

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETECCIÓN DE MICROPLÁSTICOS EN MEJILLÓN (*Mytilus edulis*) DE LA
COSTA ATLÁNTICA URUGUAYA**

Por

RODRÍGUEZ PERERA, Gabriela Ruth

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección-Control y
Tecnología de los Alimentos de Origen
Animal.

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2019**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa: _____
Dr. José Pedro Dragonetti

Segundo Miembro (Tutor): _____
Dra. Cristina Friss de Kereki

Tercer Miembro: _____
Dra. Carina Galli

Cuarto Miembro (co-tutor): _____
Dr. Santiago Díaz

Fecha: _____
23 de agosto de 2019

Autores: _____
Br. Gabriela Ruth Rodríguez Perera

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi tutora, la Dra. Cristina Friss de Kereki; co-tutor Dr. Santiago Díaz y al Dr. José Pedro Dragonetti por brindarme su apoyo, respaldo, dedicación, y especialmente su tiempo durante la realización de toda la tesis de grado.

A todos los integrantes del Instituto de Investigaciones Pesqueras por su buena disposición, compañerismo y continua ayuda a lo largo del transcurso de este trabajo.

A cada uno de los profesores y compañeros que de una u otra manera cooperaron en el transcurso de este camino.

También en manera especial agradecer a mi familia por ser mi mayor apoyo y fuerza de motivación durante todos estos años de carrera.

A mis compañeros y amigos que siempre estuvieron para ayudarme y entre todos sacar el mayor provecho de esta carrera tan apasionante.

Pero por sobre todo, gracias a Dios.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	5
1. RESUMEN.....	6
2. SUMMARY.....	8
3. INTRODUCCIÓN.....	9
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
4.1 Plásticos.....	11
4.2 Microplásticos.....	12
4.3 Normativa nacional.....	13
4.4 Moluscos.....	14
4.5 <i>Mytilus edulis</i>	15
4.6 Extracción de mejillones en Uruguay.....	16
4.7 Efectos de los microplásticos en los organismos vivos.....	17
5. OBJETIVOS.....	19
5.1 Objetivo general	
5.2 Objetivos particulares	
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
7. RESULTADOS.....	23
8. DISCUSIÓN.....	27
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	27
10. BIBLIOGRAFÍA.....	28

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Número de fibras, fragmentos y otros objetos plásticos encontrados en cada muestra.....	23
Figura 1. Método con Peróxido de Hidrógeno.....	21
Figura 2. Método enzimático.....	22
Figura 3. Gráfica de porcentajes del total de fibras y fragmentos identificados.....	24
Figura 4. Gráfica de porcentajes de fibras halladas en la zona de Rocha y fibras halladas en Maldonado	25
Figura 5. Gráfica de porcentajes de fragmentos encontrados en Rocha y fragmentos encontrados en Maldonado.....	25
Figura 6. Imagen de una fibra tomada con el microscopio digital.....	26
Figura 7. Medición de una fibra bajo la lupa.....	26
Figura 8. Imagen de un fragmento plástico tomada con el microscopio digital.....	26
Figura 9. Medición de un fragmento bajo la lupa estereoscópica.....	26
Figura 10. Imagen de pellets tomada con el microscopio digital.....	26

1. RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de microplásticos en moluscos bivalvos destinados a consumo humano, de la costa atlántica uruguaya. El experimento fue realizado en los meses de agosto a noviembre del año 2018, en el Instituto de Investigaciones Pesqueras. Se utilizaron muestras de *Mytilus edulis*. La elección de esta especie de moluscos fue debido a que se consumen en su totalidad, exceptuando las valvas; a sus hábitos de alimentación y respiración branquial basados en la filtración; y a su ubicación en la cadena trófica. Las muestras fueron recolectadas en agosto 2018, en la zona de La Pedrera, Rocha, y de la zona de Punta Colorada, Maldonado. Respetando cada una de las zonas, las muestras fueron agrupadas ("pool") y fueron divididas en 30 sub-muestras de 10 gramos de tejido blando cada una. Para determinar la presencia de microplásticos se utilizó un método modificado, basado en la combinación de la técnica propuesta por Li en el año 2015 y de otro método descrito por Mathalon y Hill en 2014. El mismo consistió en separar el tejido blando de la concha y pesar 10 gramos de tejido blando en cada sub-muestra. A las mismas se le agregaron 150 ml de H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) a una concentración de 30%, con el fin de digerir todo tipo de tejido vivo presente. Se colocó cada sub-muestra en el plato caliente con agitador, a una temperatura de 120° C, alcanzando en el centro de la mezcla 65° C y a una velocidad de 100 rpm, con el objetivo de facilitar la digestión de los tejidos. Una vez que la fase líquida se evaporó en cada una, se le agregaron 100 ml de una solución salina concentrada para realizar la flotación de cualquier material plástico que se hallara presente. Luego de 5 minutos se filtraron las sub-muestras con un filtro de tamaño 0.8 micras. Cada filtro fue examinado bajo lupa estereoscópica, en busca de microplásticos. Se detectó la presencia de distintos tipos de microplásticos en todas las muestras analizadas bajo esta técnica. Se procesaron con este método 10 sub-muestras provenientes de cada zona. Se encontró un total de 321 fibras (52.6%) y 289 fragmentos (47.4%).

Además del protocolo realizado por los autores nombrados anteriormente, se experimentó con un nuevo método basado en la digestión de los tejidos vivos con la enzima FPH. Para el mismo se utilizaron 5 sub-muestras de La Pedrera y 5 sub-muestras de Punta Colorada. Este método consistió en separar la concha de los tejidos blandos, pesando 10 gramos para cada una. Se les agregó agua a 60° C, a enrasar 100 ml y 0,1 ml de enzima. Se colocaron las muestras en estufa a 60° C durante 24 horas. Luego se procedió de la misma manera que en la técnica anteriormente descrita, agregándole solución salina concentrada y filtrando. En el caso de las sub-muestras procesadas con la enzima se realizaron dos filtrados previa adición de solución salina.

Fue detectada la presencia de microplásticos bajo esta técnica también en todos los ejemplares analizados.

En la técnica basada en la digestión con peróxido de hidrógeno se observaron dos grandes ventajas, la primera es que como resultado de esta digestión se obtenía una mezcla sin elementos sobrenadantes, lo cual facilitaba en gran manera la filtración, la segunda era que este líquido resultante era transparente o apenas blanquecino, simplificando así la observación del filtro en la lupa e identificación de los diferentes tipos de microplásticos.

Con el método que se experimentó utilizando la enzima comercial conseguimos agilizar el tratamiento de las muestras, una gran ventaja, que se pudieron procesar

varias muestras a la vez. La desventaja de este método fue que las muestras obtenidas presentaban partículas sobrenadantes, hecho que nos llevó a realizar doble filtrado con cada una de las muestras y que los filtros resultaron con una coloración oscura lo que dificultó la observación bajo la lupa, la identificación y conteo de microplásticos.

2. SUMMARY

The objective of this study was to determine the presence of microplastics in bivalve mollusks intended for human consumption, in the Uruguayan Atlantic Coast. The experiment was carried out in the months of August to November and taken place at "Instituto de Investigaciones Pesqueras". Samples of *Mytilus edulis* were used. This species of mollusk was chosen because it is consumed in its entirety, except for the valves; their eating habits and bronchial respiration based on filtration, and their place in the food chain. The samples were collected in August 2018 around the area of Pedrera, Rocha, and Punta Colorada, Maldonado. Respecting each area, the samples were grouped ("pool") and were divided into 30 sub-samples of 10 grams of soft tissue each. A modified method was used to determine the presence of microplastics, based on a combination of the technique proposed by Li in 2015 and another method described by Mathalon and Hill in 2014. The same consisted in separating the soft tissue of the shell and weighing 10 grams of soft tissue in each sub-sample. Then, 150 ml of H₂O₂ (hydrogen peroxide) to a concentration of 30% were added to these, in order to digest all the live tissue present. Each sub-sample was placed in the Hotplate stirrer at a temperature of 120° Celsius, the center of the mixture reaching 65 ° Celsius and a velocity of 100 rpm, with the objective of facilitating the digestion of the tissues. Once the liquid phase was evaporated, 100 ml of a concentrated saline solution was added to make float any plastic material present. Five minutes later the sub-samples were filtered using a filter of 0.8 microns. Each filter was examined under a stereoscopic magnifying glass, in search of microplastics. The presence of different types of microplastics was detected in all the samples analyzed under this technique. Ten sub-samples from each zone were processed with this method. A total of 321 (52.6%) fibers and 289 plastic fragments (47.4%) were found. In addition to the protocol made by the authors previously named, it was experimented with a new method based on the digestion of living tissues with the enzyme FPH. For this method, 5 sub-samples of La Pedrera and 5 sub-samples of Punta Colorada were used. This technique consisted in separating the shell from soft tissues, weighing 10 grams for each. Water was added to 60 ° Celsius, to the volume of 100 ml and 0.1 ml of enzyme. The samples were placed in an oven at 60 ° Celsius for 24 hours. It was then proceeded in the same way as in the technique described above, adding concentrated saline solution and filtering. In the case of sub-samples processed with the enzyme, two filtrates were carried out prior to the addition of saline solution. The presence of microplastics was detected under this technique as well as in all the other analyzed specimens. Two great advantages were observed in the technique based on digestion peroxide, the first was that as a result of this digestion, a mixture with no supernatant elements was obtained, which facilitated the filtration. The second was that this resulting liquid was transparent or barely whitish, thus simplifying the observation of the filter in the magnifying glass and identification of the different types of microplastics. With the method that was experimented using the commercial enzyme we managed to expedite the processing of the samples. It was a great advantage that this method could be done with several samples at a time. The disadvantage of this method was that the samples obtained had supernatant particles, which lead us to double filter each of the samples and the filters resulted in a dark coloration which made difficult the observation under the magnifying glass, the identification and the count of the microplastics.

