



UNIVERSIDAD
DE GRANADA



UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA

**ORIGEN, CARACTERIZACIÓN E IMPACTO DE LOS MICROPLÁSTICOS
PRESENTES EN EL MEDIOAMBIENTE. APLICACIÓN A LA
PROVINCIA DE GRANADA (ESPAÑA)**



***ORIGIN, CHARACTERIZATION AND IMPACT OF MICROPLASTICS
OCCURENCE IN THE ENVIRONMENT. APPLICATION TO THE
PROVINCE OF GRANADA (SPAIN)***

Tesis Doctoral

Doctoranda: **Verónica Godoy Calero**

Directores: **M^a Ángeles Martín Lara** y **Gabriel Blázquez García**

Programa de Doctorado en Química

Marzo 2021

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Verónica Godoy Calero
ISBN: 978-84-1306-885-5
URI<http://hdl.handle.net/10481/69067>

A mis padres y abuelos

- Dale pescado a un hombre hambriento y lo nutrirás durante una jornada.

Enséñale a pescar y lo nutrirás para toda su vida -

AGRADECIMIENTOS

En estos tres años, he hecho un largo viaje en el que me han acompañado muchas personas a las que quiero dar las gracias.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de Tesis, M^a Ángeles Martín-Lara y Gabriel Blázquez, por su ayuda siempre desinteresada y la gran dedicación e ilusión que han puesto siempre. A Marian, gracias por reconducirme cuando no tenía claros los objetivos y por el gran esfuerzo que has invertido siempre en los artículos. A Gabriel, que es el alma del laboratorio y como un tío para mí, gracias por ayudarme siempre con los experimentos y por tu apoyo personal.

En este punto quiero agradecer también a mis padres porque, curiosamente, la vida me ha llevado a realizar esta Tesis en el Grupo de Investigación en el que la directora es además mi madre, Mónica Calero. Gracias a ella por ser todo un ejemplo de persona luchadora y trabajadora a seguir. Gracias a los dos que siempre me guían cuando parezco perdida y me impulsan cuando lo necesito. A ellos les debo el haber llegado hasta aquí.

Al Departamento de Ingeniería Química, que me ha visto crecer (literalmente) y que ha sido una segunda casa para mí durante muchos años, gracias por acogerme en esta última etapa de mi vida académica.

A Teresa Rocha-Santos y su Grupo de Investigación de la Universidad de Aveiro, gracias por acogerme durante mi estancia en Portugal y por enseñarme tantas cosas sobre microplásticos que desconocía cuando llegué allí. A Joana R, gracias por ser el mejor apoyo personal que habría podido tener en esa etapa.

A mis compañeros de laboratorio y amigos Lucía, Ernesto y Jose, gracias por haber hecho más llevadera esta etapa y por los momentos profesionales y personales vividos. A Emilio, gracias por tu amistad, por tu confianza y tu sentido del humor que siempre me acaba sacando una sonrisa.

A mis amigas Fátima y Armonía, que han compartido conmigo en primera persona los momentos de agobio, debilidad y frustración durante estos tres años. A todas esas personas que, en algún momento del camino, me han aportado algo bueno o necesario.

A Adri, gracias por ir siempre de la mano conmigo, por quitarle seriedad a la vida y por aportarme esa dosis de tranquilidad que necesito cuando mi mente está demasiado turbulenta.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
RESUMEN.....	15
ABSTRACT.....	21
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	29
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	35
1.1. Definición de microplástico.....	35
1.2. Principales fuentes de emisión de microplásticos.....	40
1.2.1. Fuentes de emisión de microplásticos primarios.....	42
1.2.2. Fuentes de microplásticos secundarios.....	50
1.3. Normativa vigente aplicable a la reducción de emisión de microplásticos.....	65
1.4. Distribución global de microplásticos en ambientes acuáticos y costeros, y abundancia.....	70
1.4.1. Microplásticos en ambientes de agua dulce.....	70
1.4.2. Microplásticos en ambientes de agua salada y salobre.....	79
1.4.3. Microplásticos en ambientes de agua salada en España.....	90
1.5. Técnicas de muestreo, extracción y caracterización de microplásticos.....	98
1.5.1. Técnicas de muestreo.....	99
1.5.2. Técnicas de extracción.....	109
1.5.3. Técnicas de purificación de la muestra.....	114
1.5.4. Técnicas de identificación de microplásticos.....	117
1.5.5. Control de calidad de los procedimientos de muestreo, extracción e identificación.....	122
1.6. Interacciones de los microplásticos con otros contaminantes presentes en medios acuáticos.....	123
1.6.1. Principales mecanismos de interacción contaminantes-microplásticos.....	125
1.6.2. Factores que influyen en las interacciones entre microplásticos y contaminantes.....	128
1.7. Efectos toxicológicos de los microplásticos sobre los organismos y sobre la salud humana.....	135
1.7.1. Interacciones y efectos sobre organismos acuáticos.....	137
1.7.2. Interacciones y efectos sobre la salud humana.....	140
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	149

2.1. Análisis de microplásticos de polietileno presentes en productos de cuidado personal	149
2.1.1. Material empleado.....	149
2.1.2. Criterios de selección de los PCPs adquiridos.....	150
2.1.3. Extracción de micropartículas de los PCPs	151
2.1.4. Técnicas de identificación y caracterización de microplásticos.....	152
2.1.5. Cálculo de las concentraciones de microplásticos	155
2.2. Acumulación y distribución de microplásticos en playas: El caso-estudio de la Costa Tropical (Granada, España)	156
2.2.1. Área de estudio	156
2.2.2. Toma de muestras de sedimento.....	158
2.2.3. Extracción de los microplásticos del sedimento	160
2.2.4. Análisis de los microplásticos extraídos.....	161
2.2.5. Análisis estadísticos.....	164
2.3. Ensayos de adsorción y desorción de metales y contaminantes orgánicos sobre microplásticos en medios acuosos.....	164
2.3.1. Material empleado.....	165
2.3.2. Caracterización físico-química de los microplásticos.....	170
2.3.3. Ensayos de adsorción de metales sobre microplásticos.....	172
2.3.4. Ensayos de adsorción y desorción de contaminantes orgánicos sobre microplásticos	178
2.4. Estudio de los microplásticos como vectores de metales pesados en el interior del tracto gastrointestinal humano mediante simulación dinámica.....	183
2.4.1. Materiales y reactivos químicos.....	183
2.4.2. Contaminación artificial de microplásticos en laboratorio	185
2.4.3. Simulador gastrointestinal en bioreactor de membrana (GITSMB) – SimuGIT	186
2.4.4. Condiciones de los ensayos en el GITSMB	188
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	193
3.1. Análisis de microplásticos de polietileno presentes en productos de cuidado personal	193
3.2. Acumulación y distribución de microplásticos en playas: El caso-estudio de la Costa Tropical (Granada, España)	199
3.2.1. Reconocimiento visual de microplásticos in situ.....	199
3.2.2. Análisis de los microplásticos presentes en el sedimento no reconocibles visualmente	200
3.2.3. Comparación con otras playas del Mediterráneo y relaciones medioambientales	203

3.3. Ensayos de adsorción de metales sobre microplásticos en medios acuosos.....	207
3.3.1. Caracterización de los microplásticos	207
3.3.2. Ensayos preliminares de adsorción de metales sobre microplásticos	208
3.3.3. Ensayos de equilibrio en agua Milli-Q	209
3.3.4. Ensayos de equilibrio en aguas naturales.....	210
3.4. Ensayos de adsorción de contaminantes orgánicos sobre microplásticos en medios acuosos.....	214
3.4.1. Caracterización de los microplásticos	214
3.4.2. Ensayos preliminares de adsorción. Efectos de las características químicas de los contaminantes sobre los materiales plásticos	214
3.4.3. Ensayos de cinética	216
3.4.4. Ensayos de equilibrio	216
3.4.5. Ensayos de desorción. Influencia del pH y la temperatura. Influencia del tiempo de contacto.....	217
3.5. Estudio de los microplásticos como vectores de metales pesados en el interior del tracto gastrointestinal humano mediante simulación dinámica.....	220
3.5.1. Caracterización de los microplásticos tras los ensayos in vitro	220
3.5.2. Cantidad de metal adsorbida por los microplásticos en los ensayos previos de adsorción	221
3.5.3. Ensayo in vitro de simulación gastrointestinal con PE-Cr	221
3.5.4. Ensayo in vitro de simulación gastrointestinal con PP-Pb	222
3.5.5. Evolución del pH, temperatura y presión durante los ensayos in vitro	224
CONCLUSIONES.....	229
CONCLUSIONS.....	233
BIBLIOGRAFÍA	239
ANEXO I. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA INVESTIGACIÓN	269
ANEXO II. PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL CON MICROPLÁSTICOS.....	421
I. Exfoliantes corporales.....	422
II. Exfoliantes faciales.....	424
III. Exfoliantes de pies	427

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema para discernir en cinco pasos si una micropartícula es o no un microplástico. Fuente: Modificada de Verschoor et al., (2016).....	38
Figura 1.2. Porcentaje de fibras naturales y sintéticas utilizadas en las prendas textiles. Fuente: Modificada de WRAP (2017).....	51
Figura 1.3. Composición media de un neumático estándar. Fuente: Modificada de Sommer et al., (2018).....	56
Figura 1.4. Demanda de pinturas por sector en la UE en los años 2013-2014. Fuente: Elaboración propia	59
Figura 1.5. Top ten de basura abandonada en playas europeas. Fuente: EEA (2018).....	64
Figura 1.6. Distribución porcentual de las emisiones de microplásticos según la fase de vida del producto y según las actividades cotidianas de la sociedad. Fuente: Modificada de Boucher and Friot, (2017).....	65
Figura 1.7. Número de microplásticos clasificados por tamaños en las distintas playas españolas en primavera y en otoño. Fuente: Modificada de CEDEX, (2019).....	96
Figura 1.8. Distribución de los microplásticos encontrados en playas españolas por morfología y estación del año. Fuente: Modificada de CEDEX, (2019).....	97
Figura 1.9. Procedimiento de muestreo estandarizado en sedimentos de playa. Fuente: Elaboración propia.....	102
Figura 1.10. Ejemplo de red Neuston o red manta. Fuente: Booth et al., (2018).....	106
Figura 1.11. Esquema de clasificación de microfibras en sintéticas y naturales. Fuente: Modificada de Prata et al., (2020).....	118
Figura 1.12. Ejemplos de espectros infrarrojos de PE y PS obtenidos mediante la técnica de FTIR. Fuente: Elaboración propia.....	119
Figura 1.13. Fenómeno de adsorción de contaminantes sobre microplásticos. Fuente: Elaboración propia	126
Figura 1.14. Representación esquemática de los procesos de fisisorción y quimisorción de contaminantes sobre microplásticos. Fuente: Modificada de Berger and Bhowan (2011).....	126
Figura 1.15. Fenómeno de absorción de contaminantes en la matriz de los microplásticos. Fuente: Elaboración propia.....	127
Figura 1.16. Relación superficie específica-volumen de microplásticos grandes frente a microplásticos pequeños. Fuente: Elaboración propia	130
Figura 1.17. Principales fuentes de exposición y entrada al cuerpo humano de microplásticos. Fuente: Elaboración propia.....	145
Figura 2.1. Muestrario de productos de cuidado personal adquiridos.....	150
Figura 2.2. Ejemplos de etiquetas de ingredientes en las que aparece el polietileno.	150
Figura 2.3. Ejemplos de microplásticos almacenados en botes de vidrio tras la extracción.	152
Figura 2.4. Espectrofotómetro de infrarrojos Perkin-Elmer Spectrum-65.....	153

Figura 2.5. Equipo de granulometría Malvern Mastersizer 2000LF. Fuente: Centro de Instrumentación Científica (CIC).....	154
Figura 2.6. Microscopio electrónico de barrido ambiental de alta resolución, modelo QuemScan650F. Fuente: CIC.....	154
Figura 2.7. Mapa de localización de las playas muestreadas. Fuente: Elaboración propia.	156
Figura 2.8. Posición de las líneas de muestreo y separación entre ellas en una de las playas de estudio. Fuente: Elaboración propia.	159
Figura 2.9. Esquema sobre toma de muestras de sedimento en una de las playas. Fuente: Elaboración propia.	160
Figura 2.10. Microplásticos triturados y tamizados antes de ser utilizados en los ensayos de adsorción.	166
Figura 2.11. Medida del área circular equivalente de tres microplásticos de PVC.....	171
Figura 2.12. Agitador rotatorio OVAN R4-H DE utilizado en los ensayos.....	173
Figura 2.13. Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Aanalyst 200.	174
Figura 2.14. Diagrama de flujo del simulador gastrointestinal por bioreactor de membrana utilizado (SimuGIT). Fuente: Elaboración propia.	187
Figura I.1. Granulometría y distribución de tamaños de microplásticos presentes en exfoliantes corporales.....	422
Figura I.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas y no poliméricas presentes en exfoliantes corporales.....	422
Figura I.3. Imágenes del SEM y microanálisis de los microplásticos presentes en exfoliantes corporales.....	424
Figura II.1. Granulometría y distribución de tamaños de microplásticos presentes en exfoliantes faciales.	425
Figura II.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas presentes en exfoliantes faciales.	425
Figura II.3. Imágenes del SEM y microanálisis de los microplásticos presentes en exfoliantes faciales.	426
Figura III.1. Granulometría y distribución de tamaños de los microplásticos presentes en exfoliantes de pies.....	427
Figura III.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas y no poliméricas presentes en exfoliantes de pies.....	427
Figura III.3. Imágenes del SEM y microanálisis de microplásticos presentes en exfoliantes de pies.....	428

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Valores umbral de vida media para las sustancias químicas en la UE, en distintos compartimentos ambientales. Fuente: Modificada de GESAMP (2015).	36
Tabla 1.2. Categorías utilizadas para clasificar los microplásticos según su forma. Fuente: Modificada de Lusher et al., (2017).....	39
Tabla 1.3. Composición polimérica más frecuente de los microplásticos observados en 42 estudios de sedimentos marinos. Fuente: Modificada de Hidalgo-Ruz et al., (2012a).....	40
Tabla 1.4. Composición y tamaño de los microplásticos añadidos intencionadamente a los productos de cuidado corporal, y estimación de cantidad utilizada por categoría de producto. Fuente: Amec Foster and Infrastructure UK Limited, (2017).....	43
Tabla 1.5. Estimaciones de pérdidas anuales de pellets de plástico en las distintas fases de su ciclo de vida. Fuente: Eunomia and ICF (2018).....	47
Tabla 1.6. Cantidad de microplásticos presente en distintas categorías de productos de limpieza y características de dichas partículas. Fuente: Modificada de Amec Foster and Infrastructure UK Limited, (2017).	50
Tabla 1.7. Consumo de fibras textiles en la UE en 2015. Fuente: WRAP (2017).....	52
Tabla 1.8. Cálculo del vertido medio de fibras sintéticas en una colada textil estándar en la UE. Fuentes: De Falco, (2018); Eunomia and ICF (2018).	53
Tabla 1.9. Composición química de partículas procedentes del desgaste de la calzada y el neumático durante conducción real y conducción simulada en laboratorio. Fuente: Modificada de Kreider et al., (2010). Todos los datos están expresados en porcentaje en masa.	57
Tabla 1.10. Emisiones anuales de PDN en la UE y en diferentes países europeos. Fuente: Modificada de Baensch-Baltruschat et al., (2020).....	58
Tabla 1.11. Contenido en polímeros de los principales tipos de pinturas para carreteras, y tasa de degradación de dichas pinturas. Fuente: Modificada de Eunomia and ICF (2018).....	61
Tabla 1.12. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en Europa.....	77
Tabla 1.13. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en Asia.....	78
Tabla 1.14. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en América.....	79
Tabla 1.15. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Europa.....	86
Tabla 1.16. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Asia.....	87
Tabla 1.17. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en América.....	89
Tabla 1.18. Playas españolas incluidas en el Programa de Seguimiento de micropartículas en playas en el año 2019. Fuente: CEDEX, (2019).....	91

Tabla 1.19. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos de playas de España. Fuente: CEDEX, (2019).....	98
Tabla 1.20. Principales ventajas y desventajas de los métodos de muestreo de agua. Fuente: Modificada de Prata et al., (2019a).....	109
Tabla 1.21. Principales fuentes de contaminación de los medios acuáticos y contaminantes derivados de ellas. Fuente: Modificada de Bashir et al., (2020).....	124
Tabla 1.22. Temperatura de transición vítrea de algunos polímeros. Fuente: Modificada de Endo and Koelmans, (2016).....	131
Tabla 1.23. Cantidad de microplásticos por unidad de masa o volumen encontradas en diversos alimentos y bebidas ingeridos por el ser humano. Fuente: Modificada de WHO (2019) y Cox et al., (2019).....	141
Tabla 1.24. Consumo diario y anual de partículas de microplásticos en cuatro grupos de edades y sexos diferentes. Fuente: Modificada de Cox et al., (2019).....	142
Tabla 2.1. Número de PCPs adquiridos para cada categoría considerada.....	149
Tabla 2.2. Principales características geomorfológicas de las playas analizadas.....	157
Tabla 2.3. Descripción de las características químicas y propiedades de los contaminantes elegidos para el estudio.....	168
Tabla 2.4. Ecuaciones y parámetros de los modelos Langmuir y Freundlich para representar el equilibrio de adsorción.....	176
Tabla 2.5. Ecuaciones y parámetros correspondientes a los modelos de cinética descritos.....	180
Tabla 2.6. Reactivos utilizados para la simulación de saliva y fluidos gástricos humanos..	184
Tabla 2.7. Enzimas utilizadas para simular el funcionamiento del aparato digestivo del ser humano.....	184

RESUMEN

ABSTRACT

RESUMEN

En la última década, la contaminación producida por microplásticos se ha convertido en un tema de actualidad que preocupa a científicos, políticos, organizaciones medioambientales y a la ciudadanía en general, debido a su ubicuidad y el desconocimiento acerca de los impactos que provocan en los organismos y en el medioambiente, así como el riesgo que puede suponer para la salud de las personas.

Los microplásticos tienen diversas fuentes de origen, pueden proceder de la degradación física y química de productos plásticos más grandes, o bien pueden ser directamente fabricados para añadirlos a productos de higiene personal o detergentes, entre otros. Se están encontrando evidencias de estas partículas en numerosos ambientes de agua dulce y salada del mundo, así como en el agua embotellada, en la miel, en la sal y algunos mariscos y pescados que consumimos. Se está convirtiendo en un problema cada vez más cercano a las personas y no se tiene conocimiento suficiente sobre las vías de llegada a estos alimentos y si pueden venir contaminados con otras sustancias. Ese es precisamente otro problema añadido de los microplásticos, su capacidad demostrada para adsorber otros contaminantes que están presentes en los mares y ríos, tales como metales pesados, fármacos u otros contaminantes orgánicos. Cuando estas sustancias son adsorbidas en la superficie de los microplásticos y los organismos las ingieren, puede producirse la liberación de dichos contaminantes al tracto digestivo de los organismos.

El reducido tamaño de estas partículas es otro limitador que dificulta la elección de las técnicas de muestreo y caracterización adecuadas. Precisamente, en ese punto radica la controversia que existe en torno a las concentraciones reales de microplásticos en los distintos compartimentos ambientales, cuál es su naturaleza y cuáles son sus patrones de comportamiento.

En la presente Tesis Doctoral se pretende analizar el recorrido ambiental de los microplásticos en sus diferentes vertientes. Para ello, la Tesis se ha dividido en cuatro capítulos que estudian este ciclo: cómo se produce la emisión al

medioambiente desde una de las fuentes más accesibles para los ciudadanos, que es la cosmética y la higiene personal; qué ocurre cuando estas partículas llegan a la costa y qué factores influyen su distribución y acumulación; cómo interaccionan los microplásticos en los medios acuáticos con otros contaminantes frecuentes que están presentes; y por último, qué comportamiento podemos esperar si ingerimos microplásticos contaminados con algunas de esas sustancias.

En el primer capítulo, se analizó el contenido en microplásticos de polietileno en veinte productos de higiene personal que se comercializan en supermercados habituales de España. Se realizó un estudio de mercado en la capital de Granada y se dividieron en cuatro categorías: productos de cuidado corporal, cuidado facial, cuidado de pies y geles de baño. Se escogieron una serie de productos de cada categoría y en laboratorio se hizo la extracción de microplásticos disolviendo el producto en agua destilada a 70°C durante 1 hora. Los microplásticos extraídos fueron caracterizados de tres formas diferentes: la composición y la presencia de aditivos fueron detectados mediante Espectroscopía de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR), mientras que el tamaño fue analizado mediante la técnica de granulometría y la morfología y composición de los aditivos fueron caracterizados a través de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). También se calculó el número de partículas presente por cada gramo de producto, siguiendo una serie de ecuaciones ya utilizadas anteriormente por otros autores. Los resultados del FTIR revelaron que todas las partículas blancas eran de polietileno, mientras que las partículas de colores bien podían ser polietileno u otros ingredientes añadidos con propiedades exfoliantes, como cáscara de nuez, hueso de uva o celulosa microcristalina. Por otra parte, los análisis granulométricos revelaron tamaños de partículas muy dispares, desde 5 hasta 2.188 micras, aunque los tamaños medios estaban comprendidos entre 264 y 551 micras. En cuanto a la concentración de partículas por gramo, se encontró la tendencia de que los productos con partículas de tamaño más pequeño tenían mayor concentración de partículas por gramo, y viceversa. Por último, los análisis del SEM revelaron que la mayoría de las partículas no eran esféricas, sino que presentaban formas irregulares y aristas, lo que después puede contribuir a una

mayor adsorción de contaminantes por parte de los microplásticos. Además, el microanálisis reveló la presencia de aditivos añadidos a estas partículas, principalmente silicatos, óxidos de sílice y pequeñas cantidades de aluminio y flúor.

En el segundo capítulo se abordó la presencia de microplásticos en tres playas de la costa de Granada, con el objetivo de estudiar no solo su concentración, sino los posibles factores que influyen en su distribución. Para ello, se realizó un muestreo estandarizado de sedimento a lo largo de cuatro transectos diferentes de la playa, para obtener resultados representativos. En laboratorio, la extracción de microplásticos del sedimento se realizó también con un proceso estandarizado mediante separación por densidad con una disolución saturada de cloruro sódico y posterior filtración del sobrenadante. Los filtros fueron posteriormente tintados con pigmento Rojo de Nilo y examinados bajo una lámpara ultravioleta para poder realizar el conteo de microplásticos. Los resultados revelaron concentraciones medias de microplásticos de $45,0 \pm 24,7$, $31,5 \pm 21,5$ y $22,0 \pm 23,2$ partículas/kg de sedimento seco en La Herradura (la más occidental), Motril (central) y La Rábida (la más oriental), respectivamente, encontrándose en las tres playas que la línea de marea alta era la menos contaminada. Los microplásticos encontrados fueron principalmente microesferas y fragmentos de tamaño inferior a 100 micras (más del 50% de los microplásticos encontrados en cada transecto de playa). Los principales factores propuestos como influyentes de estas propiedades fueron el tamaño de grano del sedimento (grava y arena gruesa principalmente) que dificulta el depósito permanente de partículas, las características geomorfológicas de las playas y el oleaje, característico de esta zona donde el agua del océano Atlántico y el mar Mediterráneo se mezclan, y la presencia de una intensa agricultura bajo plástico, que crea una gran presión medioambiental sobre estas playas.

En el tercer capítulo se quiso profundizar en las relaciones medioambientales de los microplásticos presentes en distintos ambientes acuáticos, y se procedió al estudio de las capacidades de adsorción y desorción de cinco tipos de microplásticos (polietileno tereftalato (PET), polietileno (PE),

policloruro de vinilo (PVC), polipropileno (PP) y poliestireno (PS)) procedentes de objetos que ya eran o se iban a convertir en residuos. En la primera parte del estudio se escogieron siete metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) como contaminantes y se hicieron ensayos de cinética y de equilibrio en agua Milli-Q, seguidos por ensayos de equilibrio en tres aguas naturales diferentes: agua de riego, agua de mar y agua residual de depuradora. Todas las muestras tomadas fueron analizadas por espectrofotometría de absorción atómica. Además, se analizaron numerosas propiedades de los microplásticos, como la superficie específica, la porosidad o el punto de carga nula, las principales influyentes en la capacidad de adsorción de los polímeros, así como propiedades de las aguas naturales, como el contenido en materia orgánica, la salinidad o la presencia de cationes y aniones que pudieran interactuar con los microplásticos. Los resultados revelaron que el equilibrio de adsorción se alcanzó para todos los polímeros tras 120 horas de contacto con los contaminantes. El PE y el PVC fueron los que mostraron mayor afinidad por los metales, concretamente por el Cr y el Pb, resultados que fueron corroborados por los modelos de Langmuir y Freundlich. En las aguas naturales, el comportamiento de los microplásticos y los contaminantes estuvo influenciado por la presencia de materia orgánica en el agua residual y el agua de riego, mostrándose mayor capacidad de adsorción en estas aguas que en el agua de mar. El agua de mar presentaba una composición química compleja, con numerosos cationes en disolución que a veces incrementaba la adsorción de metales y otras veces la disminuía, y que incluso dio lugar a la ocurrencia de fenómenos de adsorción-precipitación.

En la segunda parte del estudio de adsorción se escogieron seis contaminantes orgánicos frecuentes en el agua por su abundante uso entre la población y la industria: amoxicilina, atrazina, diuron, fenol, paracetamol y vancomicina. Se realizaron ensayos de cinética y de equilibrio en agua Milli-Q utilizando concentraciones similares y se realizaron en este caso también ensayos de desorción a dos temperaturas (25 y 40°C) y tres valores de pH (2, 4 y 6), para simular diferentes ambientes acuáticos y el tracto digestivo de los organismos. Todas las muestras tomadas fueron analizadas por cromatografía de gases-

espectrometría de masas. Los primeros resultados revelaron que únicamente el fenol y la amoxicilina mostraron una adsorción favorable sobre los microplásticos, algo que puede estar influenciado por propiedades químicas de los contaminantes como el coeficiente octanol-agua o la constante de ionización. La cinética de los contaminantes orgánicos fue mucho más lenta que la de los metales, y tras 28 días de ensayos, en algunos casos todavía no se había alcanzado el equilibrio. Con la amoxicilina, el PE obtuvo la capacidad de adsorción más alta mientras que, en el caso del fenol, fueron PVC y PET los que mostraron esta capacidad más elevada. El modelo de pseudo-segundo orden fue el que mejor reprodujo la cinética del proceso, mientras que los datos se ajustaron mejor al modelo de Langmuir para los ensayos de equilibrio. En cuanto a la desorción, los resultados mostraron en general una liberación mayor de contaminantes cuanto más elevados eran el pH y la temperatura. En el caso de la amoxicilina a 25°C se observó, por otro lado, un efecto combinado de adsorción-desorción con el aumento de pH, provocado por las cargas y la atracción electrostática entre partículas.

El cuarto capítulo de esta Tesis pretende profundizar en el comportamiento de los microplásticos con contaminantes adsorbidos en el interior del tracto gastrointestinal humano, utilizando un simulador dinámico gastrointestinal que reproduce un proceso digestivo desde la ingestión de los microplásticos contaminados hasta la absorción que tiene lugar en el intestino delgado. Para ello, se escogieron dos polímeros (PE y PVC) y dos metales pesados (Cr y Pb), de acuerdo con los resultados favorables que se obtuvieron para estas dos parejas en el capítulo tres. El primer paso consistió en crear un fluido salivar simulado y un fluido gástrico simulado, que son las bases del proceso que tiene lugar. El proceso se dividió en tres fases: la fase gástrica, que tiene una duración de 30 minutos y ocurre mayormente a pH 3; la fase duodenal, que tiene una duración de otros 30 minutos y ocurre a pH 6,5 debido a la acción de los jugos pancreáticos y las sales biliares; y la fase de absorción intestinal, con una duración de 180 minutos y que ocurre a pH 7 aproximadamente. Todas las muestras tomadas fueron analizadas por ICP-Masas y se utilizaron los conceptos de bioaccesibilidad y biodisponibilidad para medir la cantidad de Cr y Pb liberada durante las fases gástrica y duodenal y

la cantidad de dichos metales disponible al comienzo de la fase de absorción intestinal, respectivamente. Los resultados mostraron que el 86,08% del Cr se liberó muy rápidamente al comienzo de la fase gástrica, mientras que el Pb se liberó en menos cantidad y de forma más lenta a lo largo de dicha fase, alcanzando el 32,41% de Pb desorbido. Además, tuvieron lugar fenómenos de precipitación para ambos metales, comenzando a precipitar el Cr al poco tiempo de liberarse en el estómago, mientras que el Pb no comenzó a precipitar hasta la fase duodenal, debido probablemente al aumento de pH que se produjo. Al comienzo de la fase de absorción intestinal había un total de 0,34 mg de Cr y 0,60 mg de Pb biodisponibles, de los cuales el 67,65% de Cr y el 95% de Pb fueron absorbidos por la membrana. Los principales factores que influyen en este comportamiento diferente son las propiedades de los polímeros como superficie específica o porosidad, así como cambios en la morfología que fueron sufriendo a lo largo de los ensayos en el simulador.

