

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETECCIÓN DE MICROPLÁSTICOS EN ALMEJA AMARILLA (*Amarilladesma
mactroides*) EN LA COSTA ROCHENSE**

Por

**AZAMBUJA, Federico
EGÜEZ, Rodrigo**

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.

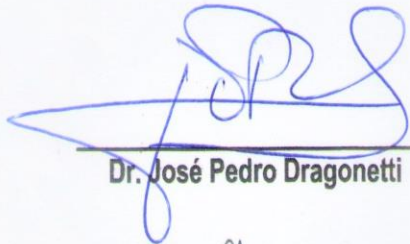
MODALIDAD: Estudio de Caso

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2020**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Presidente de mesa:



Dr. José Pedro Dragonetti

Segundo Miembro (Tutora):



Dra. Cristina Friss de Kereki

Tercer Miembro:



Dra. Sonia Fernández

Co-Tutora:



Dra. Carina Galli

Fecha:

09/11/2020

Autores:



Federico Azambuja



Rodrigo Egüez

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestras tutoras, la Dra. Cristina Friss de Kereki; co-tutora Dra. Carina Galli por la dedicación, motivación y el respaldo, durante toda la realización de la tesis, fundamentalmente en tiempos de pandemia. A José Pedro Dragonetti, siempre referencia en momento de vacilaciones y dudas al igual que Santiago Díaz, Gonzalo Crossi, Gonzalo Chalela y todos los integrantes del Instituto de Investigaciones Pesqueras.

También debemos agradecer a nuestros compañeros de trabajo que sobrellevaron nuestros días y horas de ausencia siempre estimulándonos en la realización del presente estudio.

Por último y de importancia vital vaya el agradecimiento a nuestras familias y amigos que soportaron y fueron soporte a lo largo de toda la carrera, fundamentalmente en la culminación con este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE GRÁFICOS	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE TABLAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Plásticos	10
2.2 Microplásticos (MP)	12
2.3 Nanoplásticos	14
2.4 Bivalvos.....	14
2.4.1 <i>Amarilladesma mactroides</i>	15
2.5 Depuración.....	18
2.5.1 Principios fundamentales de la depuración.....	19
OBJETIVOS	20
MATERIALES Y MÉTODO	20
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES	26
RECOMENDACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
BIBLIOGRAFÍA	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de la concha de una almeja <i>Amarilladesma mactroides</i>	16
Figura 2. Anatomía de <i>Amarilladesma mactroides</i>	16
Figura 3. Distribución de <i>Amarilladesma mactroides</i> y su zona de extracción en Uruguay.....	17
Figura 4. Porcentaje de muestras con presencia de microplásticos, según su forma	21
Figura 5. Efecto de la depuración sobre la presencia de microplásticos en almejas, según su forma.	22
Figura 6. Fotografías tomadas con el microscopio digital.	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad y promedio de microplásticos en 10 g y su clasificación, para ambos grupos (depuradas / no depuradas).	22
---	----

Resumen

Es ampliamente conocida la infiltración de desechos plásticos en los ecosistemas marinos provocando perjuicios a la fauna y flora. Los microplásticos, partículas entre 0.0001 a 5 mm, son un problema ambiental emergente en investigación. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de microplásticos en almejas amarillas (*Amarilladesma mactroides*) destinadas al consumo humano (depuradas) y no depuradas, de la costa rochense. Se determinó y cuantificó según su forma el tipo de microplástico: esferas, fibras y fragmentos; y se evidenció si el mecanismo de depuración habitualmente usado incidió en la presencia o no de microplásticos. Se utilizó este recurso hidrobiológico por dos motivos fundamentales: en primer término, por su forma de alimentación mediante la filtración de grandes volúmenes de agua, convirtiéndolo en un excelente marcador del grado de polución del ecosistema que le rodea. Por otro lado, las almejas se consumen en su totalidad, por lo que pueden ser vehículo de plásticos para el ser humano. Si bien la zona de extracción de este producto es en las playas más al este del Uruguay, alejado de las grandes urbes, su depuración posterior es precaria, con el único fin de que expulsen la arena.

Para el presente estudio, se formaron dos grupos de 25 muestras cada uno de almejas depuradas y sin depurar respectivamente, adquiridas en el mercado local de La Coronilla. El análisis de las almejas para la búsqueda de microplásticos se llevó a cabo mediante el método modificado de Mathalon & Hill (2014). La totalidad de las muestras de almejas analizadas (100%) presentaron al menos un fragmento, 41 muestras de 50 presentaron al menos una fibra (82%), mientras que tan sólo 4 presentaron al menos un microplástico con forma de esfera (8%). Se realizó una clasificación según la morfología de los microplásticos observados en los dos grupos estudiados, en almejas sin depurar: fragmentos 1192, fibras 154, esferas 3; y en las depuradas: fragmentos 986, fibras 140, esferas 4.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre almejas depuradas y sin depurar en cuanto a la cantidad de microplásticos observados, a diferencia de otros estudios similares realizados en la región en los cuales se investigó con almejas sometidas a una depuración más exhaustiva. Se sugiere realizar estudios a nivel local en relación a procesos de depuración más estrictos y su influencia en la cantidad de microplásticos en almejas.

Summary

Infiltration of plastic debris through marine ecosystems is widely known, injuring fauna and flora. Microplastics, particles between 0.0001 and 5 mm, are an emerging environmental problem that is being investigated worldwide. The objective of this study was to determine the presence of microplastics in purified yellow clams (*Amarilladesma mactroides*) destined to human consumption (purified) and not purified, from Rocha coasts. Microplastics were determined and quantified according to its shape in: spheres, fibers and fragments; and evidenced if the used purifying method had an impact on the presence of microplastics. Two main reasons have determined the usage of this hydrobiological resource: first, because of their feeding characteristics, filtering large amounts of water makes it an excellent ecosystem pollution indicator. Furthermore, soft tissues from yellow clams are totally consumed, therefore they might be a vehicle for plastic ingestion by humans. Even though this product extraction zone takes place far east Uruguayan beaches, away from big cities, its latter depuration seems poor, with the lone objective of the sand to be purged.

For the current research, two groups of 25 samples each were assembled, one constituted by purged clams and the other by non-purged clams, both acquired at La Coronilla local market. The clams were analysed towards finding microplastics with a modified Mathalon & Hill (2014) method. All of the analyzed samples (100%) presented at least one fragment, 41 out of 50 presented at least one fiber (82%), while just 4 out of 50 presented at least one sphere shaped microplastic. The particles were classified by shape on both studied groups, in non-purged clams: fragments 1192, fibers 154, spheres 3; and the purged clams: fragments 986, fibers 140, spheres 4.

This survey demonstrated that there was no significant difference in the observed microplastic quantity between purged and non-purged clam groups, unlike other similar investigation lines on the region that researched with clams who were put through more exhaustive depuration procedures. It is suggested to perform further studies locally relating stricter depuration processes and their influence on the amount of microplastics found in clams.

1. Introducción

Los plásticos son materiales nuevos en relación a la historia de la humanidad, ya que recién en 1862 Alexander Parkes presentó el primer plástico sintetizado por el hombre en la gran exhibición internacional de Londres. Aunque su uso y producción se hicieron masivos después de la segunda guerra mundial (Lozoya y col., 2015).

La producción actual oscila en el entorno de 320 millones de toneladas de plástico por año, 40% de los cuales se generan como envases de un solo uso (Wright y col., 2017). Esto tiende al acúmulo de residuos plásticos tanto en medios acuáticos como continentales (Barnes y col., 2009; Jambeck y col., 2015).

Los residuos plásticos llegan a los océanos mayoritariamente a través de cursos de agua, industrias, efluentes urbanos y rurales (Lebreton y col., 2017). Por otro lado, actividades industriales llevadas a cabo en los océanos, tales como extracción de petróleo y gas, pesca y acuicultura, y el ejercicio del turismo masivo aumentan la deposición de dichos residuos en los mares (Barboza y col., 2018).

