

Los microplásticos en el entorno acuático: Un vistazo a la cinética, mecanismo de degradación, impacto ambiental y en la salud humana

Microplastics in the aquatic environment: An overview of kinetics, degradation mechanism, environmental and human health impact

Víctor Cuadra¹

<https://orcid.org/0009-0009-8422-5728>

Ritzela Lezcano^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0001-6433-3793>

Carmelo Bayard¹

<https://orcid.org/0000-0003-4235-2015>

José Villarreal¹

<https://orcid.org/0000-0003-1157-3130>

José Robinson-Duggon¹

<https://orcid.org/0000-0003-4784-7420>

Mario Luis Miranda-Montenegro¹

<https://orcid.org/0000-0002-1958-841X>

¹Universidad de Panamá. Laboratorio de la calidad del aire y Agua (LACAYA). ²Universidad de Colonia.

Autor correspondiente: mario.mirandam@up.ac.pa

Enviado el 9 de febrero de 2023. Aceptado el 22 de marzo de 2023.

Resumen

Desde su origen en la década de los años 50's, los plásticos se han convertido en un material omnipresente en la vida diaria de nuestras sociedades. A pesar de su amplia gama de usos, la lenta degradación de estos materiales en el ambiente ha ocasionado un problema de contaminación emergente de consecuencias aún desconocidas. El objetivo de esta revisión es el de evaluar el impacto que ha tenido la introducción de los microplásticos en nuestros ecosistemas. Reportes recientes indican que la presencia de microplásticos se ha extendido hasta ambientes prístinos como los polos del planeta. La degradación de los materiales plásticos, en partículas de menor tamaño llamados microplásticos cuando su diámetro es menor a 5 mm y su ingesta por organismos diversos plantea la pregunta de cuál es el efecto a largo plazo en la salud de los ecosistemas. Efectos adversos en el metabolismo de microorganismos, peces y en el ser humano han sido ampliamente documentados. Igualmente, se ha reportado la capacidad de estas partículas de movilizar contaminantes ambientales como metales pesados, hidrocarburos, e incluso virus. Entre estos efectos adversos se incluyen alteraciones metabólicas, formación de especies reactivas de oxígeno y modificación de procesos inflamatorios. Podemos concluir que la presencia de las partículas de microplásticos están presentes en diversos nichos de los ecosistemas terrestres y que su degradación introduce compuestos químicos potencialmente disruptivos en ellos. Por lo que entender el origen, transformación, rol en el transporte y liberación de contaminantes en el ambiente nos permitirá diseñar estrategias para minimizarlos.

Palabras claves: FTIR-ATR, Microscopia UV, océanos, peces, salud humana.

Abstract

Since their origin in the 1950s, plastics have become a ubiquitous material in the daily life of our societies. Despite their wide range of uses, the slow degradation of these materials in the environment has led to an emerging pollution problem with unknown consequences. The objective of this review is to assess the impact of the introduction of microplastics into our ecosystems. Recent reports indicate that

microplastics have spread to pristine environments such as the planet's poles. The degradation of plastic materials into smaller particles called microplastics when their diameter is less than 5 mm and their ingestion by various organisms raises the question of is the long-term effect on ecosystem health.

Adverse effects on the metabolism of microorganisms, fish, and humans have been widely documented. The ability of these particles to mobilize environmental pollutants such as heavy metals, hydrocarbons, and even viruses has also been reported. These adverse effects include metabolic alterations, formation of reactive oxygen species, and modification of inflammatory processes. We can conclude that microplastic particles are present in various niches of terrestrial ecosystems and that their degradation introduces potentially disruptive chemical compounds into them. Understanding the origin, transformation, and role in transporting and releasing pollutants into the environment will allow us to design strategies to minimize them.

Key words: Fishes, FTIR-ATR, human health, oceans, UV Microscopy

Introducción

Desde su aparición en la década de los 50's los plásticos han tenido un papel omnipresente en la vida diaria de nuestras sociedades. Debido a su durabilidad y bajo costo, los plásticos reemplazaron a otros materiales de uso común como el vidrio y la madera, convirtiéndose en el material preferido para la fabricación de artefactos y adminículos de uso cotidiano (Martínez González et al., 2022). Los plásticos por definición son materiales poliméricos de carácter orgánico; sintético o semisintéticos. Dependiendo del tipo y sus propiedades relacionadas (deformaciones plásticas, elásticas, ductilidad, dureza) los mismos han tenido aplicaciones importantes para el desarrollo humano como la fabricación de tuberías, aislantes, botellas, fibras, entre otros (Martínez González et al., 2022).

Para el 2020 se estimó una producción total de 387 millones de toneladas métricas, todo esto a pesar de haberse registrado una disminución de hasta un 0.3 % debido a la pandemia por el COVID-19, siendo China el mayor productor de plásticos con un 32 %, seguido de Norte América y Europa con 18 % y 17 % respectivamente. Como consecuencia del manejo inadecuado de los desechos plásticos, actualmente estos materiales son considerados como contaminantes emergentes (Lebreton & Andrady, 2019; Shanmugan et al., 2020; Statista, 2020). Se ha estimado que por cada kilómetro de océano hay un promedio de 13,000 trozos de desechos plásticos (Nations, 2020). Una vez que estos residuos alcanzan la superficie de los cuerpos de agua, la exposición continua a la luz solar (UV-VIS), fuerzas mecánicas, actividad microbiana y altas temperaturas, el proceso de degradación da origen a los microplásticos

(MPs). Por definición, los MPs son fragmentos sólidos con tamaños nominales menores a 5.0 mm (Pinto da Costa J. Rocha-Santos T.A.P., 2017).

Estas partículas pueden sufrir también la redisolución de algunos de sus componentes químicos, los cuales son adsorbidos por la materia orgánica disuelta (DOM) y movilizados a través de los diferentes nichos ecológicos en el ambiente marino, modificando de esta forma los equilibrios fisicoquímicos que mantienen los ciclos productivos en las aguas oceánicas (Miranda et al. 2018). A pesar de su relativa estabilidad bajo condiciones normales de uso, algunos de estos materiales han resultado ser una fuente de metabolitos secundarios con efectos adversos, los que van desde la modificación de las condiciones biogeoquímicas en la superficie del océano, la disrupción de ciclos reproductivos y afectaciones metabólicas (Miranda et al. 2018). Coincidentemente, los países localizados en la zona tropical resultan ser algunos de los mayores productores o receptores de residuos plásticos. Gran parte de estos países carecen de protocolos eficientes para el manejo de desechos, lo que limita el desarrollo sostenible de estas comunidades (Aragaw, 2021; Delvalle de Borrero et al., 2020; Pattiaratchi et al., 2022). La situación actual indica que los MPs se encuentran en todo el planeta, reportándose su presencia desde los polos hasta las profundidades marinas (Pinto da Costa J., Rocha-Santos T.A.P., 2017). Esta revisión tiene como objetivo poner en perspectiva el impacto inmediato de la degradación e ingesta de estos contaminantes en la salud de los organismos marino-costeros y la salud humana.

1. Cinética y mecanismos de degradación de los microplásticos

Los microplásticos son considerados como contaminantes emergentes. Dependiendo de las características químicas de la matriz polimérica de los MPs, la cinética de degradación puede producir metabolitos secundarios de interés biológico (Arpia et al. 2021). Al ser expuestos a estímulos degradativos los MPs continúan modificando sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas, favoreciendo la formación de nanoplasticos (NPs). La fotodegradación ocurre principalmente por la absorción de un fotón de alta energía, así como en la radiación infrarroja, luz visible y la ultravioleta (UV) (Debroy et al. 2022).

A partir del mecanismo de degradación de los polímeros se puede predecir si los productos de la degradación de estos son absorbidos por organismos en el medio ambiente. Por ejemplo, la degradación de los polímeros vinílicos a menudo ocurre por el proceso de generación de un radical libre y,

posteriormente una propagación y degradación generalmente termo-oxidativa (Scott, 1995). Staggs en 1998, propuso un marco teórico para caracterizar la cinética de degradación térmica de los polímeros mediante el modelo de Arrhenius en un solo paso. Para fines prácticos de la aplicación del modelo teórico, se puede suponer que la reacción es de primer orden. Este hecho implica que cuando se modela la degradación de las muestras poliméricas, el error implicado en el uso de la cinética de primer orden es pequeño. La aproximación equivalente de primer orden se aplica a una profundidad global del modelo de degradación del polímero para predecir las velocidades de pérdida de masa en experimentos a escala. Las curvas de la velocidad de pérdida de masa obtenidas con la aproximación de primer orden se comparan bien frente al modelo completo de enésimo orden (Staggs, 1999).