Por último, se quiere remarcar que un punto muy importante a tener en cuenta cuando se realizan estudios con microplásticos, como es el caso de esta Tesis, es el control de la contaminación cruzada que puede producirse en las muestras si no se toman las precauciones necesarias. Por ello, fue indispensable en todos los ensayos, muestreos, etc. utilizar materiales de vidrio, metal u otro material distinto del plástico, así como cubrir adecuadamente todas las muestras con papel de aluminio, tapas de vidrio o similar, realizar una limpieza y desinfección regular del lugar de trabajo y los materiales utilizados, y llevar siempre batas blancas de algodón sobre la ropa.

ABSTRACT

In the last decade, pollution produced by microplastics has become a current issue of concern to scientists, politicians, environmental organisations and the general public, due to its ubiquity and lack of knowledge about the impact produced on organisms and the environment, as well as the risk for human health.

Microplastics have several sources of origin, they can come from the physical and chemical degradation of larger plastic products, or they can be directly manufactured to be added to personal care products or detergents, among others. Evidence of these particles is being found in numerous fresh and salt water environments around the world, as well as in bottled water, honey, salt and some seafood that people consume. It is becoming an increasingly common problem for people and there is not enough knowledge about the pathways to this food and whether microplastics may be contaminated with other substances. This is precisely another problem added to microplastics, their proven ability to adsorb other contaminants that are present in the seas and rivers, such as heavy metals, pharmaceuticals or other organic pollutants. When these substances are adsorbed on the surface of the microplastics and then ingested by the organisms, the release of these pollutants can occur into the digestive tract of organisms. The small size of these particles is another constraint that makes difficult the choice of appropriate sampling and characterisation techniques. This is precisely where the controversy lies regarding the real concentrations of microplastics in the various environmental compartments, their nature and their behaviour patterns.

This PhD Thesis aims to analyse the environmental path of microplastics in their different aspects. In order to achieve this goal, the Thesis has been divided into four chapters that study this cycle: how emission into the environment is produced from one of the most accessible sources for citizens, which is cosmetics and personal care; what happens when these particles reach the coast and what factors influence their distribution and accumulation; how microplastics in aquatic environments interact with other frequent pollutants that are present; and finally,

what behaviour can be expected if people ingest microplastics contaminated with some of these substances.

In the first chapter, the content of polyethylene microplastics in twenty personal care products sold in regular supermarkets in Spain was analysed. A market study was carried out in the capital of Granada and they were divided into four categories: body care, facial care, foot care and bath gels. A series of products were chosen from each category and in the laboratory, microplastics were extracted by dissolving the product in distilled water at 70°C for 1 hour. The extracted microplastics were characterised in three different ways: the composition and the presence of additives were detected by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), while the size was analysed by the granulometry technique and the morphology and composition of the additives were characterised by Scanning Electron Microscopy (SEM). The number of particles present for each gram of product was also calculated, following a series of equations already used previously by other authors. The FTIR results revealed that all the white particles were polyethylene, while the coloured particles could well be polyethylene or other added ingredients with exfoliant properties, such as walnut shells, grape stones or microcrystalline cellulose. On the other hand, granulometric analysis revealed very different particle sizes, from 5 to 2.188 microns, although the average sizes were between 264 and 551 microns. In terms of particle concentration per gram, it was found that products with smaller particle size had higher particle concentration per gram, and vice versa. Finally, SEM analyses revealed that most of the particles were not spherical, but had irregular shapes and edges, which then contributed to a higher adsorption of contaminants by the microplastics. Furthermore, the microanalysis revealed the presence of additives added to these particles, mainly silicates, silica oxides and small amounts of aluminium and fluorine.

The second chapter addressed the presence of microplastics on three beaches on the coast of Granada, with the aim of studying not only their concentration, but also the possible factors that influence their distribution. In order to achieve this objective, a standardised sampling of sediment was carried

Abstract

out along four different transects of the beach, in order to obtain representative results. In the laboratory, the extraction of microplastics from the sediment was also carried out using a standardised process by means of separation by density with a saturated solution of sodium chloride and subsequent filtration of the supernatant. The filters were subsequently dyed with Nile Red pigment and examined under an ultraviolet lamp in order to count the microplastics. The results revealed average concentrations of microplastics of 45.0 ± 24.7 , 31.5 ± 21.5 and 22.0 ± 23.2 particles/kg of dry sediment in La Herradura (the most western), Motril (central) and La Rábita (the most eastern), respectively, with the three beaches being the least polluted at high tide transect. The microplastics found were mainly microspheres and fragments of less than 100 microns in size (more than 50% of the microplastics found in each beach transect). The main factors proposed as influencing these properties were the grain size of the sediment (mainly gravel and coarse sand) which makes difficult the permanent deposit of particles, the geomorphological characteristics of the beaches and the waves, characteristic of this area where the water of the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea are mixed, and the presence of intense greenhouse agriculture, which creates great environmental pressure on these beaches.

In the third chapter, the aim was to study the environmental relationships of the microplastics present in different aquatic environments, and the study of the adsorption and desorption capacities of five types of microplastics (polyethylene terephthalate (PET), polyethylene (PE), polyvinyl chloride (PVC), polypropylene (PP) and polystyrene (PS)) from objects that were already or were going to become waste. In the first part of the study, seven heavy metals (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) were chosen as pollutants and kinetic and equilibrium tests were carried out on Milli-Q water, followed by equilibrium tests on three different natural waters: irrigation water, sea water and sewage treatment plant wastewater. All the samples taken were analysed by atomic absorption spectrophotometry. In addition, several properties of the microplastics were analysed, such as specific surface area, porosity or point of zero charge, the main influences on the adsorption capacity of the polymers, as well as properties of the

natural waters, such as organic matter content, salinity or the presence of cations and anions that could interact with the microplastics. The results revealed that the adsorption equilibrium was achieved for all polymers after 120 hours of contact with the contaminants. PE and PVC showed the greatest affinity for metals, specifically Cr and Pb, results which were corroborated by Langmuir's and Freundlich's models. In natural waters, the behaviour of microplastics and contaminants was influenced by the presence of organic matter in wastewater and irrigation water, showing greater adsorption capacity in these waters than in seawater. Seawater has a complex chemical composition, with numerous cations in solution that sometimes increases the adsorption of metals and other times decreases it, and that even promotes the occurrence of adsorption-precipitation phenomena.

In the second part of the adsorption study, six organic pollutants that are frequent in water because of their abundant use by the population and industry were chosen: amoxicillin, atrazine, diuron, phenol, paracetamol and vancomycin. Kinetic and equilibrium tests were carried out in Milli-Q water using similar concentrations as in the first part of the study and, in this case, also desorption tests were carried out at two temperatures (25 and 40°C) and three pH values (2, 4 and 6), to simulate different aquatic environments and the digestive tract of the organisms. All samples taken were analysed by gas chromatography-mass spectrometry. The first results revealed that only phenol and amoxicillin showed a favourable adsorption on the microplastics, something that can be influenced by chemical properties of the contaminants such as the octanol-water coefficient or the ionisation constant. The kinetics of the organic contaminants was much slower than that of the metals, and after 28 days of tests, in some cases the equilibrium had not yet been reached. PE had the highest adsorption capacity with amoxicillin, while PVC and PET showed the highest adsorption capacity with phenol. The pseudo-second order model best reproduced the kinetics of the process, while the data were best suited to Langmuir's model for the equilibrium tests. As for desorption, the results generally showed that the higher the pH and temperature, the higher the release of contaminants. In the case of amoxicillin at 25°C, a

combined effect of adsorption-desorption with an increase in pH was observed, caused by charges and electrostatic attraction between particles.

The fourth chapter of this Thesis aims to study in depth the behaviour of microplastics with contaminants adsorbed inside the human gastrointestinal tract, using a dynamic gastrointestinal simulator that reproduces a digestive process from the ingestion of the contaminated microplastics to the absorption that takes place in the small intestine. To this end, two polymers (PE and PVC) and two heavy metals (Cr and Pb) were chosen, according to the favourable results obtained for these two pairs in chapter three. The first step was to create a simulated salivary fluid and a simulated gastric fluid, which are the basis of the process that takes place. The process was divided into three phases: the gastric phase, which lasts 30 minutes and occurs mostly at pH 3; the duodenal phase, which lasts another 30 minutes and occurs at pH 6.5 due to the action of pancreatic juices and bile salts; and the intestinal absorption phase, which lasts 180 minutes and occurs at approximately pH 7. All the samples taken were analyzed by ICP-Masses and the concepts of bioaccessibility and bioavailability were used to measure the amount of Cr and Pb released during the gastric and duodenal phases and the amount of these metals available at the beginning of the intestinal absorption phase, respectively. The results showed that 86.08% of Cr was released very quickly at the beginning of the gastric phase, while Pb was released in less quantity and more slowly throughout this phase, reaching 32.41% of Pb desorbed. In addition, precipitation phenomena occurred for both metals, with Cr beginning to precipitate soon after its release into the stomach, while Pb did not begin to precipitate until the duodenal phase, probably due to the increase in pH that occurs. At the beginning of the intestinal absorption phase there was a total of 0.34 mg Cr and 0.60 mg Pb bioavailable, of which 67.65% Cr and 95% Pb were absorbed by the membrane. The main factors that influence this different behaviour are the properties of the polymers such as specific surface or porosity, as well as changes in surface morphology that were suffered throughout the tests in the simulator.

Abstract

Finally, a very important point to take into account when carrying out studies with microplastics, as is the case with this Thesis, is the control of the cross-contamination that can occur in the samples if the necessary precautions are not taken. For this reason, it was essential in all the tests, sampling, etc. to use glass, metal or other material different from plastic, as well as to cover all the samples adequately with aluminium foil, glass covers or similar, to carry out regular cleaning and disinfection of the work place and the materials used, and to always wear white cotton coats on the clothes.

***JUSTIFICACIÓN Y
OBJETIVOS***

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es llevar a cabo un estudio exhaustivo y novedoso en España acerca de las características físicas y químicas de microplásticos compuestos por polímeros de diversos tipos, estudiar su distribución y abundancia en una fuente de origen primario (productos de cuidado personal) y en un sistema sedimentario fácilmente accesible para la contaminación (playas), así como analizar la capacidad que tienen para interactuar con diversos metales pesados y contaminantes orgánicos en medios acuáticos naturales y en el interior del tracto gastrointestinal simulado del cuerpo humano. Para alcanzar este amplio objetivo general, la Tesis se ha dividido en los siguientes objetivos específicos que se han ido logrando a lo largo de cuatro capítulos.

Realizar un estudio estadístico sobre la venta de productos de cuidado personal de cuatro categorías (facial, corporal, pies y gel de baño) en grandes superficies accesibles al consumidor medio en Granada capital. Analizar cuántos de esos productos vendidos contienen microplásticos de polietileno. Extraer los microplásticos de veinte productos seleccionados y analizar el tamaño, morfología, presencia de aditivos y número de partículas presentes en cada producto.

Muestrear sedimentos en tres playas de la costa de Granada: Playa Poniente (Motril), La Rábida y La Herradura a lo largo de cuatro transectos de 100 metros que abarcan desde la orilla hasta la zona del paseo marítimo. En laboratorio, extraer los microplásticos del sedimento. Realizar la digestión oxidativa de materia orgánica a cada uno de los filtros obtenidos. Teñir con pigmento Rojo de Nilo los filtros y posteriormente tomar fotografías bajo una lámpara de luz UV. Contar los microplásticos y medir los tamaños posibles utilizando software de ordenador. Realizar análisis estadísticos sobre distribución de los microplásticos entre playas muestreadas.

Medir propiedades a microplásticos procedentes de cinco polímeros diferentes: superficie específica, porosidad, punto de carga nula, grupos funcionales y relación superficie específica-volumen. Realizar ensayos de cinética y equilibrio de adsorción en agua Milli-Q utilizando siete metales en combinación

con cinco polímeros diferentes. Ajustar los resultados obtenidos a los modelos de isothermas de Langmuir y Freundlich, analizar las variables obtenidas y seleccionar las concentraciones a las que se produce el equilibrio. Tomando como base dichas concentraciones, repetir los ensayos de equilibrio en esta ocasión en tres medios naturales: agua de mar, agua de riego y agua residual de depuradora. Analizar previamente la composición química de cada tipo de agua.

Realizar ensayos de cinética y equilibrio de adsorción en agua Milli-Q utilizando seis contaminantes orgánicos (tres fármacos, dos pesticidas y fenol) sobre los mismos cinco tipos de polímeros. Ajustar los resultados a distintos modelos cinéticos y a los modelos de isothermas de Langmuir y Freundlich y analizar las variables obtenidas. Contaminar artificialmente en laboratorio microplásticos con fenol y amoxicilina y realizar posteriormente ensayos de desorción en agua Milli-Q a dos temperaturas (25°C y 40°C) y tres valores de pH (2, 4 y 6).

Contaminar artificialmente en laboratorio mediante ensayos de adsorción microplásticos de polietileno y polipropileno con cromo y plomo, respectivamente. Realizar ensayos utilizando un simulador dinámico gastrointestinal que simula el proceso digestivo del cuerpo humano, añadiendo los microplásticos contaminados y recogiendo resultados a lo largo de todo el proceso. Analizar los resultados obtenidos.

- Publicaciones derivadas de la Tesis Doctoral

De la consecución de los objetivos descritos anteriormente se han obtenido cinco publicaciones en revistas de alto impacto indexadas en JRC (Journal Citation Reports).

V. Godoy; M.A. Martín-Lara; M. Calero; G. Blázquez. Physical-chemical characterization of microplastics present in some exfoliating products from Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 139, 2019, 91-99.

V. Godoy; J.C. Prata; G. Blázquez; A.I. Almendros; A.C. Duarte; T. Rocha-Santos; M. Calero; M.A. Martín-Lara Effects of distance to the sea and

geomorphological characteristics on the quantity and distribution of microplastics in beach sediments of Granada (Spain). *Science of the Total Environment*, 746, 2020, 142023.

V. Godoy; G. Blázquez; M. Calero; L. Quesada; M.A. Martín-Lara. The potential of microplastics as carriers of metals. *Environmental Pollution*, 255, 2019, 113363.

V. Godoy; M.A. Martín-Lara; M. Calero; G. Blázquez. The relevance of interaction of chemicals/pollutants and microplastic samples as route for transporting contaminants. *Process Safety and Environmental Protection*, 138, 2020, 312-323.

V. Godoy; A. Martínez-Férez; M.A. Martín-Lara; J.A. Vellido-Pérez; M. Calero; G. Blázquez. Microplastics as vectors of chromium and lead during dynamic simulation of the human gastrointestinal tract. *Sustainability*, 12, 2020, 4792.

• Otras publicaciones

Durante la realización de la Tesis Doctoral, la doctoranda ha colaborado además en otras publicaciones que se detallan a continuación.

M. Calero; M.A. Martín-Lara; **V. Godoy**; L. Quesada; D. Martínez; F.J. Peula; J.M. Soto. Characterization of plastic materials present in municipal solid waste: Preliminary study for their mechanical recycling. *Detritus*, 4, 2018, 104-112.

J.M. Soto; G. Blázquez; M. Calero; L. Quesada; **V. Godoy**; M.A. Martín-Lara. A real case study of mechanical recycling as an alternative for managing of polyethylene plastic film presented in mixed municipal solid waste. *Journal of Cleaner Production*, 203, 2018, 777-787.

L. Quesada; A. Pérez; **V. Godoy**; F.J. Peula; M. Calero; G. Blázquez. Optimization of the pyrolysis process of a plastic waste to obtain a liquid fuel using different mathematical models. *Energy Conversion and Management*, 188, 2019, 19-26.

J.M. Soto; M.A. Martín-Lara; G. Blázquez; **V. Godoy**; L. Quesada; M. Calero. Novel pre-treatment of dirty post-consumer polyethylene film for its mechanical recycling. *Process Safety and Environmental Protection*, 139, 2020, 315-324.

M. Calero; **V. Godoy**; L. Quesada; M.A. Martín-Lara. Green strategies for microplastics reduction. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 28, 2021, 100442.

J.C. Prata; **V. Godoy**; J.P. da Costa; M. Calero; M.A. Martín-Lara; A.C. Duarte; T. Rocha-Santos. Microplastics and fibers from three areas under different anthropogenic pressures in Douro river. *Science of the Total Environment* 776, 2021, 145999.

CAPÍTULO 1.
INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición de microplástico

La presencia de microplásticos flotando en la superficie de los océanos fue reportada por primera vez en los años 70 (Carpenter and Smith, 1972) y, algunos años más tarde, se publicaron estudios de fragmentos de plástico encontrados en el vientre de pájaros (GESAMP, 2015). El término “microplástico” (MPs) se utilizó por primera vez en el año 2004 para describir pequeños fragmentos de plástico (<50 μm) presentes en la columna de agua y en sedimentos marinos del Mar Mediterráneo (Thompson et al., 2004). Hay varias características que permiten identificar y clasificar a una partícula como microplástico. De acuerdo con Leslie, (2014), las características generales de un microplástico deben ser las siguientes:

- Son materiales sintéticos con un alto contenido en polímeros.
- Son partículas sólidas.
- Tienen un tamaño inferior a 5 mm.
- Son insolubles en agua.
- No son degradables.

Se considera plástico aquel “material que contiene como componente principal un polímero y que puede ser moldeado para transformarlo en distintos objetos”. Los elastómeros no se consideran dentro de esta definición debido a que la deformación en ellos puede ser reversible. Sin embargo, los microplásticos se conciben como partículas macromoleculares fabricadas por el hombre. Por tanto, desde un punto de vista medioambiental, tanto plásticos como elastómeros pueden considerarse microplásticos, ya que su degradación produce partículas sólidas con un alto contenido en polímero, requisitos de dichas partículas.

Otra característica que tienen en común los microplásticos y los plásticos en general es su baja solubilidad. Esto implica que dichas partículas no desaparecerán por disolución en los ambientes acuáticos, lo que sirve de base a algunos de los problemas medioambientales y efectos nocivos que provocan los microplásticos. Igualmente, los plásticos por lo general se consideran materiales persistentes y no

degradables. Sin embargo, con el paso del tiempo pueden sufrir algún grado de degradación. La política de sustancias químicas de la Unión Europea, denominada REACH (registro, evaluación y autorización de sustancias químicas) distingue cinco valores umbrales de vida media en distintos compartimentos medioambientales (Tabla 1.1). Una sustancia se considera persistente si supera el valor umbral de vida media en alguno de dichos compartimentos.

Tabla 1.1. Valores umbral de vida media para las sustancias químicas en la UE, en distintos compartimentos ambientales. Fuente: Modificada de GESAMP (2015).

Compartimento ambiental	Vida media (días)
Agua de mar	>60
Estuarios, deltas o agua dulce	>40
Sedimentos marinos	>180
Sedimentos estuarinos o de agua dulce	>120
Suelos	>120

Verschoor et al., (2016) propone adoptar los criterios presentados en la Tabla 1.1 para considerar que los microplásticos con vida media inferior a los valores mencionados son degradables y, por tanto, no suponen un daño potencial para el medioambiente. Asimismo, señala que se deben realizar ensayos experimentales con microplásticos en los distintos compartimentos ambientales o pruebas de detección basadas en las recomendaciones proporcionadas por REACH para determinar la vida media que poseen.

Sin duda, la característica de los microplásticos que más controversia sigue generando a día de hoy es su tamaño. Una clasificación realizada por el European MSFD Working Group on Good Environmental Status (MSFD), separaba las basuras marinas constituidas por plásticos en las siguientes categorías, de acuerdo a su tamaño: macroplásticos (>25 mm), mesoplásticos (entre 5-25 mm), microplásticos grandes (entre 1-5 mm) y microplásticos pequeños (entre 20 μm y 1 mm) (MSFD, 2013). Una revisión realizada por Cole et al., (2011) sobre la caracterización de los microplásticos, afirmó que se les pueden atribuir numerosos rangos de tamaño dependiendo del análisis que se les haga. Por tanto, se podrían considerar como microplásticos partículas de diámetro <10 mm, <5 mm y también aquellos <1 mm. Otros autores (Koelmans et al., 2015; Lusher et al., 2017) consideran que los

microplásticos podrían estar englobados en el rango de tamaño de 0,1 μm a 5 mm, mientras que por debajo de 0,1 μm las partículas pasarían a llamarse nanoplásticos. Leslie (2014) considera, por otra parte, que el rango de tamaño de los “nanoplásticos” comienza por debajo de 1 μm , y tamaños superiores corresponderían a microplásticos. Hay otros autores (Andrady, 2011) que estiman necesario diferenciar entre las partículas visibles por el ojo humano y las que necesitan microscopio para visualizarse. Estas últimas serían los microplásticos, mientras que las visibles por el ojo humano se llamarían mesoplásticos.

La definición del tamaño de estas partículas se discutió por primera vez en un congreso de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA en inglés) sobre la presencia, los efectos y el destino de los microplásticos en el mar, realizado en 2008 (GESAMP, 2015). En dicha reunión se tomó la decisión de situar como límite superior de tamaño 5 mm, para considerar a una partícula como microplástico. Esta decisión se basó en la premisa de considerar como microplásticos todas aquellas partículas que pueden ser ingeridas accidentalmente por la biota marina y representar un grave riesgo para la cadena trófica. Por tanto, a partir de ese año se aceptó de forma generalizada que un microplástico debe tener un tamaño máximo de 5 mm para considerarlo como tal. Sin embargo, el debate sobre el límite inferior, que separa microplásticos de nanoplásticos, aún sigue abierto y son numerosas las consideraciones. En una reciente revisión llevada a cabo por Frias and Nash, (2019) se habla de autores que han considerado los límites de tamaño inferiores de hasta 20 μm (Ryan, 2015; Van Cauwenberghe et al., 2015a) mientras que otros autores han situado este límite en 1 μm , basados en la premisa de que “los nanoplásticos exhiben un comportamiento coloidal dentro de un rango de tamaño que va de 1 nm a 1 μm ” (Gigault et al., 2018). Sin embargo, es preciso tener en cuenta también las limitaciones tecnológicas del procesamiento en laboratorio, en particular la identificación de microplásticos mediante la técnica de Microespectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (μ -FTIR). Estas técnicas situarían el límite de tamaño potencial actual para la identificación entre 1 y 10 μm (Frias et al., 2018), pero con los avances tecnológicos este rango se podría reducir potencialmente. Como se puede comprobar, las opciones para clasificar los

microplásticos por su tamaño parecen innumerables y dejan la consideración de microplástico un poco a elección del autor. Concretamente, Thompson, (2015) considera que, con el conocimiento actual que existe y tratándose de un campo de la ciencia aún poco desarrollado, tal vez no sea prudente especificar un límite de tamaño concreto para los microplásticos, debido a que cada tamaño de partícula puede provocar unos efectos diferentes. Para este autor resulta más interesante considerar la abundancia en relación con los impactos asociados.

Teniendo en cuenta las cinco particularidades que definen a un microplástico, descritas al inicio de este capítulo, Verschoor et al., (2016) propuso un sencillo esquema de “screening” basado en cinco cuestiones para confirmar si una partícula es o no un microplástico (Figura 1.1).

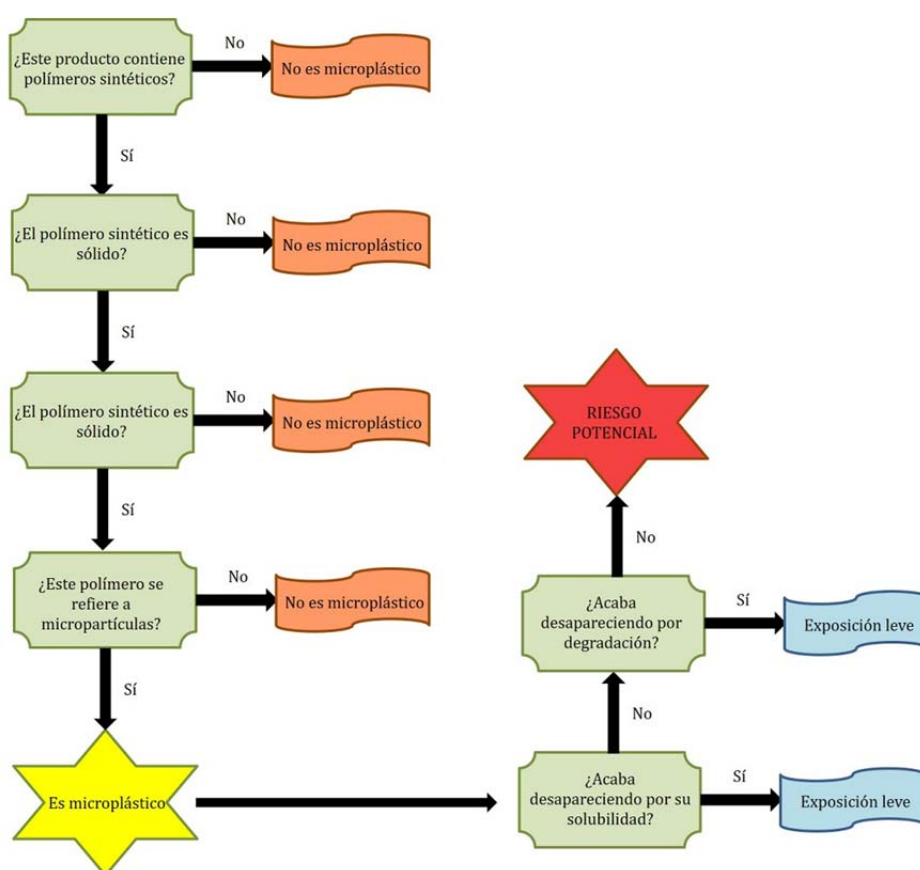


Figura 1.1. Esquema para discernir en cinco pasos si una micropartícula es o no un microplástico. Fuente: Modificada de Verschoor et al., (2016).

Por otro lado, los microplásticos pueden clasificarse también atendiendo a características cualitativas como la forma o el color (Lusher et al., 2017). Con respecto a la forma, los investigadores suelen basarse en cinco categorías para clasificarlos (Tabla 1.2), aunque los pellets, fragmentos y fibras se consideran predominantes (Frias et al., 2018). La identificación por colores no es tan importante, ya que es más subjetiva y debe acompañarse de la identificación por tamaño o forma para conseguir una caracterización completa. No obstante, identificar el color es importante en los estudios que implican a organismos acuáticos, ya que hay especies que ingieren microplásticos debido a una preferencia por su color (Wright et al., 2013).

Otra característica que sirve para definir y clasificar microplásticos, sobre todo en muestras de sedimentos marinos y de playa, es la composición del polímero sintético que contienen. En una revisión sobre este tipo de análisis llevada a cabo por Hidalgo-Ruz et al., (2012a) concluyeron que la composición más habitual de los microplásticos recogidos en muestras de sedimentos marinos y de playas es el polietileno (PE) (obtenido en el 79% de los estudios), seguido del polipropileno (PP) (64%) y el poliestireno (PS) (40%) (Tabla 1.3).

Tabla 1.2. Categorías utilizadas para clasificar los microplásticos según su forma. Fuente: *Modificada de Lusher et al., (2017).*

Clasificación por morfología	Términos englobados
Fragmentos	Polvo, gránulos, escamas, films, virutas
Fibras	Filamentos, microfibras, hebras
Pellets	Granza, “nurdles”, “nibs”
Esferas	Granos, microesferas
Espumas	Poliestireno, poliestireno expandido

Tabla 1.3. Composición polimérica más frecuente de los microplásticos observados en 42 estudios de sedimentos marinos. Fuente: Modificada de Hidalgo-Ruz et al., (2012a).

Tipo de polímero	% estudios en los que aparece
Poliétileno	79
Polipropileno	64
Poliestireno	40
Poliamida (Nylon)	17
Poliéster	10
Acrílicos	10
Polioximetileno	10
Alcohol polivinílico	7
Cloruro de polivinilo	5
Polimetil-metacrilato	5
Poliétileno tereftalato	2
Poliéster alcídico	2
Poliuretano	2

Teniendo en cuenta todas las características expuestas, en la presente Tesis Doctoral se respetará la decisión tomada por la NOAA en 2008 y se considerará como microplástico a todas aquellas partículas de tamaño inferior a 5 mm, sin tener en cuenta un límite inferior de tamaño, compuestos por polímeros sintéticos y con morfologías y colores variados. Se utilizará también a lo largo del manuscrito la palabra microplástico y su abreviatura MP.