En la cumbre G7 en Elmau en 2015, se reconoció a la contaminación de los océanos, particularmente por parte de materiales plásticos, como un reto a nivel mundial debido al impacto directo en los ecosistemas y la potencialidad de afectar la salud humana (Michida y col., 2019).

El perjuicio que causa la ingestión de desechos plásticos de mayor porte por parte de animales en los océanos ha sido ampliamente difundido. No obstante, la erosión y la radiación solar deteriora y fragmenta a partículas plásticas microscópicas, pudiendo ser confundidas con fuentes de alimento por organismos marinos más pequeños (Boerger, 2010). La proporción mayor de plásticos que se encuentran en los océanos son microplásticos menores a 5 mm (Fernández y col., 2019).

Por otro lado, la producción de recursos hidrobiológicos tanto en la pesca como en la acuicultura ha crecido 8 veces desde 1950 al día de hoy. En 2015, la producción alcanzó un récord de alrededor de 170 millones de toneladas de productos animales. En cuanto a la captura, los peces dominaron la extracción marina con 67,4 millones de toneladas, seguidos de crustáceos con 6 millones de toneladas, cefalópodos con 4,7 millones de toneladas y otros moluscos con 2,4 millones de toneladas (FAO, 2017).

Los moluscos bivalvos se alimentan por filtración del agua que les rodea por lo que son susceptibles de ingerir partículas plásticas. Esto último sería un mecanismo de ingreso a la cadena trófica incluyendo el consumo por parte del ser humano (Fernández y col., 2019).

La creciente presencia de los plásticos no hace más que aumentar la presión ambiental a la cual se enfrenta el ecosistema marino. Debido a esto es importante poner en la discusión pública el tema, para encontrar las alternativas que permitan disminuir la producción y flujo de microplásticos hacia el medio marino (FAO, 2019).

Se confirmó a nivel nacional la presencia de microplásticos en contenido gástrico en peces de la costa del departamento de Rocha (Limongi y col., 2019). Además, Rodríguez (2019) halló microplásticos en mejillones *Mytilus edulis* en la misma región.

El fin de esta tesis apuntó a confirmar la presencia de este contaminante en almejas amarillas *Amarilladesma mactroides* que son capturadas en la misma zona, pero son de hábitat infaunal, a diferencia de los mejillones que viven en la región intermareal. De estar presentes las partículas plásticas en las almejas, serán ingeridas por el consumidor ya que el recurso se consume en su totalidad. Al ser la almeja una

especie filtradora, tiene el potencial de acumular dichas partículas. Se investigó si la depuración habitual previa al consumo disminuye en alguna medida el conteo de los microplásticos. También se tuvo en cuenta las recomendaciones de la FAO sobre la necesidad de mayores estudios sobre microplásticos en bivalvos: “hay un número limitado de publicaciones sobre la ocurrencia de microplásticos en bivalvos marinos y son, en su mayoría, referidos a mejillones capturados. Exceptuando el estudio por Li y col (2016), los tamaños de muestreo son limitados. Los casos están restringidos a Europa, Norteamérica, Brasil y China” (FAO, 2017).

2. Revisión Bibliográfica

2.1 Plásticos

La palabra “plástico” proviene del vocablo griego *plastikos*, que significa apto para moldear refiriéndose a la ductilidad de un material.

Civilizaciones ancestrales tales como la china o babilónica utilizaban resinas naturales como el ámbar o betún para la fabricación de diversos instrumentos para múltiples funciones. Los egipcios, hace más de 3000 años impregnaban a sus muertos con betún de Judea, que al exponerse a la luz se volvía firme e impermeable, muy similar al proceso de vulcanización logrado miles de años después (Gilbert, 2017). El historiador griego Heródoto (484-425 AC), escribe los 9 libros de la historia, dentro de los cuales en el libro II, Euterpe, describe el mecanismo de embalsamamiento egipcio, y refiriéndose al cadáver “... se le faja, bien lavado, con ciertas vendas cortadas de una pieza de finísimo lino, untándole al mismo tiempo con aquella goma de que se sirven comúnmente los egipcios en vez de cola”. A partir del siglo XVI AC, las civilizaciones precolombinas centroamericanas lograban la coagulación de la resina formando un material flexible y elástico, denominado caucho partiendo de un líquido pegajoso llamado látex, producido por el árbol *Castilla elastica*, que mezclaban con extractos de una enredadera nativa, *Ipomoea alba*. Estas culturas sustituyeron materiales como el cuero, la piedra y la madera con el caucho para fabricar figuras humanas, pelotas y agarradores de cabezas de hachas (Hosler y col., 1999).

En Inglaterra en 1839 Goodyear y Hancock lograron la vulcanización, agregándole azufre al caucho brindándole así mayor estabilidad al material (García, 2008). Durante la segunda mitad del siglo XIX se ofrece una recompensa para aquel que creara un material sustituto al marfil en la fabricación de bolas de billar. Alexander Parker en 1855 descubrió que al disolver nitrato de celulosa en alcanfor fundido y aplicando calor se produce un compuesto moldeable que al enfriarse se endurece conservando la forma deseada. Le dio el nombre de parkesita, pero olvidó patentarla. Wesley Hyatt en 1870 modifica parcialmente la parkesita dando origen al celuloide, ganando la recompensa. (García, 2008).

Sin embargo, la baquelita, el primer plástico totalmente sintético, se obtuvo a principios del siglo XX, nombrada así en honor a su creador Leo Baekeland. No era estable ni adecuada para envases o embalajes. No obstante, aún se utiliza como aislante de terminales eléctricos o mangos de sartén.

Las guerras mundiales y el avance en ingeniería química trajeron consigo la expansión en la variedad de plásticos que se elaboraban. Según Gilbert (2017), se dio el desarrollo industrial de los principales termoplásticos, los cuales se clasificaron en:

- Poliestireno (PS) utilizado como aislante térmico, y embalajes protectores de elementos frágiles.

- Policloruro de vinilo (PVC) con una amplia gama de usos, por su gran resistencia al impacto y erosión, se lo utiliza en la construcción y en tuberías de agua potable.

- Poliolefinas, polietileno de alta y baja densidad, polipropileno entre otros, son los plásticos más económicos. Utilizados en la fabricación de bolsas plásticas, envases desechables o aislantes eléctricos.

- Polimetilmetacrilato (PMMA), más conocido como acrílico, utilizado como sustituto al cristal y en dentaduras postizas.

La producción en masa recién comenzó a partir de la década de 1960. Debido al consumismo los materiales tradicionales como el vidrio, el papel o el metal fueron reemplazados por los plásticos (FAO, 2017).

Por años, la contaminación ambiental por polímeros plásticos no fue tomada en cuenta, la mayor parte del tiempo considerándose despreciable en comparación con otros tipos de contaminaciones antropológicas y minimizando sus potenciales perjuicios a la vida (Stefatos y col., 1999). Fue en la década del 1970 cuando comenzaron a establecerse ciertas directrices a nivel de organizaciones internacionales, así como individualmente por gobiernos locales, con el fin de controlar o mitigar el impacto ambiental que comenzaba a advertirse en distintas partes del mundo a causa de los desechos plásticos (Derraik, 2002). Claros ejemplos de lo mencionado anteriormente fueron, el Convenio sobre la prevención del mar por vertimiento de desechos y otras materias, acordado en el London Convention and Protocol en 1972, y el Anexo V del Convenio Internacional para Prevenir la Contaminación por los Buques (también conocido como MARPOL) firmado en 1978.

Las cualidades que llevaron al plástico a ser un material tan noble y globalmente utilizado, como ser su resistencia, impermeabilidad, baja degradabilidad, bajo costo y accesibilidad, comenzaban a representar elementos sustanciales en la causalidad del impacto al medio ambiente.

Se ha comprobado a lo largo de los años los diferentes perjuicios que este tipo de contaminación le genera a la vida marina: 1) mortalidad directa por atrapamiento (por las llamadas "redes fantasma", embalajes de diferentes tipos, tanzas y cuerdas sintéticas, etc.), 2) ingestión de detritos plásticos que laceran directamente el tracto digestivo o evitan el normal pasaje del alimento por éste, 3) intoxicación por compuestos hidrofóbicos como ser los bifenilos policlorados y otros generadores de disrupciones endocrinas que causan esterilidad y/o demás problemas metabólicos impidiendo el desarrollo a nivel individual como poblacional.