En ambientes marinos la fotodegradación puede ocurrir en ausencia de oxígeno o en presencia de oxígeno, las cuales se pueden ser aceleradas por el aumento de la temperatura (Gewert et al. 2015). En el caso particular del poliestireno, las rutas degradativas han sido ampliamente estudiadas (figura 1). Dos mecanismos para explicar la fotodegradación de polímeros han sido propuestos, el primero procede a través de la reacción directa de oxígeno singlete con el polímero, mientras que el segundo implica la producción de radicales y la reacción posterior con oxígeno (Geuskens & David, 1979). Los mecanismos de fotodegradación han sido ampliamente estudiados, cuando las moléculas son foto sensibilizadas y generan oxígeno singlete, el proceso se conoce como mecanismo tipo II (Mailhot et al., 2003). Si el proceso de activación se da a través de la producción de radicales se les conoce como mecanismo tipo I (Cáceres et al. 2017; Robinson-Duggon et al. 2017, 2018, 2019). La determinación de la velocidad de degradación del polímero y su redisolución puede ser determinada utilizando un modelo cinético de acuerdo con la ley de Arrhenius, según la siguiente ecuación 1:

$$\frac{dC}{dt} = Ae^{-Ea/RT}$$

Ecuación 1.

Donde dC es la variación en la concentración del polímero con respecto al tiempo (t), A es la constante y Ea es la energía de activación del proceso de degradación (Jenekhe et al. 1983).

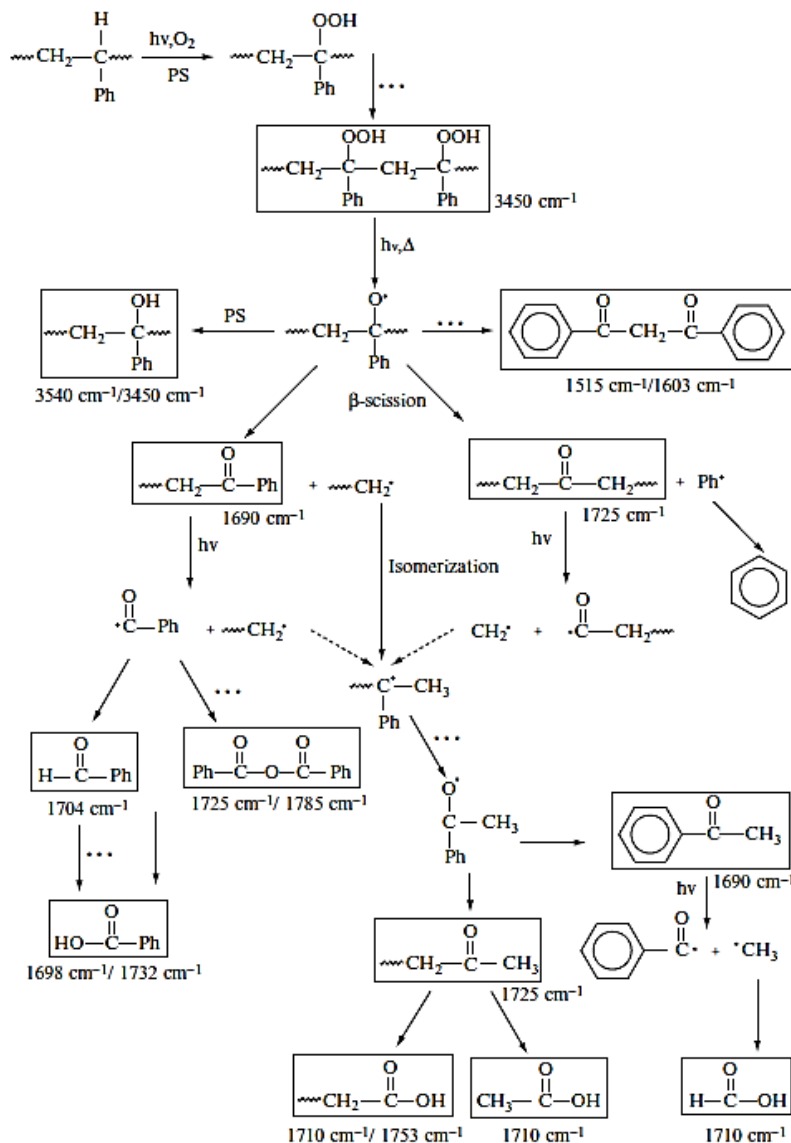


Figura 1. Degradación fotolítica para el poliestireno (Mailhot et al. 2003). Nótese los Productos principales identificados en el espectro infrarrojo.

2. Ingesta por organismos marinos

La fotodegradación de los MPs, es considerada como una fuente potencial en la producción de disruptores endocrinos, así como especies reactivas de oxígeno (ROS) (Zhu K. et al. 2020). Su acoplamiento con metales pesados como el mercurio puede causar efectos neurotóxicos y daños oxidativos en diversas especies marinas. Esta ingesta produce efectos negativos sobre los organismos, debido principalmente

a que durante la digestión los MPs son atacados por enzimas gástricas que favorecen la desorción y disolución de los compuestos adsorbidos.

Se ha estudiado efectos adversos de la ingesta de MPs, tal como se reporta para *Dicentrarchus labrax* (Lubina europea). La ingesta de altas concentraciones de microplásticos actuaron inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa en los organismos estudiados (Barbosa et al., 2018). Igualmente, estudios controlados reportan que la ingesta de microperlas plásticas de poliestireno de 0.05 μm de diámetro presentaron una mayor toxicidad ocasionando un bajo crecimiento poblacional, baja fecundidad, reproducción y una alta mortandad en *Daphnia Magna* (Aljaibachi & Callaghan 2018; Besseling et al. 2017). Específicamente, en el continente americano la detección de MPs en peces de agua dulce ha sido reportada en Perú, Brazil, México, en ríos y lagos de altitud en EE. UU. (Driscoll et al. 2021; Martínez-Tavera et al. 2021; Pegado et al. 2018; Silva-Cavalcanti et al 2017). En 2019 se reporta por primera vez en Argentina la presencia de MPs en tracto digestivo de peces marinos (*Micropogonias furnieri*) de uso comercial colectados en el estuario de la bahía Blanca (Arias et al. 2019). Las muestras fueron analizadas con un estereomicroscopio y se encontraron 241 piezas de MPs, de las cuales un 60.8 % eran fibras, 28.9 % se correspondían a pellets, 8.6 % a fragmentos y 1.4 % a láminas. Las dimensiones oscilaban entre 0.98 y 5.0 mm.

Del mismo modo, en un estudio realizado en peces del estuario de Santa Marta, Ciénaga Grande Colombia se reportó la detección de MPs en los contenidos viscerales de 140 peces comprados en un mercado local (Calderón et al. 2019). De estos solo 17 especímenes (12.1 %) contenían MPs. De las cuatro especies encontradas, fue *Mugil incilis* (Salmonete) la que mostró la tasa más alta prevalencia de MPs, se reportó que cerca de un quinto de los individuos analizados contenía MPs y de estos, en 17 peces se encontraron solo 19 partículas de MPs. La clasificación de las partículas mostro que 17 eran fibras (89.5 %) and 2 (10.5 %) fueron fragmentos. Mientras que el poliéster y el polietileno fueron las fibras más comunes, también fueron identificadas fibras de nylon, acrílico, polietileno, y modacrílico, lo que sugiere una diversa variedad de fuentes.