1.2. Principales fuentes de emisión de microplásticos

Según su origen, los microplásticos tradicionalmente se han clasificado en dos categorías: microplásticos primarios y microplásticos secundarios. En la literatura científica existen diversas definiciones de ambos tipos, pero las más comunes son las siguientes:

- **Microplásticos primarios:** son aquellas partículas fabricadas por el hombre a escala microscópica para servir a algún propósito (Cole et al., 2011; Duis and Coors, 2016; GESAMP, 2015). Dentro de este grupo pueden englobarse los microplásticos presentes en productos de cuidado personal, en fluidos de perforación para extracción de petróleo y gas natural, en los productos utilizados para limpiezas abrasivas, en detergentes o incluso los pellets de

plástico. Esta última fuente de emisión es origen de controversia a la hora de clasificarla por su tamaño, que limita con el máximo considerado para un microplástico (5 mm), pero generalmente suele incluirse en el grupo de microplásticos primarios (Eunomia and ICF, 2018). Otros autores (Boucher and Friot, 2017; Sundt et al., 2014) definen microplásticos primarios como aquellos emitidos directamente al medioambiente en forma de pequeñas partículas. Pueden proceder de la adición voluntaria de microplásticos a algunos productos como los exfoliantes y otros cosméticos, o pueden originarse por la abrasión de objetos plásticos más grandes durante su producción o su uso. Dentro de esta definición se consideran no solo los productos de cuidado personal, sino también el desgaste de los neumáticos al conducir los vehículos o la abrasión que sufren las prendas textiles durante el lavado.

- Microplásticos secundarios: generalmente, se consideran aquellos pequeños trozos de plástico derivados del desgaste o la fragmentación de objetos de plástico más grandes o por desprendimiento de estos (UNEP, 2016). Cuando se considera esta definición, dentro de este grupo se incluye el desgaste de prendas textiles que libera pequeñas fibras, el desgaste de los neumáticos, las pinturas de los navíos y las carreteras, o una mala gestión de residuos plásticos en vertederos (Kilponen, 2016). Sin embargo, de nuevo podemos encontrar otra definición utilizada por otros autores (Boucher and Friot, 2017; Sundt et al., 2014) que considera microplásticos secundarios aquellos que se originan por la degradación de residuos plásticos abandonados en el medioambiente y expuestos a la acción de los agentes meteorológicos, especialmente la luz solar y la radiación ultravioleta. Un ejemplo de microplásticos secundarios en este caso podrían ser las bolsas de plástico abandonadas en las playas o la pérdida de redes de pesca.

En la presente Tesis Doctoral se considerará la primera definición aportada para cada categoría de microplásticos, por ser la más frecuentemente adoptada entre la comunidad científica.

1.2.1. Fuentes de emisión de microplásticos primarios

- Productos de cuidado personal

Los microplásticos pueden encontrarse en multitud de productos de este tipo, tales como exfoliantes corporales, limpiadores faciales, dentífricos y cosméticos varios (Cheung and Fok, 2016; Lei et al., 2017; Napper et al., 2015). Se añaden en sustitución de algunos ingredientes naturales, ya que aportan al producto propiedades muy deseables como una viscosidad adecuada, poder aglutinante, poder abrasivo, brillo adicional o la capacidad de formar una película sobre la piel (UNEP, 2015).

Estas partículas se conocen también como micro-esferas (es más frecuente encontrarlas en su equivalente en inglés, *microbeads*) o micro-gránulos y pueden variar de forma, tamaño, color y composición dependiendo del producto (Cheung and Fok, 2016; Cole et al., 2011). Normalmente suelen estar compuestas por polímeros termoplásticos tales como PE, PP, copolímeros de estireno o polimetilmetacrilato (PMMA), aunque también pueden encontrarse otros como el nylon, el poliuretano (PUR), el acetato de celulosa o el polietileno tereftalato (PET) (Amec Foster and Infrastructure UK Limited, 2017; Eunomia and ICF, 2018). Así mismo, Cosmetics Europe proporcionó a Amec Foster el rango de tamaños más habituales empleados en la fabricación de microplásticos para productos cosméticos. El 57% de los productos abarcados por Cosmetics Europe se encuentra en el rango de 450-800 μm , seguido por el rango de 50-450 μm y en tercer lugar las partículas >800 μm . Esta información concuerda con lo aportado por Gouin et al., (2015), quienes afirmaron que las partículas con mejores propiedades exfoliantes y abrasivas son aquellas con un tamaño próximo a 420 μm .

Dentro de los productos de cuidado personal se distinguen dos categorías: productos de lavado, que son aquellos que permanecen poco tiempo en contacto con la piel y vertidos rápidamente al agua (gel de baño, champú, exfoliantes, jabones, etc.). Por otro lado, los productos permanentes son aquellos que permanecen más tiempo en contacto con la piel (cosméticos, cremas hidratantes, protectores solares, etc.). Esta distinción de categorías es importante para estimar

la cantidad de MPs utilizados por esta industria y que, por tanto, son susceptibles de acabar en las aguas residuales, ríos y mares. En la Tabla 1.4 se ha recogido la composición mayoritaria detectada en MPs de distintas categorías de productos de lavado, así como su tamaño y la cantidad estimada utilizada en la UE.

Tabla 1.4. Composición y tamaño de los microplásticos añadidos intencionadamente a los productos de cuidado corporal, y estimación de cantidad utilizada por categoría de producto. Fuente: Amec Foster and Infrastructure UK Limited, (2017).

Tipo de producto	Composición y tamaño de los MPs (μm)	Cantidad estimada de MPs utilizados (Tn)
Gel de manos	Poliuretano, 200-1250	440,07
Gel de baño	Polietileno, <450	11,60
Champú	Polietileno, <315	7,02
Limpiador facial	Polietileno, <1 mm	9,34
	Nylon-11, 150	1,13
Exfoliante facial	Polietileno, n.e.*	74,40
	Ácido poliláctico, <315	1,33
	Acetato de celulosa, 300-400	0,1
Mascarilla facial	Polietileno, <1 mm	42,10
Pastillas de jabón	Polietileno, n.e.*	0,05
Exfoliante pies	Polietileno 99%	127,30
	Acetato de celulosa, 300-400	0,70
	Ácido poliláctico, <315	0,48
Cuidado pies	Polietileno, <1 mm	9,34

*Tamaño no especificado en esta categoría.

En cuanto a las estimaciones de microplásticos utilizados por esta industria en la Unión Europea, de acuerdo con Amec Foster and Infrastructure UK Limited, (2017) en el año 2015 se utilizaron unas 714 toneladas (considerando únicamente aquellos fabricantes adscritos a Cosmetics Europe). Según otro estudio realizado por Eunomia, (2016), el 90% de las industrias cosméticas europeas están adscritas a Cosmetics Europe, por lo que el 10% restante aumentaría las toneladas de vertido predichas. Considerando que las industrias no miembros de Cosmetics Europe utilizan cantidades similares de microplásticos en sus productos, la cantidad total de toneladas vertidas ascendería a 793 aproximadamente.

Sin embargo, esta cantidad podría ser mucho mayor, ya que los datos aportados por Cosmetics Europe solo consideran los productos de lavado por ser los que se vierten directamente al agua. No considera aquellos productos que son permanentes, que incluyen cosméticos para el rostro y el cuerpo (sombras de ojos, pintalabios, lacas de uñas, polvos y maquillajes varios, etc.). Leslie, (2014) afirmó que, en algunos de estos productos, hasta el 90% en peso pueden ser microplásticos. Eunomia, (2016) intentó realizar una estimación más acorde considerando las dos categorías de productos (lavado y permanentes), así como todos aquellos no tenidos en cuenta por Cosmetics Europe, basándose en las evidencias de otros estudios (Gouin et al., 2015), y estimó un vertido aproximado de 4.800 toneladas anuales en la UE. Después de este estudio realizado por Eunomia, Cosmetics Europe realizó otro estudio entre sus miembros basándose solo en productos cosméticos permanentes y aportó datos de utilización de MPs mucho menores que los de Eunomia, entre 500-1.000 toneladas que se sumarían a las 714 aportadas para los productos de lavado.

De acuerdo con estudios realizados anteriormente (Gouin et al., 2015) en el año 2012 se utilizaron más de 4.000 toneladas de microplásticos en la UE, solo en productos de lavado. Teniendo en cuenta los datos reportados para 2015, se ha producido una reducción del 82% en el uso de estas micropartículas, debido probablemente a un compendio de causas que incluyen la iniciativa propia de las empresas, la normativa desarrollada por la Comisión Europea en materia de plásticos y la presión mediática que se está generando en los últimos años con respecto a esta materia.

- Microplásticos en productos abrasivos

Los MPs primarios a menudo se utilizan en mezclas alternativas con otros agentes de limpieza a presión, como arena, corindón o arena de acero. Normalmente se utilizan polímeros acrílicos, melamina, poliéster, poliuretano o policarbonato para eliminar el óxido y la pintura en máquinas, motores y cascos de embarcaciones sin dañar la superficie subyacente (Duis and Coors, 2016; Galafassi et al., 2019; Sundt et al., 2014). También son apreciados en la industria

automovilística y aeronáutica, ya que ejercen función abrasiva y son ideales para la limpieza a presión. Los tamaños de los microplásticos utilizados van desde 0,012 a 2,03 mm de diámetro, dependiendo de la necesidad de la aplicación (Galafassi et al., 2019).

De acuerdo con una consulta realizada por Amec Foster and Infrastructure UK Limited (2017) a la FEPA (Federation of European Producers of Abrasives), esta organización afirmó que hay materiales que cumplen con la definición de microplástico y se utilizan en la producción de abrasivos, pero normalmente se espera que no estén presentes en el producto final, ya que se queman en el proceso o se combinan en enlace con otras sustancias. Reportan los siguientes productos donde los microplásticos suelen ser utilizados:

- Abrasivos inorgánicos: en estos productos los microplásticos utilizados suelen ser de polimetil-metacrilato (PMMA) y se utilizan como agentes formadores de poros. Según la FEPA, son quemados durante el proceso de producción.
- Abrasivos orgánicos/recubiertos: en estos abrasivos se utilizan diferentes tipos de resinas (p. ej. Resinas de fenolformaldehído) y partículas de caucho que pueden constituir microplásticos según el tamaño de las partículas y el estado físico del producto utilizado (polvo o líquido).
- Discos de corte y desbaste: a veces se utiliza PE (diámetro <0,5 mm) como relleno técnico.

Aunque esta fuente de MPs puede representar localmente una contaminación importante, las estimaciones de vertido existentes en la UE sólo aparecen en estudios realizados en algunos países del norte de Europa y son bastante inciertas (Lassen et al., 2015; Magnusson et al., 2016; Sundt et al., 2014). Lassen et al., (2015) reportaron que el consumo de MPs como agentes abrasivos de limpieza estaba en el rango de 5 a 25 toneladas al año en Dinamarca. Amec Foster and Infrastructure UK Limited (2017) hizo una extrapolación de esta estimación a toda la UE, considerando que los productos abrasivos comercializados en el resto de países europeos poseen un contenido en MPs similar a los de Dinamarca.

Siguiendo esta premisa, estimaron una utilización de 1.000 a 5.000 toneladas de MPs en este sector en los países de la UE.

Sin embargo, no todos los productos abrasivos que contienen MPs estaban recogidos en el estudio de Lassen et al., (2015), por lo que la cantidad real de MPs utilizados sería mucho mayor. Amec Foster and Infrastructure UK Limited (2017) recurrió a un informe sobre el mercado de productos abrasivos en Europa y Norte América realizado por Business Wire, en el que se constata que el mercado europeo de productos abrasivos cuenta con un consumo de 200.000 toneladas al año, por lo que las estimaciones de MPs utilizados deberían estar más acordes al valor total de mercado.

- Pellets de plástico

El vertido de pellets es la única fuente de MPs primarios cuya pérdida se produce durante las fases de producción, transporte o reciclaje de plásticos. En su forma primaria, la mayoría de los objetos plásticos están en forma de pellets, los cuáles normalmente tienen diámetros de tamaño comprendidos entre 2-5 mm, o bien en polvo. Los pellets son transportados por tierra o mar hasta las empresas transformadoras que generan los productos finales. Por tanto, es bastante evidente que, durante el proceso de fabricación de pellets, el transporte o el reciclaje posterior pueden producirse vertidos al medioambiente en mayor o menor medida. De hecho, las emisiones de pellets son difíciles de estimar porque en la cadena de producción y transporte intervienen numerosos sujetos que manipulan el material de una forma u otra: productores, intermediarios, fabricantes, gestores de residuos y, por último, también las compañías que transportan pellets por mar en barcos. Principalmente se distinguen dos tipos de vertido:

- Liberación directa debido a la pérdida de pellets en industrias situadas cerca de vías fluviales, instalaciones portuarias o la pérdida de contenedores y vertidos en el mar.
- Liberación indirecta a partir de la pérdida de pellets en tierra (durante la manipulación, el transporte y la gestión de residuos a lo largo del ciclo de

vida) que entran en el medio acuático a través de los sistemas de desechos y aguas pluviales.

Un estudio realizado por Eunomia and ICF (2018) aportó algunas estimaciones sobre la pérdida no intencionada de pellets en las distintas fases del producto, para la UE. Consideran que la fase de transporte de los pellets no es en la que más pérdidas se producen, sino que estas ocurren por derrame del material al ser manipulado y cambiado de un lugar a otro. En la Tabla 1.5 aparecen los principales sujetos que intervienen durante el ciclo de vida de los pellets, las cantidades de pellets que pueden llegar a manipular en un año y las cantidades estimadas que se pierden. Los datos son estimaciones del año 2016 para la UE.

Tabla 1.5. Estimaciones de pérdidas anuales de pellets de plástico en las distintas fases de su ciclo de vida. Fuente: Eunomia and ICF (2018).

	Material manipulado (Tn)	Pérdidas (Tn)	Tasa de pérdida (%)
Productores	58·10 ⁶ -70,5·10 ⁶	5.800-28.226	0,01-0,04
Intermediarios	53·10 ⁶ -265·10 ⁶	5.293-106.000	0,01-0,04
Fabricantes	48,5·10 ⁶ -66,8·10 ⁶	4.856-26.710	0,01-0,04
Gestores de residuos	1,1·10 ⁶ -8·10 ⁶	108-3.194	0,01-0,04
Recicladores	6.896-7.663	690-3.065	0,01-0,04
Barcos	10·10 ⁶	141-225	0,001-0,002

- Microplásticos en extracción de gas natural y petróleo

Estas partículas pueden encontrarse en los fluidos de perforación para exploración y extracción de recursos como el gas natural y el petróleo, u otras actividades que requieran perforación de roca. Normalmente están compuestas de teflón reforzado y se utilizan para las siguientes aplicaciones:

- Fase de perforación: se utilizan como aditivos del cemento de los fluidos de perforación. La pérdida de microplásticos se produce al perderse el propio fluido en las fisuras o poros de la roca.

- Fase de producción: se utilizan como demulsionantes (o inhibidores de la cera) para producir la rotura de emulsiones. En este caso los microplásticos no se añaden en partículas como tal, sino que son polímeros disueltos en disolventes orgánicos.
- Fase de conductos: forman parte de los productos químicos de reticulación, que ayudan a transportar el petróleo hacia el exterior reduciendo la presión y la corrosión.

De acuerdo con un estudio realizado por OSPAR (Convención para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Nordeste) en 2018, se concluyó que, dentro de Europa, los países del norte son los que más campos de extracción petrolífera tienen y, por tanto, más emisiones de microplásticos producen en este ámbito. Entre esos países destacan Reino Unido y Noruega. No existen datos con suficiente validez científica sobre las emisiones de microplásticos dentro de este sector, pero el estudio de OSPAR Comisión (2018) realizó unas estimaciones bastante razonables sobre los vertidos en la UE, ya que representan aproximadamente el 90% de todos los vertidos de la industria de los yacimientos petrolíferos marítimos de la UE.

En este estudio se contabilizaron 3.252 productos diferentes que son utilizados por este tipo de industrias, y se encontró que 115 contenían microplásticos (el 3,5%), siendo 82 de ellos vertidos durante o tras su utilización (el 2,5%). Paralelamente, OSPAR estimó un total de 910.670 toneladas de productos químicos utilizados al año, de las cuales confirmaron que 1.948 toneladas correspondían a microplásticos (el 0,2% del total de toneladas utilizadas). A su vez, de esas toneladas de microplásticos reportaron que solo 487 eran vertidas al medioambiente. Eso significaría que la cantidad de microplásticos liberada al medioambiente supone el 0,05% de todas las toneladas de productos químicos utilizados por este sector. Sin embargo, debido a la falta de información consistente en este ámbito y la escasa colaboración de las industrias, estos datos deben ser tomados con precaución.

- Microplásticos en detergentes y productos de limpieza

Como ocurre con la mayoría de microplásticos añadidos intencionadamente, en este caso también se añaden a los detergentes y productos de limpieza para mejorar sus propiedades y hacer más fácil y eficiente la función que deben cumplir. De acuerdo con la comunicación de AISE (Asociación Internacional de Jabones, Detergentes y Productos de Limpieza) a Amec Foster and Infrastructure UK Limited (2017), la mayoría de las partículas añadidas a estos productos están compuestas de PUR y su función puede variar desde actuar como agentes abrasivos para limpiar sin dañar las superficies, aportar un aspecto brillante o incluso espesar el producto. Se añaden principalmente a limpiadores de superficies (suelos, encimeras, etc.), limpiadores de baño y sanitarios, y limpiadores de acero inoxidable y electrodomésticos como hornos y lavadoras.

El estudio de Amec Foster and Infrastructure UK Limited (2017) reportó un total de 3.572 toneladas de productos de limpieza utilizadas en la UE que contienen microplásticos. Por otro lado, la asociación AISE, en el año 2017, reportó un total de 142 toneladas de microplásticos intencionadamente añadidos en los productos utilizados por las industrias adscritas a ella. Esto supone que el 4% en peso de los productos, aproximadamente, son microplásticos. Teniendo en cuenta que AISE engloba el 70-75% del total de industrias de la UE en este sector, con una extrapolación de los datos se obtendría un total de 190-200 toneladas de microplásticos utilizadas por esta industria.

No existen muchos más datos disponibles acerca de la cantidad de microplásticos utilizada en este sector, tan solo la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania estimó que en dicho país se utilizan menos de 100 toneladas al año de microplásticos en detergentes y productos de limpieza. Mucho más bajos son los datos aportados por RIVM (Instituto Nacional Holandés para la Salud Pública y el Medioambiente) (Verschoor et al., 2016), que estiman unas 2,6 toneladas al año de microplásticos utilizados en este sector en Holanda. Por tanto, dada la escasez de datos aportados, las estimaciones de AISE parecen las más acertadas. En la Tabla 1.6 aparecen recogidas las principales categorías de

productos consideradas por AISE, la cantidad de microplásticos utilizada en cada una de ellas y la composición de dichas partículas.

Tabla 1.6. Cantidad de microplásticos presente en distintas categorías de productos de limpieza y características de dichas partículas. Fuente: Modificada de Amec Foster and Infrastructure UK Limited, (2017).

Categoría de productos	MPs presentes (Tn)	Productos que contienen MPs en cada categoría (Tn)	Tipos de polímeros y tamaño (μm)
Limpiadores de superficies (suelos, encimeras, etc.)	126	2.592	Poliuretano <600 μm
Limpiadores de baño	12	797	Poliéster/poliamida, PET
Limpiadores de acero inoxidable	3,5	176	Poliuretano <600 μm
Limpiadores de electrodomésticos	0,05	7,1	Polietileno entre 200-320 μm
TOTAL	142	3.572	

1.2.2. Fuentes de microplásticos secundarios

- Degradación de prendas textiles

La producción y el consumo de textiles está altamente globalizado y tiene un impacto sobre el medioambiente cada vez mayor. En el año 2017, se estimó un consumo de 26 kg de productos textiles (incluyendo ropa, calzado y textil de hogar) por persona en la UE. Además, en el año 2018 había aproximadamente 171.000 compañías europeas dedicadas a la industria del textil y la moda (EEA, 2019). Con estos datos se puede tener una idea del ritmo al que se consumen productos textiles, no solo en la UE, sino en todo el mundo. Por ello, ha sido necesario crear materiales textiles sintéticos que tengan menor coste de producción y mejores propiedades como durabilidad, transpirabilidad o ligereza.

Datos de un informe de JRC (Joint Research Centre) (JRC, 2017) afirman que el 34% de las fibras utilizadas para fabricar textiles son sintéticas, entre las que destacan el poliéster, el acrílico y la poliamida (PA) (Figura 1.2). Dentro de las fibras fabricadas artificialmente se considera también la viscosa, que son fibras de

celulosa regeneradas a partir de fibras de plantas reconstituidas como el bambú. Estas fibras son a menudo tratadas con procesos químicos para convertirlas en celulosa. Debido a su origen natural no pueden ser catalogadas directamente como microplásticos, sin embargo, se ha comprobado que persisten en el medio marino un largo tiempo a pesar de su origen natural. Por ello, se considera una fibra fabricada artificialmente. Por otro lado, dentro de las fibras naturales que componen los textiles se encuentran el algodón y la lana, principalmente. Un estudio de WRAP (2017) también incluye el lino y la seda, aunque en menor proporción, y polímeros como el PUR, el PP y el elastano.

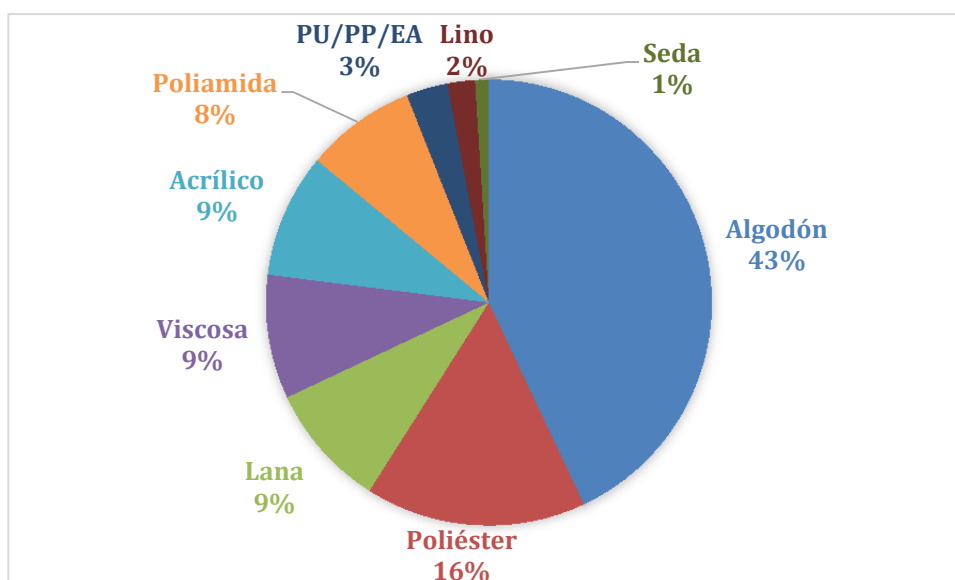


Figura 1.2. Porcentaje de fibras naturales y sintéticas utilizadas en las prendas textiles.
Fuente: Modificada de WRAP (2017).

Ese mismo estudio (WRAP, 2017), realizó unas estimaciones sobre las toneladas de cada tipo de material utilizadas en el año 2015 en la UE para fabricar textiles (Tabla 1.7). En total se estimó la utilización de 6,4 millones de toneladas de fibras para fabricar textiles.

Tabla 1.7. Consumo de fibras textiles en la UE en 2015. Fuente: WRAP (2017).

Tipo de fibra	Consumo en la UE en 2015 (Tn)
Algodón	2.767.450
Lana	579.236
Seda	64.357
Lino	128.720
Viscosa	579.236
Poliéster	1.029.747
Acrílico	579.236
Poliamida/Nylon	514.874
PU/PP/Elastano	193.077
TOTAL	6.435.933

Hay numerosos estudios que han intentado cuantificar de distintas maneras la liberación de microplásticos al medioambiente que se produce cuando se lavan los textiles. Algunos de esos estudios han hecho las estimaciones mediante ensayos reales en lavadoras domésticas, con coladas estándar, mientras que otros han hecho estimaciones a través de simulaciones en laboratorio. Por tanto, la horquilla de datos disponibles es muy amplia y debe ser tomada con precaución. Eunomia and ICF (2018) realizó un estudio en el que engloba toda la información científica disponible y hace unas estimaciones más acertadas. Según esta fuente, para calcular el vertido medio de fibras sintéticas en un lavado, se necesita combinar los datos de vertido con la composición media de una colada estándar. Además, consideran la viscosa como una fibra sintética y que supone un vertido de microplásticos al medioambiente. Se asume en este estudio que la capacidad de una lavadora doméstica en la UE es de 5,4 kg aproximadamente. Así mismo, toma como base las diferencias que hay entre lavar con detergentes líquidos y con detergentes en polvo (De Falco et al., 2018), ya que estos últimos favorecen un vertido mucho mayor de microplásticos por la fricción que provocan en el textil. Eunomia considera una media de los datos de vertido con ambos tipos de detergentes. Además, este estudio distingue también entre calidades de las fibras (punto y tejido). Tras realizar los cálculos, estimaron un vertido aproximado de 520 mg de fibras sintéticas en un lavado estándar de 5,4 kg, dividido según el tipo de fibra (Tabla 1.8).

El estudio pretende llegar más lejos aún y propone un cálculo de vertido de fibras sintéticas a nivel de la UE utilizando los datos obtenidos para una colada estándar. Para ello, comenzaron basándose en el artículo de Pakula and Stamminger (2010), que establecían el número medio de lavados que realiza una unidad doméstica al año, así como el número medio de hogares por país que existen. Por otro lado, el proyecto Mermaid en 2017 encontró que solo el 90% de los hogares europeos dispone de lavadora propia, mientras que el 10% restante utiliza lavanderías comerciales. Utilizando estos datos, Eunomia proporciona un total de lavados domésticos al año para los países de la UE de 33,8 billones. De dichos lavados, aproximadamente el 84% se realizan con la lavadora llena, mientras que el 16% restante se realiza solo con la mitad de la capacidad. Por tanto, teniendo en cuenta todos estos factores y el vertido de microfibras por colada obtenido en la Tabla 1.8, Eunomia estimó un vertido de microfibras sintéticas en la UE procedente del lavado de textiles que se encuentra entre 16.000 y 41.000 toneladas al año.

Tabla 1.8. Cálculo del vertido medio de fibras sintéticas en una colada textil estándar en la UE. Fuentes: De Falco, (2018); Eunomia and ICF (2018).

Tipo de fibra y calidad		Cantidad en una colada estándar (%)	Mg de fibras vertidas/kg lavado	Vertido en una colada de 5,4 kg (mg)
Viscosa	P	3,7	12	64
	T	7,2	15	80
Poliamida	P	1,5	4	20
	T	5,3	8	45
Acrílico	P	0,3	1	4
	T	8,4	14	73
PP	P	0,2	0,2	1
	T	1,2	1	4
Poliéster	P	8,4	15	80
	T	8,6	28	149
Fibras liberadas en 5,4 kg lavado (mg)			520	

*P se refiere a punto

*T se refiere a tejido

Este dato correspondería únicamente a hogares domésticos, pero si quisieran contabilizarse también las lavanderías comerciales e industriales, habría que sumar un 14% a estos valores obtenidos. Esto proporcionaría un vertido de microfibras sintéticas en la UE procedente del lavado de textiles entre 18.000 y 47.000 toneladas al año.

Hay factores que influyen en el vertido de microfibras y no han sido tenidos en cuenta por la complejidad que supone su análisis, pero en los que debe hacerse más hincapié para ver el efecto real que producen:

- Temperatura de lavado: se sabe que cuanto más alta es la temperatura, más desgaste del textil se produce y por tanto más liberación de microfibras.
 - Tipo de lavadora: la mayoría de estudios se han llevado a cabo considerando las lavadoras de apertura frontal, que son las que poseen la mayoría de hogares. Sin embargo, hay una proporción de consumidores que utilizan lavadoras de apertura superior y se estima que en ellas se produce una mayor tasa de vertido de microfibras.
 - Efecto del detergente y el suavizante: este factor quizá ha sido de los más analizados, y se ha encontrado que el vertido de fibras puede aumentar hasta 30 veces cuando se lava con detergente frente a lavar solo con agua. Además, puede aumentar hasta 2-3 veces cuando se lava con detergente en polvo frente a lavar con detergente líquido.
 - Envejecimiento del textil: algunos estudios (Hartline et al., 2016) encontraron que el envejecimiento del textil puede incrementar la liberación de microfibras hasta un 25%. Sin embargo, faltan datos más concluyentes.
- Desgaste de neumáticos

El desgaste de los neumáticos al friccionar contra el asfalto produce una liberación importante de microplásticos al ambiente, formando parte de lo que se conoce como polvo urbano. La liberación de estas microfibras por parte de los neumáticos depende de varios factores (Verschoor et al., 2016):

- Las características del neumático, como el tamaño, la presión y temperatura, la composición química, el kilometraje acumulado o el área de contacto con el asfalto.
- Las características del vehículo, como el peso, la distribución de la carga, la potencia del motor, el sistema de frenos o el estado en qué se encuentra.
- El funcionamiento del vehículo, como la velocidad, la aceleración lineal, la aceleración radial o la frecuencia de frenado.