3. INTRODUCCIÓN

Los microplásticos son pequeñas piezas de plástico menores a 5 milímetros de diámetro, recientemente identificadas como el principal componente de la contaminación en el ambiente marino (Li *et al*, 2016). Algunos de ellos se originan a partir de grandes piezas plásticas que gradualmente se destruyen, estos serían los llamados secundarios; otros, como en el caso de los primarios, son manufacturados intencionalmente, principalmente en la industria de productos cosméticos, de higiene y limpieza, que por medio de los desagües llegan al mar. La creciente producción de materiales de plástico de un solo uso y el inapropiado o ineficiente manejo de los residuos resultantes, son una potente amenaza de contaminación ambiental, principalmente del ambiente marino ya que suele ser el destino final de gran parte de ellos. La importancia que tiene la difusión de estos materiales en los diferentes hábitats, ya sea terrestre o marino, radica en que no son biodegradables, es decir no se degradan en elementos que no dañan el ambiente (Greenpeace, 2018). Fragmentos de diversos tamaños y composición química llegan a océanos y mares y se ha documentado la ingestión de los mismos por vertebrados e invertebrados marinos, que se diferencian mediante su posición en la cadena trófica, su mecanismo de alimentación y su ubicación en la columna de agua.

Los microplásticos poseen ciertas características que les permiten combinar el estrés físico con el potencial peligro químico y microbiológico. Es por esto que para su estudio se deben tener en cuenta ambos peligros, basados en la adsorción, filtración y desorción. La adsorción está referida a las sustancias químicas y microorganismos que son atraídas, se adhieren y son vehiculizados por las partículas de plástico. La desorción es la propiedad que presenta dicho material, de emitir sustancias químicas previamente adsorbidas; y la filtración ocurre cuando las sustancias químicas añadidas al plástico durante su fabricación se desprenden de éste (Greenpeace, 2016). Debido a esto, los estudios relacionados a los potenciales peligros ocasionados por los microplásticos, deben abarcar los efectos individuales de la partícula, los químicos que puedan estar adheridos a ella, o los que puedan ser liberados por ella, propios de su composición, además de sus interacciones (Rochman, 2015). Una vez ingeridos, los microplásticos pueden inducir daños mecánicos, efectos subletales y varias respuestas celulares.

Varios estudios demostraron que los microplásticos ingeridos pueden introducirse en las células mediante endocitosis, ser retenidos y hasta ser transportados a diferentes tejidos (Pittura *et al*, 2018). En los bivalvos, por ejemplo, se demostró que las partículas plásticas pueden pasar del tubo digestivo a la sangre causándoles importantes daños (Li *et al*, 2015). Producen efectos adversos en la alimentación, funciones vitales, comportamiento y fecundidad de los diversos organismos acuáticos, en los cuales ingresan mediante ingestión o adhesión. Además de causar daños específicamente en estos organismos, se plantean los presuntos daños en la salud humana acarreados por el consumo de estos organismos acuáticos portadores de partículas plásticas, siendo ya constatada su presencia en muestras de heces humanas en un estudio realizado por la Agencia Medioambiental de Austria (National Geographic, 2018).

A pesar de las graves consecuencias de la contaminación con plásticos en los ecosistemas acuáticos, recién en la década del 1970 surgen los primeros estudios acerca de este tema (Alexandre, 2017).

La presencia de diversos materiales plásticos como platos, vasos, recipientes, botellas, bolsas, que se pueden observar en las playas de la costa uruguaya, particularmente luego de episodios de tormenta, lluvias o vientos, hace sospechar de la presencia de microplásticos en el hábitat marino.

Diversos estudios han sido publicados referidos a la presencia de microplásticos en océanos, en una gran variedad especies de peces, moluscos, pero todos ellos fueron realizados en otros países. Las investigaciones nacionales publicadas, hasta el momento, únicamente hacen referencia a la detección de microplásticos en el ambiente, contenido estomacal de peces y no en moluscos bivalvos destinados a consumo, por lo tanto se consideró pertinente realizar el presente estudio.

Para la detección de microplásticos en el ambiente marino, se eligieron moluscos bivalvos como indicadores, debido a su mecanismo de alimentación y respiración basado en la filtración de agua, y su ubicación en la cadena trófica.

La metodología utilizada para realizar este estudio está basada en la digestión química del tejido vivo de los ejemplares seleccionados, resultando de esta digestión solamente materiales inertes, los cuales se separan del sedimento obtenido gracias a su baja densidad por flotación y posterior filtración del sobrenadante (Li *et al.*, 2015). La técnica utilizada fue una adaptación de dos métodos el de Li (2015) y el de Mathalon y Hill (2014), probados por diferentes autores en estudios relacionados a la detección de microplásticos, con obtención de muy buenos resultados.

Los resultados obtenidos, confirmaron la existencia de microplásticos en los mejillones. Se detectó la presencia de diferentes tipos de micropartículas de plástico en todas las muestras analizadas. El presente estudio tuvo como fin contribuir con información referida a nuestro país sobre el tema en cuestión y plasmar una base para futuras investigaciones y posibles soluciones a la problemática planteada.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Plásticos

En el año 1859 en Gran Bretaña, comienza la historia de los plásticos, aparece un material llamado fibra vulcanizada. Unos años después, en 1870, John Wesley Hyatt compitió en un certamen realizado en Estados Unidos, que consistía en encontrar un material que reemplazara al marfil natural utilizado para las bolas de billar. Hyatt revolucionó la industria con el primer plástico, el “celuloide” (una mezcla de nitrato de celulosa y alcanfor). Transcurriendo el año 1907 Leo Baekeland descubrió la baquelita (formaldehído fenólico), el cual llegaría a ser el primer plástico totalmente sintético, pero no fue hasta el fin de la Segunda Guerra Mundial, que se crearon los materiales utilizados en la actualidad como el polietileno de baja densidad, momento en el cual surge la industria de plástico (ECOticias, 2010; Góngora, 2014).

En Uruguay la industria del plástico comienza en el año 1940 y se fabrican a partir de la baquelita: llaves de luz y plaquetas como primeros productos plásticos nacionales (AUIP, 2018).

Debido a que los materiales plásticos presentan gran versatilidad, liviano peso y bajo costo es que su producción viene en aumento. Este material forma parte de nuestra vida cotidiana, en bolsas de basura, de supermercado, botellas de bebidas, envases de comida, productos de limpieza, de higiene personal, cosméticos y hasta en nuestras prendas de vestir.

En el año 2016 la producción de plástico alcanzó las 335 millones de toneladas, sin contar las fibras sintéticas que se utilizan en las cuerdas, redes, prendas de vestir u otros productos, las cuales sumaron 61 millones de toneladas ese año. China es el principal productor de plástico, habiendo producido en el 2016 un 29% del total, seguido por Europa con un 19% y América del Norte 18%. Debido a la gran producción originada en China, es que el continente asiático es el responsable del 50% de la producción mundial de plástico. Se prevé para el año 2020 una producción que superará los 500 millones de toneladas, lo que representaría un 900% más que lo que se producía en el año 1980 (Greenpeace, 2018).

Más allá de que existen objetos de plásticos reciclables y reutilizables, más del 50% de ellos son creados para un único uso, lo que genera cada vez más residuos. Que un objeto sea reutilizable, significa que luego de su uso se puede higienizar y volver a utilizar, como pasa por ejemplo con cierto tipo de botellas. Si nos referimos al reciclaje del objeto, hablamos de diferentes métodos que transforman el objeto en uno nuevo, diferente al anterior. De esta manera se fabrican por ejemplo las maderas plásticas así como también las fibras textiles. Una particularidad que poseen los objetos reciclados es que no deben usarse como envases de productos para consumo humano.

Desde el punto de vista químico los plásticos son polímeros (sustancias formadas por largas cadenas de moléculas que se repiten). La mayor parte de ellos son de origen sintético y gracias a sus variadas propiedades es que tienen mayor uso que otros materiales más antiguos como la madera, el vidrio o el metal.

Lo primero que se utilizó como materia prima para fabricar plásticos eran sustancias de origen vegetal obtenidas del almidón, algodón y avellanas. Posteriormente, por un tema de costos y practicidad se comenzaron a utilizar materias primas provenientes del petróleo crudo o del gas natural (Derraik, 2002; Rios *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2009; ECOticias, 2010).

Los materiales que en la actualidad dominan el mercado principalmente son polietileno, polipropileno, poliestireno, polietileno tereftalato y cloruro de polivinilo. En base a su composición, fabricación e indicaciones de uso, los plásticos se clasifican en 7 grupos, con el objetivo de optimizar su separación y reciclaje. Esta clasificación fue creada por la Sociedad de Industrias del Plástico y es universal. El grupo 1 está compuesto por botellas de bebidas, de agua o de aceite, y son fabricadas con polietileno tereftalato. El 2 son las bolsas de supermercado y los elementos de aseo del hogar, cuyo material es el Polietileno de alta densidad. El 3 son tubos, cañerías, cables eléctricos y envases de detergentes, los cuales son elaborados con cloruro de polivinilo. El grupo 4 está constituido por manteles, envases de shampoos y cremas y bolsas de basura, fabricados con polietileno de baja densidad. El 5 está formado por tapas de botellas, mamaderas, vasos no descartables y contenedores de alimentos o tupperware, fabricados con polipropileno. El grupo 6 se compone de vasos, platos y cubiertos desechables, envases de yogurt, de margarina y de helado, los cuales son elaborados con poliestireno. Y el 7 son los elementos que no entran en los grupos anteriores, como por ejemplo juguetes, artículos médicos, teléfonos, compuestos por distintos materiales. (Álvarez, 2017).