En las últimas décadas del siglo XX surgieron estudios de casos en especies que sufrían el impacto de este tipo de contaminación, encontrándose residuos plásticos en el tracto digestivo de aves, tortugas, mamíferos y peces, observándose muchas veces una ingestión selectiva, al confundir los plásticos con alimentos (Moser y col., 1992; Gramentz, 1988; Tarpley y col., 1993). El atrapamiento por equipos de pesca descartados representa una gran amenaza para los animales acuáticos, incluso mayor para aquellas especies curiosas, como los mamíferos, principalmente focas (Mattlin y col., 1986). Si bien el enredarse puede no significar la muerte de manera inmediata o a corto plazo, puede representar aumentos significativos en el gasto energético y pérdida de habilidad para desenvolverse en su medio, quedando expuesto a depredadores, evitando migraciones, reproducción y otras actividades de relacionamiento con sus pares (Laist, 1997, Feldkamp y col., 1989). Si bien los plásticos flotan en el agua, luego de transcurrido un periodo de tiempo, caen y se anexas a los sedimentos. Tanto en su etapa de flotación como en su etapa de sedimentación, los plásticos podrían interferir con el normal desarrollo de los organismos allí residentes.

Hoy en día, la temática de la contaminación ambiental por plásticos se enfoca hacia un problema más recientemente descubierto, poniendo en la mira a los microplásticos como agentes de estudio constante, debido a la gran dispersión que éstos tienen en casi todos los rincones del planeta.

2.2 Microplásticos (MP)

“Mezcla heterogénea de materiales de distintas formas referidas como fibras, fragmentos, esferas en el rango de 0.1-5000 micrómetros” (EFSA, 2016). Existe una clasificación de los plásticos en primarios y secundarios. Los microplásticos primarios son plásticos que fueron manufacturados de ese tamaño para un fin industrial, mientras que los secundarios son generados mediante la erosión y partición de objetos de mayor porte (EFSA, 2016).

El tamaño de estas partículas plásticas hace que estén disponibles para muchos organismos que se alimentan por filtración, por ejemplo, bivalvos, llegando posteriormente a niveles tróficos superiores al ser depredados por otros seres vivos (Davison y col., 2011).

Existen tres mecanismos por los cuales generan perjuicios en el medio: el primero se denomina fenómeno de adsorción, implica la capacidad de atraer y retener agregados químicos o microbiológicos. Los compuestos plásticos son lipófilos por lo que tienen el potencial de adsorber contaminantes orgánicos persistentes (COPs) como el benzopireno, presente en el medio acuático, el cual se forma tras la combustión de madera, y sustancias perfluoradas como el sulfonato de perfluorooctano y ácido perfluorooctanoico, sustancias sintéticas utilizadas en la producción de cajas de cartón, indumentaria entre otros. Estos COPs tienen el potencial de ser cancerígenos (O'Donovan y col., 2018). Se considera que los plásticos se han convertido en una importante fuente de contaminantes orgánicos persistentes, como lo son los pesticidas organoclorados, bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, entre otros (Bouwmeester y col., 2015).

Los distintos tipos de plásticos como el policloruro de vinilo (PVC), tereftalato de polietileno (PET), polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE) y polipropileno (PP) tienen la capacidad de adsorber contaminantes inorgánicos de la línea de los metales pesados (aluminio, plomo, cromo, cadmio, entre otros) la única excepción es que el HDPE tiene una adsorción mucho menor al cadmio que otros polímeros (Rochman y col, 2014). Tal similitud en la adsorción de distintos metales a diferentes matrices de polímeros podría indicar que estos metales no se ligan al polímero en sí, sino al *biofilm* generado sobre el plástico, lo que a su vez justifica que en el correr de los meses, mientras el biofilm se desarrolla y aumenta su biomasa, también aumente progresivamente la adsorción de los metales (Rochman y col, 2014). Estas biopelículas formadas por comunidades de diversas bacterias y algas varían de acuerdo a factores climáticos en cuanto a su carga microbiana y la composición de su matriz orgánica, lo que conlleva a diferencias estacionales en la concentración de contaminantes, tales como metales pesados (Tien y col., 2013).

Tanto los contaminantes plásticos como los metales pesados son persistentes en el medio acuático, presentando baja o nula biodegradabilidad y además pueden presentar bioacumulación y biomagnificación en la cadena alimentaria (Akhbarizadeh y col., 2017). Los principales factores que controlan el grado de bioacumulación de contaminantes en los organismos acuáticos son la biodisponibilidad y concentración del plástico en el medio, así como la fisiología y el comportamiento alimentario del organismo y el tiempo de exposición al mencionado contaminante (Monikh y col., 2013).

El segundo se llama mecanismo de desorción, por el cual la sustancia previamente retenida por el plástico es liberada al medio. En caso de que la partícula plástica sea ingerida por animales, el contaminante puede ser liberado y adsorbido por el organismo y generar alteraciones endocrinas o permear el sistema circulatorio y alojarse en los tejidos. Y de esta manera escalar en la cadena trófica hasta llegar al ser humano (Lozoya y col., 2015).

Por último, el mecanismo de filtración por el cual las sustancias químicas que se emplean durante la fabricación de los plásticos se separan y se filtran al medio circundante. Ya sea al agua o al tracto digestivo del organismo que lo ingirió. Un ejemplo de esto es el bisfenol A, compuesto químico utilizado en la fabricación de varios polímeros sintéticos y papel térmico. Este compuesto actúa como un xenoestrógeno, causando disrupción del sistema endocrino, alterando el funcionamiento tanto de hormonas sexuales como tiroideas o de la insulina. Dicha alteración endocrina puede acarrear trastornos desde la obesidad y diabetes hasta alteraciones teratogénicas (Michałowicz, 2014).

Los ftalatos son compuestos que agregados a los plásticos le añaden flexibilidad, lo que hace que el PVC no se resquebraje, a su vez se emplean en productos cosméticos. Este compuesto liberado al medio es capaz de provocar disrupciones endocrinas como el bisfenol A y también se le adjudica la capacidad de inducir aberraciones genéticas en varios organismos, así como alteraciones del desarrollo y crecimiento, ya que se asemejan e interfieren con hormonas de crecimiento y neurotransmisores (Olavarrieta y col., 2017).

2.3 Nanoplásticos

Los nanoplásticos son partículas plásticas de tamaño entre 0.001 y 0.1 micrómetros (EFSA, 2016). Los impactos que éstos pudieran tener en la salud son los mismos que conllevan los microplásticos, sumados a los que pudieran producir derivados de su tamaño. El estudio de estas partículas resulta dificultoso por su tamaño y evaluar los riesgos que el consumo de éstos ocasiona se encuentra en constante investigación. Se ha comprobado que cuando estas partículas plásticas alcanzan un tamaño de 150 nm o menos, pueden atravesar el epitelio intestinal de humanos y otros mamíferos, implicando una exposición sistémica al agregarse al torrente sanguíneo (EFSA, 2016). Si bien no ha habido hasta el momento pruebas concluyentes de los perjuicios que este fenómeno pueda causar a la salud humana y animal, se ha ratificado el hallazgo de plásticos en el tejido hepático de peces capturados en su hábitat, así como de pireno en la hemolinfa y branquias de mejillones (Avio y col., 2015a, 2015b). Recientemente se han realizado estudios que confirman el pasaje de nanoplásticos al torrente sanguíneo de animales de laboratorio, lo que podría traer trastornos circulatorios, y de coagulación, como, por ejemplo, tromboembolismos (Collard y col, 2017).

2.4 Bivalvos

Los bivalvos son organismos que pertenecen al *phylum Mollusca*, junto a los grupos o clases Gasteropoda (caracoles y babosas), Cefalópoda (pulpos y calamares) y otros grupos menores. Este *phylum* representa más de 93.000 especies descritas, siendo el segundo más numeroso luego de los artrópodos.

