de la solución, dejando reposar los líquidos durante más tiempo para que se sedimenten el mayor número de partículas sólidas pesadas, realizando una prefiltración con un filtro de poros más grandes o añadiendo ciertos productos químicos (p. ej., sulfato ferroso) al líquido para flocular la fracción sólida (W. Wang et al. 2018). En resumen, hacer una filtración sin haber realizado alguna separación por densidad o digestión antes puede provocar que el filtro se sature (P. Kang et al. 2020). Para minimizar la pérdida de MPs por su adherencia a las paredes del material de laboratorio, se aconseja enjuagar reiteradamente las paredes del material durante el proceso (W. Wang et al. 2018).

5.3. Tamizado

El tamizado se suele realizar previamente a otros métodos de separación, como una digestión, y sobre todo cuando la muestra contiene una gran cantidad de material biológico. Generalmente, se utilizan tamices de metal, como acero inoxidable o cobre, y filtros de fibra de vidrio. El tamiz atrapa físicamente los materiales sólidos que son más grandes que el tamaño de poro de la malla y deja pasar el agua y las partículas más pequeñas. Después de cada tamizado es recomendable enjuagar el tamiz o filtro.

Algunas de las desventajas que presenta este método son que se obstruyen

fácilmente los orificios del tamiz; es difícil obtener fracciones de tamaño de amplio rango y el procesamiento de la muestra conlleva mucho tiempo. Para ahorrar tiempo, se pueden usar pilas de tamices superpuestos o filtros con distintos tamaños de apertura para separar los diferentes MPs.

Los tamaños de malla del tamiz se escogen según el rango de tamaño de los MPs de interés y, por lo general, están en el rango de 38-4750 μm (W. Wanget al. 2018).

5.4. Digestión

Este proceso sí que forma parte del tratamiento de la muestra, mientras que los tres métodos anteriormente mencionados se incluyen dentro del pretratamiento.

La digestión es utilizada mayormente para sedimentos marinos o para muestras biológicas, pero algunos autores la recomiendan para cualquier muestra. Es un proceso que tiene como objetivo eliminar los materiales orgánicos adheridos a la superficie de MP y que pueden interferir en la identificación y caracterización precisas de los MPs. Se han desarrollado varias técnicas para el proceso de disolución de biomateriales, que normalmente utilizan compuestos ácidos, alcalinos y/o enzimáticos (W. Wang et al. 2018).

La digestión por oxidación ha sido examinada por muchos autores, variando tanto los oxidantes y su concentración como el tiempo de exposición de los mismos con la muestra. El oxidante que ha resultado ser más eficaz es el H_2O_2 . Nuelle et al. (2014) informaron en su investigación que las soluciones de 30 a 35 % de H_2O_2 son capaces de remover más materia orgánica que las soluciones de NaOH (20, 30, 40 y 50 %) y HCl (20 %), pero modificaron el color y tamaño de los MPs. Para impedir que ocurra esto, se ha probado una modificación basada en una reacción de Fenton, como lo recomienda la NOAA, con la finalidad de acortar los tiempos de reacción y llevar a cabo el experimento a temperatura ambiente. Esta reacción consiste en mezclar H_2O_2 y Fe (II) como catalizador (Y. Adomat et al. 2021).

La digestión ácida produce diversos efectos, en función del tipo de MP. Algunos estudios donde se ha analizado el uso de HNO_3 reportan que este ácido es más eficiente oxidando la materia orgánica que otros ácidos. Sin embargo, es capaz de disolver ciertos polímeros como el poliestireno (PS) y el polietileno (PE). El HCl no se recomienda porque no llega a remover toda la materia orgánica. La digestión alcalina tampoco es muy recomendada porque afecta a otro tipo de MPs como el policarbonato (PC), tereftalato de polietileno (PET) y el policloruro de vinilo (PVC). Se

desintegraron utilizando una solución 10 M de NaOH (Stock et al. 2019). El empleo de KOH podría ser una solución prometedora, ya que Kühn et al. (2017) descubrieron que únicamente afecta al acetato de celulosa (CA) y a otros plásticos “biodegradables”.

La degradación enzimática es una buena alternativa, además de eficiente, para eludir posibles daños a los propios MPs durante el proceso de degradación orgánica. Algunas de las enzimas que se han estudiado son la celulasa, lipasa, amilasa, proteasa y quitinasa, pero la que demostró mayor eficacia en la degradación, de hasta un 97 %, es la proteinasa-k (Y. Pico et al. 2019). Sus principales inconvenientes son que lleva mucho tiempo para digerir las muestras y se necesitan unas condiciones específicas para conservar las enzimas, aparte de que es más costosa que el resto de técnicas (Y. Adomat et al. 2021).

6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS

6.1. Método visual

Después de la separación y purificación, los MP objetivo son identificados ópticamente y se separan de la matriz restante empleando unas pinzas u otro utensilio. Los plásticos de tamaño grande se pueden clasificar directamente, pero los más pequeños necesitan una observación adicional bajo un microscopio (L. Mai et al. 2018).

Algunos investigadores han sugerido criterios para la clasificación visual de MPs, pero no siempre son aplicables ya que solo son válidos para la clasificación de MPs grandes. Por tanto, se tienen que utilizar otras técnicas instrumentales (como FTIR y espectroscopia RAMAN) para una mayor identificación (L. Mai et al. 2018).

El método visual permite que los MPs se clasifiquen según su tamaño, color y forma, posibilitando las deducciones sobre su origen. Por esta razón, se aconseja mejorar este método para el futuro y suplementarlo con caracterización química. Es cierto que es sencillo y económico, pero también es subjetivo. Debido a esto, se puede llegar a subestimar o sobrestimar la abundancia de MPs, incluso se ha llegado a probar en diversas investigaciones que cuanto menor tamaño tiene el MPs más falsos positivos se cometen. Los equipos más utilizados en los métodos visuales son los que se mencionan a continuación:

- Microscopios ópticos

Los microscopios ópticos son apropiados para visualizar muestras de gran volumen. Se han empleado diferentes tipos de microscopios para el análisis de MPs, pero los más usuales son los estereoscopios o los microscopios de disección (magnificación de 10-40 X). Para mejorar el método visual se han utilizado tintes que facilitan la diferenciación de los polímeros de otros materiales. Por ejemplo, el rojo Nilose adsorbe en la superficie del polímero y se identifica con microscopía de fluorescencia. Este colorante ha demostrado ser el más eficaz para teñir MPs mayores de 20 μm , pero presenta algunas desventajas como son la tinción de materiales naturales y que algunos polímeros se tiñen débilmente, como el policloruro de vinilo (PVC) y el poliacetato (PA). También se han aplicado pruebas de fusión (método de la aguja caliente), en las que la composición de los MPs se averigua al fundirse ya que cada polímero tiene un punto de fusión determinado. El problema se encuentra en que este método puede dañar al polímero y no se recomienda para MPs menores de 1 mm.

- Microscopio electrónico de barrido (SEM)

La diferencia principal entre la microscopía electrónica de barrido (SEM) y la tradicional es que la SEM emplea un haz de electrones para ampliar la imagen en vez de uno de luz. Este microscopio tiene mayor resolución que los microscopios tradicionales, por lo que sus resultados son más precisos, es capaz de detectar MPs hasta de 1 μm y permite conocer la morfología de las partículas, así como su meteorización mediante la visualización de grietas (W. Wang et al. 2018). También existen variantes del método, como son el SEM junto con espectroscopia de rayos X de dispersión de energía (SEM-EDS), que ayuda a diferenciar de manera más simple el material natural de los MPs mediante imágenes y análisis elemental. A pesar de ser un método satisfactorio en la identificación y caracterización de la superficie de los MPs, se requiere mucho tiempo en la preparación de la muestra, así que no es factible cuando hay muchísimas muestras. Una de las desventajas que presenta es que no es capaz de identificar el tipo de polímero, solamente el PVC porque contiene cloro (A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

6.2. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

La espectroscopia infrarroja es una técnica muy potente para identificar compuestos orgánicos e inorgánicos puros ya que todas las especies químicas moleculares (excepto las moléculas homonucleares como O_2 , N_2 y Cl_2) absorben radiación en el espectro del infrarrojo. Cada compuesto molecular presenta un espectro de absorción infrarroja único por lo que los espectros IR generados por los

materiales plásticos tienen patrones y bandas muy diferentes y, por consiguiente, son muy específicos para cada uno de ellos.

El fenómeno físico en el que se basa esta técnica es el cambio de la polaridad de la molécula (cuantificada por el momento dipolar) cuando se le aplica luz infrarroja, dando lugar a una determinada absorbancia a distintas longitudes de onda. La energía de la radiación infrarroja es capaz de excitar transiciones vibratorias y rotatorias, pero es insuficiente para excitar transiciones electrónicas (D.A. Skoog et al. 2015). Esta energía vibracional se corresponde con una frecuencia de luz IR y es la responsable de darnos información sobre la composición de la molécula (átomos que la constituyen, tipo de enlace, estructura...) (M.Á. Martínez 2019).