Cuando deseamos un plástico, este puede tener diversos destinos, reciclaje como se mencionó anteriormente, ser incinerado o terminar en un vertedero o basurero; pero muchos de ellos derivan en las vías fluviales y océanos a través de los desagües o drenajes urbanos, mediante vertidos deliberados de desechos, vertidos por parte de los barcos de forma accidental o provenientes de diversas fábricas (Derraik, 2002). El problema reside en el ineficiente o en algunos casos inexistente tratamiento de los residuos plásticos resultantes de su creciente consumo, de los cuales una gran cantidad, inevitablemente por ahora, desemboca en diversos cursos de agua, produciendo así efectos sobre el ambiente acuático. Los primeros reportes sobre desechos plásticos presentes en los océanos fueron descritos en los años 70 (Hohenblum, 2015), y aunque se están investigando posibles soluciones a esta problemática, no se ha encontrado una solución definitiva. Se calcula que entre un 60 y un 80% de la basura marina son plásticos (Derraik, 2002).

Se estimó en un estudio, que los mayores responsables de los detritos plásticos en los océanos son los barcos mercantes, que desechan 639.000 envases plásticos por día alrededor del mundo (Shaw, 1977; Shaw & Mapes, 1979). Además de los barcos mercantes, los de pesca recreativa también contribuyen en este sentido. Otro de los orígenes de estos desechos son las botellas, envoltorios, bolsas y demás objetos descartados intencional o accidentalmente en la playa. A todo esto se le suman además los residuos acarreados por ríos y drenajes de la zona urbana (Lozoya *et al.*, 2015). Esto no solo afecta la estética de playas y costas, también atenta contra la fauna relacionada a este ecosistema.

4.2 Microplásticos

Los microplásticos son las partículas plásticas cuyo diámetro es menor a 5 milímetros (Arthur *et al.*, 2009). Se clasifican en primarios y secundarios. Primarios, los que son manufacturados en ese tamaño, ya sea con propósitos cosméticos, domésticos o industriales. En este grupo entrarían las llamadas “microesferas”,

creadas para exfoliar, dar color y textura en pastas de dientes, cremas o geles exfoliantes, jabones, productos para limpieza del hogar. También entran en esta denominación las brillantinas o purpurinas, producidas con fines decorativos, o cosméticos, como el maquillaje (EFSA, 2016; Peng *et al.*, 2017). Los microplásticos secundarios son producto de la degradación, producida por la acción de los rayos solares, el agua, viento y otros fenómenos naturales o no, sobre piezas plásticas de mayor tamaño, llamadas macroplásticos.

En cuanto a la clasificación por tamaño se consideran macroplásticos a las piezas mayores de 25 milímetros de diámetro, mesoplásticos son las que se encuentran en el rango de 25 a 5 milímetros de diámetro. Microplásticos, como nombramos anteriormente, a las que se encuentran entre 5000 y 0.1 micras de diámetro; y nanoplásticos son las menores de 0.1 micras de diámetro (Romeo *et al.*, 2015; EFSA, 2016).

Por más de que su tamaño sea pequeño y eso los haga parecer inofensivos, se ha comprobado en varios estudios que poseen la cualidad de ser transferidos a través de la cadena trófica. En el tracto digestivo de los organismos acuáticos se han encontrado grandes cantidades de microplásticos. Si bien en peces usualmente estos órganos no se consumen, sí se consumen en moluscos bivalvos y algunas especies de peces pequeños. Esto supone, por un lado el riesgo físico que puede producir su consumo en sí y por el otro el riesgo de que esta partícula traiga consigo alguna sustancia tóxica para el organismo, ya sea algún metal pesado o contaminante orgánico persistente adherido o sustancias propias de su composición que se liberan cuando el plástico se va degradando (EFSA, 2016).

Se han realizado diversos estudios en países de Asia y Europa, destinados a analizar esta temática. En nuestro país también se realizaron investigaciones acerca de la presencia de contaminantes plásticos en el estuario rioplatense, constatando este problema también en nuestro territorio (Lozoya *et al.*, 2015). En este estudio, descubrieron que la mayor parte de la contaminación provenía de la ciudad de Montevideo y sus zonas metropolitanas, y que el plástico era el segundo mayor componente de esta. Se llegó a la conclusión que una de las mayores causas de la presencia de contaminantes en la costa rioplatense son las cortas distancias existentes entre los vertederos y los cursos de agua, los cuales sirven de transporte para dichos materiales a ríos, mares y océanos. A la inversa, hay una parte de esos desechos que vienen desde el océano. A este problema de contaminación se suma la mala e ineficiente disposición de los residuos domésticos. Lozoya y colaboradores consideran que para corregir este problema, cada vez más grave, es importante educar a la población y hacer campañas interrelacionando a los ciudadanos, empresas privadas y ONGs para tratar este tema.

4.3 Normativa Nacional

En nuestro país las normativas que regulan la materia, se amparan en el artículo 47 de la Constitución, el cual declara la protección del medio ambiente de interés general. Manifiesta que las personas deberán abstenerse de cualquier acto que cause depredación, destrucción o contaminación graves al medio ambiente. La ley

reglamentará esta disposición y podrá prever sanciones para los transgresores. (Uruguay, 2004).

Basándose en este artículo, se crea una ley, la 17.849 que declara en su primer artículo de interés general la protección del ambiente contra toda afectación que pudiera derivarse de los envases cualquiera sea su tipo, así como del manejo y disposición de los residuos de los mismos. Dicha ley está regulada por el Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, el cual dicta las disposiciones y aplica las medidas necesarias para regular los tipos de envases y prevenir la generación de residuos. A tales efectos, promueve la reutilización, el reciclado y demás formas de valorización de los residuos de envases, con la finalidad de evitar su inclusión como parte de los residuos sólidos comunes o domiciliarios (Uruguay, 2000). A nivel departamental, el manejo y disposición de los residuos es responsabilidad de los gobiernos correspondientes.

Sumado a esto, en agosto del 2018 se aprobó la ley número 19.655 referida al uso de bolsas plásticas, en la cual se declara en su primer artículo de interés general la prevención y reducción del impacto ambiental derivado de la utilización de bolsas plásticas, mediante acciones para desestimular su uso, promover su reúso, reciclado y otras formas de valorización” (Uruguay, 2018).

Actualmente el Parlamento está en estudio de una Ley de Residuos, que planea crear un modelo de desarrollo sostenible a través de la prevención y reducción de los impactos negativos de las etapas de gestión de los residuos.

A su vez, Uruguay participa mediante acuerdos y tratados internacionales que implican compromiso con el medio ambiente como ser los tratados del Río Uruguay y del Río de la Plata y su Frente Marítimo; Convención Internacional para la Prevención de la Contaminación por Buques (MARPOL); Convención sobre el Derecho en el Mar; y Agenda 2030; “Mares Limpios” de Naciones Unidas.

4.4 Moluscos

El *phylum Mollusca*, a nivel mundial posee entre 45000 y 130000 especies, la mayoría de ellas marinas (Bouchet, 2006). Comprende diversas especies como por ejemplo calamares, pulpos, caracoles, mejillones, berberechos. Los moluscos después de los artrópodos son el *phylum* que tiene mayor número de especies conocidas. Ellos poseen algunas características diagnósticas que los hacen pertenecer a ese grupo y no a otro.

Primero que nada, son invertebrados de cuerpo blando; eso es lo que significa la palabra *Mollusca* en latín. Este cuerpo se divide en cabeza, masa visceral y pie. Poseen un pie modificado para distintos hábitos.

Todos ellos tienen una conchilla calcárea que puede estar con mayor o menor desarrollo e incluso reducida.

Por dentro de esta conchilla presentan una estructura que se denomina manto. La pared se extiende más allá de la masa visceral y forma al unirse con la conchilla una cavidad que se denomina cavidad paleal.

La mayoría de ellos posee un sistema circulatorio abierto al igual que los crustáceos y solo en los cefalópodos es cerrado.

Tienen aparato digestivo completo, el cual comienza en la boca y termina en el ano. Algunas especies presentan una particularidad que es la presencia de una estructura denominada rádula que sirve para triturar el alimento.

Su hábitat es marino, dulceacuícola y algunos son terrestres. Presentan dos formas de vida, libres o sésiles.

Dentro de este *phylum* hay 6 clases distintas, pero son 3 las que albergan las especies de importancia comercial;

1. Gastrópoda: caracoles y abalones.
2. Bivalvia: almejas, mejillones, berberechos, ostras, ostiones.
3. Cefalópoda: calamares, pulpos y sepias.

Los Bivalvos, como el nombre lo indica tienen dos valvas. Esas valvas están adheridas por una zona de ligamentos.

Algunas especies de bivalvos poseen una glándula, llamada glándula del biso, que segrega una sustancia cementante que les permite adherirse a sustratos duros. Este es el caso de los mejillones. En cambio las almejas o berberechos se entierran y exteriorizan unas estructuras que les permiten la entrada y salida del agua denominadas sifones. Pueden tener uno o dos sifones los cuales pueden ser de diferente longitud.

Los bivalvos respiran y se alimentan a través de las branquias. Las branquias son de un tipo especial que se denominan lamelibranquias y tienen esa doble función. Tienen una zona de intercambio gaseoso para captar el O₂ disuelto en el agua y otra zona que es ciliada y que tiene mucus que permite la captación de partículas de zooplancton o fitoplancton que están en el agua (Helm *et al.*, 2006). A este tipo de alimentación se le denomina filtración. En este caso lo hacen utilizando las branquias. El agua ingresa y por movimientos ciliares las partículas filtradas van hacia la boca y en la boca se hace una selección con los palpos labiales de tamaño y calidad de la partícula.