Como se puede observar, la cuantificación de esta fuente de microplásticos es compleja y depende de algunos factores que no se pueden cuantificar, por lo que los datos aportados son meras estimaciones. Los neumáticos de los vehículos normalmente están compuestos de una parte de caucho natural y otra parte sintética. La parte sintética está compuesta por dos monómeros, estireno y butadieno, que son polimerizados a través de un proceso de disolución o como emulsión. La composición exacta de los neumáticos depende del tipo de vehículo, ya que normalmente los turismos y vehículos ligeros llevan en los neumáticos una mezcla con mayor proporción de caucho sintético, mientras que los neumáticos de los camiones llevan una mayor proporción de caucho natural. En la Figura 1.3 se presenta una estimación de la composición de un neumático estándar (Sommer et al., 2018). En el neumático de un turismo estándar se puede encontrar un 25% de caucho sintético frente a un 17% de caucho natural. Además, lleva otros compuestos plásticos como nylon, plastificantes o poliéster que suman hasta un 10% más de materiales sintéticos en la composición. También en la banda de rodado contienen entre un 20-25% de materiales de relleno reforzantes y amortiguantes.

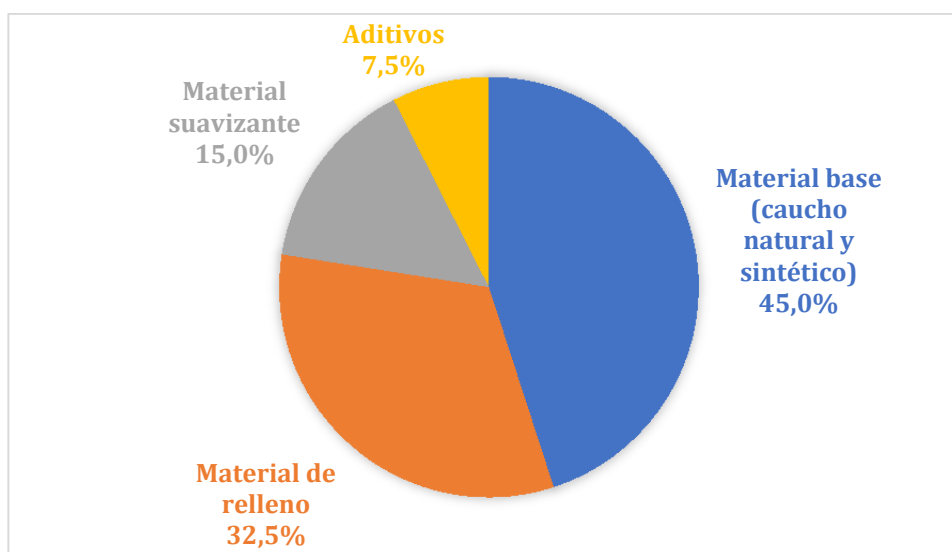


Figura 1.3. Composición media de un neumático estándar. Fuente: Modificada de Sommer et al., (2018).

Las partículas se generan por el contacto entre el neumático y el asfalto durante la conducción, la aceleración y el frenado, por lo que son una mezcla del desgaste propio del neumático y partículas del asfalto. Su tamaño y composición son difíciles de caracterizar, ya que dependen de numerosos factores como la fricción, el tipo de neumático, las características del asfalto o las condiciones climatológicas. Todas estas partículas se consideran microplásticos, ya que están compuestas principalmente de caucho sintético y otros polímeros, aunque existen diferentes formas de denominarlas (Baensch-Baltruschat et al., 2020):

- Partículas del desgaste de neumáticos y calzada.
- Partículas de la banda de rodado.
- Partículas del desgaste de neumáticos para aquellas en las que no se contabiliza el efecto de la calzada.
- Partículas de calzada para aquellas en las que no se contabiliza el efecto del neumático.

Para tratar de comprender mejor las propiedades físico-químicas que podrían tener estas partículas, Kreider et al., (2010) llevaron a cabo un estudio muy completo en el que analizaron partículas que se encontraban en la calzada tras la conducción de vehículos en exterior (y que pueden estar mezcladas con

combustible, partículas de las pastillas de freno, pavimento, etc.), partículas generadas tras una conducción simulada en laboratorio y partículas de la banda de rodado del neumático previamente molidas en laboratorio. Los resultados de la composición química y el tamaño se presentan en la Tabla 1.9.

Tabla 1.9. Composición química de partículas procedentes del desgaste de la calzada y el neumático durante conducción real y conducción simulada en laboratorio. Fuente: Modificada de Kreider et al., (2010). Todos los datos están expresados en porcentaje en masa.

Componente	Partículas de calzada (C.R.)	Partículas de calzada (C.S.)	Partículas de banda de rodado
Plastificantes y combustible (%)	13	10	19
Polímeros (%)	23	16	46
Negro de humo (%)	11	13	19
Minerales (%)	53	61	16
Tamaño (µm)	4-280	5-220	n.e.

*C.R. significa “conducción real”. C.S. significa “conducción simulada”.

Para calcular la emisión de partículas procedente de esta fuente en un año en la UE, Baensch-Baltruschat et al., (2020) llevaron a cabo una revisión de todos los estudios publicados hasta la fecha, y consideraron que las estimaciones de emisión deben estar basadas en:

- Los factores de emisión, por ejemplo, la masa de partículas generada por vehículo y por kilómetro. Estos factores varían según el tipo de vehículo considerado (vehículo ligero, vehículo pesado, autobús, camión, motocicleta, etc.)
- El consumo total de neumáticos y su pérdida de peso por abrasión en un año, en la UE o en cualquier país miembro.

Tomando como base esas premisas, en la Tabla 1.10 se presentan los datos de emisiones de partículas por desgaste del neumático (PDN) en la UE y desglosado en los países principales. No se tienen en cuenta las partículas procedentes del desgaste de calzada porque no se conoce bien todavía la forma de cuantificarlas y de incluirlas en los cálculos. Para algunos países se aportaban datos procedentes de distintas fuentes y con distintos métodos de cálculo, pero

solamente se han elegido aquellos que presentan el mismo método de cálculo que la estimación para toda la UE.

Tabla 1.10. Emisiones anuales de PDN en la UE y en diferentes países europeos. Fuente: *Modificada de Baensch-Baltruschat et al., (2020).*

País	Emisiones totales de PDN (Tn/año)	Emisiones de PDN per cápita (kg/persona·año)
UE	1.327.000	2,6
Alemania	61.000	0,8
Dinamarca	6.514-7.660	1,1-1,3
Francia	37.646	0,6
Holanda	17.300	1,0
Noruega	7.500	1,4
Suecia	13.000	1,3

- Desgaste de pinturas de navíos, carreteras y edificios

Las pinturas están compuestas por una mezcla de ingredientes de origen fósil, mineral, biológico y sintético. El componente polimérico son las resinas, el ingrediente que mantiene todos los pigmentos y rellenos juntos, asegurando la integridad de la capa de pintura y creando la adhesión al sustrato. Estas resinas son las partículas que se describen como microplásticos (Verschoor et al., 2016). Cuando las capas de pintura se degradan, se liberan partículas al medioambiente. Estas partículas nunca son poliméricas al 100%, sino que están compuestas por todos los ingredientes sólidos de la pintura.

Existe escaso conocimiento sobre el potencial de emisión de microplásticos que resulta de la degradación de las pinturas. Pero lo cierto es que, al tratarse de una actividad que pueden realizar numerosos profesionales y consumidores (lo que se conoce como do-it-yourself) a una escala difusa y difícil de cuantificar, las emisiones pueden ser bastante significativas. La degradación de la pintura se debe principalmente a la acción de los agentes meteorológicos, que provocan una ruptura de los enlaces químicos y progresivos cambios en la estructura, que finalmente hace que la capa de pintura se resquebraje y se desprenda. En la Figura 1.4 se presenta la demanda de pinturas por tipo en la UE para los años 2013 y 2014, según datos de Eunomia and ICF (2018).

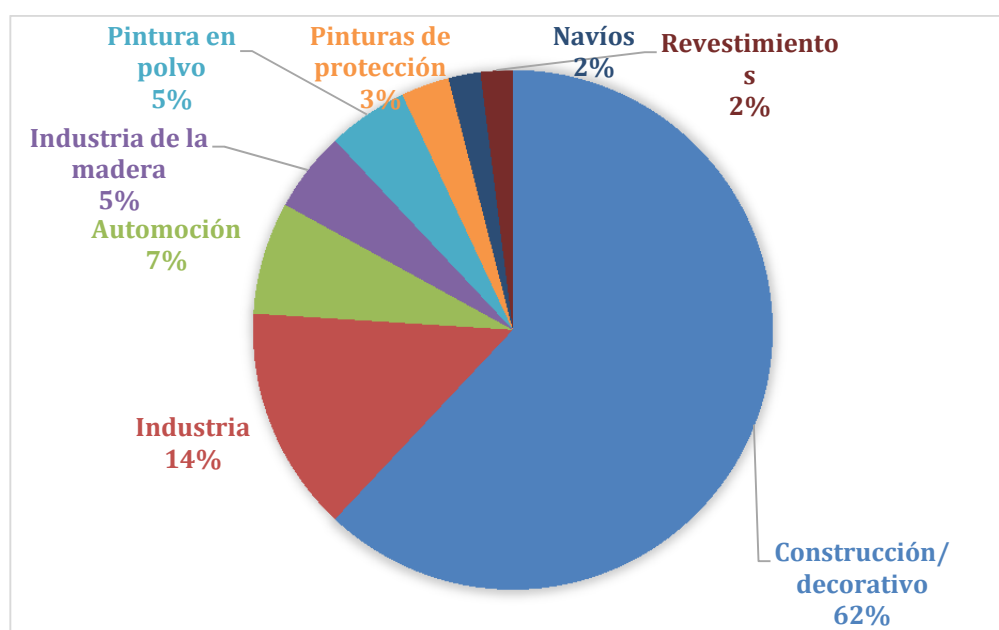


Figura 1.4. Demanda de pinturas por sector en la UE en los años 2013-2014. Fuente: Elaboración propia

Las estimaciones existentes tienen en cuenta varios factores que son variables y que influyen en los datos disponibles. Por ejemplo, hay diferencias notorias entre el sector profesional y el sector del usuario, así como entre las pinturas de interior y las de exterior (en el caso de los edificios). Concretamente, no existen datos públicos disponibles sobre las ventas de pintura de exterior en la UE, mientras que las pinturas de interior disponen de datos para Suecia y Dinamarca. Eunomia and ICF (2018) decidieron considerar en su estudio que los datos de ventas en estos países pueden extrapolarse al resto de la UE con algunas consideraciones.

Para las pinturas de interior suponen que la única vía de acceso al agua superficial es a través del lavado de los pinceles y rodillos de pintura después de su uso en el caso de las pinturas a base de agua. También suponen que los pintores profesionales no lavarán los pinceles y rodillos y los desecharán después de su uso, por lo que sólo el mercado del bricolaje se vería afectado. Una cierta proporción de la pintura, cuando se seca en la pared, también puede desprenderse y formar parte del polvo doméstico general. Teniendo en cuenta los datos de utilización de pinturas de este tipo en la UE en un año (540.137 toneladas), y conociendo que el

20% en peso de dicha cantidad corresponde a MPs y el 1,6% son vertidos directos, los cálculos realizados por Eunomia muestran que alrededor de 3.500 toneladas de pintura de interior se emiten cada año en la UE solo por el lavado de los pinceles y rodillos y su vertido a las aguas superficiales.

En el caso de las pinturas de exterior, las pérdidas y dispersión de MPs en el ambiente derivan principalmente del lijado y raspado de pintura desgastada y del propio desgaste químico e hidrolítico sufrido por la pintura durante su tiempo de vida. Los factores de desgaste y emisión se encuentran entre el 1 y el 5% (Eunomia and ICF, 2018). Aplicando esos factores a los datos de pintura de exterior utilizada en la UE en un año (1.137.650 toneladas) y teniendo en cuenta que el contenido en MPs de dichas pinturas es de media un 55% en peso, se obtienen emisiones de entre 21.000-35.000 toneladas/año.

En el caso de las pinturas utilizadas en navíos, la ECHA (European Chemicals Agency) estima que se venden unas 25.000 toneladas al año de pintura anti-incrustante y unas 110.000 toneladas de pintura de mantenimiento en la UE. Eunomia and ICF (2018) calcularon la emisión directa al mar al aplicar la pintura. En esta estimación se consideran afectadas únicamente las embarcaciones comerciales, ya que los barcos de recreo pueden ser sacados fuera del agua para su pintado. De acuerdo con los factores de emisión proporcionados en el mismo estudio para pinturas anti-incrustantes, entre el 7-35% de la pintura en embarcaciones comerciales es susceptible de acabar en aguas superficiales. En el caso de pinturas de mantenimiento, hasta el 89% puede acabar siendo vertido. De acuerdo con estas consideraciones y cálculos posteriores, las estimaciones obtenidas varían entre 1.752-4.284 toneladas/año de vertido directo en la UE para pinturas marinas.

Por último, cabe expresar cuáles son las estimaciones de emisión de partículas en las pinturas de carreteras. Estas pinturas se clasifican normalmente en cuatro tipos comunes (Asdrubali et al., 2014):

- Pinturas con base de disolvente (resina alquídica o caucho). Son más duraderas que las pinturas con base de agua.

- Pinturas con base de agua. Son menos usadas y menos duraderas.
- Capa termoplástica: es un material resistente compuesto por micropartículas de vidrio, pigmentos, aglutinantes (plásticos y resinas) y materiales de relleno.
- Cintas adhesivas: tienen una vida media superior a otros materiales de mercado.

En el estudio de Eunomia and ICF (2018) estimaron una venta de 241.240 toneladas de pinturas para marcas de carreteras en la UE, contabilizando los principales tipos descritos. Además, se proporcionan datos sobre el contenido en polímeros de estas pinturas y la tasa de degradación que alcanzan antes del repintado, basada en la oxidación de la pintura antes de desgastarse. Los datos se presentan en la Tabla 1.11.

Tabla 1.11. *Contenido en polímeros de los principales tipos de pinturas para carreteras, y tasa de degradación de dichas pinturas. Fuente: Modificada de Eunomia and ICF (2018).*

Tipo de pintura	Contenido en polímeros	Tasa de degradación
Basada en disolvente	13%	50%
Basada en agua	13%	50%
Termoplásticos	16%	64%

Basándose en las premisas anteriores y siguiendo un meticuloso procedimiento de cálculo, el informe de Eunomia and ICF (2018) estimó una emisión anual en la UE por parte de las pinturas de carreteras de entre 137.000-160.000 toneladas.

• Degradación de macroplásticos

Cuando grandes objetos de plástico permanecen abandonados por mucho tiempo en el mar o en las playas, comienzan a degradarse y a fragmentarse, alterándose algunas de sus propiedades. En general, esto ocurre cuando dichos plásticos están expuestos a condiciones de altas temperaturas, radiación ultravioleta u oxígeno (Kilponen, 2016). Este es un proceso lento que puede tardar varias décadas, según el tipo de plástico y el tamaño y forma del objeto. Además, la degradación se produce de diferentes formas según el residuo plástico esté en el

mar o en tierra. Por ejemplo, en un vertedero el mecanismo principal de degradación es la termo-oxidación (Webb et al., 2013), que se ve potenciada por factores como las temperaturas elevadas, el pH o el compactamiento de los residuos. Por otro lado, en una playa o en un ambiente natural sería la foto-oxidación el mecanismo predominante de degradación, por la acción de la luz UV (Andrady, 2011). La degradación y fragmentación de los plásticos decrece en el siguiente orden: plásticos flotando en el agua o en playas >plásticos en la columna de agua >plásticos en el fondo marino (GESAMP, 2015).

El nivel y el tiempo de degradación también varían según si el plástico es virgen o reciclado (GESAMP, 2015). Normalmente, los plásticos vírgenes llevan incorporados una serie de aditivos para mejorar sus propiedades y, por tanto, la tasa de degradación oxidativa que sufren es menor y más lenta. También es importante comprender cómo se ven afectados los plásticos que flotan en el agua o que se encuentran hundidos en ella, ya que hay factores como la salinidad, la presión hidrostática o el biofouling que afectan a su degradación. Por ejemplo, un plástico que se encuentra flotando en el agua, transcurridas unas cuatro semanas comienza a desarrollar un biofilm orgánico en su superficie que reduce la transmisión de la radiación (Weinstein et al., 2016). Tras esto, son la abrasión mecánica del residuo y los períodos de secado e hidratación los que van provocando la degradación de la superficie y el desprendimiento de pequeñas laminillas. Esto provoca que los microplásticos aumenten su peso en más del 30% debido al biofouling, produciéndose también cambios en la densidad del plástico. Estos mismos autores constataron que, a las 8 semanas de exposición, empezaban a desprenderse pequeñas fibras de los fragmentos de plástico degradados. Por otro lado, el plástico que se encuentra flotando en la superficie del agua o en tierra en un medio natural está expuesto a temperaturas moderadas-altas, radiación solar con longitudes de onda de 300 nm o superior, así como a la acción del oxígeno. El proceso de degradación comienza en la superficie del plástico, que se va degradando y mostrando cambios de color y pequeñas fracturas. Esas fracturas sirven de antesala para la degradación de las capas de material que hay por debajo, dando lugar a un posterior endurecimiento y rotura, liberando pequeñas partículas

(GESAMP, 2015; Gomiero et al., 2018). El proceso es más rápido y eficiente en fragmentos de plástico más pequeños, que tienen una mayor relación superficie específica a volumen (Song et al., 2017).

Otro ejemplo de las diferencias en la degradación que pueden ocurrir es que plásticos como el PE o el PP no se comportan igual que el PET o el PUR. Debido a su estructura química y los enlaces que la conforman, los plásticos de PE y PP (con cadenas simples carbono-carbono) suelen degradarse por mecanismos de foto-oxidación, una serie de reacciones en las que los enlaces de la cadena principal se rompen por acción de la luz, el calor o una combinación de ambos, dando lugar a la formación de radicales libres (Gewert et al., 2017; Welden and Lusher, 2017). Estos radicales reaccionan con el oxígeno y forman peróxidos, que provocan la auto-oxidación lenta del plástico.

Por otro lado, polímeros como el PET o el PUR tienen estructuras con átomos diferentes en su cadena principal. Pueden verse afectados por la foto-oxidación, pero también suelen sufrir procesos de ruptura hidrolítica cuando se encuentran sumergidos en el agua, lo que provoca el amarilleamiento del material (Gomiero et al., 2018). El PET es altamente resistente a la biodegradación debido a su compacta estructura, cosa que no ocurre con el PUR, cuya estructura con carbono, oxígeno y nitrógeno en la cadena principal muestra una mayor susceptibilidad a sufrir biodegradación.

Cada año se vierten al mar más de 8 Mt de basura, de las cuales aproximadamente el 80% es plástico. En Europa, la cantidad de basura vertida al mar anualmente está entre 150.000-500.000 toneladas, concentrándose mayoritariamente en el Mediterráneo y el océano Ártico (Ellen MacArthur Foundation, 2017). Además, la media de residuos que acaban en vertedero al año en la UE todavía es del 25%. En algunos países que no tienen una legislación ni restricciones adecuadas, este porcentaje aumenta hasta el 60-80%, como es el caso de Croacia, Bulgaria o Grecia (PlasticsEurope, 2019). En España, el porcentaje de residuos plásticos que acaban en vertedero es del 38%. Hay estimaciones también sobre la cantidad de plásticos que acaban en las playas europeas, y que puede dar

una idea de los residuos que van a sufrir degradación y se van a convertir en microplásticos. Desde el año 2014 al 2017, la aplicación móvil Marine Litter Watch desarrollada por la EEA (European Environment Agency) recogió la presencia de hasta 700.000 objetos abandonados en las playas, cuya composición se muestra en la Figura 1.5 (EEA, 2018).

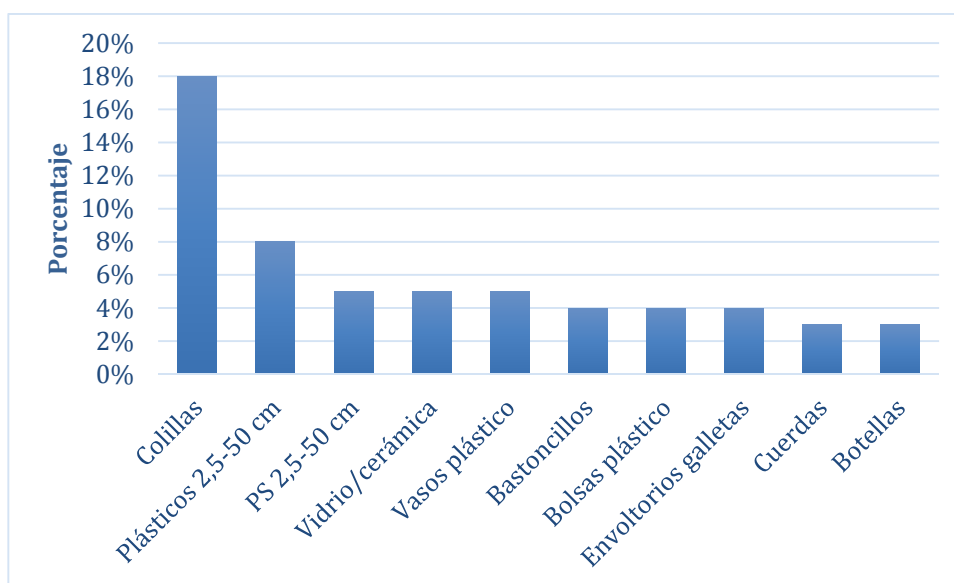


Figura 1.5. Top ten de basura abandonada en playas europeas. Fuente: EEA (2018).

- Emissiones según la fuente antropogénica de procedencia

Las mayores emisiones de microplásticos (hasta un 63%) tienen lugar durante la fase de uso del producto (Figura 1.6) (Boucher and Friot, 2017). El 36% de las emisiones se producen durante la fase de mantenimiento, es decir, durante el tiempo que se tiene el producto, aunque no se esté usando. Por último, tan solo un 1% de las emisiones de microplásticos ocurren durante la fase de producción y transformación del plástico, lo que implica principalmente pérdidas de granza.

En cuanto a las emisiones desde el punto de vista de las actividades sociales, los hogares son responsables de las tres cuartas partes (77%) de las emisiones de microplásticos (Figura 1.6) (Boucher and Friot, 2017). Dentro de las actividades domésticas, el 29% de las emisiones se producen durante el uso de vehículos y transportes varios (principalmente automóviles personales), mientras que el 48% restante procede del resto de actividades domésticas, como el lavado de textiles

sintéticos, el uso de productos de cuidado personal o el mantenimiento de vehículos/embarcaciones de recreo. Aparte de las emisiones domésticas, el 23% restante se produce en actividades económicas varias. Dentro de ese porcentaje, un 7% corresponde a las emisiones por uso de transportes y un 16% a las emisiones propias de las actividades industriales. Cabe destacar que el sector del transporte por sí solo supone el 36% del total de emisiones de microplásticos.

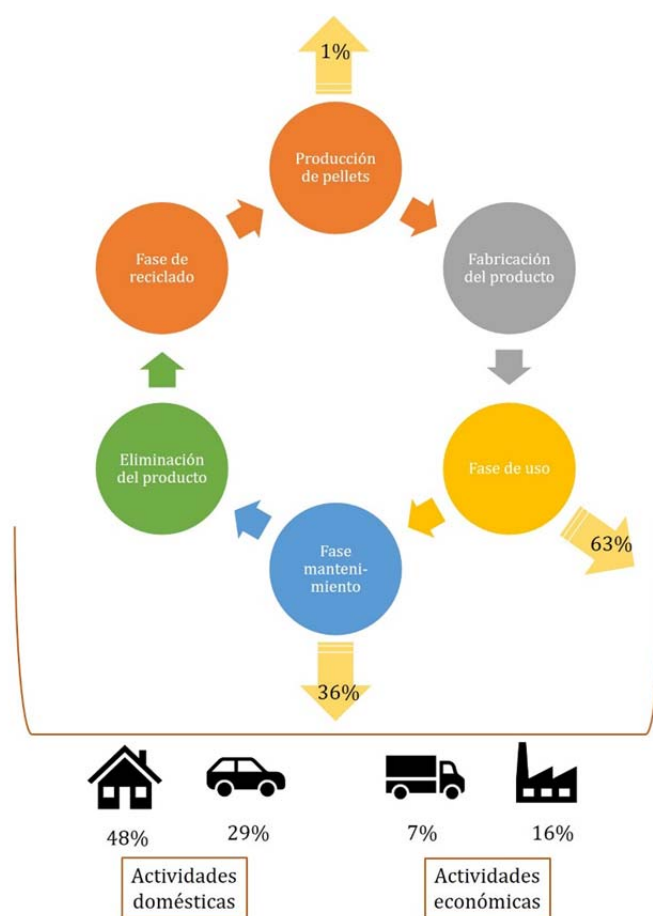


Figura 1.6. Distribución porcentual de las emisiones de microplásticos según la fase de vida del producto y según las actividades cotidianas de la sociedad. Fuente: Modificada de Boucher and Friot, (2017).

1.3. Normativa vigente aplicable a la reducción de emisión de microplásticos

No existe todavía demasiada legislación que tenga como objetivo directo la reducción de emisión de microplásticos. Solamente Europa contempla medidas específicas dentro de su *Estrategia para el plástico en una economía circular*,

publicado en 2018. Por otro lado, existen algunas convenciones y estrategias internacionales dirigidas a controlar y minimizar el impacto de la basura marina sobre los océanos, con especial foco en los macroplásticos. Esto puede servir para reducir la emisión de microplásticos procedentes de fuentes secundarias, pero se necesitaría una legislación más fuerte y específica para controlar la producción intencionada de estas partículas. A continuación, se describen brevemente los principales instrumentos internacionales, regionales y nacionales vigentes para la regulación de los microplásticos.

- Asamblea General de las Naciones Unidas y la Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar (UNCLOS)

UNCLOS constituye el marco general internacional en el que deben desarrollarse todas las actividades relativas a los océanos y los mares. Entró en vigor en noviembre de 1994 y cuenta con 167 participantes, incluida la Unión Europea. Muchas disposiciones de este Convenio, que incluye 320 artículos y 9 anexos, reflejan el derecho internacional que es vinculante también para los Estados que no son parte del Convenio. Concretamente, la Parte XII de la Convención trata de la "Protección y preservación del medio marino" y exige a los Estados que adopten, individual o conjuntamente, todas las medidas compatibles que sean necesarias para prevenir, reducir y controlar la contaminación del medio marino procedente de cualquier fuente, utilizando para ello los mejores medios posibles a su alcance y de acuerdo con sus capacidades. Estas medidas han de incluir, entre otras, las destinadas a minimizar en la mayor medida posible la liberación de sustancias tóxicas, nocivas o perjudiciales. Además, incluye también disposiciones detalladas sobre las fuentes de contaminación en tierra, la contaminación procedente de los buques, las actividades en los fondos marinos, el vertido y la contaminación procedente de la atmósfera o a través de ella.

- Convenio MARPOL

Es el Convenio internacional para la prevención de la contaminación marina por buques, que fue adoptado en 1973 en la sede de la Organización Marítima Internacional (IMO). En 2018 el Comité de Protección del Medioambiente Marino

de IMO adoptó un plan de acción para minimizar el vertido de basuras plásticas por parte de los barcos, incluyendo redes de pesca. Este plan proporciona a IMO las herramientas necesarias para identificar objetivos que sean significativos y medibles a corto plazo. Para ello, el Anexo V del Convenio MARPOL prohíbe el vertido de todo tipo de basuras procedentes de los barcos al mar, excepto en casos explícitamente desarrollados en dicho Anexo. Se incluyen en la prohibición todo tipo de comida, basura doméstica, residuos de carga, cenizas de incineración, redes de pesca o aceites de cocina, entre otros. Actualmente, hay ocho áreas marinas de protección especial definidas en el Anexo V del Convenio MARPOL: el mar Mediterráneo, el mar Báltico, el mar Negro, el mar Rojo, las áreas de los "Golfos", el mar del Norte, la región del Caribe en general y la zona de la Antártida.

- Convención de Londres

También llamada Convención para la Prevención de Contaminación Marina por Vertido de Basuras, fue una de las primeras convenciones para protección del medio marino frente a las actividades antropogénicas y entró en vigor en 1975. Su principal objetivo es promover el control efectivo de todas las fuentes de contaminación marina y aplicar todos los pasos necesarios para prevenir una mayor contaminación y vertido. Actualmente hay 46 partes implicadas en dicha Convención.

Para cumplir con los objetivos, se aplica un enfoque de "lista negra y gris" para los residuos que suelen eliminarse en el mar según el peligro que presenten para el medio ambiente. El vertido de los residuos de la lista negra está prohibido. El vertido de los materiales de la lista gris requiere un permiso especial de una autoridad nacional designada bajo estricto control y siempre que se cumplan determinadas condiciones. Todas las demás sustancias pueden verterse tras la concesión de un permiso general. Además, se prohíbe la incineración de residuos en el mar y la exportación de residuos con fines de vertido.

- Otras convenciones, planes de acción, etc.

El Programa Medioambiental de las Naciones Unidas (UNEP) trabaja desde el año 2003 en cooperación con otras organizaciones y países para la protección del medio marino. Concretamente, desde el año 2014 han publicado diversos informes acerca de la contaminación por plásticos y microplásticos, proporcionando claves y pasos a seguir para prevenir esta contaminación en el futuro. También en el año 2017 publicaron un primer borrador sobre la resolución en basura marina y microplásticos, asociada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) propuestos para la Agenda 2030 y concretamente con el objetivo 14.1 que hace referencia a la prevención y reducción de la contaminación marina en todas sus formas, en particular aquella procedente de fuentes terrestres.