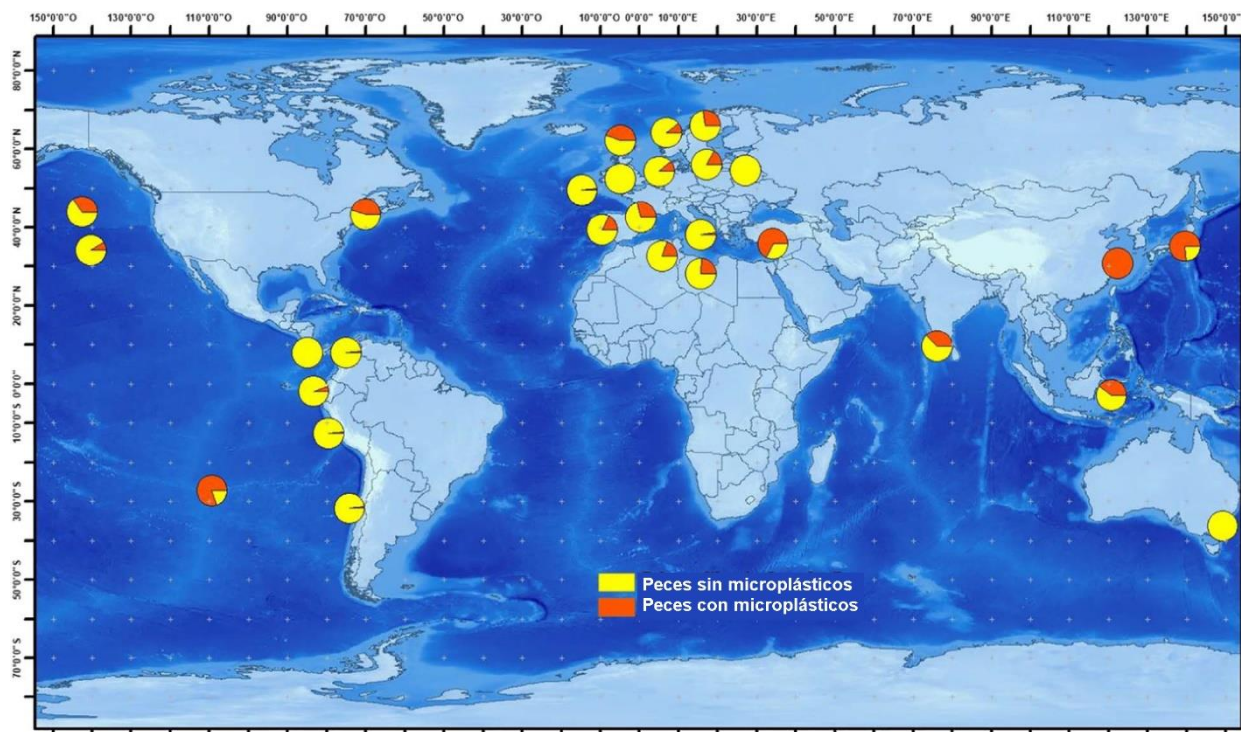


Figura 2. Proporción de peces plantívoros con y sin microplásticos en sus vísceras, reportados alrededor del mundo de acuerdo con (Ory et al. 2018).

Hasta el 2018 los estudios en peces plantívoros demostraban una baja prevalencia de ingestión de microplásticos, figura 2 específicamente en la región sureste del Océano Pacífico reporta la baja prevalencia de microplásticos en las vísceras de peces plantívoros colectados en las costas pacífica de Panamá, Colombia, Ecuador, Perú y Chile (Ory et al. 2018).

Sin embargo, durante el 2022, se reportó la presencia de MPs en especímenes de Arenque (*Opisthonema* sp.) del Pacífico central de Costa Rica. Los MPs fueron detectados en el 100 % de los individuos estudiados, con un promedio de 36.7 piezas por pez, de las cuales 79.5 % eran fibras y 20.5 % partículas. Se determinó que la mayoría de estas se correspondían con polipropileno. Este estudio demuestra la presencia de MPs en peces plantívoros, por lo que los autores proponen el uso de esta especie para la bio-monitorización de la contaminación por microplásticos en el Pacífico Oriental Tropical debido a su amplia distribución, la homogeneidad biométrica de los cardúmenes, el tipo de alimentación no selectiva y su posición en las redes alimentarias marinas (Bermúdez-Guzmán et al. 2020). Igualmente, en 2022 se reporta la presencia de microplásticos en siete especies de peces pelágicos y una especie de crustáceo bentónico, todos de alto nivel trófico en el Parque Nacional Marino Las Baulas, Costa Rica. Las partículas

de MPs fueron extraídas por medio de digestión química y posterior identificación visual del contenido del sistema digestivo de 56 individuos. De estos, un total de 90 piezas fueron extraídas del 89 % de los peces (93 % fibras) con 3.75 ± 1.70 MPs/pez. Se determinó una cantidad significativamente menor en los crustáceos con un total de 58 piezas extraídas del 76 % de los individuos analizados con 2.64 ± 1.36 MPs/jaiba (Astorga-Pérez et al. 2022).

Por otro lado, la capacidad de los MPs como vehículo de transferencia de microorganismos entre los ecosistemas se ve corroborada por detección de la presencia del rotavirus (causante diarrea y malestar estomacal) en la superficie de los MPs (Moresco et al. 2022). Los resultados de este estudio indican que este virus puede sobrevivir hasta tres días y seguir siendo infeccioso al adherirse a microplásticos en el agua dulce, lo que se traduce en peligro potencial a la salud, toda vez estos virus están presentes en agua potable, alimentos, y cuerpos de aguas superficiales.

Estas evidencias sugieren los organismos ingieren estas partículas independientemente de su rol en los ecosistemas, sean estos plantívoros o carnívoros y que las interacciones a largo plazo de estos organismos con los MPs ingeridos pueden modificar las rutas metabólicas, la evolución de los estados embrionarios y las respuestas a los procesos inflamatorios en los organismos acuáticos.

La degradación de estos materiales trae consigo la movilización de compuestos adheridos en su superficie. Siendo esta una de las rutas de transferencia de compuestos xenobióticos. El impacto de la presencia de estos materiales en el desarrollo embrionario de diversas especies es una preocupación mundial. Para entender este riesgo potencial, se ha evaluó la toxicidad de los pellets de plástico vírgenes (crudos) y de los pellets de playa para el desarrollo de los embriones de erizos de mar (*Lytechinus variegatus*), simulando las transferencias de compuestos químicos al agua intersticial y a la columna de agua mediante ensayos de interfaz pellet-agua y elutriación, respectivamente. Ambos ensayos mostraron que los pellets vírgenes presentaban efectos tóxicos, potenciando el desarrollo embrionario anómalo en un 58,1 % y un 66,5 %, respectivamente (Nobre et al. 2015). Aunque estudios previos sugieren que la presencia de MPs de PE adicionados con 3-Benzofenona no exhiben toxicidad aguda al ser ingeridos por microorganismos adultos (*Brachionus plicatilis*, *Tigriopus fulvus*, *Acartia clausi*, *Mytilus galloprovincialis*), lo que sugiere la existencia de la afectación de mecanismos metabólicos diferentes (Beiras et al. 2018).

Igualmente, la exposición del Zooplancton a los MPs ha sido estudiada en la bahía de Charleston, Carolina del Sur, los resultados de este estudio indicaron que el Zooplancton se alimentaba con MPs de forma selectiva (Payton et al. 2020). En este estudio menos del 1 % de los organismos analizados mostraron evidencias de haber ingerido MPs.

Este fenómeno origina la suposición de la posibilidad de transferencia de MPs a través de la cadena trófica. Basados en esta observación, se determinó que los salmones a través de la ingesta de zooplancton podrían ingerir de 2 a 7 partículas de microplásticos al día en juveniles y ≤ 91 partículas en especímenes adultos (Desforges et al 2015). Esta suposición se ve confirmada por reportes que indican la transferencia de MPs hacia el atún amarillo (*Thunnus albacares*) por la ingestión de peces voladores (*Cheilopogon rapanouiensis*) de Rapa Nui, Isla de Pascua (Chagnon et al., 2018). Esto representa un riesgo debido a la traslocación/transferencia de las partículas de MPs, y los compuestos adsorbidos por ellos, en la cadena trófica.

Debido a las diferencias de densidades de los MPs y los NPs estos se distribuyen en diferentes secciones de la columna de agua, por lo que organismos filtradores como las esponjas y moluscos han sido objeto de estudio como posibles bioindicadores de la presencia de MPs en la base de la columna de agua en sistemas marino-costeros. En Panamá, específicamente en la Bahía de Saigón, Bocas del Toro, estudios recientes reportan la presencia de MPs en tejidos de las foraminíferas *Aplysina cauliformis*, *Amphimedon compressa*, *Callyspongia vaginalis*, *Ircinia campana*, *Mycale laevis* y *Niphates erecta* (Fallon & Freeman, 2021). Estos estudios indican que los organismos filtradores en efecto están acumulando MPs en su sistema digestivo, aunque aún no es concluyente el resultado de esta ingesta.

Uno de los efectos prominentes encontrados tras la ingesta de los MPs es la generación de procesos inflamatorios. Ha sido reportado que los microplásticos poseen la capacidad de generar estrés oxidativo, ya sea debido a la liberación de especies oxidantes adsorbidas en su superficie o de manera alternativa por medio de las especies reactivas de oxígeno que son liberadas durante las respuestas inflamatorias (Chen et al., 2019; Kelly & Fussell, 2012; Valavanidis et al., 2013). Finalmente, recientemente se ha reportado la generación de estrés oxidativo en el pez cebra *Danio rerio*, (Lu et al. 2016), así como en ratones (Deng et al. 2017), luego de haber sido expuestos a MPs.