La mayoría de los bivalvos tienen sexos separados pero existen bivalvos con hermafroditismo sucesivo y simultáneo.

Debido a su mecanismo de alimentación es que consideramos a los bivalvos como buenos indicadores de los niveles de contaminación del agua.

La importancia de la presencia ya sea de contaminantes químicos, o como en el caso del presente estudio plásticos en estos organismos radica en que el consumo de bivalvos se realiza en la totalidad de sus partes blandas, incluido el tracto digestivo y que son utilizados como bioindicadores (Su *et al.*, 2018).

4.5 *Mytilus edulis*

El mejillón azul o *Mytilus edulis* es un molusco bivalvo de la subclase *Pteromorpha*, orden *Mytiloida*, familia *Mytilidae* y género *Mytilus* (FAO, 2004). La palabra *edulis* proviene del latín y significa comestible, bueno para ser comido. Son bivalvos comestibles que presentan una concha cuyo tamaño oscila entre 5 y 10 centímetros de longitud y presenta una coloración en su parte externa entre negro y azul. La parte interna es de color blanco perlado, con el borde más ancho azulado. Su borde ventral es redondeado y el umbo puntiagudo. Poseen cierta forma triangular alargada.

Al igual que todos los moluscos bivalvos su alimentación está basada en la filtración de agua, de la cual captura e incorpora las partículas presentes, que por lo general son zooplancton, fitoplancton o algunas que provengan de materia orgánica en descomposición.

Su reproducción es externa, se liberan los espermatozoides y óvulos al agua y allí son fecundados. Ese huevo dará lugar a una larva, llamada velígera, que vive durante varias semanas suspendida en el agua. Luego esa larva se instala en el fondo para comenzar su metamorfosis hacia la forma de bivalvo adulto.

Su hábitat natural son las rocas, a las cuales se adhieren mediante una estructura filamentosa llamada biso. Se distribuyen a lo largo de la costa mediterránea y atlántica. Poseen una gran capacidad de resistir amplias fluctuaciones de alcalinidad, salinidad, temperatura, desecación y tensión de oxígeno. Esta capacidad es la razón que explica su amplia distribución a través de la costa de varios países (FAO, 2004).

A nivel nacional los bancos de mejillones, de donde se extraen para su comercialización desde hace más de 60 años, están ubicados en la Bahía de Maldonado y zonas adyacentes y en la Isla de Lobos, localizada frente a esta bahía.

4.6 Extracción de mejillones en Uruguay

Actualmente para la explotación del mejillón se necesita un permiso de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA). Este permiso los habilita a extraer 330 kg diarios de mejillones de más de 4 cm por embarcación (Uruguay, 2019). Además deben tramitar una libreta de buzo, la cual debe ser renovada cada dos años y una libreta de embarque. (Blezio, 2010).

Actualmente 10 barcas de Punta del Este y 2 de Piriápolis conforman la pesquería de mejillón. Vinculadas a esta actividad hay no menos de 50 personas en forma directa, esto sin incluir al resto de intermediarios y otros sectores de la cadena de comercialización, que muchas veces son del mismo núcleo familiar (Carranza, 2010).

Desde el mes de setiembre a marzo, ellos se dedican principalmente a la pesca del mejillón, aunque también utilizan otros artes de pesca. Luego de este periodo, de marzo a setiembre hay veda para la pesca de mejillones, y ahí dejan de ser la principal actividad hasta el mes de setiembre. Esta época de pesca coincide con el mejor momento de esta especie en el mercado, el cual principalmente es local, ya sea venta al público o a los restaurantes de la zona (Carranza, 2010; Blezio, 2010).

La extracción y procesamiento de los mejillones en nuestro país se realiza de forma completamente artesanal, los buzos se sumergen con una manguera en su boca para respirar mientras buscan los mejillones, a los cuales extraen utilizando una cuchara para luego depositarlos en el “salabardo” que es una especie de bolsa hecha con cuerdas. Luego para subir, tiran de la manguera para que los marineros que están en cubierta los ayuden a subir a la superficie. Cuando llegan a la cubierta del barco toman un salabardo vacío y vuelven a bajar. Cada período de extracción bajo el agua lleva aproximadamente media hora y es llevado a cabo por dos o tres personas porque la bolsa cuando está llena de mejillones pesa cerca de 70 kilogramos. Los salabardos se vacían en una zaranda de metal para realizar la

limpieza de la suciedad que traen y tienen adherida. Cuando ya están limpios se colocan en bolsas, y éstas van a la bodega del barco (Blezio, 2010).

4.7 Efectos de los Microplásticos en los organismos vivos

Los desechos plásticos interactúan con el ecosistema marino, ocasionando daños físicos y hasta la muerte de muchos ejemplares causada por enredos con bolsas o cuerdas plásticas, así como también por asfixia debida al consumo accidental o no de dichos materiales. Los microplásticos al ser de pequeño tamaño ingresan a los organismos marinos de diferentes maneras, en ostras y mejillones mediante su alimentación por filtración, en cangrejos y peces a través de las branquias y también los ingieren confundidos con alimentos. El riesgo asociado al consumo de microplásticos está relacionado con tres propiedades a saber: adsorción, desorción y filtración. La adsorción se da cuando las piezas de plástico atraen o adsorben del medio que los rodea sustancias químicas que pueden ser tóxicas y bioacumularse como por ejemplo los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) (UNEP/GPA, 2006). Dentro de estas sustancias químicas se encuentran los fertilizantes, plaguicidas y desechos industriales, son resistentes a la degradación y además pueden acumularse en los tejidos. Luego de que estas sustancias se adhieren a las pequeñas piezas plásticas puede ocurrir otro fenómeno llamado desorción, que es la liberación de lo que previamente adsorbieron. Pero estas no son las únicas sustancias químicas que pueden acompañar a los microplásticos, ya que mediante otra de las propiedades, la filtración, ellos pueden liberar al organismo o al medio sustancias químicas propias de su composición (Michałowicz, 2014; Pérez-Lobato, *et al*, 2016).

Se ha demostrado que el consumo de microplásticos afecta al menos 267 especies, que incluyen un 86% de las especies de tortugas marinas, un 44% de aves marinas y un 43% de mamíferos marinos (Laist, 1997)

En aves se han realizado diferentes ensayos con el fin de demostrar de alguna manera el efecto de los microplásticos en su organismo, y algunas de las hipótesis que se pudieron comprobar fueron que al consumir microplásticos se observan distintos grados de malnutrición ocasionada por la saciedad que provoca el llenado del estómago por las partículas plásticas que no se digieren ni contienen nutrientes y disminuyen en consumo de alimentos. También se vio que se disminuye la secreción de enzimas digestivas, contribuyendo a la malnutrición, y de hormonas esteroideas, lo que produce atrasos en la ovulación y fallas reproductivas. (Azzarello, Van-Vleet, 1987). En aves pequeñas así como en peces la ingestión de microplásticos reduce la ingesta de alimentos y nutrientes y provoca daños internos y hasta muerte por bloqueos intestinales (Carpenter *et al.*, 1972). Se han observado que algunos organismos son capaces de regurgitar los restos de plástico ingerido, lo que disminuiría los posibles efectos adversos en estas especies. En tortugas marinas también se ha demostrado la presencia de microplásticos en su tracto digestivo (O'Hara *et al.*, 1998). Además se han encontrado restos plásticos en intestinos y estómagos de peces y cetáceos. En peces se ha llegado a detectar microplásticos en músculos (Akhbarizadeh *et al.*, 2018), los cuales suelen ser la parte que consumimos de ellos. En nuestro país recientemente se realizaron algunos estudios

ambientales, uno fue realizado en arena de la playa de un balneario de la costa oceánica (Rodríguez, 2017) y en el otro se constató la presencia de microplásticos en el tracto digestivo de ocho especies de peces (Lozoya, 2015).

En mejillones se han realizado varios estudios, en distintos países del mundo confirmando en cada uno de ellos la presencia de microplásticos en los bivalvos. Uno de los estudios fue realizado en China, donde analizaron nueve especies de bivalvos de interés comercial resultando cada uno de ellos positivos a la presencia de microplásticos (Li *et al.*, 2015). Recientemente fue publicado un estudio realizado en el Golfo Pérsico en donde encontraron distintos tipos de microplásticos en el tejido blando de los ejemplares analizados, predominando las fibras (Naji, 2018). Se ha demostrado que en estos individuos, las partículas plásticas de menor tamaño se pueden translocar desde el tubo digestivo a las células epiteliales que lo componen induciendo una fuerte respuesta inflamatoria (Von Moos *et al.*, 2012). Además del riesgo que puede significar para los bivalvos en sí, los microplásticos suponen un riesgo para otros organismos marinos ubicados en una posición más alta en la cadena trófica gracias al fenómeno de bioacumulación que se produce, amenazando la seguridad alimentaria y la salud humana (Van Cauwenberghe & Janssen, 2014). Asociada a la presencia de estos materiales existe también un posible riesgo biológico relacionado con microorganismos patógenos capaces de adherirse y sobrevivir en los plásticos (Zettler *et al.*, 2013).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Determinar la presencia de microplásticos en moluscos bivalvos de la costa uruguaya, destinados a consumo humano.