Más de la mitad de estas especies habitan los océanos, desde las profundidades de más de 8000 metros como la fosa de Puerto Rico, hasta las regiones intermareales y costeras. También habitan áreas terrestres y dulceacuícolas en todo el mundo. (Moretzsohn y col., 2009).

El grupo de los bivalvos, también llamados lamelibranchios o pelecípodos, presentan características comunes. Son invertebrados celomados, presentan aplanamiento lateral con dos valvas o conchas de carbonato de calcio que encierran las partes blandas del animal (FAO, 2006). Son sedentarios y se alimentan filtrando el agua que les rodea por lo tanto se encuentran sometidos a las alteraciones del medio provocadas por el hombre y el cambio climático. Su mecanismo de alimentación por filtración concentra componentes del medio, que pueden ser de interés, como en este caso microplásticos haciéndolos excelentes biomarcadores de la polución del medio en el que viven.

2.4.1 *Amarilladesma mactroides*

La almeja amarilla taxonómicamente se ubica dentro de la clase *Bivalva*, subclase *Heterodonta*, superorden *Imparidentia*, orden *Veneroidea*, Superfamilia *Mactroidea*, familia *Mesodesmatidae*, genero *Amarilladesma* (Huber y col., 2010). Este género monotípico se creó a partir de 2010 por Michel E. Huber, para dejar el anterior *Mesodesma*.

El adulto mide 8 cm de largo promedio, y vive enterrado en la arena a profundidades superiores a los 10 cm durante el verano, momento en el cual son usualmente recolectadas. Una vez finalizada la temporada, migran a las zonas intermareales donde permanecen durante el invierno para volver a las costas en los meses de primavera y permanecer allí hasta que la temperatura descienda (Fiori y col., 2015). Presentan cuerpo comprimido lateralmente, recubierto por el manto y protegido por 2 valvas finas en forma de cuña, constituidas por carbonato de calcio y proteína. Éstas se caracterizan por tener su borde anterior extendido y su borde posterior truncado, adecuado para su hábitat infaunal. La charnela tiene la función de ensamblar ambas valvas mediante su posición dorsal. El periostraco es amarillento y poseen condróforo en forma de cuchara, donde se ubica el ligamento (ver Figura 1) (Darrigran, 2013).

Se alimentan y respiran mediante dos sifones que se encuentran en posición posterior que comunican con las branquias que cumplen la doble función. En posición anterior se encuentra el pie que utiliza para enterrarse en la arena (ver Figura 2) (Proverbio y col., 2017).

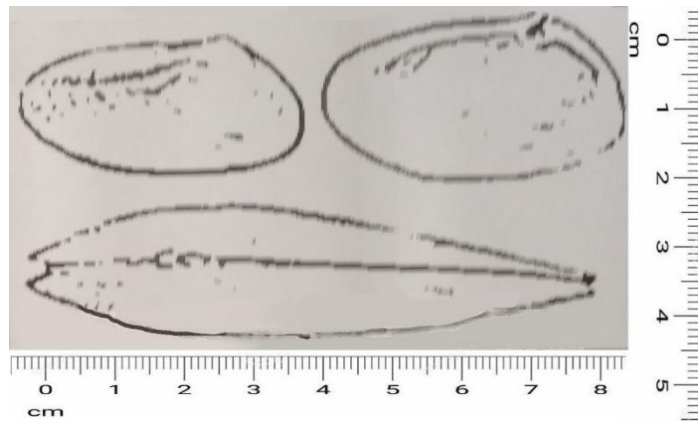


Figura 1. Ilustración de la concha de una almeja *Amarilladesma mactroides*.

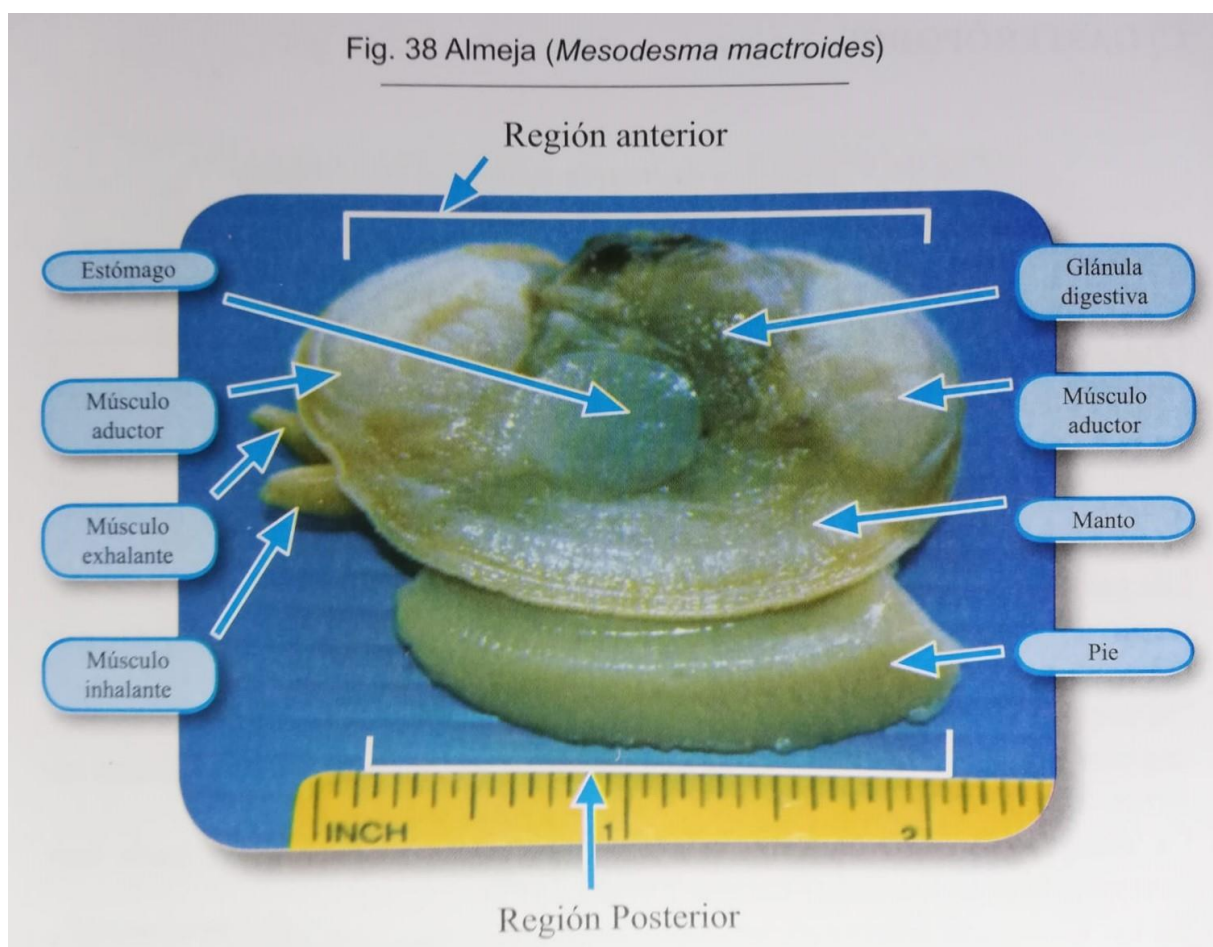


Figura 2. Anatomía de *Amarilladesma mactroides*. Fuente: Dragonetti, 2008.

Es habitante de la zona intermareal, de vida infaunal en las playas del océano Atlántico desde Santos, Brasil al norte, hasta la desembocadura del Río Negro al sur de la provincia de Buenos Aires, Argentina (ver Figura 3). Históricamente en Uruguay desde 1940 se explotó en régimen abierto al recurso en la franja de 20 km entre La Coronilla y la Barra del Chuy en las playas de Rocha (ver Figura 4). A finales de la década de 1980 el recurso colapsó por sobre explotación, cerrando la pesquería por 3 años. Desde 2009 se otorgan permisos personales para la explotación del recurso, orientándose a la extracción de la almeja viva y su posterior depuración para el consumo humano.