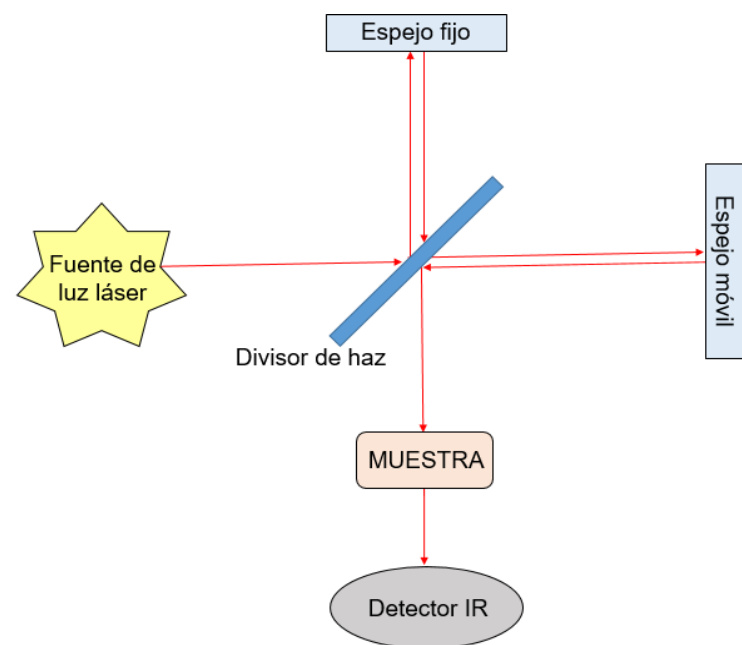


Figura 6.7. Esquema simple de un equipo FT-IR

Actualmente, los espectrómetros FTIR son más usuales que los elementos dispersivos utilizados antiguamente. A diferencia de estos últimos, los instrumentos de transformada de Fourier no contienen elementos de dispersión, se pueden detectar todas las longitudes de onda y se miden simultáneamente utilizando un interferómetro de Michelson. Para separar las longitudes de onda, la señal de la fuente debe modularse y hacerla pasar a través de la muestra para que se registre como un interferograma. Posteriormente, el interferograma se decodifica mediante una transformación de Fourier, que podemos definirla como una operación matemática realizada convenientemente por un dispositivo electrónico y la cual es, en la actualidad, una parte fundamental de todos los espectrómetros. El interferómetro de

Michelson está compuesto por una fuente de luz colimada, un espejo fijo en la parte superior, un espejo móvil a la derecha, un divisor de rayos y un detector, que por lo general es un espejo similar a los espejos de “dos vías”. El divisor de rayos permite que una parte de la luz que llega a él pase a través del espejo y que otra fracción sea reflejada (D.A. Skoog et al. 2015). El objetivo principal del interferómetro es seccionar el rayo incidente en dos rayos que se mueven por el espacio independientemente y después se recombinan en el detector. Es en esta zona donde ambos frentes de onda interaccionan para formar un patrón de interferencia constituido por bandas alternas. Estas franjas aparecen en el detector como una imagen. El análisis de Fourier nos muestra que cualquier forma de onda se representa como una serie de ondas de formas sinusoidales. Sometiendo la señal sinusoidal a un análisis de Fourier a través del algoritmo transformada rápida de Fourier (TRF), se puede obtener el espectro de frecuencia. Como la salida del interferómetro es una onda sinusoidal de una sola frecuencia, el espectro de frecuencia muestra un solo pico de frecuencia ν ; la de la onda sinusoidal original. Esta frecuencia es proporcional a la frecuencia óptica emitida por la fuente láser, aunque su valor es más bajo. Así pues, puede ser medida y manipulada electrónicamente. A continuación, se modifica el interferómetro para que se pueda obtener otra onda sinusoidal en la salida (D.A. Skoog et al. 2015). Existen diferentes modos de análisis por FTIR, proporcionando diversas aplicaciones cualitativas y cuantitativas y permitiendo analizar distintos tipos de muestras. A continuación, se pueden ver:

- Transmisión: Se basa en la absorción de la radiación infrarroja de una determinada longitud de onda a su paso por la muestra. Es la técnica más tradicional y se puede utilizar sola o en combinación con otros instrumentos como microscopios para analizar una amplia variedad de muestras. Ofrece buenos resultados tanto en el análisis cualitativo como cuantitativo y es una técnica relativamente económica (M.Á. Martínez 2019).
- Reflexión: La reflexión total o atenuada se produce cuando un haz de luz atraviesa un medio con diferentes índices de refracción. Dependiendo de los cambios en el índice de refracción y el compuesto, se obtendrá un haz reflejado con una composición que varía con estos cambios. Esta modalidad produce una técnica con alta sensibilidad capaz de detectar elementos de angstrom de espesor en sustratos metálicos (M.Á. Martínez 2019).

- Reflexión difusa (DRIFTS): al direccionar la radiación IR a la superficie de una muestra, la radiación incidente puede reflejarse en la superficie de la partícula sin penetrarla, o puede reflejarse varias veces en la superficie de ésta sin penetrarla. La reflexión difusa ocurre cuando la radiación incidente penetra en una o más partículas y se dispersa desde la matriz de la muestra. Esta radiación dispersada es recogida por el componente óptico del instrumento y dirigida a un detector encargado de producir el espectro (Thermo Fisher SCIENTIFIC).

A parte de lo ya mencionado, la espectroscopia FTIR puede ofrecer datos complementarios sobre la descomposición de las muestras de plástico, permitiendo así estimar el grado de degradación, en función de la magnitud del grado de oxidación. Esto se puede alcanzar, por ejemplo, determinando la cantidad de carbonilo presente, ya que la formación de este grupo está asociado a la oxidación de algunos plásticos como son el polietileno (PE) (J. Pinto da Costa et al. 2019).

Otra ventaja que presenta es que es capaz de identificar MPs sin que el resultado se vea afectado por el fenómeno de fluorescencia. Como se mencionó al inicio, la caracterización de MPs utilizando FTIR es a día de hoy la técnica experimental predominante puesto que la identificación de materiales mediante esta técnica no se ve afectada por el tamaño ni la forma de los mismos, entre otras características. Algunas de las limitaciones que presenta son que identifica MPs con un tamaño superior a 500 μm , que solo puede analizarse una partícula a la vez, y que los resultados pueden verse afectados por la presencia de CO_2 y H_2O , por lo que la muestra debe estar muy bien secada y realizar el análisis en una atmósfera inerte (M. Zhang et al. 2020; A. Arredondo-Navarro et al. 2023).

Una vez se tiene una visión general de la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, se va a ver una variante de la misma; la microespectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.

La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (micro-FTIR) es el resultado de la combinación de la espectroscopia de infrarrojo (FTIR) con la microscopía óptica. El principio básico de esta técnica está basado en la excitación de grupos moleculares por un haz de luz infrarroja equivalente a una longitud de onda comprendida entre 4000 a 650 cm^{-1} (infrarrojo medio), que genera movimientos vibracionales en los enlaces de la molécula (G. Barraza-Garza et al. 2013).

Los movimientos vibracionales se diferencian según el desplazamiento ocasionado en los enlaces, pudiendo ser vibraciones de tensión o flexión. Las tensiones ocasionan un estiramiento o estrechamiento del enlace y las flexiones producen una deformación del enlace. En el caso de que el número de átomos que forman un enlace sea tres o más, los movimientos también pueden ser simétricos y antisimétricos (L.M. Miller et al. 2010). En los simétricos los enlaces se desplazan en direcciones contrarias y en los movimientos antisimétricos se mueven en la misma dirección o sentido (G. Barraza-Garza et al. 2013).

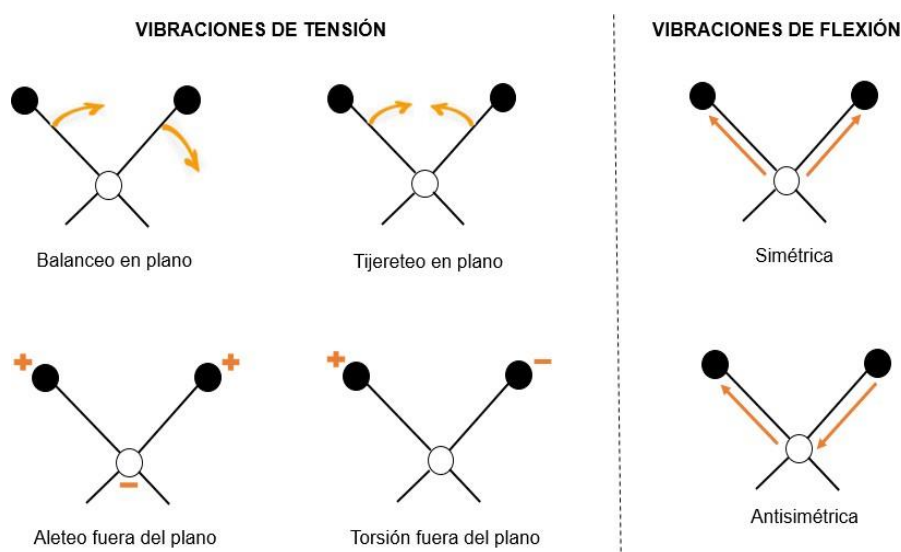


Figura 6.8. Modos de vibración

El análisis de una muestra por FTIR, como ya se ha explicado anteriormente, arroja un espectro de absorción de infrarrojo el cual ofrece información de la estructura y concentración molecular. A este conjunto de señales se les conoce como la "huella dactilar" del compuesto puesto que es algo característico de cada uno.