5.2 Objetivos Específicos

- Adaptar las técnicas presentes en la bibliografía para la determinación de microplásticos.
- Experimentar la digestión de los bivalvos con una enzima comercial para la detección de las partículas plásticas.
- Caracterizar de los microplásticos hallados según forma (fibras, fragmentos, pellets).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 30 muestras de mejillones obtenidos en dos zonas de extracción de la costa uruguaya, 15 en La Pedrera en Rocha y 15 en Punta Colorada, Maldonado. Se seleccionaron dos de las técnicas mayormente utilizadas por otros autores de distintas partes del mundo. La primera, descrita por Li *et al*, en el año 2015 que consiste en separar el tejido blando de la concha, colocar entre dos y cinco mejillones (tejido blando solamente) en cada recipiente. Agregar 200 ml de H₂O₂ al 30% a cada muestra. Cubrir las muestras y colocar en incubadora oscilante a 65° C y 80 revoluciones por minuto, durante 24 horas. Retirar los recipientes de la incubadora y dejar a temperatura ambiente durante 24 a 48 horas. Preparar una solución salina de 1,2 g/ml. Filtrar la solución salina con filtro <1 µm. Agregar 800 ml de solución salina a cada recipiente. Mezclar y dejar reposar durante toda una noche. Filtrar el sobrenadante con filtro de 5 µm. Observar el filtrado con lupa estereoscópica.

La segunda técnica, descrita por Mathalon y Hill, en el año 2014, se basa en separar el tejido blando de la concha, colocar 10 gramos de tejido en cada recipiente. Agregar 150-200 ml de H₂O₂ al 30% a cada muestra. Colocar las muestras en estufa con agitador a 65° C hasta que el H₂O₂ se evapore. Preparar la solución salina concentrada agregando 250 gramos por litro de agua y agregar 100 ml de solución salina a cada muestra, luego de que se haya evaporado el H₂O₂. Agitar vigorosamente durante 1 a 2 minutos. Dejar reposar de 3 a 6 minutos. Pipetear el sobrenadante y filtrarlo. Observar el filtrado en lupa estereoscópica.

Para este estudio, se combinaron ambas técnicas, adaptándolas a las instalaciones y materiales disponibles en el laboratorio. De las 30 muestras recolectadas se procesaron 20 (10 de Rocha identificadas como MH y 10 de Maldonado identificadas como MPH) de la siguiente manera, para cada muestra se extrajeron 10 gramos de tejido blando, en un vaso de Bohemia y se procedió a la digestión química de los mismos. Para esto se utilizaron 150 ml de una solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a una concentración de 30% (100 volúmenes). Se colocaron las muestras con H₂O₂ en una plancha calefactora con agitador a 120° C para llegar en la mezcla 65°C y 100 rpm hasta que los tejidos fueran digeridos y la mayor parte del líquido se hubiera evaporado. Esto demoraba unas 12 ± 2 horas. Luego de retirarlas de la plancha caliente se les agregó 100 ml de la solución salina concentrada (250 g/l) para separar los microplásticos por flotación, agitando vigorosamente durante unos minutos la muestra y dejándola reposar de 5 a 10 minutos.

Posteriormente de la separación mediante la técnica de flotación, se procedió a filtrar las muestra mediante un sistema de vacío Sartorius®, con un filtro de 8 micrómetros de tamaño de poro.

Por último, se observó bajo la lupa estereoscópica Nikon® x 40 y en microscopio digital Ecvilla® x 200, cada uno de los filtros, determinando de esta manera la existencia de microplásticos en las muestras analizadas, basándonos en el patrón publicado en 2015 por Li *et al*. Se realizó el conteo de las partículas plásticas presentes diferenciándolas en fibras (Figura 6), fragmentos (Figura 8) y pellets (Figura 10) según la clasificación de Jabeen, 2017.

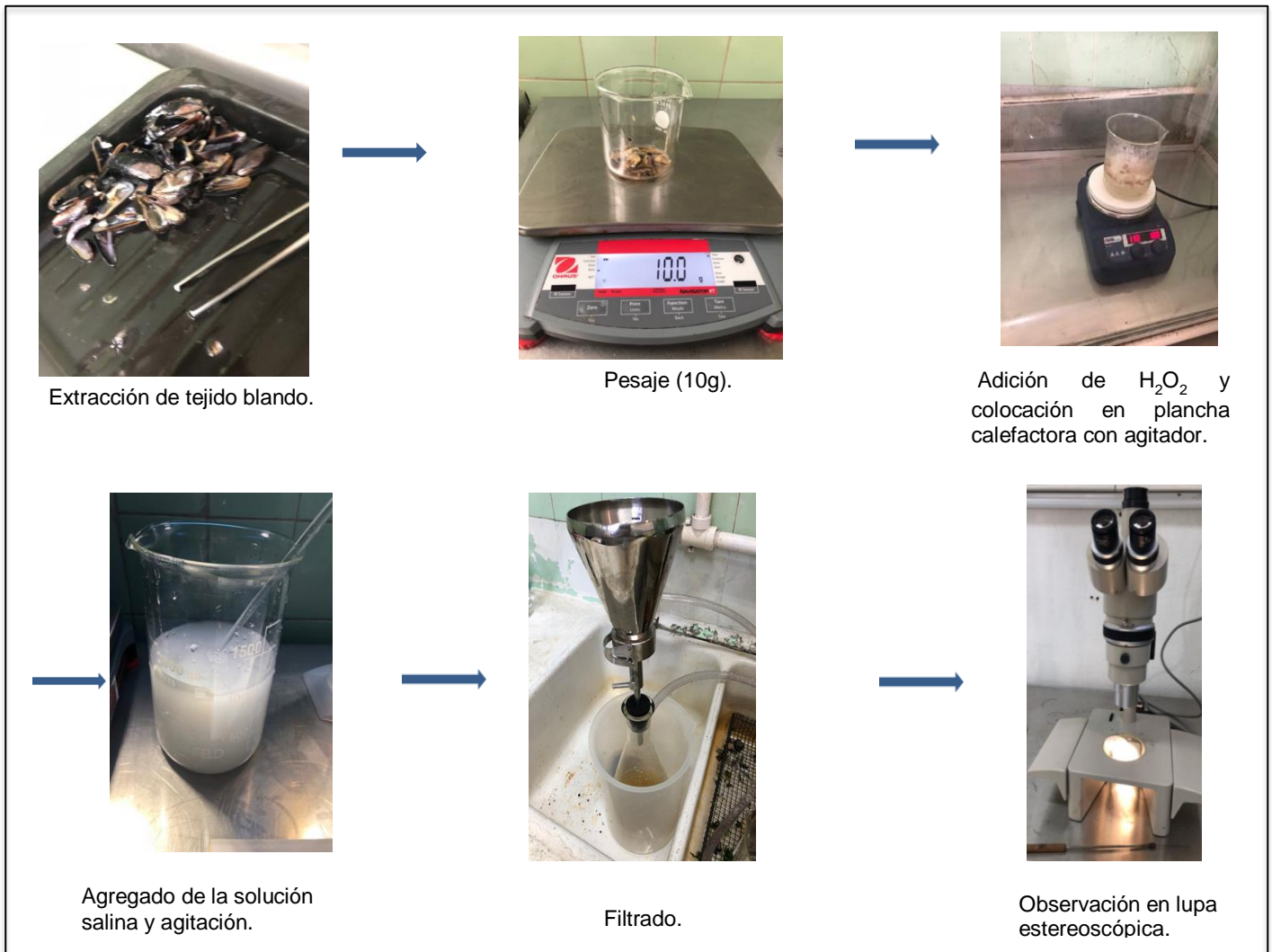


Figura 1. Método con peróxido de hidrógeno.

Además de la técnica de Mathalon y Hill modificada, se ensayó un método basado en la digestión enzimática de los tejidos. Para esto se utilizó enzimas obtenidas de microorganismos del género *Subtilis* y *Aspergillus*, producida por la Compañía Novozymes®. La mezcla de enzimas, comercialmente llamada FPH es diseñada por la empresa alemana Flottweg en la producción de hidrolizados proteicos para consumo humano.

Con las 10 muestras restantes se testeó este método enzimático, se seleccionaron 5 muestras de cada zona, las de Rocha se identificaron como ME y las de Maldonado como MPE. Se colocaron 10 gramos de tejido blando en un vaso de Bohemia para cada muestra y a cada una de ellas se les agregó agua a 60° Celsius hasta enrasar 100 ml. Posteriormente se les agregó 0.1 ml de la enzima FPH a cada una y fueron llevadas a la estufa a 60° Celsius durante 8 a 10 horas, tiempo que demoraba la enzima en digerir los tejidos. Luego de retirarlas de la estufa se les agregó 100 ml de solución salina concentrada, agitando vigorosamente y dejando reposar unos minutos. Más tarde cada una de las muestras fue filtrada de la misma manera que

en la técnica descrita anteriormente, con la excepción de que en las procesadas con la enzima, el proceso de filtración se realizaba dos veces. Los ensayos se realizaron en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP).