3. Impacto en la salud humana

La diseminación de los MPs y los NPs en todos los ecosistemas del planeta ha generado gran preocupación para la salud humana (Cai et al. 2022; Delvalle de Borrero et al. 2020; Driscoll et al. 2021; Everaert et al. 2018). A pesar de su relativamente alta estabilidad, estos materiales a través de sus procesos degradativos pueden liberar metabolitos sospechosos de afectar los procesos metabólicos en diversos organismos (Akhbarizadeh et al. 2017; Aljaibachi & Callaghan, 2018; Chen et al. 2019). Estudios recientes han demostrado la presencia de microplásticos en heces, líquido amniótico y en el torrente sanguíneo de humanos. Estos se corresponden con los cuatro polímeros más utilizados en las industrias: Tereftalato de polietileno, polietileno, polímeros de estireno y polipropileno (Ivleva, 2021; Leslie et al. 2022; Yan et al., 2022). Debido los hallazgos de microplásticos en la sangre humana, recientemente en el ámbito de la medicina se está estudiando como estos contaminantes afectarán el sistema nervioso y reproductivo y su posible participación en aparición de enfermedades como el cáncer (Caputi et al. 2022; Leslie et al. 2022; Yee et al. 2021).

Los mecanismos citotóxicos inducidos por los MPs y NPs son diversos y los mismos han sido revisados recientemente (Shi et al. 2022). Podemos mencionar brevemente que se ha reportado que pueden incluir diferentes mecanismos tales como el daño de membrana, el estrés oxidativo, la inducción de factores inflamatorios, la genotoxicidad, la apoptosis, la alteración de la homeostasis energética y el metabolismo, y los mismos se encuentran estrechamente interconectados entre sí (Shi et al. 2022). En esta sección se aborda brevemente los efectos de citotoxicidad inducidos por el estrés oxidativos y por la homeostasis energética y el metabolismo.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) tales como el radical anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) son esenciales para mantener los procesos fisiológicos normales, mientras que un exceso de ROS puede sobrecargar el sistema de defensa antioxidante, lo cual da lugar a la condición conocida como estrés oxidativo (Sies & Jones, 2020). El estrés oxidativo puede ocasionar daño a las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos, los aminoácidos de las proteínas y los lípidos de las membranas biológicas (Akter et al. 2018). El estrés oxidativo es considerado como el mecanismo más probable para la toxicidad inducida por MPs y NPs (Prata et al.2020).

Se ha informado que los MPs y los NPs pueden inducir la producción de ROS en diversas líneas celulares (Meindl et al. 2015; Poma et al. 2019; Schirinzi et al. 2017). En el caso de los NPs de PE y PS, se ha reportado que la generación de ROS solo fue significativa en células T98G posterior al tratamiento con NPs PE (0.05 mg/L, 0.1 mg/L), mientras que para los NPs de PS fue evidenciado una mayor generación de ROS para las células T98G (0.05, 0.1, 1 y 10 mg/L de NPs), así como para las células HeLa (1 y 10 mg/L de NPs) (Schirinzi et al. 2017). Los investigadores mencionan que este efecto puede estar asociado con el menor tamaño de las partículas PS. Además, es importante resaltar que tanto la química de la superficie como el tipo de célula pueden estar relacionados con las diferencias en la magnitud y el perfil de la actividad de las ROS (Ruenraroengsak & Tetley, 2015).

Recientemente, fueron reportados los cambios metabólicos resultantes de los NPs por medio de un estudio metabolómico utilizando la espectrometría de masas en tándem (Lim et al. 2019). Los investigadores reportaron que la exposición a NPs de PS (10 y 50 µg/mL) ocasionaba cambios metabólicos asociados a la autofagia y al estrés en el retículo endoplasmático, los cuales eran relacionados con el aumento de aminoácidos y metabolitos intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), los cuales desempeñan un rol importante en la regulación de la resistencia celular a los efectos citotóxicos (Lim et al. 2019). En la actualidad existen pocos estudios sobre la influencia en el metabolismo celular de los MPs y NPs. Algunas investigaciones *in vivo* han demostrado que estos pueden ocasionar la perturbación en la homeostasis energética y en el metabolismo (Yang et al. 2020; Yin et al. 2019; Zhao et al. 2020). Debido a la similitud en el metabolismo de diferentes especies de animales, se genera la teoría de la posibilidad que en los seres humanos los MPs y los NPs puedan tener efectos metabólicos similares tales como el aumento en el consumo de energía, reducir la ingesta de nutrientes o regular el metabolismo (Li et al. 2019; Prata et al. 2020). Es debido a esto que se hace imperativo las investigaciones, *in vitro* como *in vivo*, que puedan generar los conocimientos necesarios para llenar el vacío actual sobre el efecto de los MPs y NPs en el metabolismo humano.

4. Seguimiento y detección de los MPs

El seguimiento de la degradación de los microplásticos ha sido estudiado extensamente (Cai et al. 2022; Day & Wiles, 1972; Hebner & Maurer-Jones, 2020; Lee et al., 2022; Sorasan et al., 2022; Yousif & Hadad, 2013; Zhu L. et al., 2020). Si bien es cierto que existen retos importantes en cuanto a la identificación de

los MPs y NPs debido a la complejidad de las matrices poliméricas, sus composiciones químicas y sus tamaños, se han desarrollado y adaptado metodologías para su análisis. Entre las metodologías usadas con mayor frecuencia en la detección, identificación y cuantificación de los microplásticos tenemos las siguientes:

4.1. Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR – ATR)

La reciente utilización de técnicas como la FTIR-ATR en el análisis de MPs y NPs permiten la identificación de los grupos funcionales incluidos en las estructuras de estos polímeros y ayudan a estudiar la evolución de los picos de absorción habitualmente asociados al envejecimiento ambiental de las poliolefinas, como los picos de estiramiento de hidroxilos y carbonilos, los picos relativos a la presencia de dobles enlaces (Hebner & Maurer-Jones, 2020; Ivleva, 2021; Sorasan et al., 2022; Zhu L. et al, 2020). La técnica de análisis infrarrojo (IR) tiene la característica de ser no destructiva, lo que permite el análisis de materiales sin que se afecte su estructura química. La misma se basa en el análisis de las vibraciones moleculares excitadas por la absorción de radiación en la región del infrarrojo medio en el espectro electromagnético en la región de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ (figura 3).

El espectro resultante de la región de “huella dactilar” de los compuestos poliméricos permite la identificación inequívoca de la identidad de estos (Cowger et al., 2020; Ivleva et al., 2021, Pimpke et al., 2018). Sin embargo, debe señalarse que, para utilizar esta técnica efectivamente, las muestras deben ser secadas previamente para evitar la interferencia del agua en el ensayo. Esto debido a la característica intrínseca del espectro infrarrojo de la molécula de agua, el cual presenta una banda prominente en la región de la huella dactilar. Esta banda se convierte en una de las grandes desventajas en el análisis infrarrojo, debido a la superposición de picos, los que finalmente pueden traslaparse sobre las señales de los MPs, ocasionando la pérdida de sensibilidad.