Por otro lado, GESAMP es un grupo formado por expertos en distintos ámbitos científicos de la protección medioambiental marina, formado en 1969 e integrado por 10 organizaciones de las Naciones Unidas. Las principales funciones de GESAMP están orientadas a la evaluación del estado del medio marino, mediante la realización de estudios, informes y análisis científicos sobre diversos tópicos. Existen 43 grupos científicos que abarcan los distintos ámbitos de protección ambiental, siendo el grupo 40 el encargado de establecer las fuentes de emisión y los efectos de los plásticos y microplásticos en el medio marino.

- Estrategia Europea para el Plástico

Es un paquete de medidas publicado en el año 2018 como consecuencia del uso desmesurado de plástico y la gran generación de residuos de este tipo que no siempre son gestionados correctamente. Los objetivos de dicha estrategia pueden resumirse como sigue:

- Orientar el diseño y la producción de plásticos de manera que se favorezca su posterior reutilización, reparación y reciclado.
- Pedir la colaboración de gobiernos nacionales y regionales, de la industria y de los ciudadanos para cumplir con los patrones de producción y consumo sostenibles.

- Mejorar los sistemas de recogida selectiva y clasificación de residuos plásticos.
- Promocionar el uso de materiales más sostenibles y mejorar el diseño y la calidad de materiales reciclados.
- Reducir los porcentajes de residuos plásticos incinerados o depositados en vertederos, y fomentar el reciclado mecánico de los mismos, consiguiendo así una reducción de la contaminación ambiental y marina.
- Establecer un marco normativo claro para los plásticos con propiedades biodegradables.
- Para poder cumplir con estos objetivos, son numerosas las medidas con plazo temporal de cumplimiento que la UE ha implantado con esta estrategia, pero hay algunas específicas orientadas a los microplásticos que se resumen a continuación:
- Iniciar el proceso para restringir la adición intencionada de microplásticos en los productos, a través de REACH. Fecha límite de inicio: en curso cuando se publicó la normativa.
- Examinar las opciones políticas para reducir la liberación no intencionada de microplásticos procedentes de neumáticos, productos textiles y pinturas [por ejemplo, incluir requisitos mínimos para el diseño de los neumáticos (abrasión y durabilidad, si procede) o requisitos de información (incluido el etiquetado, si procede), métodos para evaluar las pérdidas de microplásticos de los productos textiles y los neumáticos, junto con información (incluido, en su caso, el etiquetado) y requisitos mínimos, investigación específica y financiación del desarrollo]. Fecha límite de inicio: en curso cuando se publicó la normativa.
- Desarrollar medidas para reducir la liberación de gránulos de plástico (por ejemplo, sistema de certificación a lo largo de la cadena de suministro de plástico o documento de referencia sobre las mejores técnicas disponibles en el marco de la Directiva sobre emisiones industriales). Fecha límite de inicio: a partir del primer trimestre de 2018.

- Evaluar la Directiva sobre aguas residuales urbanas en lo que respecta a la eficacia de la captura y eliminación de microplásticos. Fecha límite de inicio: en curso cuando se publicó la normativa.

1.4. Distribución global de microplásticos en ambientes acuáticos y costeros, y abundancia

1.4.1. Microplásticos en ambientes de agua dulce

La contaminación por microplásticos en los sistemas de agua dulce está recibiendo cada vez más atención debido a los datos, a veces alarmantes, de concentraciones de partículas en lagos y ríos del mundo. Los medios de agua dulce son la forma más directa del transporte de microplásticos desde la tierra hasta el mar. Pero lo cierto es que no solo se encuentran microplásticos en grandes ríos y lagos conectados con ciudades e industrias, sino que cada vez es más frecuente encontrarlos en ambientes aparentemente vírgenes y aislados (Bergmann et al., 2019; Bosker et al., 2018; González-Pleiter et al., 2020).

En las Tablas 1.12-1.14 se han recogido datos de concentraciones de microplásticos en sedimentos y aguas superficiales de Europa, Asia y América, los continentes donde existen más estudios disponibles. Los datos encontrados en bibliografía se reportan en cuatro unidades diferentes: para el sedimento se expresan en partículas/m² y partículas/kg de sedimento seco, mientras que para el agua se expresan en partículas/km² como una medida de la concentración por unidad de superficie, y en partículas/m³ de agua. Una de las necesidades más apremiantes en el ámbito de los microplásticos es establecer una unidad estándar global para expresar la abundancia, que permita realizar comparaciones entre estudios. Sin embargo, actualmente la mayoría de autores utiliza las unidades que más le convienen dependiendo de la metodología que empleen (Hamid et al., 2018). Normalmente, los MPs son contabilizados utilizando estereomicroscopios, pero las diferencias en las concentraciones obtenidas entre estudios suelen estar relacionadas con la disparidad de metodologías que se emplean (Rocha-Santos and Duarte, 2015). Además, en otras ocasiones no es posible tampoco realizar comparaciones dependiendo de si los autores del estudio hacen verificación

química de las partículas para comprobar que son realmente sintéticas y no naturales. Por tanto, los datos presentados en las Tablas 1.12-1.14 deben ser tomados con precaución y este capítulo se centrará más en los factores que afectan a la distribución de MPs que en realizar comparaciones entre estudios.

Hay medios de agua dulce especialmente contaminados por microplásticos en el mundo, como es el caso del río Rhin en Alemania, el río Meuse en Países Bajos, o el río Saint Lawrence en Canadá (Ballent et al., 2016; Castañeda et al., 2014; Leslie et al., 2017). Pero, sin duda, es en el continente asiático donde se encuentran las mayores concentraciones de microplásticos tanto en sedimentos como en aguas superficiales, especialmente en lagos y ríos de China. China es el principal consumidor de plástico del mundo y, por tanto, uno de los países que más residuos de este tipo genera (PlasticsEurope, 2019). Además, posee unas altas tasas de eliminación de basura de forma incorrecta. Más concretamente, Jambeck et al., (2015) llevaron a cabo un estudio en el que estimaron que, solo la población que vive cercana a la costa en China, genera entre 1-3 Mt de plástico al año que van a parar al mar por la mala gestión recibida. Por tanto, no es de extrañar que zonas como los ríos Perla, Yangtzé y Hanjiang, o los lagos urbanos de Wuhan tengan altas concentraciones de microplásticos en sus aguas o sedimentos (Wang et al., 2017a; Wang et al., 2017b).

En la Tabla 1.12 se presentan los datos de concentración de MPs en Europa. Con respecto al sedimento, se podría afirmar que existe una contaminación elevada en general en todos los lugares analizados. Concretamente, destacan los lagos Bolsena y Chiusi en Italia, el río Meuse en Países Bajos y el río Rhin a su paso por Alemania. Entre los factores que afectan a la distribución de microplásticos en estos ambientes, a menudo destacan la proximidad de grandes zonas urbanizadas o altamente turísticas, pero también pueden ser importantes los vientos predominantes o las características del sedimento, como ocurre en los lagos italianos (Fischer et al., 2016). En los ríos Meuse y Rhin, Leslie et al., (2017) argumentan la influencia de otros factores como la proximidad de la zona muestreada a plantas de tratamiento de aguas residuales, cuyos efluentes suelen llevar una carga mayor de microplásticos a pesar de que los tratamientos recibidos

están preparados para retirar más del 90% de las partículas presentes en los influentes (Edo et al., 2019).

En cuanto a las concentraciones obtenidas en muestras de agua, de nuevo los lagos Chiusi y Bolsena reportan los valores más altos, junto con el río Po en Italia, a su paso por ciudades como Piacenza o Ferrara. El río Po descarga grandes cantidades de agua dulce junto con los microplásticos en el mar Adriático, y por la configuración geográfica del delta del río y del propio mar, las partículas pueden permanecer mucho tiempo atrapadas en esa zona (Atwood et al., 2019).

En España no se han realizado hasta la fecha estudios sobre la presencia de microplásticos en medios naturales de agua dulce, tales como ríos, lagos o pantanos. Sí existen algunos estudios que se han enfocado en las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales, donde analizan la concentración de microplásticos tanto en el efluente primario como en el efluente secundario y en los lodos de decantación (Bayo et al., 2019; Bretas Alvim et al., 2021; Edo et al., 2019; Van den Berg et al., 2020). En dichos estudios se puede observar que las concentraciones de MPs son muy variables dependiendo del tipo de población, el proceso de tratamiento del agua o la estación del año.

En la Tabla 1.13 se presentan datos de concentraciones de microplásticos en agua y sedimentos del continente asiático. Con respecto al sedimento, las mayores concentraciones han sido encontradas en los ríos Perla, Wei y Beijiang, así como en ríos urbanos del entorno de Shanghai, la mayor área urbana en extensión de China. En el caso del río Perla, los autores del estudio (Lin et al., 2018) afirman que la forma de distribuirse los microplásticos es diferente en el agua superficial y los sedimentos. Ese es otro punto importante a tener en cuenta en el momento de interpretar los datos. En este caso, en los sedimentos se encontraron mayores concentraciones de MPs en zonas donde la basura es mal gestionada. Al igual que en el caso de los ríos Meuse y Rhin, también aquí analizan los influentes y efluentes de distintas plantas de tratamiento de aguas residuales, llegando a la conclusión de que los porcentajes de retención de MPs en estas instalaciones es del 44,3% de media. Como ya se ha comentado, la cercanía de los puntos de muestreo a zonas de

actividades antropogénicas intensas influye también en la concentración de MPs. Es el caso del río Wei, cuyos puntos de muestreo se tomaron junto a zonas de intensa agricultura. La agricultura es una actividad conocida por el amplio uso de plásticos, sobre todo para invernaderos y acolchados, y de envases para productos fitosanitarios, que muchas veces son gestionados de forma incorrecta por el bajo valor que tienen al ser residuos muy contaminados y difíciles de reciclar (Vox et al., 2016).

Si se consideran ahora las concentraciones encontradas en muestras de agua, las zonas más contaminadas son el río Yangtzé y el río Hanjiang, junto con los lagos urbanos de Wuhan. En esta última zona la elevada contaminación está relacionada con la situación de los lagos en el centro de la ciudad, cerca de zonas altamente pobladas donde cabe esperar una mayor generación de residuos y también una mayor liberación de microplásticos de fuentes primarias. En el caso de los lagos en general influye el hecho de que los microplásticos suelen acumularse en estas zonas caracterizadas por un movimiento escaso del agua, igual que ocurre en deltas o estuarios (Bellasi et al., 2020). Por ese motivo también presentan más contaminación los lagos de Wuhan que los ríos Yangtzé y Hanjiang. Estos mismos ríos, a su vez, presentan concentraciones de MPs más altas en el estuario que en el propio río.

Sin embargo, en los datos recopilados sobre muestras de aguas y sedimento en Asia llama la atención el caso del lago Hovsgol, en Mongolia, y los ríos en el Tíbet, dos zonas claramente alejadas del urbanismo y actividad antropogénica, y que sin embargo registran concentraciones considerables de microplásticos. En los ríos del Tíbet, la contaminación obtenida en el agua es superior a cualquier dato de los ríos y lagos europeos y también de algunos americanos, como los lagos de la Patagonia o el río Chicago (Tabla 1.14). Estos ríos tienen alrededor pocas fuentes de emisión de microplásticos en comparación con zonas más desarrolladas, no hay actividades pesqueras ni acuáticas cerca de las zonas de muestreo y tampoco actividad industrial. Por tanto, los autores del estudio (Jiang et al., 2019) concluyen que la contaminación procede mayormente de las actividades cotidianas de los habitantes de la zona, cuyo tipo de vida se asemeja cada vez más al de las zonas

desarrolladas en cuanto al uso de plástico se refiere, destacando su uso en banderas religiosas y para elaborar tiendas de campaña. Así mismo, destacan también la presión que sufre esta zona por el turismo.

En el lago Hovsgol, situado al norte de Mongolia, en el límite del bosque siberiano de taiga, la explicación de su elevada contaminación está más conducida hacia características geográficas del lago. Concretamente, los autores (Free et al., 2014) mencionan como posibles factores el elevado tiempo de residencia de las partículas (entre 300-600 años) y la pequeña superficie específica del lago, que favorece una mayor concentración de los microplásticos menos densos en la superficie, frente a lagos de características similares como el lago Huron o Superior en Canadá. Sin embargo, estos autores coinciden, al igual que ocurría en los ríos del Tíbet, en que uno de los factores más importantes es la contaminación procedente del estilo de vida de las poblaciones cercanas, que no cuentan con sistemas para una correcta gestión de los residuos.

Por último, en la Tabla 1.14 se presentan concentraciones de MPs en sedimentos y aguas de ríos y lagos del continente americano. Cabe destacar que la mayoría de estudios disponibles solo reportan datos de concentraciones en agua, mientras que en sedimentos aquí se presentan solo datos del río Saint Lawrence y del Lago Ontario. El primero presenta una contaminación local muy abundante, superior a la de cualquier lago o río europeo o asiático (en partículas/m² de sedimento). Por otra parte, el lago Ontario es el lugar donde nace el río Saint Lawrence y presenta también una elevada contaminación asociada mayormente a la zona de Toronto y su puerto. Los autores del estudio (Ballent et al., 2016) hacen hincapié en la importancia de las corrientes que recibe el lago, que van de suroeste a noreste, por lo que la orilla sureste queda más protegida frente a la corriente y se produce una mayor acumulación de microplásticos, relacionada con un menor movimiento del agua y re-suspensión de sedimentos.

En el caso de muestras tomadas en agua, en términos de partículas/km², el lago Erie, el lago Winnipeg y el río Chicago son las zonas más contaminadas, con valores comparables a los del lago Taihu en China y al río Rhône en Francia. El lago

Erie es el más poblado y posee una convergencia de corrientes específica que arrastra muchas partículas (Eriksen et al., 2013). El río Rhône presenta una mayor concentración de MPs conforme el muestreo es más próximo a la desembocadura, y la dinámica del agua y de las partículas es totalmente diferente a la de un lago, siendo una zona de tránsito, no de retención. Igualmente, las turbulencias que sufre el agua en el río provocan un mayor movimiento y re-depósito de partículas, sobre todo las de menor densidad (Schmidt et al., 2018). Por el contrario, la contaminación en el lago Taihu está más influenciada por las actividades antropogénicas. El lago Taihu está conectado con la zona inferior del río Yangtzé, que a su vez se comunica con hasta 22 ríos principales que atraviesan las regiones más pobladas de la cuenca del lago. La contaminación de este lago procede principalmente de las actividades domésticas, las aguas residuales y las actividades pesqueras, principal motor económico de la zona (Tang et al., 2015).

En términos de partículas/m³ de agua, la zona más contaminada es el río Los Angeles, con valores comparables a los obtenidos en la Reserva de las Tres Gargantas, en China. Moore et al., (2011) relacionan los altos niveles de contaminación de este río con los períodos de lluvia torrencial, ya que las muestras fueron tomadas tras dos episodios de este tipo.

Existen diferencias en los niveles de contaminación por MPs en lagos y ríos. En los lagos, la cantidad de MPs presentes depende en gran medida del tiempo de residencia, el tamaño del lago y la cantidad de aguas residuales que recibe (Bellasi et al., 2020). Pero, sin duda, los factores que más afectan a la contaminación de los lagos es la densidad de población que habita alrededor de ellos y la proximidad a estos núcleos de población y, en definitiva, a las actividades antropogénicas.

Por otro lado, los ríos presentan un alto grado de complejidad al evaluar las concentraciones de MPs, especialmente cuando no es posible tomar muestras de un transecto completo, como ocurre frecuentemente. La concentración puede verse afectada por muchos fenómenos, entre ellos la proximidad de la zona de muestreo a una fuente puntual de emisión, que estaría sobreestimando la contaminación, las corrientes y turbulencia en cada punto del río, especialmente en

los meandros, donde pueden acumularse grandes cantidades de basura, la presencia de eutrofización, etc. (GESAMP, 2015).

Otros factores que también pueden influir en las concentraciones de MPs obtenidas en las muestras, son los tratamientos posteriores que reciben dichas muestras en laboratorio. La recogida de agua y sedimento es el primer paso a realizar en la metodología de muestreo de microplásticos. Existen diferentes procedimientos para muestrear, y cada estudio realiza el que más se adecúa a los medios técnicos y económicos disponibles, por lo que la disparidad en los datos obtenidos entre estudios puede estar influenciada por este motivo.

Sin embargo, las variaciones en la cantidad de MPs encontrados se ve a menudo más influenciada por el procedimiento de extracción de los MPs y el tamaño de poro de los filtros utilizados, que por el procedimiento de muestreo. En las Tablas 1.12-1.14 se han recogido ambos parámetros utilizados en cada estudio. Las muestras de agua y sedimento suelen ser tratadas mediante dos procedimientos comunes (Prata et al., 2019a):

- Filtración o tamizado directo de la muestra para reducir el volumen disponible de la misma y quedarse con la fracción de tamaño que interesa (en el caso de los microplásticos, debe ser inferior a 5 mm). Las muestras de agua suelen ser tratadas únicamente con este paso.
- Separación por densidad: se utilizan agentes químicos disueltos en agua que proporcionan una densidad superior a la de la mayoría de los polímeros, con el objetivo de separarlos del sedimento (más denso) y crear un sobrenadante en el que se encuentran los microplásticos. Este sobrenadante es posteriormente filtrado utilizando filtros que pueden ser de muy diversa composición y tamaño de poro. Las muestras de sedimento suelen pasar por un proceso de tamizado directa y posteriormente por la separación por densidad.

El tamaño de poro determina el límite inferior de detección de tamaño de microplásticos. Éste puede variar considerablemente tanto en los tamices como en los filtros utilizados. Si no se tuvieran en cuenta otros factores, cabría esperar una

relación inversamente proporcional entre el tamaño de poro y el número de microplásticos encontrados. Sin embargo, los filtros con tamaño de poro muy pequeño también pueden tener el inconveniente de obstruirse rápidamente por la materia orgánica o mineral, provocando alguna pérdida de material. En general, observando los datos de las Tablas 1.12-1.14, se observa que, a igualdad de método de extracción, suele cumplirse que la concentración de MPs es mayor conforme disminuye el tamaño de poro, excepto en los estudios realizados en muestras de aguas de América. Pero, como ya se ha comentado anteriormente, hay otros muchos factores que pueden estar condicionando esta contaminación.

Tabla 1.12. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en Europa.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro/tamiz (μm)	Referencia
Sedimento	Largo Garda, Italia	8,3-1.108 p/m ²	Separación por densidad	1.000	(Imhof et al., 2013)
	Lago Bolsena, Italia	1.922±662 p/m ²	Separación por densidad	5	(Fischer et al., 2016)
	Lago Chiusi, Italia	2.117±695 p/m ²	Separación por densidad	5	(Fischer et al., 2016)
	Río Támesis, UK	185-660 p/kg	Separación por densidad	1,2	(Horton et al., 2017)
	Edgbaston Pool, UK	250-300 p/kg	Separación por densidad	500	(Vaughan et al., 2017)
	Río Meuse, Países Bajos	1.400±520 p/kg	Separación por densidad	0,7	(Leslie et al., 2017)
	Río Rhin, Alemania	1.700-4.900 p/kg	Separación por densidad	0,7	(Leslie et al., 2017)
Agua	Río Rhône, Francia	7-400 x 10 ³ p/km ²	Tamizado directo	125	(Schmidt et al., 2018)
	Río Sena, Francia	0,28-108 p/m ³	Filtración directa	1,6	(Dris et al., 2015)
	Río Danubio, Austria	0,32±4,66 p/m ³	Separación por densidad	500	(Lechner et al., 2014)
	Lago Chiusi, Italia	2,51 p/m ³	Separación por densidad	5	(Fischer et al., 2016)
	Lago Bolsena, Italia	3,02 p/m ³	Separación por densidad	5	(Fischer et al., 2016)
	Río Po, Italia	6,8-84,1 p/m ³	Filtración directa	300	(Atwood et al., 2019)

Tabla 1.13. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en Asia.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (μm)	Referencia
Sedimento	Lago Vembanad, India	252,80±25,76 p/m ²	Separación por densidad	1,6	(Sruthy and Ramasamy, 2017)
	Cuenca Siling Co (Tíbet), China	8-563 p/m ²	Separación por densidad	1,2	(Zhang et al., 2016)
	Lago Taihu, China	11-234,6 p/kg	Separación por densidad	5	(Su et al., 2016)
	Reserva Tres Gargantas, China	25-300 p/kg	Separación por densidad	48	(Di and Wang, 2018)
	Ríos en la meseta del Tíbet	50-195 p/kg	Separación por densidad	1,2	(Jiang et al., 2019)
	Río Beijiang, China	178-544 p/kg	Separación por densidad	1	(Wang et al., 2017a)
	Río Wei, China	360-1.320 p/kg	Separación por densidad	0,45	(Ding et al., 2019)
	Zona urbana de Shanghai, China	802±594	Separación por densidad	1	(Peng et al., 2018)
	Río Perla, China	1.669 p/kg	Separación por densidad	20	(Lin et al., 2018)
Agua	Lago Taihu, China	0,01-6.8 x 10 ⁶ p/km ²	Filtración directa	5	(Su et al., 2016)
	Lago Hovsgol, Mongolia	20.264 p/km ²	Tamizado directo	355	(Free et al., 2014)
	Ríos en la meseta del Tíbet	483-967 p/m ³	Separación por densidad	0,22	(Jiang et al., 2019)
	Lago Dongting, China	900-2.800 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Wang et al., 2018)
	Lago Hong, China	1.250-4.650 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Wang et al., 2018)
	Reserva Tres Gargantas, China	1.597-12.611 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Di and Wang, 2018)
	Lagos urbanos de Wuhan, China	1.660-8.925 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Wang et al., 2017b)
	Río Yangtzé, China	2.516,7±911,7 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Wang et al., 2017b)
	Río Hanjiang, China	2.933±305,5 p/m ³	Filtración directa	0,45	(Wang et al., 2017b)

Tabla 1.14. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua dulce en América.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (µm)	Referencia
Sedimento	Río Saint Lawrence, Canadá	13.832±13.677 p/m ²	Tamizado directo	500	(Castañeda et al., 2014)
	Lago Ontario, Canadá	20-27.830 p/kg	Tamizado directo + separación por densidad	53	(Ballent et al., 2016)
Agua	Lago Huron, Canadá	2.779±2.440 p/km ²	Secado al aire + sonicado	-	(Zbyszewski and Corcoran, 2011)
	Lago Superior, Canadá	5.390±4.552 p/km ²	Tamizado directo	355	(Eriksen et al., 2013)
	Lago Erie, USA	105.503±173.587 p/km ²	Tamizado directo	355	(Eriksen et al., 2013)
	Lago Winnipeg, Canadá	193.420±115.567 p/km ²	Tamizado directo	250	(Anderson et al., 2017)
	Río Chicago, USA	730.341-6.698.264 p/km ²	Tamizado directo	330	(McCormick et al., 2014)
	Río San Gabriel, USA	0-337 p/m ³	Tamizado directo	1.000	(Moore et al., 2011)
	Lagos de la Patagonia, SA	0,9±0,6 p/m ³	Filtración directa	8	(Alfonso et al., 2020a)
	Río Chicago, USA	1,94-17,93 p/m ³	Tamizado directo	330	(McCormick et al., 2014)
	Arroyo Coyote, USA	7-74 p/m ³	Tamizado directo	1.000	(Moore et al., 2011)
	Río Los Ángeles, USA	22-12.932 p/m ³	Tamizado directo	1.000	(Moore et al., 2011)
	Lago La Salada, Argentina	143,3 ± 40,4 p/m ³	Filtración directa	8	(Alfonso et al., 2020b)

1.4.2. Microplásticos en ambientes de agua salada y salobre

Carpenter and Smith (1972) fueron los primeros autores en reportar la presencia de microplásticos en agua de mar. Ellos estimaron una concentración media de 3.500 partículas/km² en la zona oeste del mar de los Sargazos (cerca de Estados Unidos). Con este descubrimiento, los científicos intentaron alertar del problema que iba a suponer el uso masivo de plástico para el medioambiente. Actualmente, los microplásticos están distribuidos por todos los mares y océanos del mundo, y también abundan en numerosas playas (Auta et al., 2017; Cole et al., 2011; Guo and Wang, 2019; Hamid et al., 2018; Hidalgo-Ruz et al., 2012b; Kane and Clare, 2019). Los estudios sobre la presencia de microplásticos en medios de agua

salada son mucho más abundantes que aquellos de agua dulce, ya que ciertamente el depósito final de toda la basura que es vertida en tierra y en medios acuáticos continentales es el mar.

Al igual que ocurría con los medios de agua dulce, la mayor contaminación por MPs en medios de agua salada se produce en Asia. En las Tablas 1.15-1.17 se han recogido numerosos datos de concentración de MPs en playas, sedimentos marinos y aguas de mares, océanos y estuarios de todo el mundo, con el objetivo de ver los principales patrones de distribución de esta contaminación y los factores que le afectan.

En la Tabla 1.15 se presentan datos de toda Europa a excepción de España, que dispone de un plan propio para el seguimiento anual de las basuras marinas y será tratado posteriormente en otro apartado. La mayoría de estudios disponibles expresan las concentraciones en partículas/kg de sedimento o en partículas/m³ de agua. Con respecto al sedimento, cabe destacar la costa de Italia como una zona bastante contaminada, como es el caso de las Islas Eólicas, el Lagoon de Venecia o la zona de Lido di Dante. Con frecuencia, los microplásticos tienden a acumularse en zonas donde el agua tiene una escasa hidrodinámica, y por tanto un mayor tiempo de residencia. Además, en el caso del Lagoon, es una zona influenciada por los aportes de contaminación del río (Vianello et al., 2013). En general, la zona del Mediterráneo está más contaminada que las costas de Portugal, por ejemplo, o que las costas de Normandía o Dinamarca.

El primer estudio que reportó la presencia de partículas de plástico flotando en el Mediterráneo fue llevado a cabo por Morris (1980), quien determinó una concentración de 1.300 partículas/km² cerca de Malta, aunque no se trataba de microplásticos. Muchos años más tarde, un estudio realizado por Turner and Holmes (2011) en la misma zona afirmó la presencia de unas 1.000 partículas/m², esta vez correspondientes únicamente a microplásticos y en una concentración mucho mayor a la aportada por Morris (1980). Otro estudio más reciente (Cózar et al., 2015) afirmó que la concentración de partículas de plástico en la superficie del

Mediterráneo es de 243.853 por km². Esta concentración es mucho menor en la columna de agua (Cincinelli et al., 2019; Fossi et al., 2012; Xiong et al., 2019).

Las costas del Mediterráneo se caracterizan por presentar zonas de alta acumulación de contaminación, que no siempre está relacionada con la estacionalidad o con la distancia de la costa al punto de muestreo (Baini et al., 2018). Por el contrario, sí está más relacionada con la presencia de zonas industrializadas cerca o densamente pobladas (Schmidt et al., 2018). También es influyente la propia geografía del Mediterráneo. Se trata de un mar semi-cerrado que recibe aportes de agua del Atlántico y de numerosos grandes ríos, como el Ebro, el Nilo o el río Po, y que se caracteriza por poseer una gran variabilidad de corrientes (Mansui et al., 2015). Por último, otros factores como el viento, la salinidad o el biofouling también afectan a la presencia y concentración de MPs (Cincinelli et al., 2019).

Hay algunas excepciones, como el caso de Scapa Flow en Escocia o de Vik en Islandia, que presentan una contaminación mayor que muchas de las estaciones analizadas en el Mediterráneo. Vik es una ciudad situada en un entorno rural con una baja actividad antropogénica, por lo que la gran acumulación de microplásticos probablemente procede de las corrientes termohalinas del Atlántico Norte (Cózar et al., 2017). Por otro lado, en Scapa Flow la concentración de partículas parece estar determinada por las condiciones hidrográficas de la cuenca y la proximidad a actividades antropogénicas, como es el caso de la planta de tratamiento de aguas residuales que descarga cada día 750 m³ a la Bahía de Irlanda (Blumenröder et al., 2017).

En el caso de las muestras de agua, los estudios analizados corresponden a la zona del Mediterráneo y se muestran concentraciones más elevadas en torno a Italia, en el mar de Liguria, el mar de Cerdeña y el Golfo de Trieste. Estos datos se corresponden con los ya analizados en el sedimento para la zona del Mediterráneo.

Con respecto a las posibles diferencias ocasionadas por las técnicas de extracción de microplásticos, en todos los estudios de sedimentos se utilizó la separación por densidad y se puede observar, en líneas generales, que la

concentración aumenta conforme disminuye el tamaño de poro utilizado, lo cual sigue la lógica analizada en este capítulo. En el caso de las muestras de agua, al utilizar técnicas de filtración o tamizado directo, los límites de tamaño inferiores suelen ser más altos y eso puede estar también limitando la concentración de partículas que se documenta. En estos estudios se utilizan tamaños de poro similares que no influyen significativamente en las cantidades representadas.