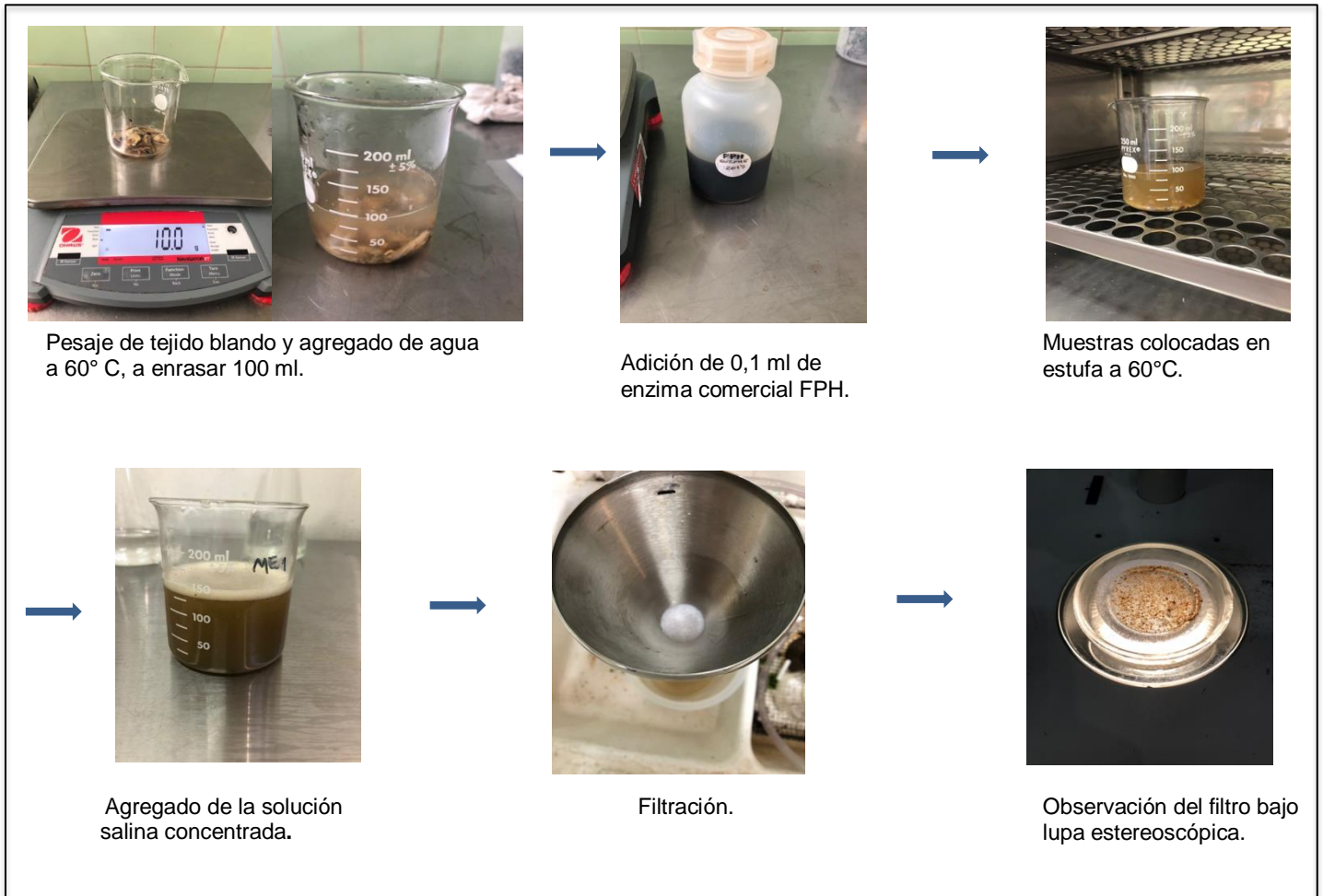


Figura 2. Método enzimático.

7. RESULTADOS

En las 30 sub-muestras de tejido de mejillón analizadas se identificaron en total 321 fibras, representando un 52.6% y 289 fragmentos plásticos correspondiendo a un 47.4%. (Figura 3).

Si los clasificamos según la zona de extracción de los mejillones resultó un total de 163 fibras y 148 fragmentos en Rocha y una suma de 158 fibras y 141 fragmentos en Maldonado (Figuras 4 y 5).

El promedio del total de fibras/ gramo de tejido fue de 1.07, y para lo fragmentos fue de 0.96 fragmentos / gramo.

Hubo hallazgos similares en las zonas de Rocha y Maldonado en el contenido de partículas / gramo. En Rocha se obtuvo un promedio de 1.09 fibras / gramo y 0.99 fragmentos / gramo, mientras que en Maldonado se identificaron 1.05 fibras / gramo y 0.94 fragmentos / gramo.

Sub-muestra	Fibras	Fragmentos	Otros (pellets, gránulos, esferas)
MH1	28	4	
MH2	11	16	
MH3	22	8	Esferas blancas
MH4	7	14	
MH5	3	14	Objetos plásticos no identificados
MH6	4	16	
MH7	12	8	
MH8	5	13	Esferas blancas
MH9	27	15	
MH10	12	10	
ME1	6	5	
ME2	7	3	
ME3	12	9	
ME4	5	6	
ME5	2	7	
MPH1	13	9	
MPH2	14	12	Formas blancas no identificadas
MPH3	9	11	
MPH4	13	9	
MPH5	12	7	Esferas blancas
MPH6	15	9	

MPH7	8	11	Esferas blancas
MPH8	10	8	
MPH9	7	14	Esferas blancas
MPH10	15	12	
MPE1	5	6	
MPE2	14	11	
MPE3	9	7	
MPE4	11	9	
MPE5	3	6	

Tabla 1. Número de fibras, fragmentos y otros objetos plásticos hallados.

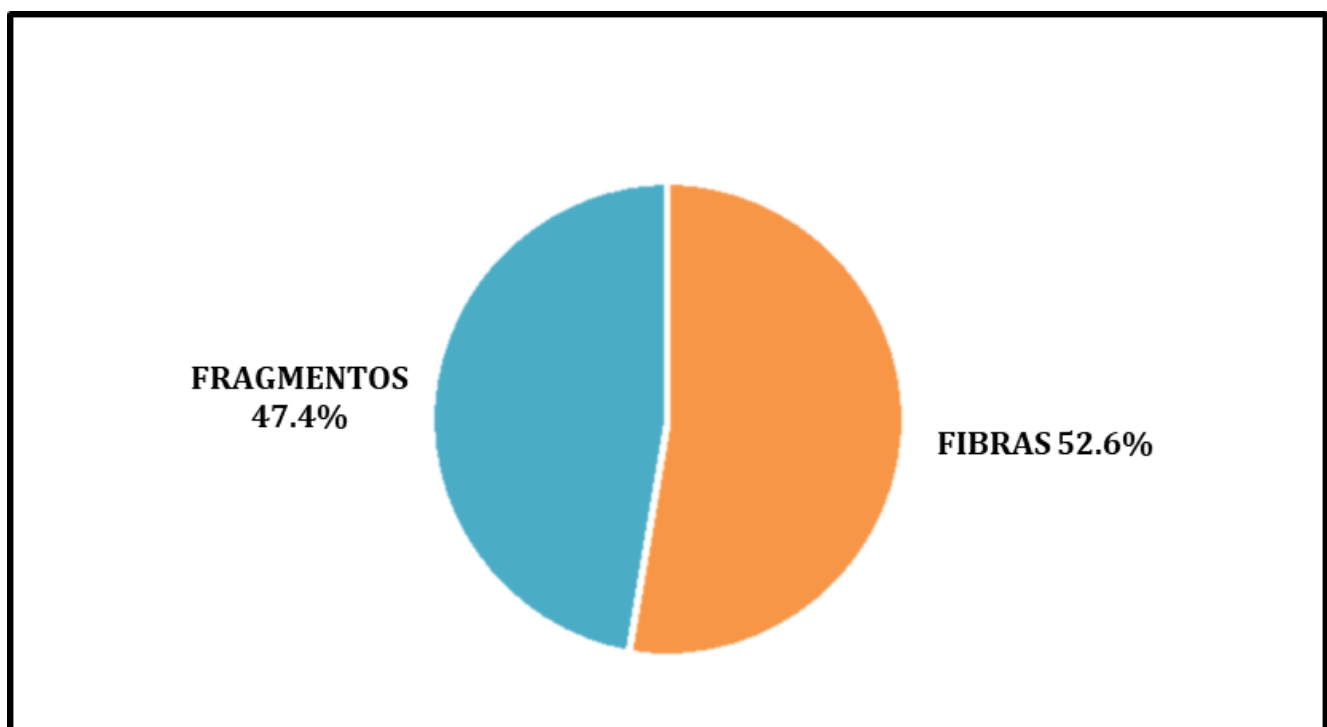


Figura 3. Gráfica de porcentajes del total de fibras y fragmentos identificados.

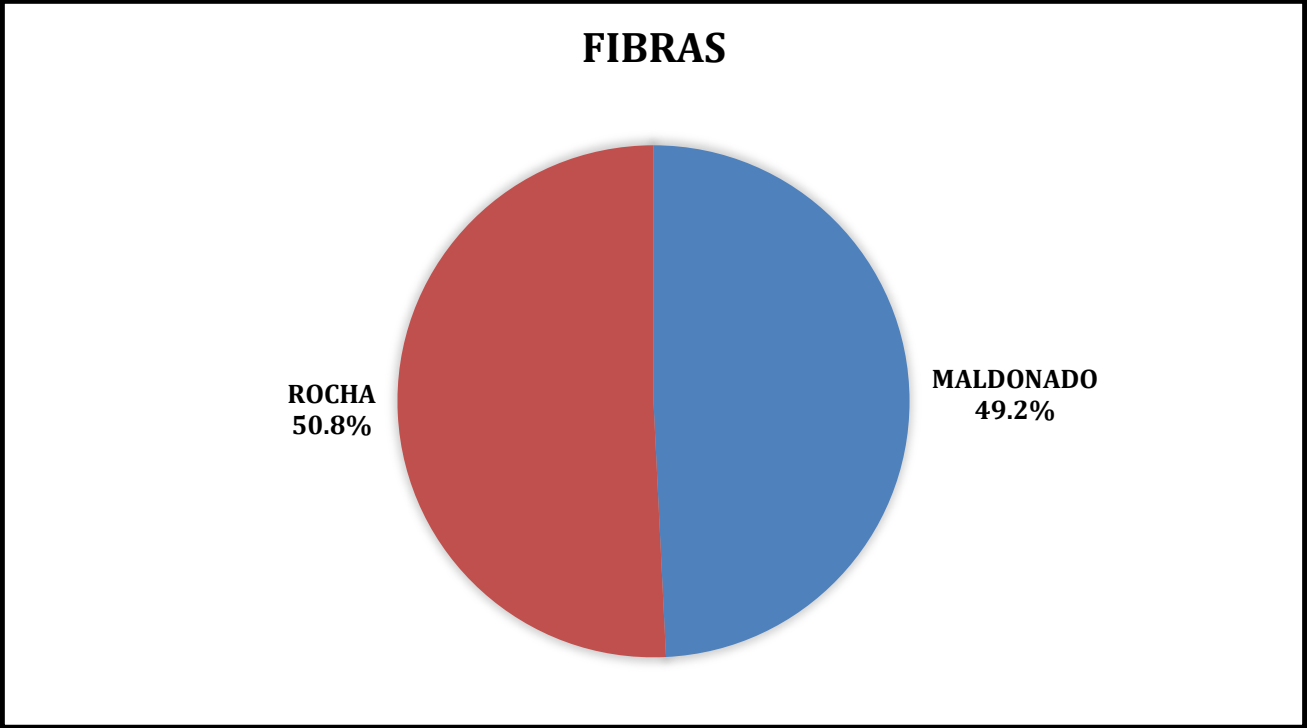


Figura 4. Gráfica de porcentajes de fibras halladas en la zona de Rocha y fibras halladas en Maldonado.