La micro-FTIR presenta la ventaja de que la radiación emitida de estas fuentes no es ionizante, lo que permite alargar los experimentos desde los mili-segundos hasta varias horas de duración sin que exista una fragmentación de la estructura del compuesto (G. Barraza-Garza et al. 2013)

De forma general, el análisis por micro-FTIR se lleva a cabo de la manera que va a ser explicada a continuación. El estudio se realiza mediante la incidencia de un haz de luz infrarroja sobre la muestra, pudiendo ser en modo de transmisión o reflexión. El parámetro principal que hay que tener en cuenta es la relación señal/ruido. La calidad de los resultados obtenidos en estos experimentos va a variar dependiendo del tipo de fuente de radiación utilizada además de la relación señal/ruido obtenida de

la fuente (L.M. Miller et al. 2006). Las fuentes de radiación de infrarrojo más utilizadas para los estudios de micro-FTIR son la fuente termal convencional (p. ej., global, que es una fuente de radiación de cuerpo oscuro) y la fuente de sincrotrón. La principal diferencia entre estas fuentes de radiación es la resolución espacial que se puede obtener con cada una de ellas. Esta depende del número de onda utilizada y de la apertura por la que pasa el haz de luz utilizado (L.M. Miller et al. 2006). La fracción señal/ruido disminuye en función del tamaño de la apertura, generando un límite práctico de resolución espacial entre los 2 a 10 μm . Esto sucede debido a que la cantidad de fotones que llegan al detector va decreciendo conforme se aproxima al límite práctico (L.M. Miller et al. 2010). Aquí es donde la radiación de sincrotrón juega un rol importante ya que a pesar de la pequeña apertura (5 a 10 μm), es una fuente de 100 a 1000 veces más intensa que las fuentes convencionales, lo que permite que se puedan realizar ensayos en donde se requiere de una mayor resolución espectral (L.M. Miller et al. 2006). El haz de luz que se obtiene de este tipo de fuente de infrarrojo mejora de manera significativa los resultados obtenidos. El uso de la radiación de sincrotrón ofrece ventajas notorias en cuanto a brillantez, pero han sido los recientes desarrollos en óptica (ATR) y en detectores (FPA) los que han favorecido la implantación y extensión de esta técnica en los laboratorios.

A modo de aclaración, se va a explicar brevemente qué es la radiación de sincrotrón. La radiación IR generada en un sincrotrón es emitida por electrones que son acelerados hasta casi la velocidad de la luz en una trayectoria circular u órbita por acción de imanes colocados alrededor de un anillo aislado en alto vacío. El haz extraído es de solo unos micrómetros y dentro de sí contiene el rango de los números de onda del espectro medio del IR. Después, este haz es focalizado e introducido en un espectrómetro FTIR como una fuente de radiación (L.M. Miller et al. 2006). En comparación, una fuente IR de cuerpo oscuro (p.ej., global) emite su radiación con una distribución de 360 grados, lo que hace que tenga una menor eficacia y perfección (G. Barraza-Garza et al. 2013). A pesar de que se puede obtener bastante información usando una fuente IR convencional, el uso de una fuente de sincrotrón mejora de forma contundente los resultados que se pueden obtener en un estudio con micro-FTIR. El análisis de la muestra se concluye cuando la señal es captada por un detector.

Los microscopios de infrarrojo se equipan normalmente con detectores de telurio de mercurio-cadmio enfriados con nitrógeno líquido (MCT por sus siglas en inglés) (L.M. Miller et al. 20010). Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado los detectores de arreglo de plano focal (FPA por sus siglas en inglés) que constan de

cientos de elementos detectores de infrarrojo, permitiendo obtener imágenes de grandes áreas con una alta resolución espacial, lo que significa un gran ahorro de tiempo en comparación de los detectores MCT. Aun así, en la actualidad, los detectores FPA tienen una relación señal/ruido inferior a la de los detectores MCT (G. Barraza-Garza et al. 2013).

6.3. Espectroscopia RAMAN

La espectroscopia RAMAN es una técnica espectroscópica no destructiva que permite observar modos de baja frecuencia en un sistema, como interacciones rotacionales y vibratorias. Se trata de una técnica fotónica sencilla que proporciona una huella estructural (J. Pinto da Costa et al. 2019) e información química de casi todos los compuestos, ya sean orgánicos o inorgánicos, permitiendo así que sean identificados. Gracias a esto, se ha podido aplicar con éxito en la identificación de partículas microplásticas en diversas matrices ambientales (J. Pinto da Costa et al. 2019).

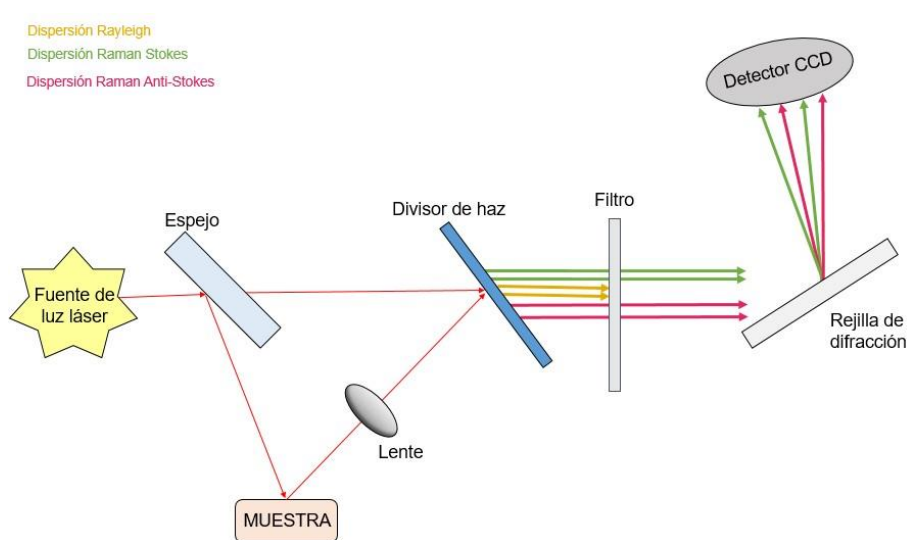


Figura 6.9. Esquema simple de un equipo RAMAN

La espectroscopía RAMAN se rige por el efecto RAMAN, así que es conveniente explicar en qué consiste. Dicho fenómeno es un efecto de dispersión que ocurre cuando, al incidir un haz de luz monocromático con fotones con una determinada energía, la cual es bastante mayor que la diferencia de energías entre dos niveles vibracionales, gran parte de ellos son capaces de atravesar la molécula mientras que una pequeña porción se dispersa. Esta dispersión se debe a que el fotón incidente provoca que la molécula se excite, por un momento, a un nivel de energía

vibracional superior no permitido y al relajarse y volver a uno de los niveles permitidos emite un fotón cuya frecuencia va a depender del salto energético realizado por la molécula (C.F. Araujo et al. 2018). Para explicar este efecto, consideramos entonces la radiación electromagnética como partícula.

De forma mayoritaria, los fotones se dispersan elásticamente, es decir, tienen la misma frecuencia que la luz incidente pero una pequeña fracción (1 de cada 10^7 fotones) sí que cambia su frecuencia, conociéndose esto como dispersión inelástica (C.F. Araujo et al. 2018). Si el choque ha sido inelástico y se ha perdido o ganado energía, la molécula no va a volver justamente al mismo nivel de partida, sino que se encontrará en un nivel rotacional o vibracional diferente. La diferencia de energía entre estos niveles es lo que modifica la frecuencia del fotón emitido. Las tres formas de dispersión que pueden darse se muestran en el siguiente diagrama de energía, seguido de una breve explicación de cada una de ellas (J. Otero et al. 2015).

- Dispersión Rayleigh: se produce cuando el choque es elástico, por lo que la frecuencia del fotón incidente y emitido es la misma. Por tanto, si la frecuencia no varía, tampoco hay variación en la energía. Este proceso no proporciona ningún tipo de información espectroscópica.
- Dispersión Raman-Stokes: se da si el choque es inelástico. En este caso, la frecuencia del fotón emitido es menor que la del fotón incidente, lo que quiere decir que ha transferido parte de su energía a la molécula. Así pues, la molécula se va a encontrar ahora en un estado vibracional o rotacional superior al inicial.
- Dispersión Raman Anti-Stokes: también se da cuando el choque es de tipo inelástico, pero la frecuencia del fotón emitido es mayor que la frecuencia del fotón incidente. Esto quiere decir que la molécula no se encontraba en su estado fundamental y, al proporcionarle energía al fotón incidente, decae al estado mínimo de energía. (J. Otero et al, 2015).