Figura 3. Distribución de *Amarilladesma mactroides* y su zona de extracción en Uruguay. a) Distribución de *Amarilladesma mactroides*. b) Zona de extracción de almeja amarilla en Uruguay.

2.5 Depuración

La depuración, purificación, o purga se le llama al proceso en que se debe mantener a los bivalvos en recipientes con agua de mar limpia, en un entorno favorable que optimice la actividad de filtración para así excretar el contenido intestinal y de esta manera fomentar la expulsión de contaminantes al agua y evitar que se recontaminen los moluscos (FAO, 2010).

A finales del siglo XIX en Europa y Estados Unidos se desarrollaron brotes de fiebre tifoidea relacionados al consumo de moluscos contaminados con la bacteria *Salmonella typhi*. La depuración fue una medida, entre muchas, para atacar el problema. Los alcances de la depuración están restringidos a eliminar muchas bacterias fecales frecuentes en los moluscos bivalvos, no elimina patógenos como el virus de la hepatitis A o el norovirus así como vibrios marinos naturales (por ej. *Vibrio vulnificus* o *Vibrio parahaemolyticus*). Es ineficaz, o no es confiable, para el cometido de eliminar biotoxinas marinas como la toxina paralizante de los moluscos (PSP), la toxina diarreica de los moluscos (DSP) y la toxina amnésica de los moluscos (ASP). Tampoco contribuye a la excreción de metales pesados o sustancias químicas orgánicas (FAO, 2010).

En los mercados donde la producción y el consumo es significativo como la Unión Europea, Japón o Estados Unidos, está reglamentado que el proceso de depuración se realice según el resultado de una evaluación de riesgo sanitario realizada para cada zona de extracción o cultivo. Además, son tomados en cuenta factores fisicoquímicos tales como salinidad, temperatura y oxígeno favorables para la mayor actividad de filtración del bivalvo. En dichos mercados, la normativa tiende a ser más exigente debido a que son muchas veces ingeridos crudos. Es así que se realizan muestreos donde se controlan los niveles de indicadores fecales como el *Escherichia coli*, de patógenos como *Salmonella* y contaminantes como toxinas, metales pesados, medicamentos veterinarios (FAO, 2010).

Según el reglamento CE Nº 853/2004 de la Unión Europea que establece normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, se deben cumplir con los siguientes preceptos “El sistema de depuración deberá permitir que los moluscos reanuden rápidamente y mantengan su alimentación por filtración y que queden limpios de residuos cloacales, no vuelvan a contaminarse y se mantengan con vida en condiciones adecuadas para el envasado, almacenamiento y transporte que precedan a su puesta en el mercado”. A posteriori cada estado miembro legislará en función de dichos criterios. Esto mismo sucede en Estados Unidos, y se extiende para aquellos países que pretendan exportar moluscos bivalvos a estas naciones.

Información recopilada hasta diciembre del 2006 por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, data que los países que cuentan con mayor cantidad de plantas autorizadas para la depuración son Francia con 1422 y Japón con más de 1000, posicionándose tercera y muy por debajo Italia con unas 114, siguiéndola el Reino Unido con 82 y España con 60. Los sistemas más comúnmente utilizados en dichas plantas son la recirculación, sistemas abiertos y sistemas estáticos, empleando tecnología UV, ozono, cloro, yodo, electrolización o aireación como modo de desinfección del agua de mar (FAO, 2010).

2.5.1 Principios fundamentales de la depuración (FAO, 2010)

- A) Retomar la filtración normal por parte de los bivalvos, favorecerá la excreción de contaminantes. Para esto es necesario optimizar las condiciones de temperatura, salinidad, y oxígeno disuelto para cada especie.
- B) Exclusión de contaminantes, esto se puede lograr generando un flujo de agua a través de los moluscos o por sedimentación. En cada caso se deberá llevar a cabo en un periodo de tiempo adecuado.
- C) Impedir la recontaminación, es fundamental el manejo de lotes “todo dentro / todo fuera”. Utilizando agua de mar limpia en cada ciclo de depuración.
Evitar que las partículas que los bivalvos expulsaron y precipitaron formando un sedimento vuelvan a recircular. Para esto es fundamental la limpieza entre cada ciclo de depuración.
- D) La correcta manipulación de los ejemplares antes durante y después de la depuración optimizara la viabilidad de los mismos para su posterior comercialización.

En contraposición, en nuestro país, la legislación vigente se rige por el Reglamento Bromatológico y con respecto a moluscos bivalvos, destinados para consumo humano solo exige que “se comercialicen vivos, con las valvas cerradas, que contengan agua en su interior, con las mantas reactivas al excitarse. Se decomisarán los bivalvos con sus valvas abiertas y que superen 80 µg de toxina paralizante de los moluscos cada 100g de pulpa” (Reglamento Bromatológico Nacional, 1994).

Uruguay no cuenta con una reglamentación que determine parámetros microbiológicos y/o fisicoquímicos para productos alimentarios provenientes de la pesca ni de sus zonas de extracción, con excepción de las toxinas de la marea roja. En la práctica, en Uruguay la depuración de moluscos bivalvos consiste en mantenerlos vivos post extracción en bateas de 700 litros con agua extraída de la costa por 48 horas con el fin de que expulsen las partículas de arena (purga) (Proverbio y col, 2017).

Objetivos

- Determinar la presencia de microplásticos en almejas amarillas (*Amarilladesma mactroides*) destinadas al consumo humano (depuradas) y no depuradas, de la costa rochense.
- Determinar y cuantificar según su forma el tipo de microplástico: esferas, fibras y fragmentos.
- Evidenciar si el mecanismo de depuración, habitualmente usado, incide en la presencia o no de microplásticos.

Materiales y métodos

Obtención de muestras

Las almejas (depuradas y no depuradas) fueron compradas en el mercado local de La Coronilla. Las mismas son extraídas por los recolectores a lo largo de los 20 km de playa entre Barra del Chuy y La Coronilla. Fueron transportadas refrigeradas en caja isotérmica para su posterior congelación hasta el momento del procesamiento. Se analizó un total de 50 muestras, separadas en dos grupos, uno de 25 muestras formado a partir de almejas depuradas y el otro restante sin depurar. Cada muestra se conformó por un *pool* de 10 g de tejido blando de 5 almejas. La cantidad total de ejemplares fue de 250.

Procesamiento de muestras

El análisis de las almejas para la búsqueda de microplásticos se llevó a cabo mediante el método desarrollado por Mathalon & Hill (2014) modificado por Rodríguez (2019). Cada muestra se colocó en un vaso de Bohemia con 200 ml de una solución de peróxido de hidrógeno al 30% con el fin de digerir la materia orgánica. Se llevó a plancha calefactora y agitación, por aproximadamente 12-18 horas, a una temperatura de 65°C en el centro de la solución.

Cuando el peróxido de hidrógeno se evaporó, se agregó 100 ml de solución salina saturada (250 g NaCl/l H₂O), se agitó vigorosamente por 1 o 2 minutos y se separaron los plásticos por flotación. Se filtró con una membrana con un tamaño de poro de 8 micrómetros utilizando equipo de microfiltración.

Se observó el filtrado en lupa estereoscópica Nikon SMZ-10, procediendo al conteo discriminando los microplásticos en fragmentos, fibras y esferas (Naji y col, 2017).

Las imágenes fueron captadas con un microscopio digital Ecvilla SMicr500.

Los ensayos se realizaron en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP) de la Facultad de Veterinaria, UdelaR.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para análisis de los datos. Se realizó un test de t de Student para muestras independientes para determinar si las medias de los grupos presentaban diferencias significativas entre tratamientos (almejas depuradas y sin depurar), con un nivel de confianza de 95% ($\alpha=0.05$), discriminando entre tipo de microplástico (fragmento y fibra). Se desestimaron las esferas para análisis estadístico debido a su baja presencia.