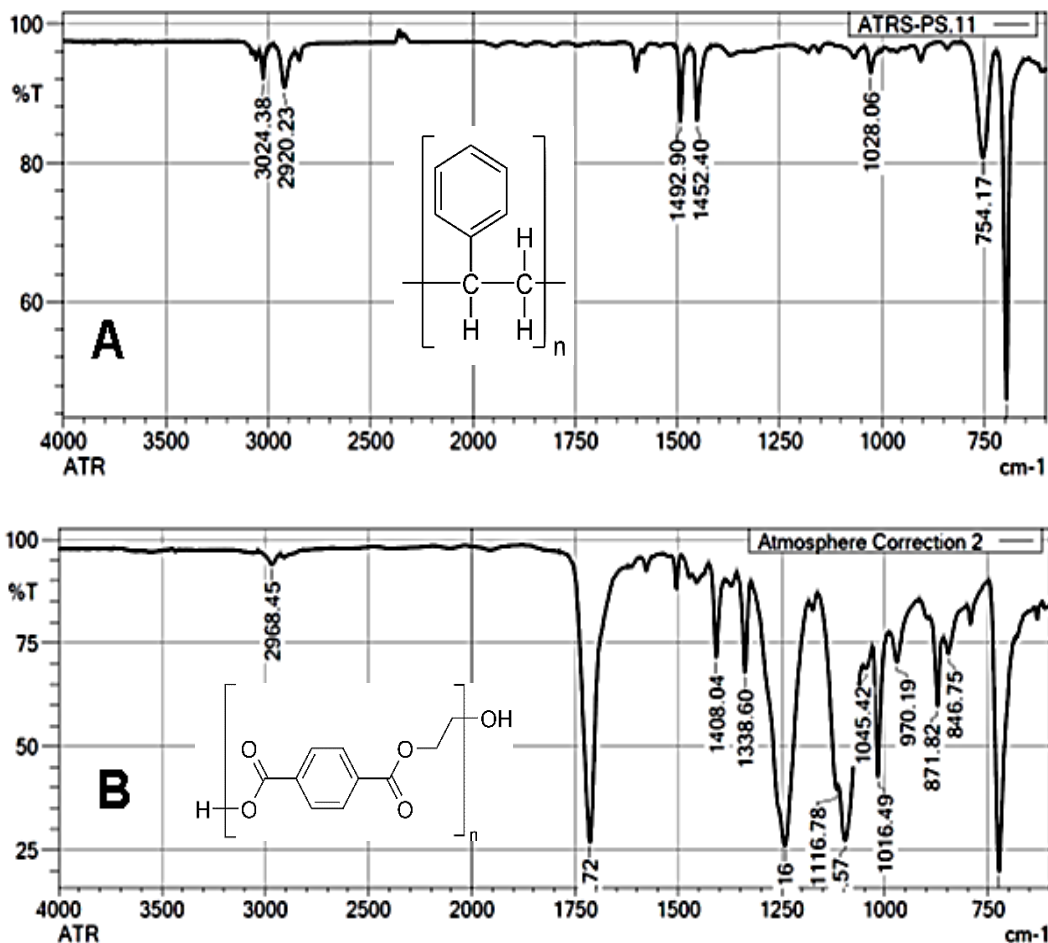


Figura 3. Espectro infrarrojo para (A) poliestireno y (B) polietileno tereftalato. Obsérvese en A las bandas características de benceno mono sustituido en la región de huella dactilar *c.a.* 729 cm^{-1} , así como la tensión C=C aromáticos en 1490 cm^{-1} . En B se puede observar claramente el estiramiento para grupo carbonilo en 1750 y los sobretonos correspondientes a un benceno *para* – sustituido en 1338 y 1408 cm^{-1} . Datos propios.

4.2 Microscopía Fluorescente

En contraste con la microscopía óptica, el principio de ensayo utilizado en la microscopía fluorescente (MF) se basa en la recolección de las longitudes onda emitidas por las muestras tras ser excitadas con longitudes de ondas seleccionadas apropiadamente a través del uso de dispositivos como láseres o filtros apropiados (figura 4). Tradicionalmente la MF ha sido utilizada en el estudio de especímenes biológicos y la presencia de estas partículas ingeridas por los organismos. Por lo que recientemente, la presencia de

MPs ingeridos por diversos organismos ha sido caracterizada utilizando microscopia fluorescente (Fu et al., 2020; Lichtman & Conchello, 2005).

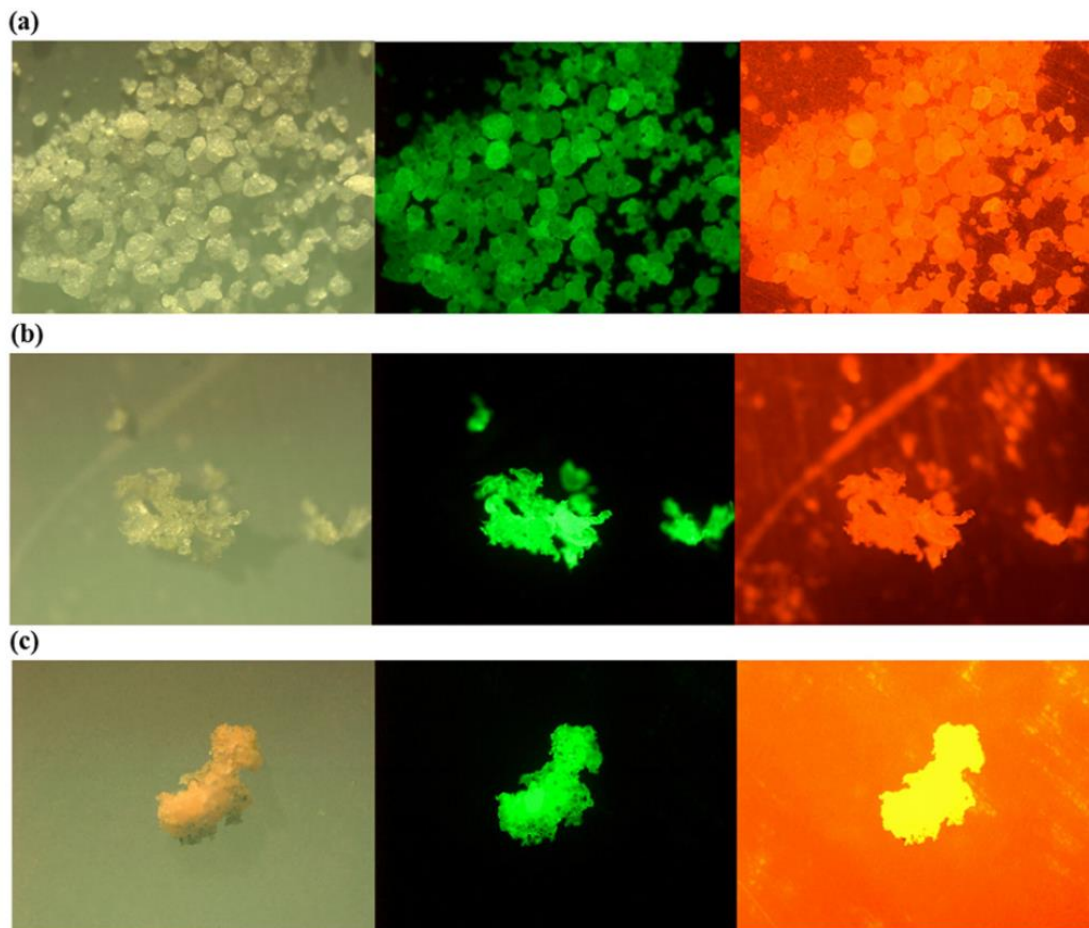


Figura 4. Identificación sistemática de microplásticos utilizando Nile Red como indicador. En el panel izquierdo la imagen al microscopio, el panel central muestra las imágenes producidas por un microscopio de fluorescencia, con longitudes emisión/excitación de 534-558 y 515-565 nm y en el panel derecho de 534-558 > 590nm para (a) polietileno (LDPE), (b) polipropileno (PP) y (c) poliestireno expandido, de acuerdo con (Shim et al., 2016).

Tras el descubrimiento de que los MPs aparecen con un color brillante debido a la auto fluorescencia, bajo el microscopio fluorescente la técnica evoluciono y se implementó como una herramienta de confirmación de presencia/ausencia de estos materiales en muestras ambientales (Piruska et al., 2005). Para lograr la óptima detección e identificación de los MPs, las muestras de MPs deben ser separadas, tratadas y teñidas con un fluoróforo que permita su observación, por ejemplo, el Nile Red (Shruti et al.,

2022). La separación de las partículas plásticas de muestras ambientales normalmente se realiza por diferencia de densidades utilizando sales inorgánicas como el NaCl, ZnCl₂, ZnBr₂, NaI, entre otras. En esta aproximación se resuspenden las partículas utilizando un medio de densidad superior al polímero y posteriormente se separan de la matriz para su posterior análisis (Cutroneo et al., 2021).

4.3 Citometría de flujo (CMF)

El uso de la citometría de flujo inicialmente fue destinado a la obtención de imágenes de alta resolución de células, bacterias y microorganismos (Fu et al., 2020; Sgier et al., 2016). Esta técnica se basa en la identificación de partículas fluyendo dentro de un fluido que es excitado por una radiación emitida por un láser para producir la dispersión de la luz y la emisión de fluorescencia (figura 5). Esta interacción permite obtener imágenes rápidas de alta resolución (Adan et al., 2017). Debido a las propiedades fluorescentes de los MPs, la CMF ofrece la oportunidad de obtener un análisis rápido y robusto para los MPs. Hay reportes sobre el uso de la CF en la detección de MPs en muestras ambientales y las características de los procesos de colonización de las superficies de estas partículas MPs (Fu et al., 2020; Kaile et al., 2020; Sgier et al., 2016).

Aunque la CMF debido a sus características de análisis en tiempo real, nos ayuda a superar las desventajas de métodos tradicionales más laboriosos para la detección e identificación de MPs, existen limitaciones que deben ser consideradas. Entre las principales podemos señalar que: 1) Los MPs deben ser suspendidos de forma individual en el citómetro de flujo, lo que no permite analizar las interacciones con otras partículas de MPs u otras partículas presentes. 2) La estandarización de la técnica no es completa, lo que puede complicar la inter-comparación de resultados. 3) La aparición de artefactos visuales producto de compensaciones espectrales propias del ensayo, entre otras (Fu et al., 2020). A pesar de estas limitaciones, se han implementado protocolos con la finalidad de estandarizar el ensayo (Ivleva, 2021).