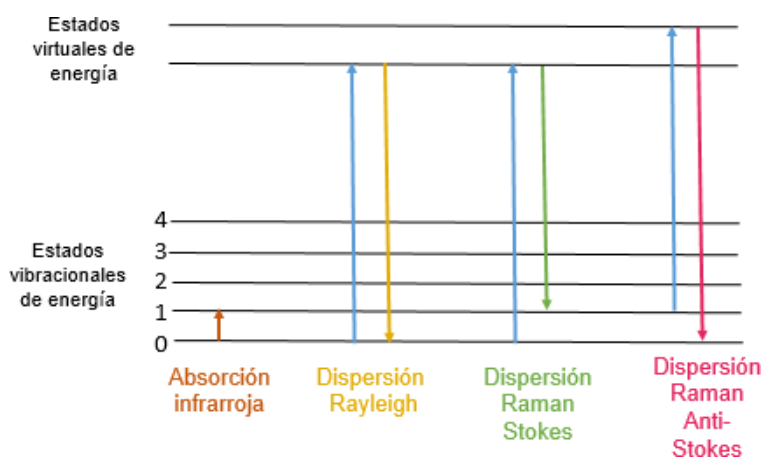


Figura 6.10. Tipos de dispersiones RAMAN

La región del espectro donde se percibe el efecto RAMAN depende de dos factores: la radiación incidente y la energía de los niveles moleculares involucrados en el desplazamiento. Normalmente, estas dos energías se encuentran en la región del visible, pero hay casos en los que se observan en la región del ultravioleta y la región cercana al infrarrojo. El efecto RAMAN que tiene mayor importancia es el que se refiere a la energía vibracional, aunque en ocasiones también se estudie en los niveles rotacionales y electrónicos (J. Otero et al. 2015). Concluyendo, cada material va a tener una serie de valores de frecuencias RAMAN característica de su estructura atómica y de los enlaces que la conforman.

En general, un espectro RAMAN es una representación de la intensidad de la luz dispersada en función del número de onda al que se produce dicha dispersión. Se observa una banda central, correspondiente a la dispersión Rayleigh, de gran intensidad, y a cada lado de ella se colocan, simétricamente, las bandas Raman-Stokes y Raman Anti-Stokes. (J. Otero et al. 2015).

Una de las principales ventajas de la espectroscopía RAMAN es que permite una caracterización química de los MPs sin destruirlos, lo que es muy ventajoso en aquellos casos en los que se necesite realizar más de un análisis de la muestra.

Otras ventajas serían la alta fiabilidad, el alto rendimiento en la detección, la baja cantidad de muestra que se necesita y poca preparación de la misma, una muy buena resolución espacial, rango espectral más amplio, enlaces espectrales más estrechos y menor sensibilidad a la interferencia del agua, lo que hace que se pueda utilizar para analizar matrices acuosas. Además, el tiempo de análisis se puede considerar corto en comparación con otras técnicas como FTIR. Incluso si se combina la espectroscopía RAMAN con microscopía, dando lugar a la micro-RAMAN, es

posible identificar MPs de hasta 1 μm de tamaño, lo cual es muy difícil de conseguir con otras técnicas espectroscópicas (W. Wang et al. 2018).

A continuación, también se van a nombrar algunas de las desventajas que también presenta. El principal inconveniente de las técnicas RAMAN es que interfieren fácilmente los aditivos, pigmentos o productos químicos unidos a los MPs, pudiendo afectar de manera negativa a la precisión de la identificación. La relación señal/ruido de esta espectroscopia es demasiado baja y, por lo tanto, puede hacer más difícil el análisis del espectro, pero, a pesar de eso, no impide que la espectroscopia RAMAN sea una valiosa técnica analítica en la investigación de MPs (W. Wang et al. 2018).

La fotoluminiscencia también es un problema en las mediciones porque ocasiona alteraciones en los picos espectrales. Puede darse fluorescencia o fosforescencia, siendo la fluorescencia el fenómeno que aparece comúnmente. La intensidad de dicha señal es más grande que la de la dispersión Raman-Stokes en varios órdenes. Aun así, se han desarrollado métodos que permiten disminuir, o incluso eliminar, la emisión por fluorescencia (A. Villanueva-Luna et al. 2013).

La espectroscopía RAMAN también se puede aplicar en el análisis de moléculas homonucleares. A diferencia de la espectroscopía infrarroja, en la que es necesario un cambio en el momento dipolar de la molécula, para la espectroscopía Raman es necesario un cambio en la polarizabilidad, lo cual permite obtener información espectral complementaria sobre moléculas homonucleares (J. Otero et al. 2015).

Otra desventaja que presenta la técnica RAMAN es que es posible que caliente la muestra debido al láser que se utiliza como fuente de luz, produciendo una emisión de fondo y a veces la degradación del MP (C.F. Araujo et al. 2018). Un detalle atener en cuenta sería que el equipo RAMAN es hasta cinco veces más caro que uno FTIR (L. Mai et al. 2017).

Una variante de la espectroscopía RAMAN que se emplea para la identificación de MPs es la microscopía confocal RAMAN. Se trata de un sistema mejorado que proporciona información sobre las estructuras de muestras delgadas de forma exhaustiva.

La microscopía confocal ofrece una resolución espacial más alta, además de permitir el análisis de perfiles de profundidad en estructuras muy finas tridimensionales. Simplemente con agregar un microscopio a un espectrómetro

RAMAN no se consigue un resultado controlado, por lo que se necesita un filtro espacial. La microscopía confocal RAMAN hace referencia a la capacidad de filtrar espacialmente el volumen de análisis de la muestra en los ejes xy (lateral) y z (profundidad), lo permite analizar partículas o capas individuales con dimensiones de 1 μm o menos.

Un microscopio micro-RAMAN consiste en un microscopio óptico estándar con motorización x-y-z, un láser de excitación, un monocromador, un cabezal RAMAN, un espectrómetro y un detector sensible, como un dispositivo de carga acoplada (CCD) o un tubo fotomultiplicador (PMT). Con este método, se puede reducir la intensidad de la señal de fluorescencia, usando una fuente de microscopio confocal, que hace que solamente la radiación dispersada por el área enfocada pase a través de la segunda abertura y llegue al detector.

De esta forma, se eliminaría la radiación dispersada en una zona menos enfocada. Debido a que las lentes objetivo de los microscopios enfocan el rayo láser a varios micrómetros de diámetro, el flujo de fotones es mucho mayor que en los instrumentos RAMAN convencionales. Esto también provoca que disminuya el fenómeno de fluorescencia. Sin embargo, el alto flujo de fotones puede llegar a ocasionar la degradación de la muestra, y por este motivo algunas configuraciones requieren de un sustrato que conduzca térmicamente para que actúe como un disipador de calor y se pueda frenar este proceso de degradación. La aplicación de la microscopía RAMAN confocal en análisis de productos farmacéuticos, polímeros y nanotecnología incluye también un análisis cualitativo.

Debido a que los polímeros exhiben espectros RAMAN característicos, este enfoque permite la identificación de partículas sospechosas en cuestión de minutos (J. Pinto da Costa et al. 2019). Combinando la microscopía RAMAN con técnicas como la imagen espectral RAMAN, es posible obtener imágenes con distribución espacial química y, en teoría, análisis espectral de filtros de membrana completa con alta resolución espacial (M.G.J. Löder et al. 2015).

La micro-RAMAN confocal, permite la detección e identificación de partículas plásticas en células y tejidos, con precisión subcelular. Combinado con la microscopía de fuerza atómica (AFM), RAMAN también puede permitir la identificación de nanoplasticos, operando AFM tanto en modo de contacto como sin contacto (W.J. Shim et al. 2017). Sin embargo, sería difícil y llevaría mucho tiempo encontrar y enfocar el láser AFM- RAMAN en una sola partícula de tamaño nanométrico y, como

tal, incluso si se demuestra de manera efectiva como una alternativa viable para la identificación de nanoplásticos en muestras ambientales, no sería factible en el análisis de un gran número de muestras (J. Pinto da Costa et al. 2019).

6.4. Degradación térmica junto a espectrometría de masas

Las técnicas de degradación térmica, como la pirólisis (Pyr) o la extracción y desorción térmica (TED), junto con la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS) son técnicas destructivas que permiten la identificación del tipo de polímero (PP, PE, u otros) de MPs mediante el análisis de sus productos de degradación térmica (J. Pinto da Costa et al. 2019). En estas técnicas, la identificación se basa en la comparación del espectro o pirograma obtenido con los espectros o pirogramas de polímeros/copolímeros conocidos (P. Kusch 2017). En primer lugar, debe saber que la pirólisis es una degradación térmica de una muestra en ausencia de oxígeno. Los productos resultantes se introducen en un cromatógrafo de gases para separar los constituyentes químicos y la determinación de los mismos se lleva a cabo con espectrometría de masas (MS). Resumiendo, a partir del análisis de los productos se puede saber el tipo de MP que es (J.S. Hanveya et al. 2017).