Resultados

La totalidad de las muestras de almejas analizadas (100%) presentaron al menos un fragmento, 41 muestras de 50 presentaron al menos una fibra (82%), mientras que tan sólo 4 presentaron al menos un microplástico con forma de esfera (8%) (Figura 4).

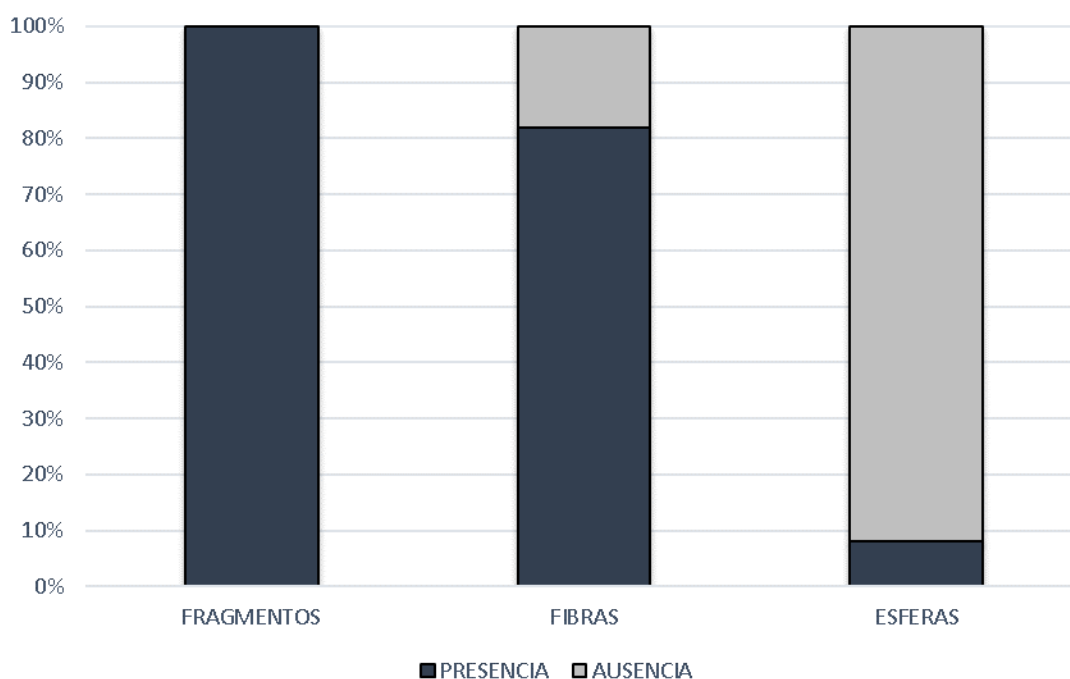


Figura 4. Porcentaje de muestras con presencia de microplásticos, según su forma (n=50).

Por otra parte, tal como se muestra en la Tabla 1 y la Figura 5, al evaluar las muestras en forma individual, los microplásticos categorizados como fragmentos se encontraron en mayor proporción comparado con los otros tipos de microplásticos (fibras y esferas), tanto para el grupo sin depurar como también en aquellas almejas con tratamiento de depuración.

Tabla 1. Cantidad de microplásticos según su forma y tratamiento.

	Sin depurar				Con depuración			
	Media	Máx.	Mín.	Total	Media	Máx.	Mín.	Total
Fragmentos	48	154	13	1192	39	156	5	986
Fibras	6	43	0	154	6	29	0	140
Esferas	0	2	0	3	0	3	0	4

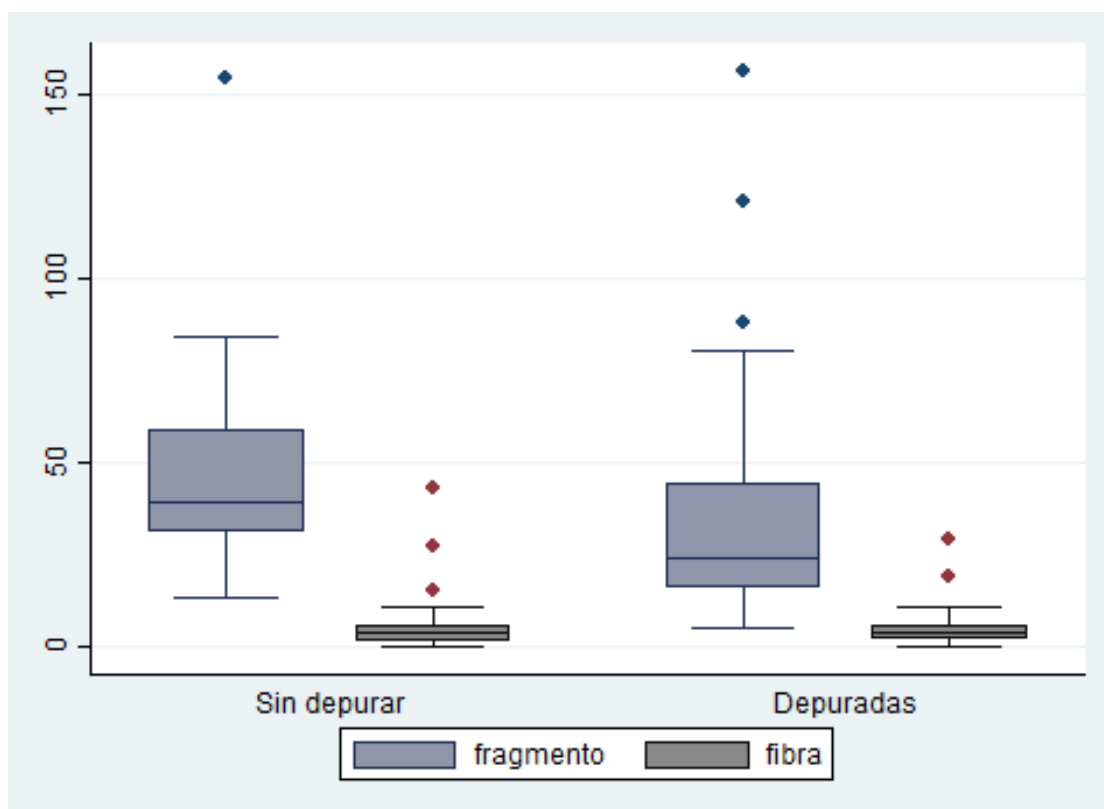


Figura 5. Efecto de la depuración sobre la presencia de microplásticos en almejas, según su forma.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las medias de cantidad de microplásticos en almejas depuradas y sin depurar, tanto para la variable fragmentos como para la variable fibras. Para el caso de la variable fragmentos, si bien la media de almejas depuradas (39,4) es menor a la media de las no depuradas (47,7).