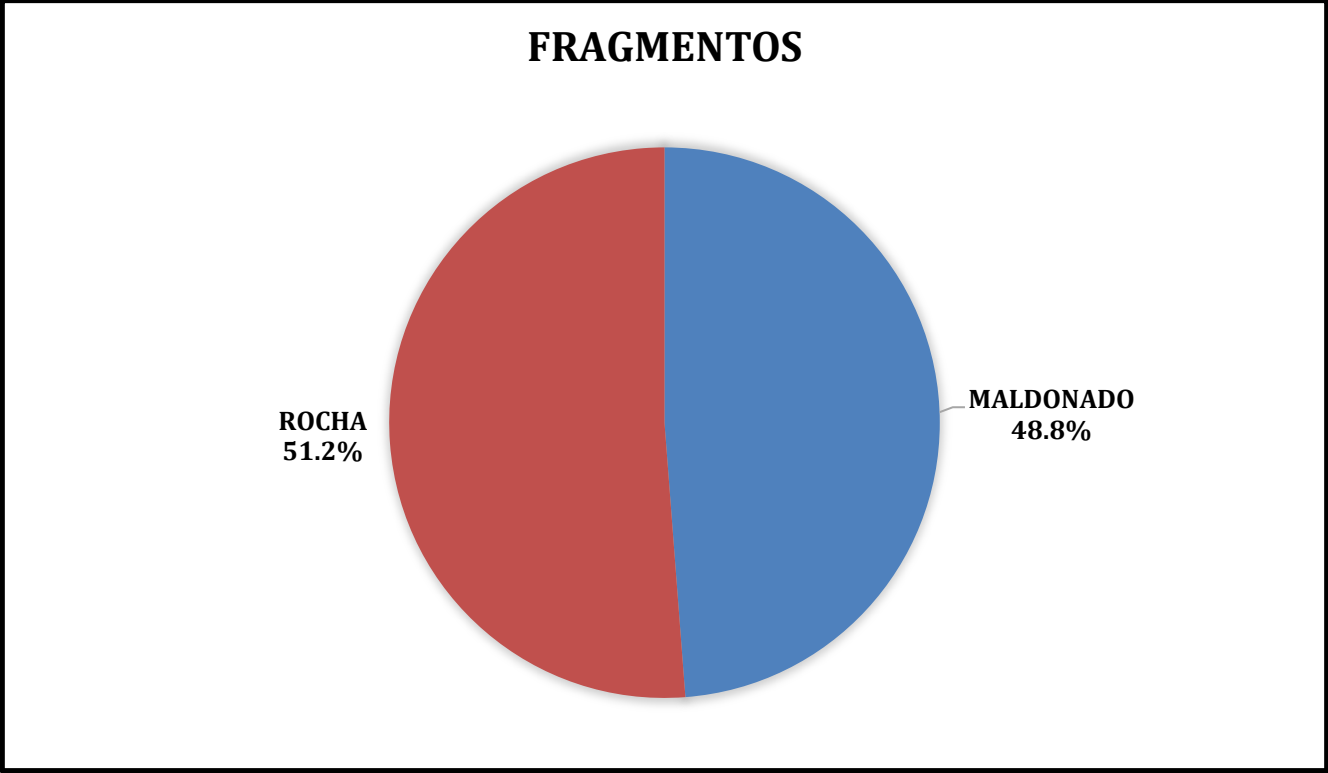


Figura 5. Gráfica de porcentajes de fragmentos encontrados en Rocha y fragmentos encontrados en Maldonado.



Figura 6. Imagen de una fibra tomada con el microscopio digital.



Figura 7. Medición de una fibra bajo la lupa

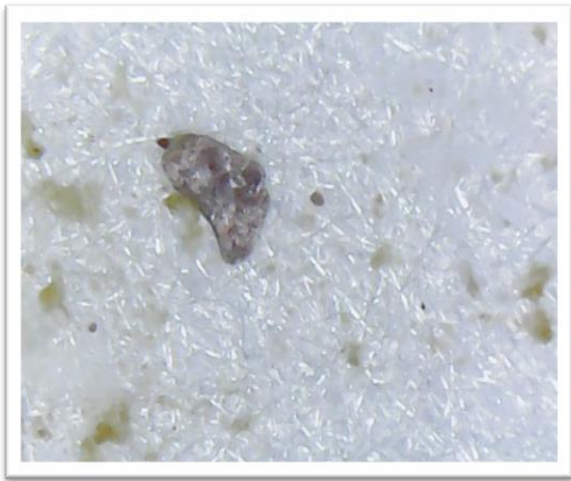


Figura 8. Imagen de un fragmento plástico tomada con el microscopio digital.

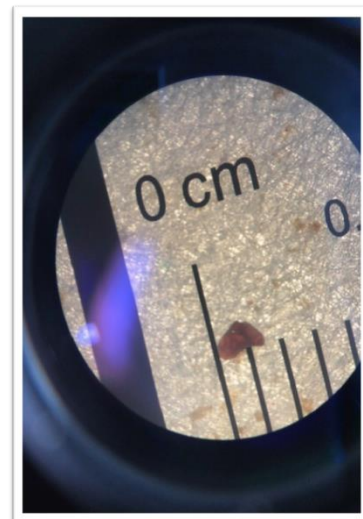


Figura 9. Medición de un fragmento bajo la lupa estereoscópica.



Figura 10. Imagen de pellets tomada con el microscopio digital.

8. DISCUSIÓN

La mayor proporción de partículas plásticas halladas corresponde a fibras plásticas, correspondiendo al 52.6%. Esto coincide con el estudio realizado por Li *et al.* (2014) en China, aunque en este estudio el porcentaje de fibras identificadas fue mayor, ocupando un 65%. Sin embargo estas proporciones no concuerdan con el trabajo realizado en Brasil por Santana *et al.* (2016), en el cual la mayor proporción de microplásticos eran fragmentos.

Mathalon y Hill (2014) detectaron la presencia de microplásticos en el 100% de las muestras recolectadas, al igual que en el presente estudio, no coincidiendo con el trabajo realizado por Santana *et al.* (2016) en el cual hallaron partículas plásticas en el 75% de las muestras.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se detectó la presencia de microplásticos en todas las muestras analizadas.

Dentro de las partículas plásticas identificadas encontramos un 52.6% de fibras y un 47% de fragmentos.

La proporción por gramo fue de 1.07 fibras / gramo y 0.96 fragmentos / gramo de tejido vivo.

No se hallaron diferencias importantes en la cantidad de partículas encontradas entre las dos zonas de extracción de muestras.

El método más efectivo para la detección de microplásticos fue el resultante de la combinación de las técnicas de Li (2015) y la de Mathalon y Hill (2014), ya que facilitó la observación e identificación de microplásticos.

Se comprobó que la digestión mediante la enzima comercial FPH es efectiva, con el único inconveniente de dificultar un tanto la posterior visualización.

Se recomienda continuar con otros estudios que determinen la presencia de microplásticos y nanoplasticos en otros productos hidrobiológicos, para conocer el alcance de la contaminación por plásticos en los ambientes acuáticos de nuestro país.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Akhbarizadeh, R., Moore, F., Keshavarzi, B. (2018) - Investigating a probable relationship between microplastics and potentially toxic elements in fish from northeast of Persian Gulf. *Environmental Pollution* 232: 154-163.

2. Alexandre, C. J. B. (2017). Microplastics as vectors of heavy metals for fish. Disponible en: <http://proxy.timbo.org.uy:443/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsrca&AN=rcaap.openAccess.10451.32017&lang=es&site=eds-live>
Fecha de consulta: 25 de agosto de 2018.

3. Alvarez, M. A. (2017). Bersek Design. Disponible en: <https://berserk.design/material-es-mejor-para-empaque-pet-o-pvc/>
Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2018

4. Arthur, C., J. Baker and H. Bamford (eds). 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris. Sept 9-11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30.

5. Asociación Uruguaya de Industrias del Plástico (2015) Disponible en: www.auij.com.uy
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018

6. Azzarello, M.Y., Van-Vleet, E.S. (1987). Marine birds and plastic pollution. *Marine Ecology Progress Series* 37: 295–303.

7. Blezio, C. (2010). Investigación antropológica de la pesquería del mejillón. *La Diaria*. Disponible en: <https://ladiaria.com.uy/articulo/2010/5/mundo-sumergido/>
Fecha de consulta: 3 de noviembre de 2018

8. Bouchet, Philippe. (2006). The magnitude of marine biodiversity. *The Exploration of Marine Biodiversity: Scientific and Technological Challenges*, p. 31-64. Disponible en: <http://www.vliz.be/imisdocs/publications/114387.pdf>
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018.

9. Carranza, A. (2010). Proyecto Rapana. Desarrollo de una pesquería artesanal y cadena de comercialización de un gasterópodo invasor. ANII. Asociación Civil Investigación y Desarrollo. DINARA. IIP.