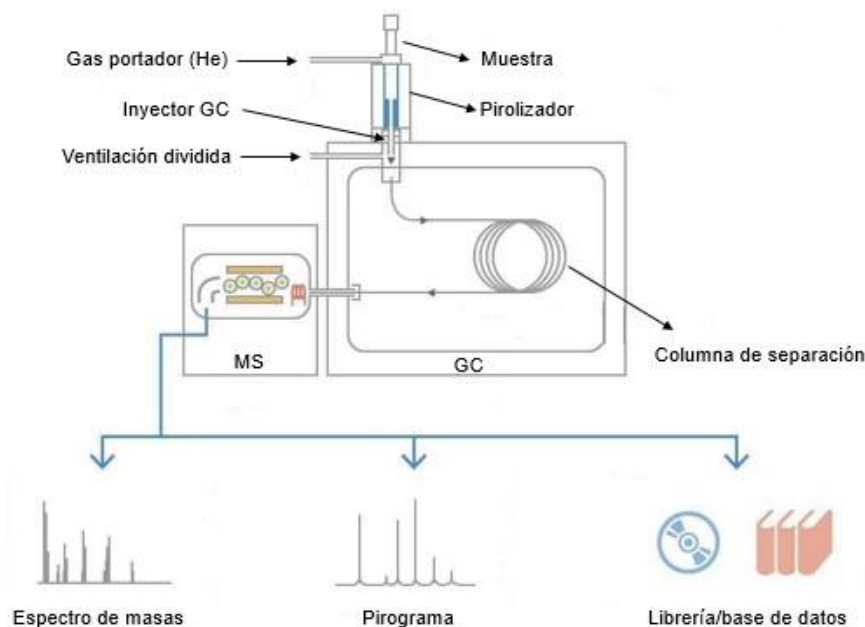


Figura 6.11. Esquema simple de un equipo Pyr-GC/MS

Como se ha comentado anteriormente, la pirólisis acoplada a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Pyr-GC-MS) es una técnica que descompone térmicamente las moléculas grandes con alto peso molecular, mediante

una ruptura favorecida por el calor en presencia de una atmósfera inerte o vacío, con el fin de obtener una serie de fragmentos de bajo peso molecular (C.B. Crawford et al. 2017). Bajo condiciones controladas y a un rango de temperatura entre 500 y 1400°C, utilizando un gas inerte como es el helio, se forman productos de descomposición reproducibles característicos de la muestra original de polímero. Los productos de pirólisis se separan mediante cromatografía de gases, utilizando una columna capilar de sílice fundida, y posteriormente se detectan con un espectrómetro de masas (P. Kusch 2017), el cual proporciona información característica sobre la composición estructural de las muestras de moléculas grandes, lo que permite identificar la composición de la muestra inicial (C.B. Crawford et al. 2017). El uso de bases de datos de pirogramas y espectros de masas (p. ej., NIST o Wiley) de polímeros de referencia, así como la interpretación de los datos experimentales, permiten la identificación fiable de los MPs (S. Veerasingam et al. 2022).

En función del mecanismo de calentamiento, los sistemas de pirólisis pueden clasificarse en dos grupos: el pirolizador de modo continuo (pirolizador de horno) y el pirolizador de modo pulsado (pirolizador flash), como el filamento calentado, el punto de Curie y el pirolizador láser. La sección de pirólisis se encuentra unida directamente al puerto del inyector del cromatógrafo de gases. Cuando la muestra de polímero se ha degradado, los fragmentos volátiles son arrastrados por el gas portador (helio) desde la unidad de pirólisis calentada hasta la columna del cromatógrafo de gases, donde se separan en sus componentes. La técnica para detectar los compuestos separados es la espectrometría de masas normalmente, pero también se han utilizado otros detectores de GC dependiendo de las intenciones del análisis (P. Kusch 2017).

Aunque la técnica más utilizada sea Pyr-GC/MS, también es conveniente comentar algo acerca de la TED-GC/MS. El método de espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases con desorción por extracción térmica (TED-GC/MS) se emplea más para el análisis de polímeros y sus procesos de degradación. Este método consta de dos pasos: primero, la muestra se descompone en un analizador termogravimétrico (TGA) y los productos de degradación gaseosos quedan adheridos a un adsorbedor de fase sólida. Luego, el adsorbedor en fase sólida se analiza mediante cromatografía de gases de desorción térmica-espectrometría de masas (TED-GC/MS).

La gran ventaja de Pyr-GC-MS es que la técnica permite introducir directamente la muestra sin apenas un tratamiento previo. Por lo tanto, a diferencia de la GC-MS

tradicional, no se precisa de la preparación de una solución orgánica altamente refinada y la muestra se puede analizar directamente. (C.B. Crawford et al. 2017). Esto también ocurre con la TED-GC/MS, por lo que son dos técnicas que permiten eliminar cualquier paso de pretratamiento y pueden identificar múltiples partículas en un solo paso, ya que no se requiere clasificación individual, exigiendo cantidades mínimas de muestra (5-200 microgramos) (J. Pinto da Costa et al. 2019). Por ejemplo, se pueden analizar simultáneamente tanto el tipo de polímero como los aditivos orgánicos que tengan los MPs en muestras ambientales (L. Mai et al. 2018).

Aun así, aunque solo sea necesaria una pequeña cantidad de muestra, en Pyr-GC/MS las partículas tienen que colocarse de forma manual en el tubo de pirólisis. Además, hay que tener en cuenta que ambas técnicas no permiten realizar un estudio físico de las muestras analizadas, incluyendo el número, color y tamaño (J. Pinto da Costa et al. 2019).

Si comparamos ambas técnicas, TED-GC/MS es más grande, más representativo es capaz de analizar matrices más complejas y es más fácil de manejar con cantidades de muestra de hasta 10 mg (S. Veerasingam et al. 2022)., por lo que Pyr-GC/MS se puede aplicar más favorablemente en análisis de trazas (W. Wang et al. 2018). También, la posibilidad de modificar dos parámetros fundamentales, como son la velocidad de calentamiento y el flujo de gas para purgar el TGA, se puede aprovechar para optimizar el proceso de extracción (S. Veerasingam et al. 2022).

Otro detalle a tener en cuenta sobre Pyr-GC/MS es que, al extraerse las muestras de matrices ambientales, las partículas de plástico se destruyen térmicamente antes de determinar la composición polimérica de cada muestra con GC/MS (L. Mai et al. 2018). Además, esta técnica permite que solamente una partícula atraviese el tubo de pirólisis por ciclo, lo que requiere más tiempo ya que una medición tarda entre 30 y 100 minutos (W. Wang et al. 2018) y está limitada por el tamaño de la abertura del tubo (< 1 mm) (L. Mai et al. 2018).

La Pyr-GC/MS también presenta un inconveniente a nivel de mantenimiento ya que necesita revisiones y mantenimientos constantes. Esto se debe a que los restos procedentes de la desintegración de MPs pueden concentrarse en el capilar, entre la cámara de pirólisis y el cromatógrafo de gases, pueden ocasionar así la contaminación de las muestras siguientes. Tampoco detecta aditivos inorgánicos o polímeros con subunidades polares. Sin embargo, con la técnica TED-GC/MS se evaden los problemas de obstrucción que se encuentran en Pyr-GC/MS (A. Arredondo-Navarro

et al. 2023).

Debido a que en Pyr-GC/MS las muestras solo se pueden manejar hasta cierto límite de tamaño, se restringe de manera inherente el análisis de partículas muy pequeñas y puede arriesgar la representatividad de la muestra, sobre todo en matrices complejas, ya que las muestras pueden no ser homogéneas a una escala más pequeña.

Puesto que la Pyr-GC/MS está limitada a cantidades bajas, complica su aplicación en el estudio de numerosas muestras y, por lo tanto, no es apropiada para exámenes de alto rendimiento. Dichas limitaciones pueden evitarse haciendo uso de la TED-GC/MS, concretamente para los tipos de polímeros más comunes como son PE, PP, PS, PAy PET.

Una vez más, sin embargo, la determinación de partículas y la caracterización morfológica de materiales aislados sigue siendo una grave limitación de este método, que ha sido validado únicamente para los tipos de polímeros más comunes antes mencionados, aunque aún no ha sido validado experimentalmente para otros polímeros, como PVC, PUR o PC (J. Pinto da Costa et al., 2019).

Las técnicas analíticas térmicas son conocidas generalmente como métodos de análisis de MPs complementarios a las técnicas espectroscópicas como son las espectroscopias FTIR y RAMAN, para conseguir así un análisis completo de MPs.

7. TABLA DE RESULTADOS

Tabla 7.3. Resultados del análisis de microplásticos en aguas superficiales en diferentes lugares. Muestreo, tratamiento, análisis y concentración de los mismos.