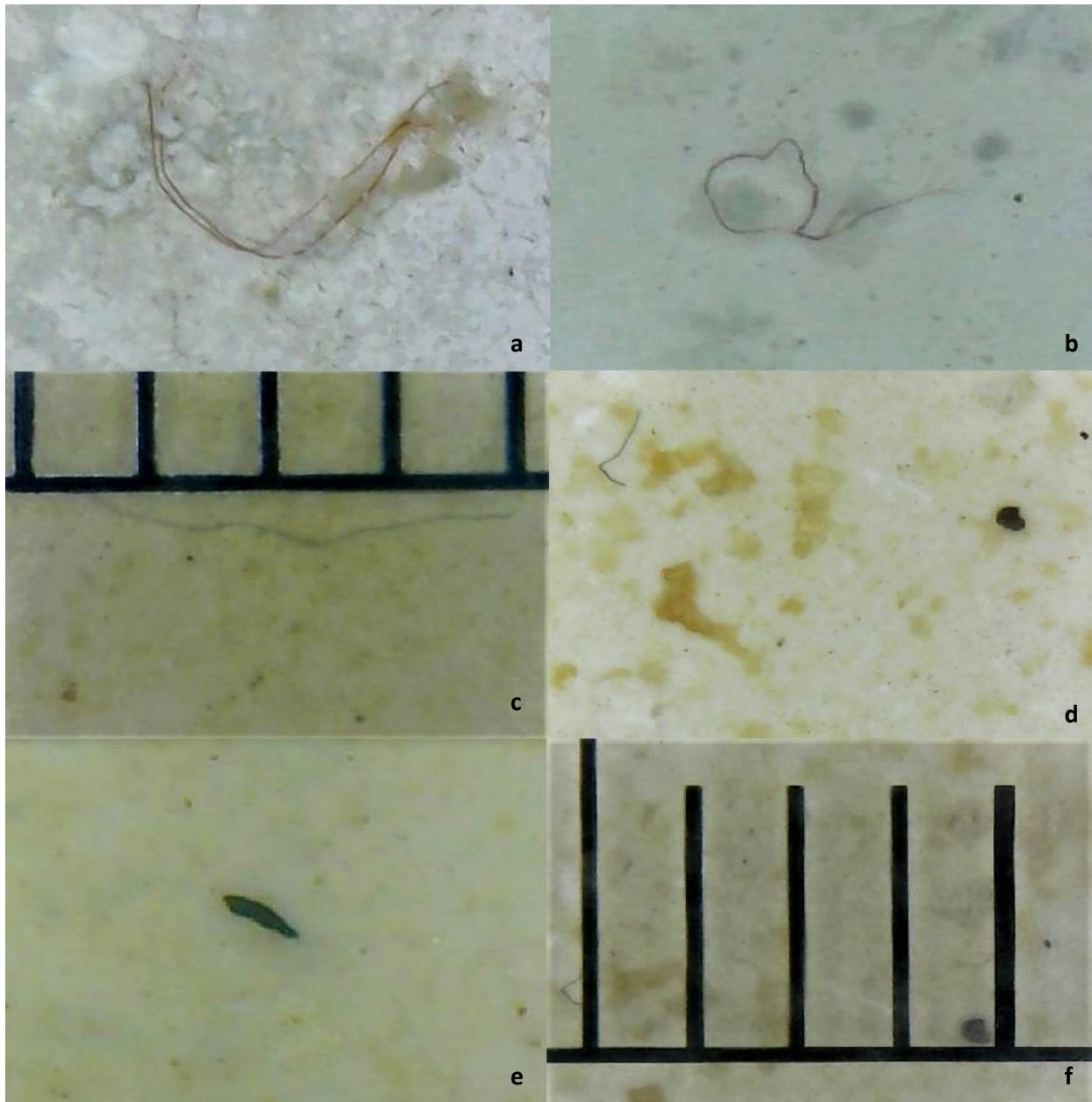


Figura 6. Fotografías tomadas con el microscopio digital. a y b) Fibras de color rojo. c) Fibra de color negro medida con una regla de intervalos de 1 mm. d) Visualización de una fibra y un fragmento. e) Fragmento de color verde. f) Fragmento menor a 0,5 mm.

En las imágenes tomadas con el microscopio digital se observaron fibras de color rojo (Figuras 6a y 6b). En la figura 6c se midió una fibra negra con un tamaño estimado de 3-4 mm. Se evidenciaron también fibras de color negro en las Figuras 6d y 6f).

Los fragmentos fotografiados presentaron distintas formas, colores y tamaños (Figura 6d, 6e y 6f). Se observaron fragmentos de colores verde-turquesa (Figura 6e). En la Figura 6f se observó un fragmento oscuro menor a 0,5 mm.

Discusión

No hay evidencia estadísticamente significativa que indique que la depuración (purga) de las almejas sirve como tratamiento para reducir la presencia de microplásticos en el producto.

En el presente trabajo se confirmó la presencia de partículas plásticas en todas las muestras coincidiendo con Birnstiel y col. (2019), donde verifican la presencia de microplásticos en el 100% de las muestras de mejillones capturados en Río de Janeiro. En el caso de estos autores la depuración redujo la presencia de microplásticos a un 46,79%, hecho que no se verificó en las almejas analizadas. Esto está probablemente relacionado con el proceso de depuración que llevaron a cabo en dicho estudio. La duración fue de 93 horas en agua marina previamente filtrada con filtros de una porosidad de 11 micras, a diferencia de la purga que se llevó a cabo por los recolectores en la estación depuradora de La Coronilla.

Por otro lado, estudios realizados por Cho y col. (2018) en diferentes bivalvos del Este asiático, revelaron la presencia de microplásticos en el 95% de las muestras. Distinguen entre 4 tipos de bivalvos cada uno asociado a un hábitat diferente (mejillones, ostras, vieiras y almejas), encontrando mayores concentraciones de microplásticos en almejas.

En el 2014, Mathalon y Hill utilizaron una técnica para detección de microplásticos en mejillones, con resultados positivos en todas las muestras analizadas concordando con los resultados obtenidos en almejas.

En el 2019, Rodríguez en el Instituto de Investigaciones Pesqueras investigó la presencia de microplásticos en mejillones (*Mytilus edulis*), capturados en la misma zona de extracción que en el presente estudio, resultando el 100% de las muestras positivas. Sin embargo, la proporción de las diferentes formas de partículas plásticas no coincide. En el caso de Rodríguez el 52,6% correspondieron a fibras y el 47,4% a fragmentos, mientras que en el presente estudio los fragmentos fue el grupo más representativo. Tales variaciones en las proporciones de microplásticos podrían ser explicadas por diferencias anatómicas relacionadas al sistema de filtración de los distintos géneros de bivalvos. Además, no habitan el mismo nicho ecológico, el mejillón vive adherido al sustrato en la región intermareal estando expuesto a periodos de tiempo fuera del agua, mientras que la almeja amarilla se ubica en la región subtidal, gran parte del tiempo enterrada en la arena. Esto podría aumentar la exposición de aquellas partículas plásticas que sedimentan en la arena.

Davidson y col en 2016, en almejas evidenciaron la presencia de microplásticos en una proporción de 90% para fibras, 5,3% para films y 4,7% para fragmentos. A su vez encontraron una mayor proporción de fibras en almejas de cultivo (59%) en relación a las recolectadas en playas (41%). Esto puede estar relacionado a una mayor polución de la zona de cultivo, procedente de las propias mallas plásticas donde son cultivadas. Por otro lado, Davidson y col. (2016) realizaron su estudio en aguas del estrecho de Georgia en cercanías de grandes urbes como la ciudad de Vancouver, lo que aumenta los niveles de polución del agua. Esto podría explicar las diferencias halladas en las proporciones de microplásticos entre el trabajo de Davidson y col. (2016) y el presente estudio, que se realizó alejado de grandes urbes e industrias y fueron recolectadas de las playas.

Los resultados de Cho y col en 2018 resultaron similares al presente trabajo. Los porcentajes de microplásticos encontrados en bivalvos correspondieron a 76% de fragmentos y 24% de fibras. Estos autores determinaron que la prevalencia de la forma de fragmentos se presentó también en agua de mar y sedimentos.

Conclusiones

Se confirmó la presencia de microplásticos en almejas comercializados en Uruguay para consumo humano, destacando que la totalidad de las muestras contenían microplásticos. Se observó mayor proporción de fragmentos en relación a fibras o esferas.

El procedimiento de purga que se realiza en el país para estos bivalvos no demostró ser efectivo para la reducción de microplásticos en este producto. Sin embargo, se visualizó una diferencia entre los grupos depurados y sin depurar, razón por la cual sería recomendable realizar estudios similares tras una depuración controlada para evaluar en qué medida se podría disminuir la presencia de microplásticos en este recurso de la costa oceánica uruguaya.

Bibliografía:

Akhbarizadeh, R., Moore, F., Keshavarzi B., 2017 - Investigating a probable relationship between microplastics and potentially toxic elements in fish muscles from northeast of Persian Gulf. Department of Earth Sciences, College of Science, Shiraz University, 71454 Shiraz, Irán.

Avio, C., Gorbi, S., Regoli, F., 2015a – Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea. *Marine Environmental Research* 111 (2015) 18-26. Universidad politecnica de Marche, Ancona, Italia.

Avio, C., Gorbi, S., Milan, M., Benedetti, M., Fattorini, D., 2015b – Pollutant bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Research* Volume 198, Pages 211-222.