En la Tabla 1.16 se presentan datos de concentración de MPs en Asia. En las muestras de sedimento destacan principalmente los estuarios de los ríos Perla y Nakdong, el primero situado en China y el segundo en Corea del Sur. De acuerdo con los autores del estudio (Fok and Cheung, 2015) el río Perla constituye un gran aporte de contaminación a las playas de Hong Kong, especialmente en la estación húmeda, además de que la zona muestreada se corresponde con un estuario, que favorece la deposición y el mantenimiento en el tiempo de las partículas, como ya se ha comentado anteriormente. También contribuye la proximidad a núcleos de población e intensas actividades costeras. Algo similar ocurre con el estuario del río Nakdong (Lee et al., 2013), cuyos aportes se ven influenciados por las intensas tormentas. Además, en esta zona destaca la existencia de una intensa acuicultura de ostras, que genera grandes cantidades de residuos de espuma de poliestireno, el principal componente encontrado entre los microplásticos.

Cabe destacar en Asia la abundancia de microplásticos en la Isla Vavvaru en las Maldivas, donde se han reportado hasta 1.600 partículas/m² de playa (Imhof et al., 2017), a pesar de tratarse de una isla poco poblada y aislada de actividades industriales y antropogénicas intensas. De acuerdo con los autores, el origen de esta contaminación podría estar en otras islas de las Maldivas cercanas a esta, donde el turismo es más intenso y frecuente. Los flujos de contaminación también pueden llegar hasta esta isla de otras zonas costeras del océano Índico. Concretamente, un estudio llevado a cabo por Eriksen et al. (2014) estimó la cantidad de microplásticos en aguas superficiales de dicho océano entre 7.000-8.000 partículas/km².

La mayoría de estudios que expresan las concentraciones en partículas/m² utilizan técnicas de extracción basadas en tamizado directo, con tamices que tienen tamaños de malla muy grandes, de 1.000-2.000 µm. Sin embargo, en la mayoría de estudios que expresan las concentraciones en partículas/kg de sedimento utilizan la separación por densidad como técnica preferente, aunque los filtros utilizados tienen un tamaño de poro bastante más grande que los utilizados en estudios de Europa, por ejemplo. Muchos de estos estudios asiáticos han seguido el método de extracción de Masura et al. (2015).

En el caso de muestras de agua, a pesar de que no había muchos estudios disponibles, destaca el estuario del río Yangtzé, en China. Aparte de las características ya mencionadas anteriormente sobre los estuarios y su relación con la contaminación, cabe señalar que este estudio es el único que utiliza un método de separación por densidad con ZnCl₂ frente a los otros tres estudios que realizan filtración directa con tamaños de poro más grandes. Esto puede influir en las cantidades de microplásticos obtenidas. Por otro lado, las concentraciones medias en mares abiertos también han sido medidas. El estudio de Isobe et al., (2015) proporcionó una estimación de 1,72 millones de partículas/km² que se encuentran flotando en mares del este asiático alrededor de Japón. Otro estudio llevado a cabo en el Pacífico noroeste (Pan et al., 2019) registró alrededor de 10.000 partículas/km².

En la Tabla 1.17, por último, aparecen los datos de concentraciones en medios de agua salada del continente americano. Con respecto a las muestras tomadas en sedimento, destacan las concentraciones de la Bahía Winyah y el Puerto Charleston, dos zonas estuarias que, a pesar de no estar rodeadas por una población muy densa, presentan concentraciones de MPs considerables. Los autores del estudio (Gray et al., 2018) mencionaron una mayor influencia de la geometría del estuario y el tiempo de residencia de las partículas en él, que de la influencia de la población. Además, este estudio toma muestras en sedimentos en diferentes zonas del estuario, y comprueba que en la zona intermareal es donde se produce la mayor acumulación, relacionada probablemente con un tiempo de residencia mayor, mientras que la superficie del estuario es donde menos

contaminación se encuentra, ya que ahí recibe el estuario su flujo diario de agua. En Bahía Guanabara, Brasil, las concentraciones obtenidas son incluso más altas, aunque presenta unas características similares a Bahía Winyah. Sin embargo, los autores (De Carvalho and Baptista Neto, 2016) atribuyeron una gran influencia a las marcadas diferencias climatológicas entre la estación seca y la estación húmeda en el país.

Por otro lado, Yu et al., (2018) realizaron un estudio muy amplio sobre la presencia de microplásticos en distintos espacios protegidos (Parques Naturales en su mayoría) a lo largo de la costa de Estados Unidos. El estudio finalmente atribuye la contaminación plástica en estos lugares a la presencia de grandes ríos cercanos que llevan aportes de aguas residuales procedentes de las ciudades, así como a la configuración de corrientes oceánicas que permiten que algunas partículas permanezcan estancadas mucho tiempo en un lugar. Por ejemplo, los microplásticos liberados en ciudades como Texas o Luisiana podrían permanecer mucho tiempo en el Golfo de México debido a la presencia de una corriente regional en remolino. Lo contrario ocurriría en ciudades como Florida o Carolina del Sur, cuyos microplásticos liberados seguirían la corriente del Golfo hacia el norte.

Con respecto a los datos obtenidos de muestras de agua, cabe destacar la presencia de microplásticos en lugares remotos como la cuenca central del océano Ártico. El estudio se hizo con muestras tomadas desde los 8 hasta los 4.400 metros de profundidad, y analiza el porqué de la presencia de microplásticos en toda la columna de agua. Finalmente, los autores llegaron a la conclusión de que se está produciendo un transporte vertical de partículas desde la superficie hacia el fondo (Kanhai et al., 2018). Este transporte puede producirse por varias razones, como el atrapamiento de microplásticos en los agregados de algas marinas, produciéndose además un aumento de la tasa de hundimiento de dichos agregados a causa de los microplásticos. Otra posibilidad es la incorporación de microplásticos a heces de zooplancton marino, que suelen ingerir estas partículas al confundirlas con comida, y posteriormente las excretan junto con las heces, formando una masa de alta densidad que tiende a hundirse (Cole, 2016). Por último, el biofouling puede

ser también otro de los factores que contribuye al transporte vertical de microplásticos en la columna de agua. Siguiendo el mismo fundamento de los otros dos, el biofouling consiste en la agrupación de pequeños organismos alrededor de otras partículas, como pueden ser los microplásticos, provocando un aumento de densidad de la partícula y su consecuente hundimiento en la columna de agua (Kaiser et al., 2017). Por otro lado, el estudio llevado a cabo por Desforges et al., (2014) también aportó concentraciones de MPs en aguas del océano Pacífico, pero haciendo solo referencia a aguas superficiales. Los autores postulan que la presencia de partículas en este caso se debe a la influencia de las actividades antropogénicas terrestres, el vertido de aguas residuales o la presencia de puertos cercanos.

En cuanto a posibles diferencias en las concentraciones de microplásticos derivadas de la metodología utilizada, en la Tabla 1.17 se observa que, tanto en muestras de sedimento como de agua, las metodologías utilizadas son similares, con una predominancia clara de la separación por densidad. También se cumple, salvo algunas excepciones, la tendencia de obtener una mayor concentración cuanto más pequeño es el tamaño de poro del filtro utilizado para la extracción de microplásticos. Las excepciones se producen en las muestras de agua y en la Isla de Pascua, cuya metodología utiliza tamices con luz de malla bastante grande. En estos lugares probablemente la contaminación sea realmente más elevada que la reportada por otros estudios, a pesar del tamaño de poro utilizado.

Por último, otro factor que condiciona la presencia o ausencia de microplásticos en medios de agua salada es la densidad propia de los polímeros y del agua, así como los cambios que se pueden producir sobre este parámetro. Los microplásticos tienen una densidad baja en general, lo que significa que la mayoría de ellos flota en la superficie del mar o en la columna de agua (Piperagkas et al., 2019). Algunos plásticos, como el PET o el PVC (policloruro de vinilo) tienen densidades superiores a las del agua salada y se hunden, acumulándose junto con los sedimentos, por lo que es también de interés el muestreo de fondos marinos, aunque no esté tan extendido como el muestreo de playas (Alomar et al., 2016; Suaria and Aliani, 2014). Sin embargo, la densidad de los microplásticos también

puede sufrir cambios cuando experimentan degradación por agentes externos o por organismos. Al igual que ocurría con el biofouling, algunos micro y macroorganismos pueden atrapar y modificar de alguna manera la estructura química de los microplásticos, alterando sus propiedades y su densidad y favoreciendo el transporte de dichas partículas hacia el fondo o hacia la superficie, o incluso posibilitando la formación de agregados con otros microplásticos o restos orgánicos.

Tabla 1.15. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Europa.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (μm)	Referencia
Sedimento	Fonte da Telha, Portugal	301,2 p/m ²	Separación por densidad	1	(Martins and Sobral, 2011)
	Cova de Alfarroba, Portugal	392,8 p/m ²	Separación por densidad	1	(Martins and Sobral, 2011)
	Costa portuguesa	454 \pm 1.908 p/m ²	Separación por densidad	1,2	(Antunes et al., 2018)
	Aguas costeras del Algarve, Portugal	0-262,8 p/kg	Separación por densidad	1	(Frias et al., 2016)
	Oporto, Portugal	140 \pm 26 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Costa norte de Túnez	141,2-461,25 p/kg	Separación por densidad	1	(Abidli et al., 2018)
	Normandía, Francia	143-156 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Islas Eólicas, Italia	151-678,7 p/kg	Separación por densidad	63	(Fastelli et al., 2016)
	Sicilia, Italia	160 \pm 31 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Fyns Hoved, Dinamarca	164 \pm 21 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Tel Aviv, Israel	168 \pm 16 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Pilion, Grecia	232 \pm 93 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Dikili, Turquía	248 \pm 47 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)

Tabla 1.15 (Continuación). Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Europa.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (µm)	Referencia
Sedimento	Lagoon de Venecia, Italia	672-2.175 p/kg	Separación por densidad	0,7	(Vianello et al., 2013)
	Klaipéda, Lituania	700±296 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Skapa Flow, Escocia	730-2.300 p/kg	Separación por densidad	0,7	(Blumenröder et al., 2017)
	Vik, Islandia	792±128 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
	Lido di Dante, Italia	1.512±187 p/kg	Separación por densidad	0,47	(Lots et al., 2017)
Agua	Mar de Mármara, Turquía	0,13±0,27 p/m ³	Tamizado directo	100	(Tunçer et al., 2018)
	Superficie del mar de Cerdeña	0,19-41,32 p/m ³	Filtración directa	200	(Fossi et al., 2012)
	Golfo de Trieste, Eslovenia	0,40-127,37 p/m ³	Tamizado directo	300	(Gajšt et al., 2016)
	Costa Mediterránea de Israel	0,94±2,55 p/m ³	Filtración directa	333	(Van der Hal et al., 2017)
	Superficie del mar de Liguria	12,63 p/m ³	Filtración directa	200	(Fossi et al., 2012)

Tabla 1.16. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Asia.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (µm)	Referencia
Sedimento	Estuario del río Perla, China	16-258.408 p/m ²	Separación por densidad	315	(Fok and Cheung, 2015)
	Isla Vavvaru, Maldivas	21-1.664 p/m ²	Tamizado directo	1.000	(Imhof et al., 2017)
	Isla Geoje, Corea del Sur	116-92.217 p/m ²	Tamizado directo	2.000	(Heo et al., 2013)
	Playa Heungnam, Corea del Sur	473-976 p/m ²	Tamizado directo	2.000	(Heo et al., 2013)
	Estuario del río Nakdong, Corea del Sur	8.205,4-27.606,4 p/m ²	Tamizado directo	1.000	(Lee et al., 2013)
	Estrecho de Hormuz, Golfo Pérsico (Irán)	2-1.258 p/kg	Fluidización + separación por densidad	0,45	(Naji et al., 2017)

Tabla 1.16 (Continuación). Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en Asia.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (μm)	Referencia
Sedimento	Costa del mar Caspio, Irán	25-330 p/kg	Separación por densidad	2	(Mehdinia et al., 2020)
	Mar Amarillo, China	37,1 \pm 42.7 p/kg	Separación por densidad	30	(Zhu et al., 2018)
	Arrecifes de coral en Hong Kong, China	171,7-223 p/kg	Separación por densidad	300	(Cheang et al., 2018)
	Mar de Java, Indonesia	206,04-896,96 p/kg	Separación por densidad	300	(Yona et al., 2019)
	Isla Khark, Golfo Pérsico (Irán)	295-1.085 p/kg	Separación por densidad	2	(Akhbarizadeh et al., 2017)
	Región noroeste de Hong Kong, China	1.226-2.116 p/kg	Separación por densidad	250	(Lo et al., 2018)
	Bahía Xiangshan, China	1.739 \pm 2.153 p/kg	Separación por densidad	1	(Chen et al., 2018)
Agua	Mar de Japón	3,74 \pm 10.40	Filtración directa	350	(Isobe et al., 2015)
	Bahía Xiangshan, China	8,9 \pm 4,7	Filtración directa	1	(Chen et al., 2018)
	Mar Amarillo, China	545 \pm 282	Filtración directa	30	(Zhu et al., 2018)
	Estuario del río Yangtzé, China	4.137,3 \pm 2.461,5	Separación por densidad	1,2	(Zhao et al., 2014)

Tabla 1.17. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y aguas de medios de agua salada en América.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (µm)	Referencia
Sedimento	Costa de Chile	1-169 p/m ²	Tamizado directo	1.000	(Hidalgo-Ruz and Thiel, 2013)
	Bahía Guanabara, Brasil	12-1.300 p/m ²	Separación por densidad	1,2	(De Carvalho and Baptista Neto, 2016)
	Bahía Winyah, Carolina del Sur, USA	221,0 ± 25,6 p/m ²	Separación por densidad	62	(Gray et al., 2018)
	Puerto Charleston, Carolina del Sur, USA	413,8 ± 76,7 p/m ²	Separación por densidad	62	(Gray et al., 2018)
	Isla de Pascua	805±320,1 p/m ²	Tamizado directo	1.000	(Hidalgo-Ruz and Thiel, 2013)
	Bahía Huatulco, México	66,7-2.300 p/kg	Separación por densidad	1,2	(Retama et al., 2016)
	Parque Nacional Cumberland Island, Georgia, USA	123-196 p/kg	Separación por densidad	1,0	(Yu et al., 2018)
	Parque Nacional Canaveral, Florida, USA	123-196 p/kg	Separación por densidad	1,0	(Yu et al., 2018)
	Islas Antillas	130-311 p/kg	Separación por densidad	0,45	(Bosker et al., 2018)
	Parque Nacional Gulf Islands, Florida, USA	253-443 p/kg	Separación por densidad	1,0	(Yu et al., 2018)
	Forts Sumter y Pulaski, Carolina del Norte, USA	306-443 p/kg	Separación por densidad	1,0	(Yu et al., 2018)
	Parque Nacional Padre Island, Texas, USA	306-443 p/kg	Separación por densidad	1,0	(Yu et al., 2018)
	Isla Fisherman y Refugio Natural Back Bay, Virginia, USA	596-1.325 p/kg	Separación por densidad	0,22	(Dodson et al., 2020)

Tabla 1.17 (Continuación). Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos y agua de medios de agua salada en América.

Tipo de muestra	Localización	Concentración MPs	Método de extracción	Tamaño de poro del filtro (µm)	Referencia
Sedimento	Outer Banks y Cape Hatteras, Carolina del Norte, USA	1.351-2.224 p/kg	Separación por densidad	0,22	(Dodson et al., 2020)
	Nova Scotia, Canadá	2.000-8.000 p/kg	Separación por densidad	0,8	(Mathalon and Hill, 2014)
Agua	Cuenca del océano Ártico	0-7,5 p/m ³	Filtración directa	1,2	(Kanhai et al., 2018)
	Costa de British Columbia, Canadá	8,51-9.180 p/m ³	Tamizado directo	62,5	(Desforges et al., 2014)
	Océano Pacífico (NE)	279 ± 178 p/m ³	Tamizado directo	62,5	(Desforges et al., 2014)

1.4.3. Microplásticos en ambientes de agua salada en España

Existen algunos artículos publicados que demuestran la presencia de microplásticos en playas y diversas zonas costeras de España, destacando principalmente las islas Canarias y Baleares, el delta del río Ebro y la manga del mar Menor. Además, estos estudios cada vez más abundantes apoyan y complementan el trabajo realizado por el CEDEX (Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas) para el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. España cuenta, desde el año 2013, con una serie de programas para el seguimiento del estado del medio marino, que incluye un control de las basuras marinas tanto en playas como en aguas superficiales y fondos marinos, así como de basuras ingeridas por distintos tipos de organismos y un subprograma específico sobre microplásticos en playas.

El llamado Programa de Seguimiento de micropartículas en playas (enmarcado dentro del programa completo con el nombre de subprograma BM-6) incluye la toma de muestras de sedimentos de playa y posteriores determinaciones realizadas en laboratorio. Este programa lleva en marcha desde el año 2016 y emite un informe anual en el que actualiza la contaminación presente en las playas elegidas. La mayoría de las playas en las que se realiza este seguimiento se eligieron en la primera fase, en base a dos aspectos: facilitar la logística de la

operación de muestreo y poder determinar con el paso de los años si existe una correlación en la cantidad y tipo de microplásticos encontrados, así como de otras basuras. Con el paso del tiempo, se han ido haciendo comprobaciones para incluir otras playas en el programa o sustituir unas por otras. Las playas en las que se realizó en 2019 el seguimiento fueron las que se muestran en la Tabla 1.18 (CEDEX, 2019). La columna designada como demarcación marina hace referencia a la zona costera del país en que se encuentra la playa.

Tabla 1.18. Playas españolas incluidas en el Programa de Seguimiento de micropartículas en playas en el año 2019. Fuente: CEDEX, (2019).

Demarcación marina	Provincia	Nombre de playa y abreviatura
Noratlántica	Cantabria	Oyambre (OYA)
Noratlántica	Lugo	Covas (COV)
Noratlántica	Pontevedra	Rodas (ROD)
Noratlántica	Gipuzkoa	Itzurun (ITZ)
Sudatlántica	Cádiz	Castilnovo (CAS)
Sudatlántica	Huelva	Doñana (DOÑ)
Estrecho y Alborán	Granada	Las Azucenas (AZU)
Estrecho y Alborán	Almería	San Miguel de Cabo de Gata
Levantino-Balear	Murcia	La Llana (LLA)
Levantino-Balear	Valencia	Marenys (MAR)
Levantino-Balear	Barcelona	Cal Francés (CFR)
Levantino-Balear	Tarragona	La Pineda (PIN)
Canaria	Lanzarote	Famara (FAM)
Canaria	Las Palmas	Lambra (LAM)

Las campañas de muestreo se realizan en primavera y en otoño, con el objetivo de ver diferencias debido a la estacionalidad. El procedimiento de muestreo que se emplea en estas playas consiste en tomar porciones del primer centímetro de arena situadas dentro de un cuadrado de 50x50 cm, que se va moviendo a lo largo de un transecto de 100 m de longitud en la playa. Concretamente, el transecto coincide con la línea de la última pleamar.

En el laboratorio, el tratamiento de las muestras consiste en un primer tamizado a través de 5 mm para quedarse solo con la muestra que tiene tamaño microplástico. A continuación, se realiza un segundo tamizado a través de 1 mm. Ambas fracciones (entre 1-5 mm y <1 mm) son sometidas a separación por

densidad con una solución saturada de NaCl. El sobrenadante es filtrado por membrana y se procede por último a realizar una tinción con el pigmento Rojo de Nilo. El último paso de este procedimiento, al igual que en la mayoría de estudios de este tipo, consiste en la inspección por estereo-microscopía (con luz azul de longitud de onda comprendida entre 450 y 510 nm y filtro naranja de 529 nm) haciendo recuento de partículas y clasificando por tamaños, colores y formas. La clasificación por tamaños va desde aquellos <200 μm hasta 4-5 mm, mientras que la cantidad de micropartículas detectada se expresa en función de la masa (partículas/kg de sedimento seco) o por unidad de superficie (partículas/m² de playa).

Los resultados obtenidos para cada playa se presentan en la Tabla 1.19. Como se puede observar, existen diferencias significativas en algunas playas entre las campañas de primavera y otoño. En primavera, las playas que mostraron mayor contaminación fueron Lambra, Famara y San Miguel, mientras que en otoño las concentraciones de MPs para Lambra seguían siendo muy altas, pero destacaron también las playas de Cal Francés y Marenys. En algunas playas se produce un aumento significativo del número de partículas en otoño, como es el caso de Covas, San Miguel, Cal Francés y Marenys. En otras playas se produce el efecto contrario, como es el caso de Rodas, en la que no se encontró ninguna partícula durante la campaña de otoño, Las Azucenas y Famara. En territorio español, la más contaminada fue la demarcación Canaria, mientras que en la península fue Estrecho y Alborán, en líneas generales.

El informe anual del CEDEX no ahonda demasiado en las posibles causas de esta distribución de la contaminación en distintas zonas del territorio español y en distintas estaciones del año. Sí realiza estudios estadísticos para ver la relación entre la granulometría del sedimento y la materia orgánica, y la cantidad de partículas encontradas. Sin embargo, las conclusiones finales a las que llega es que no existe una relación clara entre ambos parámetros. La información aportada por el CEDEX se puede complementar con otros artículos publicados para zonas costeras de España, aunque dichos estudios están limitados a las demarcaciones Canaria y Levantino-Balear, principalmente.

En el caso de las islas Canarias, Herrera et al., (2018) llevaron a cabo un estudio en las playas de Lambra, Famara y Las Canteras. Reportaron concentraciones medias de microplásticos (entre 1-5 mm, utilizando el método de separación por densidad) de 1.657,6, 875,5 y 430,8 partículas/m² en las tres playas, respectivamente, un dato que concuerda bastante con el aportado por el CEDEX. Igualmente, los autores detectaron una mayor concentración de microplásticos en otoño en la playa de Lambra y en primavera-verano en las playas de Famara y Las Canteras. Cuando analizaron los posibles factores que pueden influir en esta distribución de la contaminación, encontraron que las concentraciones más altas de microplásticos en Lambra están asociadas a períodos de fuertes vientos y oleajes, mientras que en Famara solo influye el fuerte oleaje. Otro aspecto importante de la contaminación plástica en Canarias es que no es contaminación local, sino que llega a las playas a través de la Corriente Canaria y el giro oceánico del Atlántico Norte. Otro estudio (Álvarez-Hernández et al., 2019) analizó siete playas de Tenerife, encontrando concentraciones de microplásticos mucho menores que las reportadas por el CEDEX y Herrera et al., (2018) en playas más orientales de las islas, a pesar de utilizar el mismo método de extracción y clasificar en los mismos tamaños (entre 1-5 mm). Concretamente, las concentraciones varían entre 2,0 y 115,5 partículas/m² en playas que se limpian periódicamente porque son consideradas aptas para el turismo. Por otro lado, al medir la concentración de MPs en Playa Grande, una playa considerada como no apta para el baño y que no se limpia, se encontraron hasta 2.971,5 partículas/m². Los autores asocian esta diferencia en la contaminación entre playas de Tenerife y las otras analizadas por Herrera et al., (2018) en el complejo sistema de corrientes oceánicas de Canarias, que pueden promover el desplazamiento de las partículas hacia la parte sureste de las islas.

Por otro lado, en la demarcación Levantino-Balear, Bayo et al., (2019) realizaron un estudio sobre la presencia de microplásticos a lo largo de la costa del mar Menor, una zona gravemente afectada por un intenso urbanismo y turismo. Utilizaron la técnica de separación por densidad junto con un papel de filtro de 0,45 µm. Los resultados del estudio revelaron concentraciones de MPs que varían

desde 8,2 hasta 166,3 partículas/kg de sedimento, con mayores concentraciones en muestras recogidas en la zona intermareal. Los autores tampoco encontraron una relación estadísticamente significativa entre el tamaño de grano del sedimento y la concentración hallada de microplásticos, aunque sí atribuyen las variaciones a otros factores propios del mar Mediterráneo, como las corrientes de convección, los cambios en el nivel del mar o variaciones atmosféricas. Al tratarse de un lagoon, las características geomorfológicas y los factores marítimos y climatológicos que le afectan son diferentes a los de playas abiertas, pero como ocurre en muchos otros estudios, finalmente se ve una tendencia a encontrar mayores concentraciones de MPs en zonas de importante escorrentía de agua, turismo intenso o actividades pesqueras.

Otro estudio realizado en playas de las islas de Mallorca y Cabrera (Alomar et al., 2016), encontró concentraciones comprendidas entre 100-900 partículas/kg de sedimento, utilizando un método de tamizado hasta 63 μm seguido de una separación por densidad. Según los autores, a pesar de que cabría esperar concentraciones mayores en áreas densamente pobladas y turísticas, lo cierto es que las mayores cantidades de microplásticos (244,01 y 897,35 partículas/kg) se localizan en zonas vírgenes más alejadas y controladas por las autoridades locales. Esto sugiere que puede existir un transporte de partículas desde zonas distantes a otras zonas de deposición. Además, los autores afirman que son zonas con complejas condiciones hidrodinámicas, dominadas por la corriente termohalina Almería-Orán, y en las que se suelen apreciar macroplásticos flotando en el agua.

Por último, el estudio realizado por Simon-Sánchez et al., (2019) se centra en estudiar la contaminación por microplásticos en el estuario del río Ebro obteniendo, como cabría esperar, concentraciones mucho mayores a las expuestas por los otros estudios y por el propio CEDEX en algunos casos. Concretamente, se obtuvo una media de 422 ± 119 MPs/kg en muestras de arena de playa, y una media de 2.052 ± 746 MPs/kg en muestras del lecho del río. El método utilizado fue también separación por densidad, junto con papel de filtro de 0,7 μm . En comparación con estuarios de otros lugares del mundo, como el del río Perla o el río Nakdong en China, son concentraciones intermedias-bajas, aunque estas

diferencias pueden deberse también a las técnicas utilizadas para extracción e identificación de MPs. El estuario del río Ebro se caracteriza por presentar una estratificación de aguas muy clara, con una capa de agua dulce de 1-3 metros de profundidad y una cuña salina justo debajo, que puede extenderse hasta 30 km mar adentro. Esta cuña salina podría estar provocando el hundimiento de los MPs y atrapándolos en el sedimento del lecho del río. Con respecto al sedimento de las playas, los autores atribuyen la concentración de MPs a la descarga continua del río, que va provocando su acumulación, ya que el río se encuentra cerca de zonas urbanas donde puede producirse vertido, así como de algunas estaciones de tratamiento de aguas residuales.

Para concluir, dado que el estudio del CEDEX es muy amplio y conciso en resultados, se va a incluir aquí una breve reseña a las principales clases de tamaños y morfologías presentes en los microplásticos encontrados en las playas españolas. Como se ha explicado anteriormente en la metodología de muestreo empleada, los microplásticos se han separado preferentemente en dos clases de tamaño: entre 1-5 mm e inferiores a 1 mm. Las técnicas de identificación posteriores permitieron bajar el rango de tamaño detectable hasta las 200 micras. Por tanto, el estudio se centra en cuantificar, para cada playa, la proporción de MPs entre 1-5 mm y entre 0,2-1 mm tanto en otoño como en primavera. En la Figura 1.7 se presentan los resultados obtenidos para todas las playas excepto Lambra, ya que las cantidades de microplásticos obtenidas aquí fueron mucho mayores que en cualquier otra playa y no permitía una correcta visualización de los datos en el gráfico. La playa de Lambra obtuvo en primavera 759,89 MPs comprendidos entre 0,2-1 mm y 121,4 MPs entre 1-5 mm. En otoño la cantidad de MPs fue menor y se encontraron 170,9 MPs comprendidos entre 0,2-1 mm y 23,02 MPs entre 1-5 mm.

En todas las playas, excepto en Itzurun y en La Pineda en la campaña de primavera, son más abundantes los microplásticos de tamaño inferior a 1 mm, dato que coincide con lo aportado por otros muchos estudios tanto en medios de agua salada como de agua dulce. De acuerdo con Kooi and Koelmans (2019), la distribución más común y probable de tamaños de microplásticos en los estudios realizados suele estar entre 20 μ m y 5 mm, existiendo una relación inversa entre el

tamaño de partícula y la concentración, lo que quiere decir que cuanto más aumenta el tamaño más disminuye la concentración. Además, apunta que el tamaño de los MPs no solo depende de la fragmentación, sino de las emisiones de MPs añadidos intencionadamente.