LUGAR DE MUESTREO	MUESTREO	(PRE)TRATAMIENTO MUESTRA	TÉCNICA DE ANÁLISIS	RESULTADO	REFERENCIA
Costa libanesa	300 m ³ durante 10 min con arrastres con red manta	Filtración sobre tamiz de acero inoxidable + filtración a vacío + conservación en placa Petri de vidrio	Estereomicroscopio + micro-Raman	4,3 ± 2,2 microplásticos/m ³ (77,5 % fragmentos, 15,25 % fibras, 7,25 % microesferas)	M. Kazour et al. 2019
Lago Superior	Arrastres con red manta cada 750 m aproximadamente	Filtración sobre tamiz de 250 micrómetros + resuspensión de las partículas del tamiz en agua milliQ + secado + oxidación con reactivo de Fenton + separación por densidad con NaCl + filtración	Estereomicroscopio + Py-GC/MS	19500 microplásticos/km ² (70% fibras, el resto eran partículas no plásticas)	E. C. Minor et al. 2020
Flandes (Bélgica)	43 muestras de 30 L cada una (cada muestra se recogía durante 15 min)	Almacenamiento a 4 °C + digestión con KOH + filtración + centrifugación de las aguas de enjuague + filtración del sobrenadante + dilución del sedimento con NaI + centrifugación + filtración del sobrenadante + digestión de los filtros de celulosa con KOH + filtración + secado	Espectroscopia micro-FTIR	480 ± 940 microplásticos/m ³ (49% PP, 49% PS, 2% PVC)	I.Semmouri et al. 2023
Sistemas kársticos	Muestras de 1L en condiciones de flujo bajo	Filtración + secado de filtros en estufa + oxidación con H ₂ O ₂	Linterna UV + Espectroscopia micro-FTIR	26000 microplásticos/m ³ (95,1% fibras, 4,3% fragmentos, 0,6% microesferas)	V. Balestra et al. 2022
Río Quin	420 muestras	Filtración + oxidación con H ₂ O ₂ + disolución de NaCl + reposo 24 h + filtración a vacío del sobrenadante + secado en estufa	Microscopio óptico vertical con cámara + microscopia FTIR	3 microplásticos/m ³ (105 fibras, 105 fragmentos, 50 líneas, 130 láminas, 30 espumas)	L. Zhang et al. 2020

PP: polipropileno

PS: poliestireno

PVC: cloruro de polivinilo

Tarragona	45,2 m ³ en total de las tres zonas muestreadas	Filtración con diferentes tamices + digestión alcalina con KOH + proceso Fenton (H ₂ O ₂ + FeSO ₄) + digestión enzimática	Microscopio estereoscópico + espectroscopia FTIR	1,3 microplásticos/m ³ (54%-63% fibras 29-46% fragmentos)	N. Expósito et al. 2021
Río Yangtze	-Muestreo durante 12-30 min en 3 sitios diferentes (las orillas izquierda y derecha y en el medio del río) -3 réplicas de 40 L de agua en cada sitio de muestro (profundidad de 0 a 30 cm)	Conservación de las muestras con metilaldheído en un lugar fresco y oscuro + tamizado con diferentes tamices + digestión con H ₂ O ₂ en el caso de que hubiera materia orgánica + filtración con filtros GF/F + secado del filtro a temperatura ambiente	Microscopio estereoscópico + espectroscopia FTIR	1635 microplásticos/m ³ (-Método de arrastre: 32,1% fibra 47,9% fragmentos 17,4% espuma 2,6% gránulos -Método de agua filtrada: 63,4% fibra 29,4% fragmentos 4,6% pellet 2,6% espuma)	D. He et al. 2021
Río Llobregat	7 muestras de 2,5 L cada una	Filtración con diferentes tamices + separación del plástico agregando ZnCl ₂ + filtración del sobrenadante con filtros de PTFE	Microscopio estereoscópico + microscopia FTIR	960 ± 460 microplásticos/ m ³ (55,4% fibras 44,6% fragmentos)	J. Dalmau-Soler et al. 2021
Río Ebro	Muestreo de agua durante 30 min contracorriente	Filtración a vacío + secado de los filtros de fibra de vidrio + almacenamiento en placa Petri	Microscopio estereoscópico + microespectroscopia FTIR	3,5 ± 1,4 microplásticos / m ³ (46,1% fibras 39,4% fragmentos 13,5% películas)	L. Simón-Sánchez et al. 2019
Kattegat/Skagerrak	Filtración de 1,04 ± 0,16 m ³ por estación (14 estaciones en total)	Adición de SDS a los filtros de acero + digestión enzimática + oxidación Fenton + tamizado + separación por densidad añadiendo SPT y reposo + recuperación de la fracción flotante + adición de etanol	Microespectroscopia FPA-FTIR	39 ± 23 microplásticos / m ³ (44% fibras 56% fragmentos)	K. Gunaalan et al. 2023
Río Wei	450 L en total (5 L en cada uno de los 15 lugares de muestreo mediante bombeo, 6 veces repetidamente)	Tamizado + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + pretratamiento con NaCl + filtración del sobrenadante + secado de los filtros	Microscopio metalográfico + SEM	7185 microplásticos / m ³ (38,25% - 61,95% fibras 17,4% - 38,2 % películas 10,6% - 20,3% fragmentos 0,4% - 7,8% gránulos)	L. Ding et al. 2019

PTFE: politetrafluoroetileno

SDS: dodecilsulfato sódico

SPT: superfosfato triple

SEM: microscopio electrónico de barrido

Río Amarillo	3 muestras de 5L cada una	Eliminación del sobrenadante + centrifugación del residuo + recuperación del residuo y extracción de los microplásticos con NaCl (método de flotación por densidad) + adición del sobrenadante al sobrenadante de las muestras de agua y filtración con diferentes tamices + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + filtración a vacío + almacenamiento de los filtros	Microscopio electrónico óptico + espectroscopia ATR-FTIR	744250 microplásticos / m ³ (93,12% fibras 2,12% fragmentos 4,76% partículas microplásticas no identificadas)	M. Han et al. 2019
2 subcuencas del mar Báltico (golfo de Riga y cuenca oriental de Gotland)	Muestreo con red manta durante 1 hora. Volumen total filtrado 639,1 ± 197,4 m ³	Almacenamiento en frasco de vidrio en frío + digestión con NaOH + baño de agua en agitación + filtración + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + filtración + digestión enzimática + filtración con filtros GF	Microscopio estereoscópico + espectroscopia ATR-FTIR	0,18 microplásticos / m ³ (229 fibras 6513 fragmentos 475 películas 162 microesferas)	M.Barone et. al 2023
Lago Wuliangsu	20 L	Almacenamiento en frío + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + filtración + secado de los filtros	Microscopio metalográfico + espectroscopia FTIR	7190 microplásticos/m ³	R. Mao et al. 2020
Costa este de la India (desde Ennore hasta Kovalam)	34 muestras con redes de arrastre de 750 mL cada una (25,5 L en total)	Filtración con tamices + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + separación de densidad con NaCl + filtración con filtros GF + secado al aire	Microscopio estereoscópico + caracterización por SEM-EDX + espectroscopia ATR-FTIR	417 microplásticos/m ³ (59% fibras 10% fragmentos 24% películas 7% gránulos)	P.M. Velmurugan et al. 2023
Bahía de Todos los Santos (Brasil)	40 L en cada uno de los tres sitios muestreados, en total 120 L	Tamizado + separación por densidad + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ + filtración con filtros GF + secado a temperatura ambiente	Microscopio estereoscópico + espectroscopia ATR-FTIR	5180 microplásticos/m ³ (52,67% fibras 43% fragmentos 2,33% películas 2% gránulos)	L.S. Trindade et al. 2023
Río Ganges	Filtración de 3600L (de los 10 sitios muestreados)		Microscopio óptico + espectroscopia FTIR modo transmisión	38 ± 4 microplásticos/m ³ (91% fibras 9% fragmentos)	I.E. Napper et al. 2021
Costa sur de Sri Lanka	12 muestras	Tamizado + secado de los tamices en horno + digestión oxidativa con H ₂ O ₂ en caliente + separación por densidad + filtración de la capa superior	Microscopio trinocular de alta potencia + espectroscopia FTIR	17,45 ± 3,35 microplásticos/m ³ (99,37% microfilamentos 0,25% microfilms 0,25% microfragmentos 0,13% varillas)	AMAIK Athapaththu et al. 2020

Filtro GF: tipo de filtro de fibra de vidrio

SEM-EDX: microscopio electrónico de barrido con detector de energía dispersiva

8. CONCLUSIÓN

La contaminación por MPs es un tema que está en auge desde las últimas décadas debido al aumento de contaminación en océanos, lagos y ríos de todo el mundo. Al tratarse de sustancias de muy pequeño tamaño, pueden distribuirse fácilmente, ser ingeridas por organismos acuáticos y acumularse a lo largo de la cadena alimentaria.

En la actualidad, a pesar de no existir una normativa global sobre la contaminación por MPs, diversos países y organizaciones internacionales han tomado medidas para abordar este problema y disminuir la cantidad de MPs que llegan al medio ambiente. Por ejemplo, en Estados Unidos, en 2015, se aprobó la Ley de aguas libres de microesferas, la cual prohíbe la presencia de microesferas en productos cosméticos y pastas de dientes, fabricados o distribuidos en Estados Unidos (S.D. Richardson et al., 2020). El Parlamento Europeo también aprobó una nueva ley por la que se prohíben los artículos de plástico de un solo uso (cubiertos, platos, vasos, pajitas, bastoncillos de algodón, etc.) en toda la Unión Europea a partir de 2021 (UE 2019). En otros países como Canadá, Australia y Nueva Zelanda también se han implantado ciertas medidas para reducir la contaminación por MPs. Además, la Organización Marítima Internacional (OMI) ha adoptado una resolución para abordar la contaminación marina, desarrollando un plan de acción para reducir la descarga de basura marina, incluyendo los residuos plásticos (OMI)

Dicho esto, a partir de la tabla del apartado anterior se pueden obtener varias conclusiones a cerca de los métodos de análisis llevados a cabo para estudiar la contaminación por MPs en diferentes lugares del mundo.