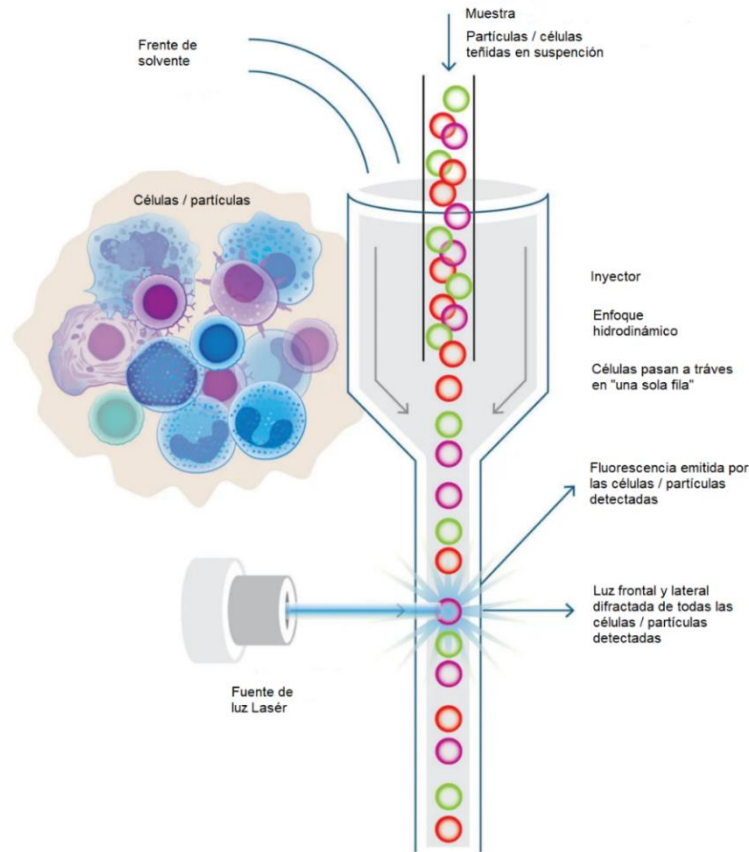


Figura 5. Esquema del análisis por citometría de flujo, de acuerdo con (Picot et al., 2012). Obsérvese la emisión de fluorescencia y la difracción simultánea de la radiación incidente.

Conclusión

El desarrollo industrial ha dado origen a grandes avances tecnológicos, así como también la creación de sustancias y materiales de gran utilidad para nuestras sociedades. La aparición de materiales residuales producto del manejo inadecuado de algunas de estos materiales, específicamente los plásticos, ha dado origen a la dispersión de los MPs y NPs en casi todos los ecosistemas de nuestro planeta. Aunque inicialmente estos materiales se consideraban de bajo impacto en la salud de los ecosistemas y los seres humanos, recientemente se han documentado evidencias de modificaciones en el metabolismo tanto de organismos acuáticos, así como de los seres humanos. La comprensión del impacto que estos materiales, los compuestos que pueden transportar y liberar requiere del uso de técnicas clásicas y otras que han sido adecuadas para los propósitos de muestreos, caracterización y cuantificación de los orígenes, transformaciones y acumulación de estos materiales. Gracias a los desarrollos y adecuaciones

de estas técnicas estamos en el umbral de las respuestas a estas preguntas que surgen con la aparición de este contaminante emergente.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Vicerrectoría de investigación y posgrado (VIP) de la Universidad de Panamá, a través de la beca para profesores jóvenes 2018, número CUFI-2018-CNET-P-005. M.L. Miranda-Montenegro y J. Robinson-Duggon son financiados por el Sistema Nacional de Investigación (SNI) de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT).

Referencias

- Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., & Nalbant, A. (2017). Flow cytometry: basic principles and applications. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 37, Issue 2, pp. 163–176). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>
- Akhbarizadeh, R., Moore, F., Keshavarzi, B., & Moeinpour, A. (2017). Microplastics and potentially toxic elements in coastal sediments of Iran's main oil terminal (Khark Island). *Environmental Pollution*, 220, 720–731. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.038>
- Akter, M., Sikder, M. T., Rahman, M. M., Ullah, A. K. M. A., Hossain, K. F. B., Banik, S., Hosokawa, T., Saito, T., & Kurasaki, M. (2018). A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: Physicochemical properties and perspectives. *Journal of Advanced Research*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.10.008>
- Aljaibachi, R., & Callaghan, A. (2018). Impact of polystyrene microplastics on *Daphnia magna* mortality and reproduction in relation to food availability. *PeerJ*, 6, e4601. <https://doi.org/10.7717/peerj.4601>
- Aragaw, T. A. (2021). Microplastic pollution in African countries' water systems: a review on findings, applied methods, characteristics, impacts, and managements. *SN Applied Sciences*, 3(6), 629. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04619-z>
- Arias, A. H., Ronda, A. C., Oliva, A. L., & Marcovecchio, J. E. (2019). Evidence of Microplastic Ingestion by Fish from the Bahía Blanca Estuary in Argentina, South America. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(6), 750–756. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02604-2>
- Arpía, A. A., Chen, W.-H., Ubando, A. T., Naqvi, S. R., & Culaba, A. B. (2021). Microplastic degradation as a sustainable concurrent approach for producing biofuel and obliterating hazardous environmental effects: A state-of-the-art review. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126381. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126381>
- Astorga-Pérez, A., Ulate-Naranjo, K., & Abarca-Guerrero, L. (2022). Presencia de microplásticos en especies marinas del Parque Nacional Marino las Baulas. *Revista Tecnología En Marcha*, pág. 27-38.

- Barboza, L. G. A., Vieira, L. R., Branco, V., Figueiredo, N., Carvalho, F., Carvalho, C., & Guilhermino, L. (2018). Microplastics cause neurotoxicity, oxidative damage and energy-related changes and interact with the bioaccumulation of mercury in the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquatic Toxicology*, 195, 49–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.12.008>
- Beiras, R., Bellas, J., Cachot, J., Cormier, B., Cousin, X., Engwall, M., Gambardella, C., Garaventa, F., Keiter, S., le Bihanic, F., López-Ibáñez, S., Piazza, V., Rial, D., Tato, T., & Vidal-Liñán, L. (2018). Ingestion and contact with polyethylene microplastics does not cause acute toxicity on marine zooplankton. *Journal of Hazardous Materials*, 360, 452–460. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.101>
- Bermúdez-Guzmán, L., Alpízar-Villalobos, C., Gatgens-García, J., Jiménez-Huezo, G., Rodríguez-Arias, M., Molina, H., Villalobos, J., Paniagua, S. A., Vega-Baudrit, J. R., & Rojas-Jimenez, K. (2020). Microplastic ingestion by a herring *Opisthonema* sp. in the Pacific coast of Costa Rica. *Regional Studies in Marine Science*, 38, 101367. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101367>
- Besseling, E., Quik, J. T. K., Sun, M., & Koelmans, A. A. (2017). Fate of nano- and microplastic in freshwater systems: A modeling study. *Environmental Pollution*, 220, 540–548. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.001>
- Cáceres, J., Robinson-Duggon, J., Tapia, A., Paiva, C., Gómez, M., Bohne, C., & Fuentealba, D. (2017). Photochemical behavior of biosupramolecular assemblies of photosensitizers, cucurbit[n]urils and albumins. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(3), 2574–2582. <https://doi.org/10.1039/C6CP07749H>
- Cai, Y., Li, C., & Zhao, Y. (2022). A Review of the Migration and Transformation of Microplastics in Inland Water Systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(1), 148. <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/1/148>
- Calderon, E. A., Hansen, P., Rodríguez, A., Blettler, M. C. M., Syberg, K., & Khan, F. R. (2019). Microplastics in the Digestive Tracts of Four Fish Species from the Ciénaga Grande de Santa Marta Estuary in Colombia. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(11), 257. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4313-8>
- Caputi, S., Diomedede, F., Lanuti, P., Marconi, G. D., di Carlo, P., Sinjari, B., & Trubiani, O. (2022). Microplastics Affect the Inflammation Pathway in Human Gingival Fibroblasts: A Study in the Adriatic Sea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13), 7782. <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/13/7782>
- Chagnon, C., Thiel, M., Antunes, J., Ferreira, J. L., Sobral, P., & Ory, N. C. (2018). Plastic ingestion and trophic transfer between Easter Island flying fish (*Cheilopogon rapanouiensis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from Rapa Nui (Easter Island). *Environmental Pollution*, 243, 127–133. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.042>
- Chen, Q., Allgeier, A., Yin, D., & Hollert, H. (2019). Leaching of endocrine disrupting chemicals from marine microplastics and mesoplastics under common life stress conditions. *Environment International*, 130, 104938. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104938>
- Cowger, W., Gray, A., Christiansen, S. H., DeFrond, H., Deshpande, A. D., Hemabessiere, L., Lee, E., Mill, L., Munno, K., Ossmann, B. E., Pittroff, M., Rochman, C., Sarau, G., Tarby, S., & Primpke, S. (2020). Critical Review of Processing and Classification Techniques for Images and Spectra in Microplastic Research. *Applied Spectroscopy*, 74(9), 989–1010. <https://doi.org/10.1177/0003702820929064>