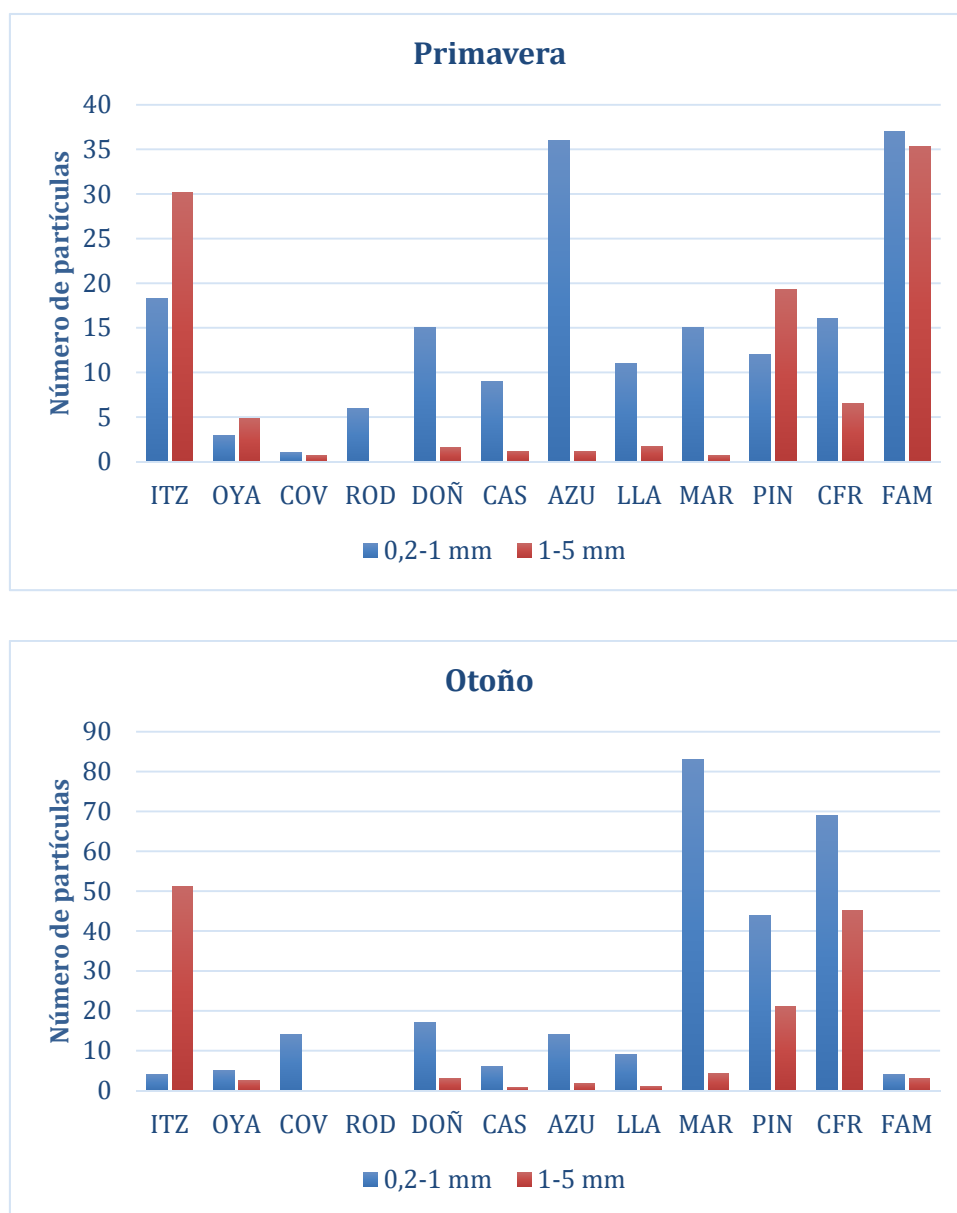


Figura 1.7. Número de microplásticos clasificados por tamaños en las distintas playas españolas en primavera y en otoño. Fuente: Modificada de CEDEX, (2019).

Finalmente, con respecto a las formas más comunes de MPs encontradas en las playas de España, la Figura 1.8 muestra algunas diferencias entre las campañas de otoño y primavera. En primavera hay una clara predominancia de pellets pre-

producción, cuyas características de vertido ya se explicaron en el apartado 1.2.1.3, seguidos por los fragmentos. En la campaña de otoño, por el contrario, está más igualada la cantidad de pellets y de fragmentos, seguidos muy de cerca por las partículas de poliespán (conocido técnicamente como poliestireno expandido (EPS)). Prácticamente insignificante fue la cantidad de partículas de gomaespuma (1-2%), conocida formalmente como espuma de poliuretano.

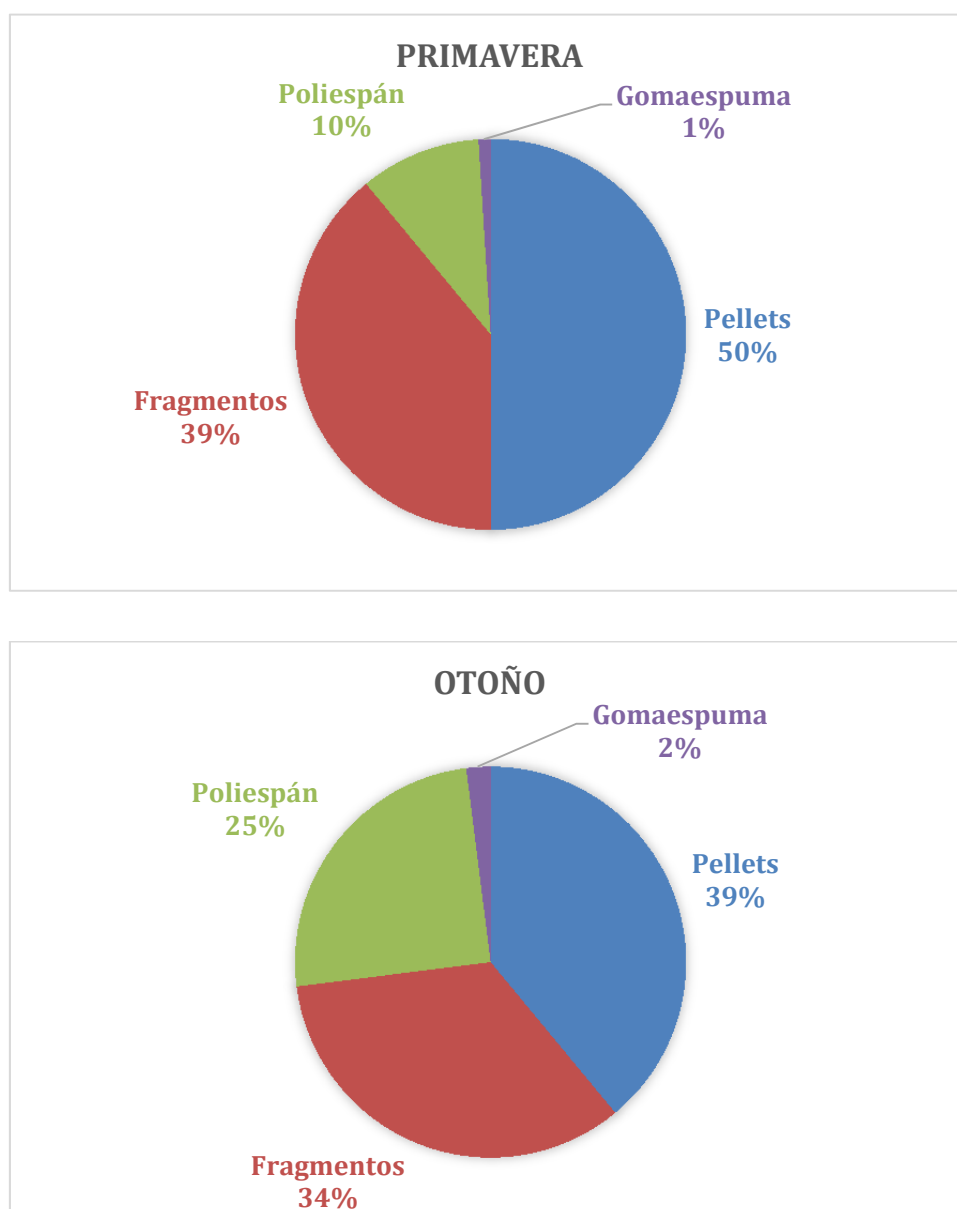


Figura 1.8. Distribución de los microplásticos encontrados en playas españolas por morfología y estación del año. Fuente: Modificada de CEDEX, (2019).

Tabla 1.19. Concentración de microplásticos encontrados en sedimentos de playas de España. Fuente: CEDEX, (2019).

Demarcación marina	Playa	Primavera		Otoño	
		Partículas/m ²	Partículas/kg	Partículas/m ²	Partículas/kg
Noratlántica	Oyambre	75,26	7,89	73,71	7,50
Noratlántica	Covas	12,61	1,70	120,9	14,00
Noratlántica	Rodas	71,67	6,00	0,00	0,00
Noratlántica	Itzurun	494,5	48,51	554,2	55,32
Sudatlántica	Castilnovo	89,38	10,18	82,49	6,82
Sudatlántica	Doñana	146,9	16,54	199,7	20,00
Estrecho y Alborán	Las Azucenas	429,6	37,19	158,9	15,65
Estrecho y Alborán	San Miguel Cabo de Gata	810,2	71,03	972,6	79,99
Levantino-Balear	La Llana	86,00	12,73	113,99	10,02
Levantino-Balear	Marenys	225,5	15,66	1.135,7	87,17
Levantino-Balear	La Pineda	337,4	31,26	457,8	65,08
Levantino-Balear	Cal Francés	285,9	22,51	1.049,8	114,1
Canaria	Famara	818,9	72,29	67,40	7,17
Canaria	Lambra	8.861,1	881,3	1.968,2	194,0

1.5. Técnicas de muestreo, extracción y caracterización de microplásticos

La mayoría de estudios disponibles sobre cuantificación y caracterización de microplásticos en el medioambiente se centran en el muestreo de sedimentos de playa y de la superficie del agua, mientras que unos pocos muestrean sedimentos de fondo y de la columna de agua. El principal inconveniente que se encuentran estos estudios a la hora de ser realizados es la ausencia de un protocolo estandarizado de control de calidad, que incluya un protocolo de muestreo, protocolo de análisis, validación de las técnicas utilizadas, etc. (MSFD, 2013). El MSFD Technical Subgroup on Marine Litter y la NOAA presentaron en 2013 y

2015, respectivamente, algunos protocolos estandarizados para muestreo, caracterización y cuantificación de microplásticos, aunque aún quedan muchas incógnitas por resolver y estos procedimientos siguen dependiendo de los medios disponibles por el equipo de investigación que realiza el estudio.

1.5.1. Técnicas de muestreo

El muestreo en los principales compartimentos ambientales mencionados (sedimento de playa o de fondo, superficie o columna de agua) se ha abordado mediante diversos métodos, considerando que las muestras pueden ser selectivas, a gran escala o pre-tratadas para reducir su volumen (Hidalgo-Ruz et al., 2012a):

- Muestreo selectivo: consiste en la extracción directa de las partículas de plástico que son reconocibles a simple vista y que normalmente se encuentran en la superficie de los sedimentos. Por tanto, son partículas que tienen un tamaño comprendido entre 1-5 mm y que son fácilmente identificables por su forma o color. Es un tipo de muestreo apto si se quieren identificar pellets, por ejemplo, pero no puede utilizarse para detectar una gran variedad de formas o tamaños.
- Muestreo a gran escala: consiste en recoger grandes cantidades de agua o sedimento sin reducir su volumen durante el muestreo. Esto hace que el muestreo sea más rápido y permite cuantificar la concentración de microplásticos, incluso para partículas que no son visibles a simple vista. Además, con este método se puede detectar una gran cantidad de formas y tamaños.
- Muestreo a gran escala con reducción de volumen: es igual que el procedimiento anterior, pero solo se analiza una parte de la muestra.

Por otro lado, el Grupo MSFD recomienda realizar un muestreo repetido a lo largo del tiempo junto con otras campañas de monitorización de basura marina o macroplásticos, ya que ello permitiría alcanzar una mayor eficiencia tanto en la cuantificación como en estudiar las relaciones espacio-tiempo de los microplásticos.

A continuación, se detallan las principales técnicas de muestreo disponibles para los principales compartimentos ambientales.

- Técnicas de muestreo en sedimentos de playa

El muestreo en sedimentos de playa es muy amplio y depende de numerosos factores: la zona de muestreo, el tipo de sedimento que se quiera muestrear (en playa o en fondos de ríos y mares principalmente), el objetivo a conseguir (sobre todo en lo relativo a estudiar el efecto toxicológico de los microplásticos en los organismos), los medios técnicos y económicos del equipo de investigación, entre otros. Además, es importante definir una serie de premisas antes de realizar el muestreo para asegurar que se obtienen datos representativos y ajustados a los objetivos del estudio, entre los que destacan la profundidad a la que se va a tomar la muestra y la cantidad de muestra por cada punto a tomar (Prata et al., 2019a). Por tanto, son numerosas las metodologías utilizadas por los estudios publicados para tomar muestras en sedimentos.

En primer lugar, la zona de muestreo tiene una gran influencia en los resultados que se van a obtener después, ya que no es lo mismo muestrear en una zona de descarga de aguas residuales procedentes de una planta de tratamiento que, en un estuario o delta, en las proximidades de un núcleo urbano o industrial importante o en un lugar aparentemente alejado de actividad antropogénica pero afectado por corrientes marinas o vientos intensos (Hanvey et al., 2017). Este estudio realiza una extensa revisión sobre metodologías de muestreo y caracterización de MPs en sedimentos de todo el mundo. La mayoría de artículos analizados aquí aporta información sobre el número de playas y el número de muestras tomadas, aunque algunos no lo hacen. El número de muestras tomadas varía desde 2 hasta 30, datos que coinciden también con los aportados por Hidalgo-Ruz et al., (2012a) en su revisión. Igualmente, la zona muestreada de la playa también varía considerablemente entre estudios, habiendo algunos que muestrean desde la zona de rompiente de olas hasta la zona supralitoral, mientras que otros solo muestrean una parte de la zona litoral, o toman muestras agrupadas de diferentes zonas. Por otro lado, hay que tener en cuenta también el tamaño de

grano del sedimento, ya que puede ser mucho más dificultoso y obtener menos cantidad de partículas pequeñas (por debajo de 0,25 mm) en un lugar con sedimento grueso que en una playa de arena fina. Los sedimentos con mayor proporción de fracción fina tienden a ser más cohesivos y permiten que los microplásticos residan en su interior más tiempo (Gimiliani et al., 2020).

Existe un método más o menos estandarizado (aunque siempre con variaciones según el equipo de investigación que lo realiza) para muestrear sedimentos en playas, que se resume de forma muy clara y concisa en el artículo de Besley et al., (2017) y que se puede complementar con el protocolo desarrollado por el proyecto BASEMAN (Frias et al., 2018) (Figura 1.9). Estos autores dividen las etapas importantes del muestreo en tres:

- Tamaño de muestra por cada transecto de 100 metros: afirman que lo ideal es tomar muestras a lo largo de una línea de 100 metros de longitud en cada parte de la playa que se vaya a muestrear. De acuerdo con Frias et al., (2018) lo ideal es muestrear entre la línea de marea baja y la línea de marea alta del verano (aunque esta no siempre es visible en la orilla). Con respecto al tamaño de muestra, entre 3 y 5 muestras es el mínimo necesario, aunque esta cantidad aumenta hasta 11 si se quiere alcanzar un nivel de fiabilidad del 90%, lo cual es altamente recomendable. Si se quiere aumentar este nivel hasta el 99%, lo ideal es tomar 22 muestras.
- Profundidad de muestra: a través de análisis estadísticos, los autores concluyen que lo ideal es tomar muestras entre 1-5 cm de profundidad, donde probablemente se van a encontrar mayores cantidades de microplásticos. No recomiendan muestrear a profundidades de 10 cm o superiores.
- Localizaciones de muestreo: se suele muestrear en distintas zonas de la playa que van desde la línea de rompiente de olas hasta la zona supralitoral (cercana a las dunas o al paseo marítimo, si se trata de una zona altamente urbanizada). Los autores no encontraron diferencias significativas entre localizaciones de muestreo, por lo que lo ideal sería muestrear en todas si es posible.

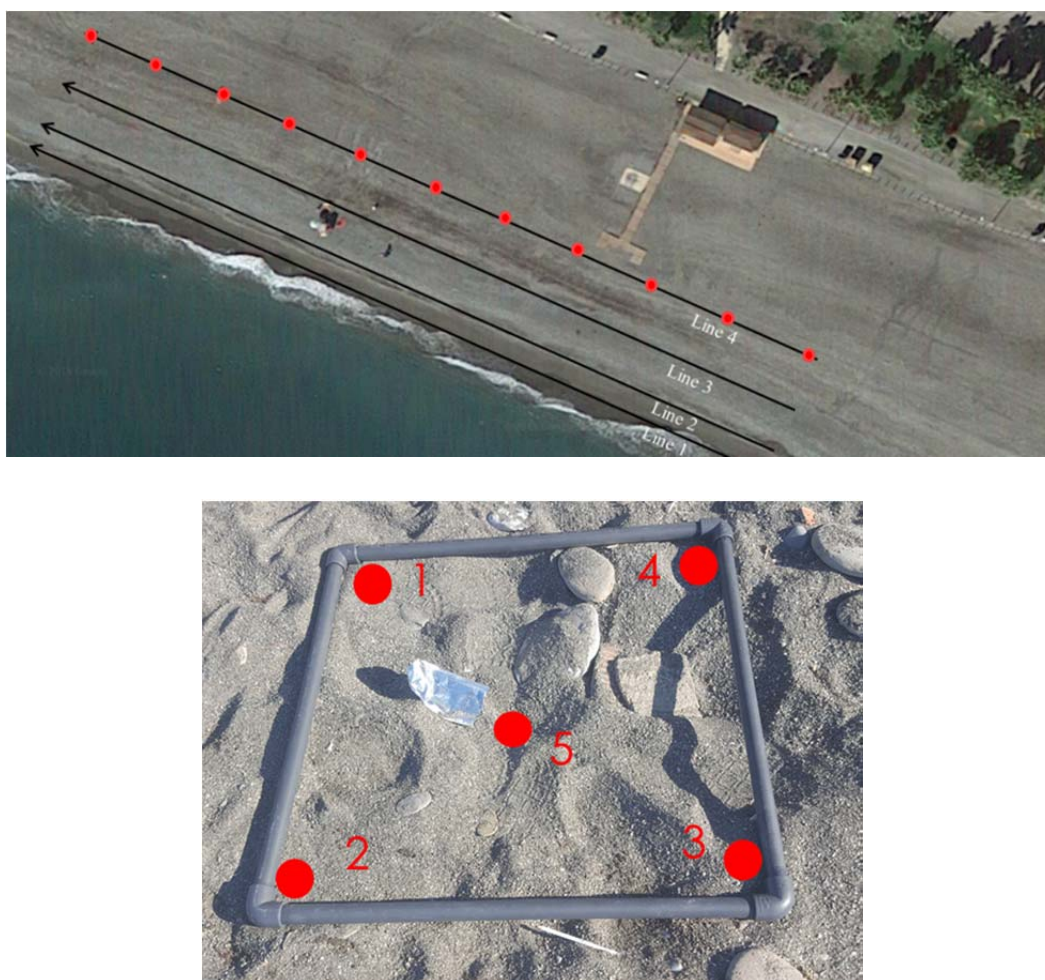


Figura 1.9. Procedimiento de muestreo estandarizado en sedimentos de playa. Fuente: Elaboración propia.

MSFD (2013) recomienda tomar muestras separadas para identificar dos fracciones de microplásticos, entre 1-5 mm y entre 20 μm -1 mm. Este procedimiento requiere un tamizado in situ del sedimento para separar la fracción inferior a 5 mm y quedarse únicamente con ella. Para obtener la otra fracción, el sedimento debe ser después analizado en laboratorio mediante otros procedimientos de extracción. Además, sugieren tomar un mínimo de 5 réplicas separadas al menos 5 metros entre sí, y que puedan estar distribuidas de manera aleatoria para tener un muestreo representativo de la playa entera o de una sección concreta de ella.

Para tomar las muestras es aconsejable disponer de un cuadrado de madera o material no plástico de 50x50 cm y tomar una muestra en cada vértice y otra en

el centro (en total, cinco sub-muestras respetando la profundidad mencionada anteriormente) (Stock et al., 2019). Para coger las muestras, lo ideal es utilizar una cucharilla metálica o un pequeño vaso de vidrio, mientras que para almacenar las muestras siempre se debe disponer de recipientes metálicos o de aluminio que se cierren lo más herméticamente posible, evitando utensilios de plástico para no contaminar las muestras (Prata et al., 2019a). Por último, la cantidad de muestra tomada varía mucho entre estudios y este factor también puede afectar a la representatividad. Lo ideal es expresar las cantidades de muestra en kg de sedimento seco para evitar variaciones relacionadas con la humedad. Masura et al., (2015) recomienda utilizar 400 gramos para analizar en laboratorio, aunque hay estudios que analizan desde 200 hasta 500 gramos o incluso 10 kg (Stock et al., 2019).

- Técnicas de muestreo en sedimentos de fondo

La toma de muestras en sedimentos del fondo marino o del fondo de ríos requiere disponer de una embarcación y el uso de equipos especializados que puedan bajar a ciertas profundidades y tomar muestras sin ocasionar alteraciones en el medio. Hay cuatro técnicas básicas de muestreo, que son las más utilizadas en los estudios realizados hasta la fecha (Frias et al., 2018; He et al., 2020; Project Oceanography, 2002):

- Muestreadores de agarre: son similares a pinzas metálicas gigantes que excavan en el fondo del sedimento y lo atrapan entre ambos brazos de la pinza. Estos muestreadores son buenos para recoger sedimentos más suaves, arenosos o limosos que no contienen rocas.
- Muestreadores de núcleo: compuestos por una caja con un extractor de núcleo en su interior, que al impactar contra el fondo marino se despliega y extrae una muestra del sedimento a cierta profundidad. Al subir, una pala metálica situada por debajo impide que se pierda muestra.
- Muestreadores de dragado: las dragas se componen de una bolsa metálica con una gran abertura en forma de mandíbula de metal, que va recogiendo muestra de sedimento en el interior de la bolsa. El equipo de dragado se

baja hasta el fondo con un cable y se arrastra por el sedimento durante cierta distancia antes de ser llevado a la superficie.

- Vehículos monitorizados a distancia: recogen sedimentos del fondo gracias a un tubo de plástico que es empujado hacia el sedimento por el brazo mecánico o hidráulico del vehículo. La muestra recogida se coloca en un cubo en la parte delantera del vehículo y se transporta de vuelta al barco. La principal ventaja de este método es que el investigador que controla al vehículo puede ver exactamente el lugar donde se toma la muestra.

Los más comunes son los muestreadores de agarre y de núcleo, dentro de los cuales destacan los muestreadores Van Veen y las llamadas “box corer”. Esta última herramienta es la más recomendada ya que tiene un impacto mínimo sobre la superficie del fondo y mantiene la integridad del sedimento, permitiendo después un mejor estudio de los microplásticos disponibles. Además, permite calcular más fácilmente el volumen de sedimento recogido (GESAMP, 2019).

Frias et al., (2018) aconsejan tomar las muestras de forma aleatoria, recogiendo al menos 6 muestras por punto de muestreo. Las muestras deben ser recogidas en diferentes tipos de sedimento, para permitir la comparación entre estudios, aunque se aconseja que la profundidad de muestreo sea de 5 cm, la misma que para el muestreo en sedimentos de playa. En los estudios disponibles, este dato no siempre se proporciona y en los que aparece, es variable y se encuentran desde 1 hasta 10 cm de profundidad (Cheang et al., 2018; Simon-Sánchez et al., 2019; Strand et al., 2019; Van Cauwenberghe et al., 2013).

Se debe evitar tomar muestras cerca de los bordes del equipo, para evitar contaminación por parte del mismo. Por otra parte, lo ideal es homogeneizar la cantidad de muestra a 250 ml para que sea representativo de los 5 primeros centímetros del sedimento. Debido a que la cantidad de agua contenida en el sedimento puede variar considerablemente por el propio tipo de sedimento, se recomienda estandarizar la toma de muestras por volumen en lugar de por masa (MSFD, 2013). Por último, se aconseja que las muestras sean guardadas en

recipientes no plásticos y, si no van a ser procesadas en los días siguientes al muestreo, congelarlas a -20°C .

Como ya se ha comentado en el apartado anterior, la toma de muestras está a menudo influenciada por las posibilidades económicas y de material del equipo de investigación que realiza el estudio. Por tanto, estas metodologías descritas pueden ser variables, como es el caso de algunos estudios (Cheang et al., 2018) en los que el muestreo se realiza a mano por buceadores expertos, u otros casos en los que se utilizan metodologías más complejas y costosas (He et al., 2020).

- Técnicas de muestreo en agua

La distribución de los microplásticos en aguas superficiales o en la columna de agua depende, como se ha visto en el capítulo anterior, de numerosas condiciones del medio, como la presencia de vientos, corrientes, oleaje, así como de algunas propiedades de los microplásticos en sí, como puede ser su densidad, la formación de biofouling a su alrededor o la adsorción de contaminantes que modifican su estructura. Por tanto, el muestreo de agua para análisis de microplásticos debe estar muy bien definido en términos de profundidad de muestreo, localización de las muestras, salinidad del medio y volumen de agua muestreado (Prata et al., 2019a).

Para muestrear en aguas superficiales suelen utilizarse las llamadas redes Neuston o redes manta, nombre que reciben por la forma similar al animal cuando se encuentran bajo el agua (Figura 1.10). Las características más importantes de estas redes son el tamaño de poro de la malla y el área de abertura de la red. Normalmente, el tamaño de malla utilizado suele estar entre 0,053-3 mm, aunque la mayoría de estudios utilizan entre 0,3-0,39 mm (MSFD, 2013). Por otro lado, la abertura de la red suele estar entre 0,03-2 m², mientras que la longitud de la misma varía entre 0,79-1,58 m². Sin embargo, estas son las recomendaciones del Grupo MSFD, pudiendo encontrar otras alternativas en los estudios publicados disponibles. Por ejemplo, Dris et al., (2018) utilizaron dos redes Neuston con

tamaño de malla de 0,08 y de 0,33 mm, respectivamente. Los resultados mostraron que, para el muestreo de fibras era preferible la primera opción, mientras que los fragmentos eran menos abundantes y se requería tomar mayores volúmenes de muestra, por lo que recomiendan el uso de la malla de 0,33 mm.

Otro estudio (Vermaire et al., 2017) utilizó una red manta de tamaño de poro 0,1 mm y un área de apertura de 0,116 m². El volumen muestreado también es un parámetro importante si se quieren obtener datos representativos. En este caso, los autores muestrearon una media de 128 m³ de agua. Por eso, de acuerdo con Prata et al., (2019a) siempre es necesario que las redes lleven incorporado un medidor de flujo que permita estimar el volumen recogido y expresarlo en m³. Pueden encontrarse también redes con tamaño de poro similar (por ejemplo, 0,3 mm) y áreas de apertura muy diferentes entre sí (por ejemplo, entre 0,075-0,111 m²) (Fischer et al., 2016; Schmidt et al., 2018).

Para el muestreo de aguas superficiales o de la columna de agua, a poca profundidad, también se pueden utilizar las redes bongo, que consisten en un par de redes manta o redes plancton acopladas una junto a la otra y cerradas por una especie de cofre en su extremo que permite la recogida de la muestra (Booth et al., 2018) (Figura 1.10). Las redes bongo se arrastran horizontalmente a través de la columna de agua, al igual que las redes manta. La principal ventaja de esta red es que permite recoger muestras por duplicado en el mismo momento.



Figura 1.10. Ejemplo de red Neuston o red manta. Fuente: Booth et al., (2018).

El tamaño de poro de las redes bongo suele ser de entre 0,2-0,3 mm, aunque pueden encontrarse tamaños de 0,5 mm, mientras que el área de apertura suele encontrarse entre 0,79-1,58 m² (Carretero et al., 2017; Green et al., 2018; Rist et al., 2020).

Otra de las redes ampliamente utilizadas para el muestreo de aguas es la red plancton, que permite el muestreo vertical u oblicuo del agua, pudiendo tomar muestras a mayor profundidad. Estas redes suelen tener un tamaño de poro de la malla inferior a cualquiera de las otras mencionadas anteriormente, en torno a 100 µm, por lo que el muestreo debe ser rápido y con volúmenes de muestra reducidos, ya que la malla es susceptible de taponarse rápidamente con restos orgánicos (Prata et al., 2019a). Es un método ventajoso para detectar mayores concentraciones de microplásticos y no subestimar su presencia. Sin embargo, algunos estudios sugieren que este método no es recomendable para analizar microplásticos de pequeño tamaño (por debajo de 300 µm), debido al riesgo de contaminación que existe por el taponamiento con restos orgánicos (Lenz and Labrenz, 2018), mientras que tamaños de poro más pequeños pueden resultar fiables en la determinación de microfibras (Dris et al., 2018). El estudio de Rist et al., (2020) compara las concentraciones de microplásticos recogidas en aguas superficiales del océano Ártico a través de distintos métodos: redes manta, redes bongo y redes plancton, entre otros. Las concentraciones reportadas varían entre 0,12 MPs/m³ en el caso de redes bongo, 0,09-0,34 MPs/m³ para redes manta y entre 800-3.740 MPs/m³ en el caso de redes plancton, con límites inferiores de detección de partículas de 300, 330 y 50 µm, respectivamente.