Como se ha podido observar, el método de muestreo es muy variado, no está establecido el método más adecuado, ni un volumen fijo de agua a muestrear ni las réplicas que se deberían tomar. Cada investigador ha muestreado la cantidad de agua que le ha resultado apropiada en cada caso y dependiendo del fin de la investigación. En muchos estudios ni siquiera se detalla el material o utensilios que se han utilizado para muestrear. Por lo que se puede observar en los estudios que sí lo detallan, las redes de arrastre son el método más común para el muestreo.

Respecto al tema de pretratamiento, lo que se suele realizar es una filtración, después una separación de los MPs por el fenómeno de diferencia de densidad y por último otra filtración. En algunos casos, también se realiza un paso de tamizado

con diferentes tamices posterior a la filtración y previo a la separación por densidad. Para el tratamiento de la muestra se lleva a cabo una digestión para degradar la materia orgánica que pueda haber presente. La solución más empleada para la digestión es una solución de H₂O₂. Por último, se recogen los MPs mediante una filtración y se dejan secar para su posterior análisis visual y cuantificación.

En cuanto a la clasificación visual, se utiliza comúnmente un microscopio estereoscópico. En este proceso solo se analizan los MPs físicamente para su posteriormente clasificación, en función de su tamaño, color y forma. A continuación, se debe aplicar una técnica de análisis que permita su identificación química. La técnica más utilizada es la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, incluso en algunos casos se especifica el modo de trabajo (ATR, FPA, etc). Ahora, se muestra un esquema del procedimiento de análisis más común.

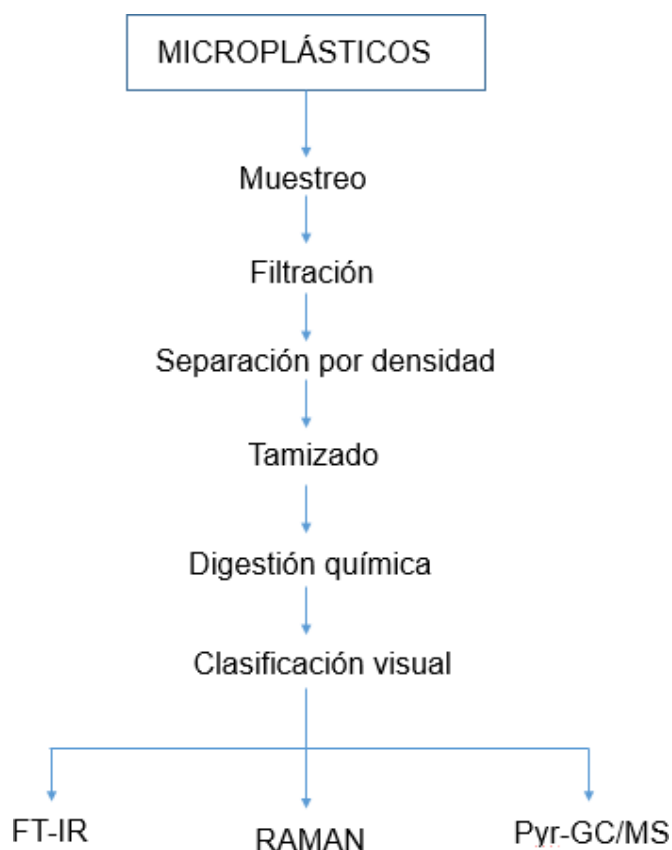


Figura 8.12. Esquema general de los métodos de análisis para microplásticos

Los tipos de MPs que aparecen en mayor cantidad en todos los estudios recogidos en la tabla son las fibras y los fragmentos. Las fibras provienen sobre todo de la industria textil y del uso de las prendas ropa, toallas, sábanas, etc. Los fragmentos se originan por la degradación de productos/utensilios plásticos. Además, los neumáticos para automóviles son una de las principales fuentes de contaminación por MPs en general debido a las partículas que liberan durante su erosión.

9. BIBLIOGRAFÍA

About •. (2019, octubre 21). The Ocean Cleanup. <https://theoceancleanup.com/about/>

Adomat, Y. & Grischek, T. (2021). Sampling and processing methods of microplastics in river sediments: A review. *The Science of the Total Environment*, 758, 143691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143691>

Arredondo-Navarro, A. (2023). Revisión de métodos de muestreo, detección, caracterización de microplásticos y control de calidad en columna de agua y sedimentos. *Tecnología y ciencias del agua*, 14(3), 474-522. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-14-03-10>

Athapaththu, A.M.A.I.K., Thushari, G.G.N., Dias, P.C.B., Abeygunawardena, A.P., Egodaunya, K.P.U.T., Liyanage, N.P.P., Pitawala, H.M.J.C. & Senevirathna, J.D.M. (2020). Plastics in surface water of southern coastal belt of Sri Lanka (Northern Indian Ocean): Distribution and characterization by FTIR. *Marine Pollution Bulletin*, 161, 111750. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111750>

Balestra, V., Vigna, B., De Costanzo, S. & Bellopede, R. (2023). Preliminary investigations of microplastic pollution in karst systems, from surface watercourses to cave waters. *Journal of Contaminant Hydrology*, 252, 104117. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2022.104117>

Barone, M., Suhareva, N., Aigars, J., Putna-Nimane, I., & Dimante-Deimantovica, I. (2023). Dataset on microplastic concentrations, characteristics, and chemical composition in the marine surface waters of Latvia - the Eastern Gotland basin and the Gulf of Riga. *Data in Brief*, 47, 108992. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.108992>

Barraza-Garza, G., de la Rosa, L.A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M. & Alvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo contranformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista latinoamericana de química*, 41(3), 125-148.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300001

Basura marina. (s/f). Imo.org. Recuperado el 27 de junio de 2023, de <https://www.imo.org/es/MediaCentre/HotTopics/Pages/marinelitter-default.aspx>

Bouwmeester, H., Hollman, P.C.H. & Peters, R.J.B. (2015). Potential health impact of environmentally released micro and nanoplastics in the human food production chain: Experiences from nanotoxicology. *Environmental Science & Technology*, 49(15), 8932–8947. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01090>

Cabernard, L., Roscher, L., Lorenz, C., Gerdts, G. & Primpke, S. (2018). Comparison of Raman and Fourier transform infrared spectroscopy for the quantification of microplastics in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*, 52, 13279–13288. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03438>

Castro Ramos, J. (2013). Raman spectroscopy and its applications. *Optica Pura y Aplicada*, 46(1), 83–95. <https://doi.org/10.7149/opa.46.1.83>

Crawford, C. B. & Quinn, B. (2017). Microplastic identification techniques. *Microplastic Pollutants*, 219–267. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809406-8.00010-4>

Dalmau-Soler, J., Ballesteros-Cano, R., Boleda, M.R., Paraira, M., Ferrer, N. & Lacorte, S. (2021). Microplastics from headwaters to tap water: occurrence and removal in a drinking water treatment plant in Barcelona Metropolitan area (Catalonia, Spain). *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(42), 59462–59472. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13220-1>

Ding, L., Mao, R.F., Guo, X., Yang, X., Zhang, Q. & Yang, C. (2019). Microplastics in surface waters and sediments of the Wei River, in the northwest of China. *The Science of the Total Environment*, 667, 427–434. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.332>

Emerging substances. Norman-network.net. Recuperado el 25 de junio de 2023, de <https://www.norman-network.net/?q=node/19>

,U.N Environment Programme (5 de junio de 2018). The state of plastics: World Environment Day Outlook. Environment Programme. <https://www.unep.org/resources/report/state-plastics-world-environment-day-outlook-2018>