- Cutroneo, L., Reboa, A., Geneselli, I., & Capello, M. (2021). Considerations on salts used for density separation in the extraction of microplastics from sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 166, 112216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112216>
- Day, M., & Wiles, D. M. (1972). Photochemical degradation of poly(ethylene terephthalate). III. Determination of decomposition products and reaction mechanism. *Journal of Applied Polymer Science*, 16(1), 203–215. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.1972.070160118>
- Debroy, A., George, N., & Mukherjee, G. (2022). Role of biofilms in the degradation of microplastics in aquatic environments. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 97(12), 3271–3282. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jctb.6978>
- Delvalle de Borrero, D., Fábrega Duque, J., Olmos, J., Garcés-Ordóñez, O., Amaral, S. S. G. do, Vezzone, M., de Sá Felizardo, J. P., & Meigikos dos Anjos, R. (2020). Distribution of Plastic Debris in the Pacific and Caribbean Beaches of Panama. *Air, Soil and Water Research*, 13, 117862212092026. <https://doi.org/10.1177/1178622120920268>
- Deng, Y., Zhang, Y., Lemos, B., & Ren, H. (2017). Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Scientific Reports*, 7(1), 46687. <https://doi.org/10.1038/srep46687>
- Desforges, J.-P. W., Galbraith, M., & Ross, P. S. (2015). Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(3), 320–330. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0172-5>
- Driscoll, S. C., Glassic, H. C., Guy, C. S., & Koel, T. M. (2021). Presence of Microplastics in the Food Web of the Largest High-Elevation Lake in North America. *Water*, 13(3), 264. <https://www.mdpi.com/2073-4441/13/3/264>
- Everaert, G., van Cauwenberghe, L., de Rijcke, M., Koelmans, A. A., Mees, J., Vandegehuchte, M., & Janssen, C. R. (2018). Risk assessment of microplastics in the ocean: Modelling approach and first conclusions. *Environmental Pollution*, 242, 1930–1938. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.069>
- Fallon, B. R., & Freeman, C. J. (2021). Plastics in Porifera: The occurrence of potential microplastics in marine sponges and seawater from Bocas del Toro, Panamá. *PeerJ*, 9, e11638. <https://doi.org/10.7717/peerj.11638>
- Fu, W., Min, J., Jiang, W., Li, Y., & Zhang, W. (2020). Separation, characterization and identification of microplastics and nanoplastics in the environment. *Science of the Total Environment*, 721, 137561. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137561>
- Geuskens, G., & David, C. (1979). The photo-oxidation of polymers. A comparison with low molecular weight compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 51(2), 233–240. <https://doi.org/10.1351/pac197951020233>
- Gewert, B., Plassmann, M. M., & Macleod, M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. In *Environmental Sciences: Processes and Impacts* (Vol. 17, Issue 9, pp. 1513–1521). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5em00207a>
- Hebner, T. S., & Maurer-Jones, M. A. (2020). Characterizing microplastic size and morphology of photodegraded polymers placed in simulated moving water conditions. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(2), 398–407. <https://doi.org/10.1039/C9EM00475K>
- Ivleva, N. P. (2021). Chemical Analysis of Microplastics and Nanoplastics: Challenges, Advanced Methods, and Perspectives. *Chemical Reviews*, 121(19), 11886–11936. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00178>

- Jenekhe, S. A., Lin, J. W., & Sun, B. (1983). Kinetics of the thermal degradation of polyethylene terephthalate. *Thermochimica Acta*, 61(3), 287–299. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(83\)80283-4](https://doi.org/10.1016/0040-6031(83)80283-4)
- Kaile, N., Lindivat, M., Elio, J., Thuestad, G., Crowley, Q. G., & Hoell, I. A. (2020). Preliminary Results From Detection of Microplastics in Liquid Samples Using Flow Cytometry. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.552688>
- Kelly, F. J., & Fussell, J. C. (2012). Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmospheric Environment*, 60, 504–526. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.039>
- Lebreton, L., & Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5(1), 6. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
- Lee, S., Alam, M. B., Jung, M.-J., Lee, S., Liu, K.-H., Lee, S.-H., & Kim, S. (2022). Identification and Toxicity Evaluation of Water-Soluble Chemicals Generated by the Photooxidative Degradation of Expanded Polystyrene. *Frontiers in Environmental Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.938120>
- Leslie, H. A., van Velzen, M. J. M., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International*, 163, 107199. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
- Li, X., Sun, X., & Carmeliet, P. (2019). Hallmarks of Endothelial Cell Metabolism in Health and Disease. *Cell Metabolism*, 30(3), 414–433. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.08.011>
- Lichtman, J. W., & Conchello, J.-A. (2005). Fluorescence microscopy. *Nature Methods*, 2(12), 910–919. <https://doi.org/10.1038/nmeth817>
- Lim, S. L., Ng, C. T., Zou, L., Lu, Y., Chen, J., Bay, B. H., Shen, H.-M., & Ong, C. N. (2019). Targeted metabolomics reveals differential biological effects of nanoplastics and nanoZnO in human lung cells. *Nanotoxicology*, 13(8), 1117–1132. <https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1640913>
- Lu, Y., Zhang, Y., Deng, Y., Jiang, W., Zhao, Y., Geng, J., Ding, L., & Ren, H. (2016). Uptake and Accumulation of Polystyrene Microplastics in Zebrafish (*Danio rerio*) and Toxic Effects in Liver. *Environmental Science & Technology*, 50(7), 4054–4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00183>
- Mailhot, B., Rivaton, A., & Gardette, J. L. (2003). Photochemical Degradation of Styrenic Polymers. In *Modern Styrenic Polymers: Polystyrenes and Styrenic Copolymers* (pp. 703–725). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/0470867213.ch30>
- Martínez González, V. S., Guerrero Rivera, S., Mora-Longa, G., Klagges Ormeño, C., Moreno Araneda, M., Miranda Montenegro, M. L., Palacios Peñaranda, M. L., Chaurra Arboleda, A. M., Purca Cuicapusa, S. R., Robinson-Duggon, J., & Vega-Baudrit, J. R. (2022). La problemática de los micro y nanoplasticos en las costas americanas del Océano Pacífico. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 16(30), 1e–34e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69783>
- Martinez-Tavera, E., Duarte-Moro, A. M., Sujitha, S. B., Rodriguez-Espinosa, P. F., Rosano-Ortega, G., & Expósito, N. (2021). Microplastics and metal burdens in freshwater Tilapia (*Oreochromis niloticus*) of a metropolitan reservoir in Central Mexico: Potential threats for human health. *Chemosphere*, 266, 128968. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128968>
- Meindl, C., Kueznik, T., Bösch, M., Roblegg, E., & Fröhlich, E. (2015). Intracellular calcium levels as screening tool for nanoparticle toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 35(10), 1150–1159. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jat.3160>