Disponible en:

http://www.mirador.cure.edu.uy/uploads/files/PROYECTO_RAPANA_ALVAR_CARRANZA.pdf

Fecha de consulta: 16 de octubre de 2018

10. Carpenter, E.J., Anderson, S.J., Harvey, G.R., Miklas, H.P., Peck, B.B. (1972). Polystyrene spherules in coastal waters. *Science* 178: 749–750.

11. Derraik, J. G. B. (2002). 'The Pollution of the Marine Environment by Plastic Debris: A Review.' (La contaminación del medio marino por los desechos de plástico: revisión), *Marine Pollution Bulletin*, 44: 842–852.

12. DINARA, MGAP. [Canal MGAP]. (2019, Mayo 23). A la captura del mejillón. [Archivo de video].

Recuperado de: <https://youtu.be/WgZR52CLKXs>

13. EFSA. European Food Safety Authority. (2016). Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 14 (6): 4501, 30 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4501.

Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2016.4501>

Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2018.

14. ECOticias (2010)

Disponible en:

<https://www.ecoticias.com/residuos-reciclaje/21178/Reciclado-de-Plasticos-Como-se-Reciclan--->

Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018

15. FAO. (2004). Programa de información de especies acuáticas. *Mytilus edulis*. Programa de información de especies acuáticas. En: Goulletquer, P. *Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO*. Roma.

Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus_edulis/es

Fecha de consulta: 21 de noviembre de 2018

16. Góngora Pérez, J. P. (2014). La industria del plástico en México y el mundo. *Comercio Exterior* 64 (5): 6-9. Disponible en:

http://revistas.bancomext.gob.mx/rce/magazines/761/3/la_industria_del_plastico.pdf

Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018.

17. Greenpeace. (2016) Plásticos en el pescado y marisco.
Disponible en:
http://archivo-es.greenpeace.org/espana/Global/espana/2016/report/plasticos/Plasticos_en_el_pescado_y_el_mariscoLR.pdf
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018
18. Greenpeace. (2018) Datos sobre la producción de plásticos.
Disponible en: <https://es.greenpeace.org/es/trabajamos-en/consumismo/plasticos/datos-sobre-la-produccion-de-plasticos/>
Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2018
19. Greenpeace (2018) Un millón de acciones contra el plástico.
Disponible en: <https://es.greenpeace.org/es/wp-content/uploads/sites/3/2018/04/TOOLKIT-PLASTICOS-v3.pdf>
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018
20. Helm, M.M., Bourne, N., Lovatelli, A. (2006) Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. *FAO Documento Técnico de Pesca*. No. 471. Roma, FAO.184 pp.
21. Environment Agency Austria (2015). Plastic and microplastic in the environment. Viena, Umweltbundesamt GmbH, 32 p. Disponible en: https://www.umweltbundesamt.at/en/news_events_reports/news_eaa/en_news_2015/news_150831_en/
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018.
22. Jabeen, K., Su, L., Li, J., Yang, D., Tong, C., Mu, J., Shi, H. (2017) – Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environmental Pollution* 221: 141 – 149.
23. Laist, D.W. (1997). Impacts of marine debris: entanglement of marine life in marine debris including a comprehensive list of species with entanglement and ingestion records. En: Coe, J.M., Rogers, D.B. (Eds.), *Marine Debris—Sources, Impacts and Solutions*. New York, SpringerVerlag, pp. 99–139.
24. Li, J., Qu, X., Su, L., Zhang, W., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D., Shi, H. (2016) - Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental Pollution* 214: 177- 184.

25. Li, J., Yang, D., Li, L., Jabeen, K., Shi, H. (2015) – Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental Pollution* 207: 190 – 197.

26. Lozoya, J.P., Carranza, A., Lenzi, J., Machín, E., Teixeira de Mello, F., González, S., Hernández, D., Lacerot, G., Martínez, G., Scarabino, F., Sciandro, J., Vélez-Rubio, G., Burgues, F., Carrizo, D., Cedrés, F., Chocca, J., de Álava, D., Jiménez, S., Leoni, V., Limongi, P., López, G., Olivera, Y., Pereira, M., Rubio, L., Weinstein, F. (2015) Management and research on plastic debris in Uruguayan Aquatic Systems: update and perspectives. *Revista de Gestão Costeira Integrada* 15 (3): 377-393. Disponible en: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1646-88722015000300007&lng=en&nrm=iso&tlng=en
Fecha de consulta: 6 de octubre de 2018.

27. Mathalon, A., Hill, P. (2014) - Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Marine Pollution Bulletin* 81: 69-79.

28. Michałowicz, J. (2014) 'Bisphenol A sources, toxicity and biotransformation.' (Fuentes de bisfenol A, toxicidad y biotransformación), *Environmental Toxicology and Pharmacology* 37 (2): 738-758.

29. Najj, A., Nuri, M., Dick Vethaak, A. (2018) - Microplastics contamination in molluscs from the northern part of the Persian Gulf. *Environmental Pollution* 235: 113-120

30. National Geographic. (2018). Hallan por primera vez microplásticos en heces humanas. Disponible en: <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2018/10/hallan-por-primera-vez-microplasticos-en-heces-humanas>
Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2018.

31. O'Hara, K. O'Hara, S. Iudicello, R. Bierce. (1988). *A Citizen's Guide to Plastics in the Ocean: More than a Litter Problem*. Washington, Center for Marine Conservation, 142 p. Disponible en: <https://eric.ed.gov/?id=ED312152>
Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2018.

32. Peng, G., Zhu, B., Yang, D., Su, L., Shi, H., Li, D. (2017) – Microplastics in sediments of the Changjiang Estuary, China. *Environmental Pollution* 225: 283 – 290.

33. Perez-Lobato, R., Mustieles, V., Calvente, I., Jimenez-Diaz, I., Ramos, R., Caballero-Casero, N., López-Jiménez, F. J., Rubiob, S., Olea, N., Fernandez, M.F.,

(2016). 'Exposure to bisphenol A and behavior in school-age children.' (Exposición al bisfenol A y la conducta de los niños en edad escolar), *NeuroToxicology* 53: 12–19.

34. Pittura, L., Avio, C. G., Giuliani, M. E., d'Errico, G., Keiter, S. H., Cormier, B., Gorbi, S., Regoli, F. (2018) – Microplastics as Vehicles of Environmental PAHs to Marine Organisms: Combined Chemical and Physical Hazards to the Mediterranean Mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Front. Mar. Sci.* 5: 103.
doi: 10.3389/fmars.2018.00103

35. Rios, L.M., Moore, C., Jones, P.R., (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin* 54: 1230-1237.

36. Rochman, C. M. (2015) - The Complex Mixture, Fate and Toxicity of Chemicals Associated with Plastics Debris in the Marine Environment. En: Bergmann M, Gutow L, Klages M. *Marine Anthropogenic Litter*. Springer. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-16510-3_5
Fecha de consulta: 15 de octubre de 2018.

37. Romeo, T., Pietro, B., Pedà, C., Consoli, P., Andaloro, F., Fossi, M.C., (2015). First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 95 (1): 358–361.

38. Santana, M. F. M., Ascer, L. G., Custódio, M. R., Moreira, F. T., Turra, A. (2016). Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment. *Marine Pollution Bulletin* 106: 183-189.

39. Shaw, D.G., (1977). Pelagic tar and plastic in the Gulf of Alaska and Bering Sea: 1975. *Science of the Total Environment* 8: 13–20.

40. Shaw, D.G., Mapes, G.A., (1979). Surface circulation and the distribution of pelagic tar and plastic. *Marine Pollution Bulletin* 10: 160– 162.

41. Su, L., Cai, H., Kolandhasamy, P., Wu, C., Rochman, C. M., Shi, H. (2018) – Using the Asian clam as an indicator of microplastic pollution in freshwater ecosystems. *Environmental Pollution* 234: 347 – 355.

42. Thompson, R.C., Swan, S.H., Moore, C.J., vom Saal, F.S., (2009b). Our plastic ag. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 1973-1976.
43. UNEP/GPA. United Nations Environment Programme. Global Programme of Action for the Protection of the Marine Environment from Land-Based Activities. (2006). The Hague, UNEP/ GPA. Disponible en: <https://www.unenvironment.org/resources/toolkit/global-programme-action-protection-marine-environment-land-based-activities>
Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2018.
44. Uruguay (2004). Constitución de la República Oriental del Uruguay. Constitución 1967 con las modificaciones plebiscitadas el 26 de noviembre de 1989, el 26 de noviembre de 1994, el 8 de diciembre de 1996 y el 31 de octubre de 2004. Disponible en: <https://legislativo.parlamento.gub.uy/temporales/3691289.HTML#art191>
Fecha de consulta: 28 de octubre de 2018.
45. Uruguay (2000). Ley Protección del Medio Ambiente del 12 de diciembre de 2000. Ley n°17.283. Disponible en: <https://legislativo.parlamento.gub.uy/temporales/leytemp9448615.htm>
Fecha de consulta: 28 de octubre de 2018.
46. Uruguay (2018). Ley Uso sustentable de bolsas plásticas del 3 de setiembre de 2018. Ley n°19.655. Disponible en: <https://legislativo.parlamento.gub.uy/temporales/docu9871485929972.htm>
Fecha de consulta: 28 de octubre de 2018.
47. Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193: 65-70.
48. Von Moos, N., Burkhardt-Holm, P., Koehler, A. (2012). Uptake and effects of microplastics on cells and tissues of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after experimental exposure. *Environmental Science & Technology* 46: 11327-11335.
49. Zettler, E., Mincer, T., Amaral-Zettler, L. (2013). Life in the "Plastisphere": Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environmental Science & Technology* 47: 7137-7146.