- Enyoh, C.E., Verla, A.W., Ohiagu, F.O. & Enyoh, E.C. (2021). Progress and future perspectives of microplastic research in Nigeria. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/03067319.2021.1887161>
- Expósito, N., Rovira, J., Sierra, J., Folch, J. & Schuhmacher, M. (2021). Microplastics levels, size, morphology and composition in marine water, sediments and sand beaches. Case study of Tarragona coast (western Mediterranean). *The Science of the Total Environment*, 786, 147453. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147453>
- Gong, J. & Xie, P. (2020). Research progress in sources, analytical methods, eco-environmental effects and control measures of microplastics. *Chemosphere*, 254, 126790. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126790>
- Gunaalan, K., Almeda, R., Lorenz, C., Vianello, A., Iordachescu, L., Papacharalampos, K., Rohde Kær, C.M., Vollertsen, J. & Nielsen, T.G. (2023). Abundance and distribution of microplastics in surface waters of the Kattegat/ Skagerrak (Denmark). *Environmental Pollution*, 318, 120853. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120853>
- Han, M., Niu, X., Tang, M., Zhang, B.T., Wang, G., Yue, W., Kong, X. & Zhu, J. (2020). Distribution of microplastics in surface water of the lower Yellow River near estuary. *The Science of the Total Environment*, 707, 135601. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135601>
- Hanvey, J.S., Lewis, P.J., Lavers, J.L., Crosbie, N.D., Pozo, K. & Clarke, B.O. (2017). A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 9 (9), 1369– 1383. <https://doi.org/10.1039/c6ay02707e>
- He, D., Chen, X., Zhao, W., Zhu, Z., Qi, X., Zhou, L., Chen, W., Wan, C., Li, D., Zou, X. & Wu, N. (2021). Microplastics contamination in the surface water of the Yangtze River from upstream to estuary based on different sampling methods. *Environmental Research*, 196, 110908. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110908>
- Houtman, C. J. (2010). Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. *Journal of integrative environmental sciences*, 7(4), 271–295. <https://doi.org/10.1080/1943815x.2010.511648>
- Hernández, Á., Ventura, J., Muñoz, R., Humberstone, J., Christoph, R., Barraza, E., & Kang, P., Ji, B., Zhao, Y., & Wei, T. (2020). How can we trace microplastics in wastewater treatment plants: A review of the current knowledge on their analysis

approaches. *The Science of the Total Environment*, 745, 140943. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140943>

Karbalaei, S., Hanachi, P., Walker, T.R. & Cole, M. (2018). Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(36), 36046–36063. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3508-7>

Kazour, M., Jemaa, S., Issa, C., Khalaf, G., & Amara, R. (2019). Microplastics pollution along the Lebanese coast (Eastern Mediterranean Basin): Occurrence in surface water, sediments and biota samples. *The Science of the Total Environment*, 696, 133933. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133933>

Kusch, P. (2017). Application of Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Py-GC/MS). *Characterization and Analysis of Microplastics*, Capítulo 7, 169–207. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.003>

Los plásticos de un solo uso, prohibidos a partir de 2021 (27 de marzo de 2019). Europa.eu.

<https://www.europarl.europa.eu/news/es/pressroom/20190321IPR32111/los-plasticos-de-un-solo-uso-prohibidos-a-partir-de-2021>

Mai, L., Bao, L.J., Shi, L., Wong, C.S. & Zeng, E.Y. (2018). A review of methods for measuring microplastics in aquatic environments. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25, 11319–11332. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1692-0>

Mao, R., Hu, Y., Zhang, S., Wu, R. & Guo, X. (2020). Microplastics in the surface water of Wuliangsu Lake, northern China. *The Science of the Total Environment*, 723, 137820. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137820>

Mao, R., Hu, Y., Zhang, S., Wu, R. & Guo, X. (2020). Microplastics in the surface water of Wuliangsu Lake, northern China. *The Science of the Total Environment*, 723, 137820. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137820>

Mao, R., Hu, Y., Zhang, S., Wu, R. & Guo, X. (2020). Microplastics in the surface water of Wuliangsu Lake, northern China. *The Science of the Total Environment*, 723, 137820. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137820>

Marasco Júnior, C.A., Luchiari, N.D.C. & Lima Gomes, P.C.F. (2019). Occurrence of caffeine in wastewater and sewage and applied techniques for analysis: a review.

Eclética Química Journal, 44(4), 11. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v44.4.2019.p11-26>

Melara, V. (2019). ESTUDIO DE NIVELES DE CONTAMINACIÓN POR MICROPLÁSTICOS EN EL LAGO DE COATEPEQUE, SANTA ANA, EL SALVADOR
STUDY OF MICROPLASTIC CONTAMINATION LEVELS OF LAKE COATEPEQUE, SANTA ANA, EL SALVADOR.

Miller, L.M. & Dumas, P. (2010). From structure to cellular mechanism with infrared microspectroscopy. *Current Opinion in Structural Biology*, 20(5), 649–656.

<https://doi.org/10.1016/j.sbi.2010.07.007>

Minor, E.C., Lin, R., Burrows, A., Cooney, E.M., Grosshuesch, S., & Lafrancois, B. (2020). An analysis of microlitter and microplastics from Lake Superior beach sand and surface- water. *The Science of the Total Environment*, 744, 140824.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140824>

Movasaghi, Z., Rehman, S. & Rehman, D.I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43 (2), 134–179.

<https://doi.org/10.1080/05704920701829043>

Napper, I.E., Baroth, A., Barrett, A.C., Bhola, S., Chowdhury, G.W., Davies, B.F.R., Duncan, E.M., Kumar, S., Nelms, S.E., Hasan Niloy, M.N., Nishat, B., Maddalene, T., Thompson, R.C. & Koldewey, H. (2021). The abundance and characteristics of microplastics in surface water in the transboundary Ganges River. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 274, 116348.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116348>

NORMAN. Recuperado el 25 de junio de 2023, de <https://www.norman-network.net/?q=Home>

Otero, J., & Cano, V.G. (2015). Espectroscopía Raman: Fundamento y aplicaciones. *Unpublished*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5015.5362>

Pico, Y., Alfarhan, A., & Barcelo, D. (2019). Nano- and microplastic analysis: Focus on their occurrence in freshwater ecosystems and remediation technologies. *Trends in Analytical Chemistry:TRAC*, 113, 409–425. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.022>

Pinto da Costa, J., Reis, V., Paço, A., Costa, M., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). Micro(nano)plastics – Analytical challenges towards risk evaluation. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 111, 173–184. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.013>

Prata, J.C., da Costa, J.P., Duarte, A.C. & Rocha-Santos, T. (2019). Methods for

sampling and detection of microplastics in water and sediment: A critical review. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 110, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029>

Richardson, S.D. & Kimura, S.Y. (2020). Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry*, 92(1), 473–505. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05269>

Sanz, M. (2017). Contaminantes emergentes y cadena alimentaria. *Productos farmaceuticos, de cuidado personal y drogas de abuso*. <https://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento98.pdf>

Semmouri, I., Vercauteren, M., Van Acker, E., Pequeur, E., Asselman, J. & Janssen, C. (2023). Distribution of microplastics in freshwater systems in an urbanized region: A case study in Flanders (Belgium). *The Science of the Total Environment*, 872, 162192. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162192>

Simon-Sánchez, L., Grelaud, M., Garcia-Orellana, J. & Ziveri, P. (2019). River Deltas as hotspots of microplastic accumulation: The case study of the Ebro River (NW Mediterranean). *The Science of the Total Environment*, 687, 1186–1196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.168>

Skoog, D., West, D., Holler, F. & Crouch, S. (2014). *Fundamentos de Química Analítica* (9ª ed.). Cengage Learning Editores S.A. Capítulo 25, páginas 714- 719

Stock, F., Kochleus, C., Bansch-Baltruschat, B., Brennholt, N. & Reifferscheid, G. (2019). Sampling techniques and preparation methods for microplastic analyses in the aquatic environment: A review. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 113, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.014>

Talvitie, J., Mikola, A., Koistinen, A., & Setälä, O. (2017). Solutions to microplastic pollution: Removal of microplastics from wastewater effluent with advanced wastewater treatment technologies. *Water Research*, 123, 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.005>

Trindade, L.D.S., Gloaguen, T.V., Benevides, T. de S. F., Valentim, A.C.S., Bomfim, M.R. & Gonzaga Santos, J.A. (2023). Microplastics in surface waters of tropical estuaries around a densely populated Brazilian bay. *Environmental Pollution*, 323, 121224. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121224>

Unnimaya, S., Mithun, N., Lukose, J., Nair, M.P., Gopinath, A. & Chidangil, S. (2023).

Identification of microplastics using a custom built Micro-Raman spectrometer. *Journal of physics*, 2426(1), 012007. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2426/1/012007>

Veerasingham, S., Ranjani, M., Venkatachalapathy, R. & Vethamony, P. (2022). Recent developments in analytical methods for the assessment of microplastic contamination in the groundwater. *Groundwater Contamination in Coastal Aquifers, Capítulo 10*, 135–139. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824387-9.00003-7>

Velmurugan, P.M., Vijayaprabhakaran, K. & Devika, P.T. (2023). Baseline study on identification, characterization, distribution and abundance of microplastics in surface water from Ennore to Kovalam along the east coast of India. *Physics and Chemistry of the Earth*, 130, 103391. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2023.103391>

Wang, W. & Wang, J. (2018). Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 108, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.026>

Wright, S.L. & Kelly, F.J. (2017). Plastic and human health: A micro issue? *Environmental Science & Technology*, 51(12), 6634–6647. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00423>

Zhang, J., Zhang, C., Deng, Y., Wang, R., Ma, E., Wang, J., Bai, J., Wu, J. & Zhou, Y. (2019). Microplastics in the surface water of small-scale estuaries in Shanghai. *Marine Pollution Bulletin*, 149, 110569. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110569>

Zhang, L., Liu, J., Xie, Y., Zhong, S., Yang, B., Lu, D. & Zhong, Q. (2020). Distribution of microplastics in surface water and sediments of Qin river in Beibu Gulf, China. *The Science of the Total Environment*, 708, 135176. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135176>