- Miranda, M. L., Mustaffa, N. I. H., Robinson, T. B., Stolle, C., Ribas-Ribas, M., Wurl, O., & Zielinski, O. (2018). Influence of solar radiation on biogeochemical parameters and fluorescent dissolved organic matter (FDOM) in the sea surface microlayer of the southern coastal North Sea. *Elem Sci Anth*, 6(1), 15. <https://doi.org/http://doi.org/10.1525/elementa.278>
- Moresco, V., Charatzidou, A., Oliver, D. M., Weidmann, M., Matallana-Surget, S., & Quilliam, R. S. (2022). Binding, recovery, and infectiousness of enveloped and non-enveloped viruses associated with plastic pollution in surface water. *Environmental Pollution*, 308, 119594. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119594>
- Nations, U. (2020). Goal 6: Ensure availability and sustainable management of water and sanitation for all (U. N, Ed.). United Nations. <https://www.un.org/development/desa/disabilities/envision2030-goal6.html>
- Nobre, C. R., Santana, M. F. M., Maluf, A., Cortez, F. S., Cesar, A., Pereira, C. D. S., & Turra, A. (2015). Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Mar Pollut Bull*, 92(1–2), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.050>
- Ory, N., Chagnon, C., Felix, F., Fernández, C., Ferreira, J. L., Gallardo, C., Garcés Ordóñez, O., Henostroza, A., Laaz, E., Mizraji, R., Mojica, H., Murillo Haro, V., Ossa Medina, L., Preciado, M., Sobral, P., Urbina, M. A., & Thiel, M. (2018). Low prevalence of microplastic contamination in planktivorous fish species from the southeast Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 211–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.016>
- Pattiaratchi, C., van der Mheen, M., Schlundt, C., Narayanaswamy, B. E., Sura, A., Hajbane, S., White, R., Kumar, N., Fernandes, M., & Wijeratne, S. (2022). Plastics in the Indian Ocean – sources, transport, distribution, and impacts. *Ocean Sci.*, 18(1), 1–28. <https://doi.org/10.5194/os-18-1-2022>
- Payton, T. G., Beckingham, B. A., & Dustan, P. (2020). Microplastic exposure to zooplankton at tidal fronts in Charleston Harbor, SC USA. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 232, 106510. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.106510>
- Pegado, T. de S. e S., Schmid, K., Winemiller, K. O., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Dei, L., & Giarrizzo, T. (2018). First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 814–821. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.035>
- Picot, J., Guerin, C. L., Le Van Kim, C., & Boulanger, C. M. (2012). Flow cytometry: retrospective, fundamentals and recent instrumentation. *Cytotechnology*, 64(2), 109–130. <https://doi.org/10.1007/s10616-011-9415-0>
- Pinto da Costa J., Rocha-Santos T.A.P., D. A. C. (2017). Characterization and Analysis of Microplastics. In T. A. P. Rocha-Santos & A. C. Duarte (Eds.), *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 75, p. i). Elsevier. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(17\)30014-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0166-526X(17)30014-4)
- Piruska, A., Nikcevic, I., Lee, S. H., Ahn, C., Heineman, W. R., Limbach, P. A., & Seliskar, C. J. (2005). The autofluorescence of plastic materials and chips measured under laser irradiation. *Lab on a Chip*, 5(12), 1348–1354. <https://doi.org/10.1039/B508288A>
- Poma, A., Vecchiotti, G., Colafarina, S., Zarivi, O., Aloisi, M., Arrizza, L., Chichiriccò, G., & di Carlo, P. (2019). In Vitro Genotoxicity of Polystyrene Nanoparticles on the Human Fibroblast Hs27 Cell Line. *Nanomaterials*, 9(9), 1299. <https://www.mdpi.com/2079-4991/9/9/1299>
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2020). Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. *Science of the Total Environment*, 702, 134455. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>

- Primpke, S., Wirth, M., Lorenz, C., & Gerdts, G. (2018). Reference database design for the automated analysis of microplastic samples based on Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(21), 5131–5141. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1156-x>
- Robinson-Duggon, J., Mariño-Ocampo, N., Barrias, P., Zúñiga-Núñez, D., Günther, G., Edwards, A. M., Greer, A., & Fuentealba, D. (2019). Mechanism of Visible-Light Photooxidative Demethylation of Toluidine Blue O. *The Journal of Physical Chemistry A*, 123(23), 4863–4872. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.9b03588>
- Robinson-Duggon, J., Pérez-Mora, F., Dibona-Villanueva, L., & Fuentealba, D. (2018). Potential Applications of Cucurbit[n]urils Inclusion Complexes in Photodynamic Therapy. *Israel Journal of Chemistry*, 58(3–4), 199–214. <https://doi.org/10.1002/ijch.201700093>
- Robinson-Duggon, J., Pérez-Mora, F., Valverde-Vásquez, L., Cortés-Arriagada, D., de la Fuente, J. R., Günther, G., & Fuentealba, D. (2017). Supramolecular Reversible On–Off Switch for Singlet Oxygen Using Cucurbit[n]uril Inclusion Complexes. *The Journal of Physical Chemistry C*, 121(39), 21782–21789. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b07736>
- Ruenraroengsak, P., & Tetley, T. D. (2015). Differential bioreactivity of neutral, cationic and anionic polystyrene nanoparticles with cells from the human alveolar compartment: robust response of alveolar type 1 epithelial cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 12(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12989-015-0091-7>
- Schirinzi, G. F., Pérez-Pomeda, I., Sanchís, J., Rossini, C., Farré, M., & Barceló, D. (2017). Cytotoxic effects of commonly used nanomaterials and microplastics on cerebral and epithelial human cells. *Environmental Research*, 159, 579–587. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.043>
- Scott, G. (1995). Initiation processes in polymer degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 48(3), 315–324. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(95\)00090-9](https://doi.org/10.1016/0141-3910(95)00090-9)
- Sgier, L., Freimann, R., Zupanic, A., & Kroll, A. (2016). Flow cytometry combined with viSNE for the analysis of microbial biofilms and detection of microplastics. *Nature Communications*, 7(1), 11587. <https://doi.org/10.1038/ncomms11587>
- Shanmugam, V., Das, O., Neisiany, R. E., Babu, K., Singh, S., Hedenqvist, M. S., Berto, F., & Ramakrishna, S. (2020). Polymer Recycling in Additive Manufacturing: an Opportunity for the Circular Economy. *Materials Circular Economy*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s42824-020-00012-0>
- Shi, Q., Tang, J., Liu, R., & Wang, L. (2022). Toxicity in vitro reveals potential impacts of microplastics and nanoplastics on human health: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(21), 3863–3895. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1951528>
- Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., & Jang, M. (2016). Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining. *Marine Pollution Bulletin*, 113(1–2), 469–476. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.049>
- Shruti, V. C., Pérez-Guevara, F., Roy, P. D., & Kutralam-Muniasamy, G. (2022). Analyzing microplastics with Nile Red: Emerging trends, challenges, and prospects. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127171. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127171>
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>

- Silva-Cavalcanti, J. S., Silva, J. D. B., França, E. J. de, Araújo, M. C. B. de, & Gusmão, F. (2017). Microplastics ingestion by a common tropical freshwater fishing resource. *Environmental Pollution*, 221, 218–226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.068>
- Sorasan, C., Ortega-Ojeda, F. E., Rodríguez, A., & Rosal, R. (2022). Modelling the Photodegradation of Marine Microplastics by Means of Infrared Spectrometry and Chemometric Techniques. *Microplastics*, 1(1), 198–210. <https://www.mdpi.com/2673-8929/1/1/13>
- Staggs, J. E. J. (1999). Modelling thermal degradation of polymers using single-step first-order kinetics. *Fire Safety Journal*, 32(1), 17–34. [https://doi.org/10.1016/S0379-7112\(98\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0379-7112(98)00026-5)
- Statista. (2020). Plastic production worldwide 2020. <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, K., & Loridas, S. (2013). Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9), 3886–3907. <https://doi.org/10.3390/ijerph10093886>
- Yan, Z., Liu, Y., Zhang, T., Zhang, F., Ren, H., & Zhang, Y. (2022). Analysis of Microplastics in Human Feces Reveals a Correlation between Fecal Microplastics and Inflammatory Bowel Disease Status. *Environmental Science & Technology*, 56(1), 414–421. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03924>
- Yang, Y., Shao, H., Wu, Q., & Wang, D. (2020). Lipid metabolic response to polystyrene particles in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Pollution*, 256, 113439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113439>
- Yee, M. S., Hii, L. W., Looi, C. K., Lim, W. M., Wong, S. F., Kok, Y. Y., Tan, B. K., Wong, C. Y., & Leong, C. O. (2021). Impact of Microplastics and Nanoplastics on Human Health. *Nanomaterials (Basel)*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/nano11020496>
- Yin, L., Liu, H., Cui, H., Chen, B., Li, L., & Wu, F. (2019). Impacts of polystyrene microplastics on the behavior and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Journal of Hazardous Materials*, 380, 120861. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120861>
- Yousif, E., & Haddad, R. (2013). Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *SpringerPlus*, 2(1), 398. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>
- Zhao, Y., Bao, Z., Wan, Z., Fu, Z., & Jin, Y. (2020). Polystyrene microplastic exposure disturbs hepatic glycolipid metabolism at the physiological, biochemical, and transcriptomic levels in adult zebrafish. *Science of the Total Environment*, 710, 136279. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136279>
- Zhu, K., Jia, H., Sun, Y., Dai, Y., Zhang, C., Guo, X., Wang, T., & Zhu, L. (2020). Long-term phototransformation of microplastics under simulated sunlight irradiation in aquatic environments: Roles of reactive oxygen species. *Water Research*, 173, 115564. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115564>
- Zhu, L., Zhao, S., Bittar, T. B., Stubbins, A., & Li, D. (2020). Photochemical dissolution of buoyant microplastics to dissolved organic carbon: Rates and microbial impacts. *Journal of Hazardous Materials*, 383, 121065. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121065>