Barboza, L. G. A., Vethaak, A. D., Lavorante, B. R.B.O., Lundebye, A. K., Guilhermino, L., 2018 - Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. ICBAS–Institute of Biomedical Sciences of Abel Salazar, University of Porto, Department of Populations Study, Laboratory of Ecotoxicology, Rua de JorgeViterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal.

Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., Barlaz, M., 2009 - Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364, 1985–1998.

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

Bouwmeester H, Hollman P.C., Peters RJ., 2015 - Potential health impact of environmentally released micro- and nanoplastics in the human food production chain: experiences from nanotoxicology. *Environmental Science and Technology*, 49, 8932–8947.

Cho, Y., Shin, W. J., Jang, M., Han, G. M., Hong, S. H., 2018 – Abundance and characteristics of microplastics in the market bivalves from South Korea. *Environmental pollution* 245 (2019) 1107-1116.

Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., Das, K., Jauniaux, T., & Parmentier, E. (2017). *Microplastics in livers of European anchovies (Engraulis encrasicolus, L.)*. *Environmental Pollution*, 229, 1000–1005.

Darrigran, G., 2013 – Los moluscos bivalvos. Aportes para su enseñanza: teoría – métodos. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación.

Davidson, P., Dudas S., 2016 – Microplastic Ingestion by Wild and Cultured Manila Clams (*Venerupis philippinarum*) from Baynes Sound, British Columbia. Nanaimo, BC, Canada.

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

Dragonetti, J., 2008 – Guía ilustrada para la evaluación de la frescura.

EFSA, 2016 - EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Statement on the presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. EFSA J. 2016 14 (6).

FAO, 2019 - Los microplásticos en los sectores de pesca y acuicultura.

FAO, 2017 - Fisheries and aquaculture technical paper 615. Microplastics in fisheries and aquaculture.

FAO, 2010 - Documento técnico de pesca 511. Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos.

FAO, 2006 - Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. Documento técnico de pesca 471.

Feldkamp, S., Costa, D., DeKrey, G.K., 1989 – Energetics and behavioural effects of net entanglement on juvenile northrend fur seals *Callorhinus ursinus*. Fisheries Bulletin 87, 85-94.

Fernández, B., Albentosa, M., 2019 - Insights into the uptake, elimination and accumulation of microplastics in mussel. Environmental pollution.

Fiori S., Carcedo M., 2015 – Influence of grain size on burrowing and alongshore distribution of the yellow clam (*Amarilladesma mactroides*). Journal of Shellfish Research 34(3), 785-789.

García, S., 2008 – Referencias históricas y evolución de los plásticos. Universidad Politécnica de Valencia, Facultad de Bellas Artes, Departamento de escultura, España.

Gilbert, M., 2017 - Plastics Materials. Brydson's Plastics Materials, 1–18.

Gramentz, D., 1988 – Involvement of loggerhead turtle with the plastic, metal, and hydrocarbonpollution in the Central Mediterranean. Marine Pollution Bulletin 19, 11-13.

Hosler, D. Burkett S. L., Tarkanian M. J., 1999 – Prehistoric Polymers: Rubber Processing in Ancient Mesoamerica- AAAS American association for de advancement of science.

Huber, M., 2010 - Compendium of bivalves. A full-color guide to 3,300 of the world's marine bivalves. A status on Bivalvia after 250 years of research. Hackenheim: ConchBooks. 901 pp.

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

Laist, D.W., 1997 – Impacts of marine debris: entanglement of marine life in marine debris including a comprehensivelist of species with entanglement and ingestion records. Marine Debris – Sources, impacts and solutions. Springer-Verlag, New York, pp. 99-139.

Lebreton, L. C. M., Van der Zwet, J., Damsteeg, J., Slat, B., Andrady, A., Reisser, J., 2017 – River plastic emissions to the world's oceans. *Nature communications* 8, Article number: 15611.

Limongi, P., Lacerot, G., Segura, A., 2019 - Plastic fibers in the gastrointestinal tract content of two South Atlantic coastal fish species with different trophic habits (*Urophycis brasiliensis*, *Paralonchurus brasiliensis*) in Punta del Diablo – Uruguay. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* (2019).

Lozoya, J., Carranza, A., Lenzi, J., Machin, E., Teixeira de Mello, F., Gonzalez, S., Hernandez, D., Lacerot, G., Martinez, G., Scarabino, F., Sciandro, J., Velez-Rubio, G., Burgues, F., Carrizo, D., Cedres, F., Chocca, J., De Alava, D., Jimenez, S., Leoni, V., Limongi, P., Lopez, G., Olivera, Y., Pereira, M., Rubio, L., Weinstein, F., 2015 – Management and research on plastic debris in Uruguayan Aquatic System: update and perspectives. *Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 15(3):377-393.

Mattlin, R.H., Cawthorn, M.W., 1986 – Marine debris – An international problem. *New Zealand Environment* 51, 3-6.

Michałowicz, J., 2014 - Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 738–758

Mathalon, A., Hill, P., 2014 – Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. Dalhousie University, Oceanography Department, Halifax, Nova Scotia, Canada.

Michida, Y., Chavanich, S., Cózar Cabañas, A., Haqmann, P., Hinata, H., Isobe, A., Martí, E., 2019 - Guidelines for Harmonizing Ocean Surface Microplastic Monitoring Methods. Version 1.0.

Monikh, A., Safahieh, A., Savari, A., Doraghi, A., 2013 - Heavy metal concentration in sediment, benthic, benthopelagic, and pelagic fish species from Musa Estuary (Persian Gulf). Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Marine Science and Technology University, Khorramshahr, Irán.

Moser M.L., Lee D.S., 1992 – A fourteen-year survey of plastic ingestion by Western North Atlantic seabirds. *Colonial Waterbirds* 15, 83-94.

Naji, A., Nuri, M, Vethaak, D., 2017 – Microplastics contamination in molluscs from the northern part of the Persian Gulf. Department of Environment and Health. Vrije Universiteit, Amsterdam, Netherlands.

Reglamento Bromatológico Nacional, 1994.

O'Donovan, S., Mestre, N. C., Abel, S., Fonseca, T. G., Carteny, C., Cormier, B., Keiter, S. H., Bebianno, M. J., 2018 - Ecotoxicological Effects of Chemical Contaminants Adsorbed to Microplastics in the Clam *Scrobicularia plana*. *Frontiers of Marine Science*.

Olavarrieta, T., 2017 - Abundancia de microplásticos en la Bahía de La Paz y niveles de ftalatos en el Rorcual Común (*Balaenoptera physalus*). Universidad autónoma de Baja California Sur, Área de conocimientos y ciencias del mar, Departamento de ciencias marinas y costeras.

Proverbio, C., Lercari, D., Carnevia, D., 2017 - Herramientas para el manejo de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* en condiciones experimentales. UNDECIMAR, Facultad de Ciencias e Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria.

Rochman, C.M., Hentschel, B.T., Teh, S.J., 2014 - Long-term sorption of metals is similar among plastic types: implications for plastic debris in aquatic environments. PLoS ONE, 9, e85433.

Rodríguez, G., 2019 – Detección de microplásticos en mejillón (*Mytilus edulis*) de la costa atlántica uruguaya. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

Stefatos, A., Charalampakis, M., Papatheodorou, G., Ferentinos, G., 1999 – Marine debris on the seefloor of the Mediterranean Sea: examples from two enclosed gulfs in Western Greece. Marine Pollution Bulletin 36, 389-393.

Tarpley, R.J., Marwitz, S., 1993 – Plastic debris ingestion by cetaceans along the Texas coast: two case reports. Aquatic Mammals 19, 93-98.

Tien, C., Chen, CS., 2013 - Patrones de acumulación de metales por biopelículas de ríos naturales durante su crecimiento y sucesión estacional. Arch Environ Contam Toxicol 64, 605–616.

Wright, S. L., Kelly F. J., 2017 - Environmental Science & Technology 51 (12), 6634-6647 DOI: 10.1021/acs.est.7b00423.