En el muestreo con redes, estas deben desplegarse fuera de la zona de “estela” del barco para tomar muestras representativas, es decir, fuera de la zona de oleaje creada por la embarcación al desplazarse (MSFD, 2013). Un aspecto importante a tener en cuenta en la recogida de muestras con redes es el coste económico y de tiempo de la embarcación necesaria. La opción más ideal es aprovechar algún programa de monitoreo o crucero de investigación para tomar muestras en las zonas de interés. Por último, el Grupo MSFD recomienda que el muestreo con redes tenga una duración aproximada de 30 minutos y que las

muestras recogidas sean almacenadas en botellas de vidrio opacas para evitar su alteración, asegurando el lavado correcto de las redes con agua destilada o agua de mar pre-filtrada.

Por último, los métodos alternativos al muestreo con redes son el bombeo directo de agua para guardarla posteriormente en botellas de vidrio o la recogida directa de muestras de la superficie utilizando un cubo. Estos métodos, principalmente el de bombeo, suelen utilizarse para muestrear a poca profundidad (entre 1-10 metros) y son más comunes en ambientes de agua dulce, como ríos, lagos o estuarios, aunque también hay estudios que los utilizan para bombear agua de mar (Desforges et al., 2014; Di and Wang, 2018; Kanhai et al., 2018; Wang et al., 2017b; Zhao et al., 2014). La principal desventaja de estos métodos es que son más lentos y requieren mayor esfuerzo físico por parte de las personas implicadas, aunque el ahorro económico del muestreo es considerable.

Por último, algunos estudios realizan un tamizado o filtración directa de las muestras in-situ utilizando tamices de acero inoxidable, aunque esto requiere dedicar más tiempo a la campaña de muestreo y existe mayor riesgo de contaminación de las muestras. En la Tabla 1.20 se ha incluido un resumen de las principales ventajas y desventajas de cada uno de los métodos de muestreo en agua presentados.

Tabla 1.20. Principales ventajas y desventajas de los métodos de muestreo de agua. Fuente: *Modificada de Prata et al., (2019a).*

Tipo de muestreo	Ventajas	Desventajas
Redes manta o Neuston	<ul style="list-style-type: none"> • Fácil de usar • Muestrea grandes volúmenes de agua • Muy utilizado (facilidad para comparar estudios) • Buenas para fragmentos y microesferas 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipamiento costoso económicamente • Requiere embarcación • Consume mucho tiempo • Posibilidad de contaminación de las muestras • Insensibles a MPs inferiores a 300 μm
Redes plancton	<ul style="list-style-type: none"> • Fácil y rápido de usar • Buenas para microfibras y MPs inferiores a 100 μm • Permiten muestrear a mayor profundidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipamiento costoso económicamente • Requiere embarcación • Taponamiento de la red por restos orgánicos • Muestreo de volúmenes de agua reducidos
Redes bongo	Igual que las redes manta, pero permite recoger muestra por duplicado en el momento	Igual que las redes manta
Con bombas	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido de usar • Muestrea grandes volúmenes de agua • No requiere esfuerzo • Permite elegir el tamaño de malla en cada momento 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere equipamiento y embarcación • Requiere energía para el funcionamiento de la bomba • Posibilidad de contaminación de las muestras
Directo con cubos	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido y económico • No requiere embarcación ni energía • Posibilidad de contaminación de muestras muy baja • Permite detectar MPs de cualquier tamaño, al hacer el filtrado en laboratorio 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere esfuerzo físico • Muestreo de volúmenes de agua reducidos • Requiere desplazamiento a pie o en vehículo entre localizaciones de muestreo • Dificultad para transportar las muestras

1.5.2. Técnicas de extracción

El análisis de los microplásticos presentes en una muestra normalmente consta de tres pasos: extracción, purificación y cuantificación+caracterización (Yang et al., 2021). El primer paso es la extracción, que consiste en separar los MPs del agua o del sedimento que se ha recogido previamente. Las muestras suelen ser

sometidas a un paso previo a la extracción, que consiste en la reducción del volumen de muestra, normalmente realizado mediante tamizado de la muestra o utilizando redes durante el muestreo (en el caso de muestreo de agua) (Prata et al., 2019a). A continuación, son sometidas a procesos de extracción, dentro de los cuales destaca la separación por densidad como el más utilizado y recomendado, aunque hay estudios que utilizan otros procesos como la filtración (sobre todo en muestras de agua), la elutriación u otros métodos más inusuales (MSFD, 2013; Masura et al., 2015; Prata et al., 2019a; Yang et al., 2021). A continuación, se describen brevemente los principales métodos de extracción utilizados por los estudios disponibles.

- Filtración y Separación por densidad

La filtración es un método muy frecuente para separar microplásticos de las muestras de agua de forma directa (Alfonso et al., 2020a; Eriksen et al., 2013; Wang et al., 2017b), así como del sobrenadante generado al emplear el método de separación por densidad con muestras de sedimento (Lots et al., 2017; Simon-Sánchez et al., 2019; Yu et al., 2018). Mediante la filtración, las muestras son filtradas a través de filtros de celulosa o de fibra de vidrio con distinto tamaño de poro, o bien a través de tamices de acero inoxidable con distinto tamaño de malla. Los filtros de fibra de vidrio más utilizados tienen tamaños de poro comprendidos entre 0,45-1,2 μm , mientras que los de celulosa pueden tener tamaños de poro más grandes y variables. Algunos artículos review de técnicas de extracción y caracterización de MPs (Elkhatib and Oyanedel-Craver, 2020; Rocha-Santos and Duarte, 2015) aseguran que hay estudios que utilizan filtros con tamaño de poro comprendido entre 0,1-11 μm . Por otro lado, los tamices de acero inoxidable utilizados suelen tener un tamaño de malla más grande, habiendo estudios que utilizan entre 20-500 μm , y otros hasta 1.000-2.000 μm (Heo et al., 2013; Imhof et al., 2017). Una vez filtrada el agua, las partículas de tamaño inferior al tamaño de poro del filtro o del tamiz se quedan retenidas en él para su posterior análisis. Como ya se ha comentado en los apartados 1.4.1 y 1.4.2, la elección del tamaño de poro puede ser importante para no subestimar la cantidad de microplásticos presentes en una muestra.

Por otro lado, el método de separación por densidad suele ser utilizado en las muestras de sedimento y consiste en añadir una disolución saturada de un agente químico que permita aumentar la densidad del medio líquido, de tal forma que al añadirla al sedimento y mezclarlo bien, las partículas menos densas que dicha disolución flotan y se separan del sedimento (Elkhatib and Oyanedel-Craver, 2020). Al ocurrir esto, se genera un sobrenadante que luego debe ser filtrado mediante el procedimiento anterior explicado, para extraer los microplásticos. Este método es el más recomendado por la NOAA y el MSFD para llevar a cabo la extracción de microplásticos (MSFD, 2013; Masura et al., 2015), y se basa en que aprovecha la densidad de los polímeros más comunes (comprendida entre 0,8-1,6 g/cm³) para separarlos del sedimento (que tiene una densidad media de 2,7 g/cm³). En cuanto a los agentes químicos utilizados, el más recomendado por ambos es el cloruro sódico (NaCl), cuya disolución saturada puede alcanzar una densidad de 1,2 g/cm³. Esta disolución tiene una tasa de recuperación de microplásticos en torno al 90% y permite extraer los polímeros más comunes, como el PE, PP y PS (Quinn et al., 2017). Además, sus principales ventajas son que resulta económico y es totalmente inofensivo para el medioambiente, y se puede reutilizar. Los principales inconvenientes que presenta son que se requieren varios lavados del sedimento para asegurar una correcta extracción de partículas, y la subestimación de polímeros más densos.

Otros estudios utilizan yoduro sódico (NaI), cuya disolución saturada alcanza una densidad de 1,6 g/cm³ y permite recuperar polímeros más densos como el PET o el PVC, alcanzando una tasa de recuperación de microplásticos del 99% (Prata et al., 2019a). El principal inconveniente de este compuesto es su elevado coste económico, lo que hace que sea necesario reciclar la disolución para poder usarla varias veces (Kedzierski et al., 2017). Además, reacciona con los filtros de celulosa provocando que adquieran un color oscuro que puede dificultar la posterior identificación de partículas. Sin embargo, es un método también muy recomendado ya que permite la recuperación de polímeros que con el NaCl están siendo subestimados.

Por último, unos pocos estudios utilizan bromuro de zinc (ZnBr) o cloruro de zinc (ZnCl₂) como agentes químicos para separar los microplásticos (Quinn et al., 2017; Wang et al., 2018). Una disolución saturada al 25% de estos compuestos alcanza una densidad en torno a 1,7-1,8 g/cm³, similar a la del NaI. Tienen tasas de recuperación muy elevadas (95-100%) para microplásticos grandes (entre 1-5 mm) y pequeños (<1 mm) y permiten separar todos los tipos más comunes de polímeros. Sin embargo, son compuestos caros y tóxicos para el medioambiente, por lo que se recomienda evitar su uso. Algunos compuestos raramente utilizados en estudios de extracción de MPs, pero de los que también existen algunos casos, son el politungstato de sodio, cuya disolución alcanza una densidad de 1,4 g/cm³ y el cloruro cálcico (CaCl₂), cuya disolución alcanza una densidad de 1,5 g/cm³ (Ballent et al., 2016; Frère et al., 2017; Scheurer and Bigalke, 2018; Stolte et al., 2015).

Para tener una visión representativa de la cantidad de estudios que utilizan cada agente químico, se han evaluado 44 artículos de los utilizados en las Tablas 1.12-1.17 (todos aquellos que emplean metodología de separación por densidad) y se han establecido porcentajes sobre los distintos agentes químicos utilizados en la separación por densidad. Los resultados muestran que el 55,56% de los estudios han utilizado NaCl, el 17,78% ha utilizado ZnCl₂ y el 6,67% ha empleado una doble separación por densidad, con una primera extracción realizada con NaCl y una segunda extracción con NaI. En menor proporción (4,44%) se han utilizado agua corriente y agua de mar, mientras que los menos utilizados (2,22%) han sido el NaI de forma individual, el tungstato de sodio, el formiato de potasio, el etanol y el cloruro de cesio (CsCl).

- Extracción mediante columna de elutriación

Este método permite la separación de microplásticos del sedimento gracias al flujo de agua que se impulsa desde la parte inferior de una columna. Las muestras se insertan en la parte superior de dicha columna, y con la entrada de agua en la parte inferior, el nivel del agua y la muestra flotante se elevan dentro de la columna (Hengstmann et al., 2018). La suspensión que sale se filtra a través de

un tamiz fijo con un tamaño de malla de 63 μm antes de ser drenada. Posteriormente, el agua de la columna es drenada por una salida en el fondo y los residuos de la muestra, que consisten principalmente en sedimentos arenosos, son eliminados mediante la apertura de la tapa inferior y enjuagando a fondo toda la columna desde la entrada superior con disolventes y agua destilada.

La primera columna de elutriación para separar microplásticos del sedimento fue diseñada por Claessens et al., (2013), cuyo sistema permitió la extracción de polímeros densos como el PVC. Posteriormente, Zhu, (2015) propuso las dimensiones ideales de una columna de elutriación para optimizar el proceso de extracción de microplásticos. Hengstmann et al., (2018) realizaron algunas mejoras en la columna de elutriación, como su fabricación en vidrio en lugar de PVC, con el objetivo de evitar componentes plásticos en la cuantificación de microplásticos y de tener a la vista el proceso de separación mientras se realiza. Además, optimizaron las dimensiones de la columna para mejorar la extracción y la equiparon con un medidor de flujo para medir en cada momento la velocidad exacta del agua.

Sin embargo, es un proceso complejo debido al gran rango de densidades que presentan los polímeros, muy diferentes en algunos casos a la del agua. Por ejemplo, cuando en la muestra hay partículas de sedimento ligeras, se debe tamizar y separar la muestra en poblaciones de partículas de menor tamaño (Kedziersky et al., 2017). Luego, para cada rango de tamaño y densidad, es necesario determinar las velocidades de impulso del agua para realizar la extracción. Además, es un método lento que requiere más de una hora para procesar cada muestra. La principal ventaja de este método es que resulta barato, se evita el vertido de sustancias químicas al agua y permite una separación eficiente para grandes volúmenes de muestra, lo que evita tener que reducir el tamaño de la muestra para tratarla (Prata et al., 2019a).

- Otros métodos de extracción

Algunos estudios utilizan métodos inusuales de extracción. Por ejemplo, Nuelle et al., (2014) utilizaron una extracción en dos pasos, mediante fluidización

del sedimento con una disolución de NaCl y rebose por aire inducido seguido de la separación por densidad. Felsing et al., (2018) utilizaron un separador electrostático de campana Korona-Walzen-Scheider, mientras que Shimizu et al., (2017) detectaron la concentración de MPs en la muestra de agua utilizando un electrodo, gracias al movimiento browniano de las partículas.

1.5.3. Técnicas de purificación de la muestra

Después de procesar las muestras y tener los microplásticos retenidos en un filtro, a menudo debe hacerse un proceso de digestión a continuación. Las muestras ambientales de agua y sedimento a menudo contienen materia orgánica y mineral. Concretamente, algunos estudios han reportado entre un 0,5-7,0% de contenido de materia orgánica en sedimentos de playa (Crichton et al., 2017). A menudo, esta materia orgánica dificulta la identificación y cuantificación de MPs. Por tanto, las muestras suelen ser sometidas a un proceso de digestión capaz de eliminar dicha materia orgánica y mineral sin alterar los microplásticos presentes (Prata et al., 2019b). La realización o no de este proceso de digestión, así como el método utilizado, dependen de la cantidad de materia orgánica que contenga la muestra. A continuación, se describen los cuatro tipos principales utilizados.

- Digestión ácida

Suele realizarse con ácido nítrico (HNO_3) o ácido clorhídrico (HCl) y puede contribuir a la eliminación de la materia orgánica, pero a menudo muestra una baja eficiencia a temperatura ambiente, por lo que la disolución debe ser calentada hasta temperaturas de 80°C antes de aplicarse a la muestra (Naidoo et al., 2017). Esto ocurre principalmente con el HNO_3 . Sin embargo, cuando las disoluciones son calentadas a temperaturas superiores a 60°C , a menudo algunos tipos de microplásticos son degradados. Por otro lado, el HCl puede utilizarse a temperatura ambiente, pero en algunos casos provoca la degradación del PET. En general, es un método de digestión poco recomendable debido a que los ácidos pueden dejar residuos oleosos que dificulten la posterior identificación de MPs, así como provocar la subestimación de MPs presentes (Claessens et al., 2013).

- Digestión alcalina

Es una alternativa a la digestión ácida en la que se emplean bases como el hidróxido de potasio (KOH) o el hidróxido de sodio (NaOH) para eliminar restos orgánicos. Es un método que se ha utilizado en algunos estudios para tratar muestras de biota, pero puede provocar la pérdida del color de los microplásticos o dañarlos, especialmente el NaOH (Al-Azzawi et al., 2020; Prata et al., 2019b). El KOH ha demostrado ser uno de los tratamientos más efectivos si se emplea en disolución al 10% y calentado a una temperatura de 60°C y se deja actuar sobre la muestra durante 24 horas, aunque dicho tratamiento puede provocar pérdida de color de polímeros como el nylon, el PE y el PVC no plastificado y degradación de otros polímeros (Hurley et al., 2018; Maes et al., 2017a). Otros estudios han encontrado una eficiencia igual de elevada entre el tratamiento a 60°C y a otras temperaturas como 25 o 40°C (Karami et al., 2017). Por otra parte, el tratamiento con NaOH muestra eficiencias más bajas que el KOH, aunque funciona bastante bien en disolución de 1 y 10 M, a temperatura de 60°C sobre muestras biológicas, produciéndose una degradación parcial de PA y PE, y amarilleamiento del PVC no plastificado (Catarino et al., 2017; Cole et al., 2014). A veces, en muestras orgánicas las partes duras y las grasas no son totalmente digeridas mediante este método. También puede usarse en combinación con un ácido para obtener mejores resultados.

- Digestión enzimática

Es el método digestivo menos contaminante y agresivo para los microplásticos presentes en las muestras. Sin embargo, la eficiencia de este método está condicionada por el tipo de materia orgánica presente en la muestra. El protocolo de la digestión enzimática incluye numerosos pasos, entre ellos una pre-digestión del sedimento con una mezcla enzimática a 45°C durante 60 minutos seguido de la aplicación de agua oxigenada (H₂O₂) al 30% para eliminar toda la materia orgánica (Crichton et al., 2017). Algunos de los estudios que han utilizado este método obtienen altas tasas de eficiencia mediante aplicación de ciertas enzimas a 50-60°C, a veces en incubación con CaCl₂ (Catarino et al., 2017; Karlsson

et al., 2018). Además del intenso trabajo a realizar, hay un mayor riesgo de contaminación de las muestras y algunas de las enzimas tienen un elevado coste económico, por lo que suele ser un método menos utilizado (Von Friesen et al., 2019).

- Digestión oxidativa

Es el método digestivo más utilizado y recomendado por la NOAA y el grupo MSFD. Consiste en la utilización de H_2O_2 a distintos porcentajes de pureza para digerir la materia orgánica y mineral sin que los microplásticos sufran apenas degradación (Prata et al., 2019b). Los porcentajes de pureza suelen estar entre 30-35%, aunque algunos autores han observado degradación de PA y cambios de color del PET con dicho tratamiento (Karami et al., 2017). En muestras que no tienen demasiada materia orgánica este porcentaje de pureza puede reducirse hasta el 15%, obteniéndose un buen resultado. Otros aspectos importantes son la temperatura de incubación y el tiempo de reacción, ya que parece más efectivo utilizar una temperatura de 50°C frente a 25°C o temperatura ambiente, y tiempos de reacción cortos (inferiores a 24 horas) (Al-Azzawi et al., 2020; Avio et al., 2015; Cole et al., 2014).

Una alternativa viable a la digestión oxidativa con H_2O_2 es el agente Fenton, que consiste en la utilización de peróxido de hidrógeno al 15 o 30% junto con una disolución de Fe^{2+} de concentración 0,05 M (según recomendaciones de la NOAA). Este método requiere tiempos de reacción más cortos (desde 20 minutos dependiendo del tipo de muestra) y ha mostrado ser efectivo en muestras que tienen contenido orgánico de origen vegetal (Prata et al., 2019b), además de poder aplicarse tanto en filtros de fibra de vidrio como de cuarzo. No se puede aplicar en filtros de celulosa, ya que provoca la degradación del filtro y dificulta el posterior trabajo de identificación.

De los artículos utilizados en las Tablas 1.12-1.17 para estudiar la concentración de microplásticos, solo 25 reportan que se les haya practicado algún método de digestión a las muestras, destacando la digestión oxidativa en el 84% de

los casos, seguido de la digestión ácida (12%) y la enzimática, con solo un artículo en el que se aplica.

1.5.4. Técnicas de identificación de microplásticos

Algunos estudios utilizan la inspección visual directa para identificar los microplásticos y clasificarlos por su color, forma y tamaño (Fok and Cheung, 2015; Horton et al., 2017). Esto puede hacerse con las partículas de un tamaño superior al identificable por el ojo y a menudo van acompañadas de una identificación posterior utilizando técnicas químicas como la espectroscopía de infrarrojos o Raman. Sin embargo, las técnicas más utilizadas son las que se describen a continuación.

- Inspección al microscopio

Es la técnica más utilizada por los estudios de este tipo y también la más recomendada por el grupo MSFD (MSFD, 2013). Normalmente se utilizan microscopios ópticos o estereoscópicos, teniendo los primeros mayor capacidad de aumento, mientras que los segundos proporcionan una imagen en tres dimensiones de la muestra que se está visualizando. Es una técnica de fácil identificación para algunos tipos de microplásticos, debido a que cuando se observan bajo la luz polarizada, muchos plásticos aparecen brillantes y a menudo muestran patrones de color (Labbe et al., 2020). Son especialmente fáciles de identificar los fragmentos y las microesferas. Cada vez están ganando más importancia los microscopios digitales, que se caracterizan por estar equipados con una cámara digital que permite visualizar la muestra en tiempo real o transmitirla a un ordenador, donde pueden tomarse fotografías de forma directa.

A pesar de la utilidad del microscopio para identificar partículas muy pequeñas que de otra forma no sería posible, a veces es necesario aplicar otras técnicas como la tinción de microplásticos y la iluminación con luz UV para poder detectarlos (Maes et al., 2017b). La tinción emplea pigmentos como el Rojo de Nilo o el Rosa Bengal para conferir color o fluorescencia a los microplásticos y facilitar su identificación y diferenciación frente a materia orgánica o mineral, que no

adquiere dicha fluorescencia. Posteriormente, las partículas solo necesitarían ser observadas con ayuda de una luz UV tomando fotografías y analizándolas en el ordenador (Prata et al., 2019c). Estos mismos autores probaron diversas lámparas con longitudes de onda comprendidas entre 254 y 630 nm. Es un método económico y con una alta eficacia, especialmente para el Rojo de Nilo, cuya tasa de identificación de MPs supera el 95% (Prata et al., 2019c).

Sin embargo, las fibras presentan una complejidad mayor a la hora de discernir su origen natural o sintético, además de que no presentan fluorescencia al ser teñidas con pigmentos como el Rojo de Nilo. Prata et al., (2020) diseñaron un protocolo sencillo y económico para identificar fibras sintéticas basado en las fases descritas anteriormente (digestión de la materia orgánica y mineral y separación por densidad utilizando NaI) y añadiendo una fase final de identificación bajo estereomicroscopio siguiendo un diagrama de clasificación visual que permite discernir entre fibras naturales y sintéticas (Figura 1.11). Este método tiene una tasa de recuperación de microplásticos del 94,4%, lo que lo convierte en un método altamente recomendable para este tipo de partículas.

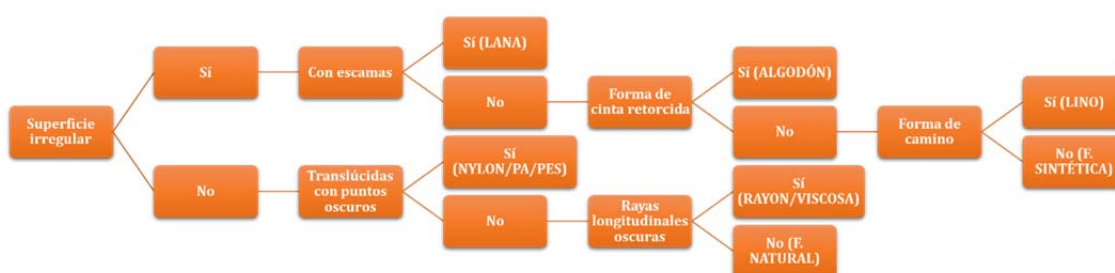


Figura 1.11. Esquema de clasificación de microfibras en sintéticas y naturales. Fuente: Modificada de Prata et al., (2020).

Finalmente, otra técnica de identificación de microplásticos menos empleada y con un porcentaje de error mayor es el test needle (De Witte et al.,

2014). Suele utilizarse para diferenciar las partículas plásticas de la materia orgánica, mediante la aplicación de una aguja caliente (más de 100°C) sobre las fibras o fragmentos susceptibles de ser plásticos. Si realmente son de este material, al contacto con la aguja caliente comienzan a fundirse y retorcerse.

- Espectroscopía de infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR)

Es otra de las técnicas altamente recomendadas por el grupo MSFD y su principal ventaja radica en que es una técnica no destructiva. Concretamente, este grupo propone que al menos el 10% de los microplásticos comprendidos entre 100-5.000 μm y el 100% de los comprendidos entre 20-100 μm , dentro de una muestra, deben ser analizados por esta u otras técnicas de identificación química que complementen la identificación visual (MSFD, 2013). Esta técnica utiliza la radiación infrarroja para excitar los átomos de la muestra. Cuando la radiación llega a ella, parte es absorbida por la muestra y otra parte pasa a través de ella. El resultado de estas vibraciones moleculares es un espectro infrarrojo característico de cada sustancia, asociado con los compuestos químicos presentes en la muestra. En el caso de los polímeros, estas moléculas suelen estar formadas por enlaces de C-H o de C-O (Martín-Lara et al., 2018). Esta técnica, que utiliza el infrarrojo medio (es decir, muestra longitudes de onda comprendidas entre 400 y 4.000 cm^{-1}) proporciona espectros infrarrojos para los polímeros más comunes con picos de absorbancia comprendidos entre 3.000 y 700 cm^{-1} (Figura 1.12).

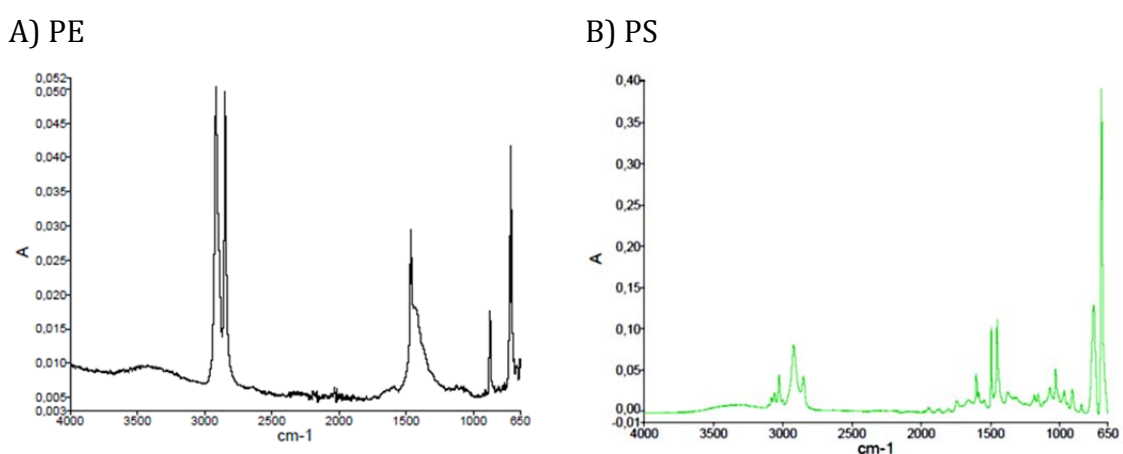


Figura 1.12. Ejemplos de espectros infrarrojos de PE y PS obtenidos mediante la técnica de FTIR. Fuente: Elaboración propia.

Se pueden utilizar diversas técnicas de FTIR, siendo las más comunes el ATR-FTIR (con reflexión total atenuada), el FTIR de transmisión y el micro-FTIR. El ATR-FTIR proporciona información más detallada sobre los microplásticos irregulares y de gran tamaño (>500 μm), aunque no es adecuada para microplásticos más pequeños debido al riesgo de que estos se adhieran al cristal ATR durante la medida y se pierdan dichas partículas (Käppler et al., 2015). Además, consume mucho tiempo debido a que deben analizarse las partículas prácticamente de forma individual. La transmisión normalmente produce los espectros de mejor calidad, pero a menudo requiere que la muestra sea procesada o tratada hasta que tenga un espesor inferior a 100 μm para que la luz infrarroja pueda pasar a través de ella (ThermoFisher Scientific, 2018). Por último, el micro FTIR es el más adecuado para microplásticos pequeños y proporciona un mapeado completo de la muestra sin tener que seleccionar como en el caso del ATR.

- Espectroscopía Raman

Junto con el FTIR, es otra de las técnicas de identificación no destructivas más utilizadas. Es especialmente útil para partículas pequeñas, de tamaño inferior a 10 μm . Se basa en la examinación de luz dispersada por la muestra cuando una fuente de luz láser monocromática impacta sobre ella, recogiendo esta luz dispersada y emitiendo un espectro característico para cada polímero. Presenta algunas ventajas con respecto al FTIR, como es el uso de luz láser de longitud de onda sub-micrónica, lo que permite identificar partículas muy pequeñas. Otra de las ventajas es que los microscopios Raman están contruidos alrededor de microscopios de luz blanca que facilitan la visión de las partículas (ThermoFisher Scientific, 2018). Finalmente, no es necesario elegir entre varias técnicas disponibles, como en el caso del FTIR.

La principal desventaja que presenta este método es que es una técnica todavía poco conocida en el ámbito de los microplásticos, no puede emplearse con ciertos tipos de filtros (por ejemplo, celulosa) y tiene un coste elevado en general, por el equipamiento necesario, el personal que maneja el equipo y el complejo tratamiento de los datos. Además, algunas muestras pueden exhibir fluorescencia

al ser irradiadas por la luz láser del Raman, lo que puede atenuar o incluso eliminar la señal analítica útil.

- Cromatografía de gases – espectrometría de masas

Es una técnica destructiva en la cual los microplásticos son descompuestos térmicamente bajo unas condiciones concretas (normalmente entre 100-600°C de temperatura) utilizando equipos de termogravimetría especializados (Primpke et al., 2020). Al producirse la descomposición térmica se forma un gas que es atrapado y separado en distintas fracciones en una columna de cromatografía mediante espectrometría de masas. De esta forma, el polímero es identificado a través de las características de los distintos productos generados en la descomposición.

Concretamente, las muestras que contienen microplásticos se calientan bajo una atmósfera inerte a una temperatura superior al punto de ebullición de los productos que lo componen. Cuando son descompuestos, los productos se adsorben en un adsorbato en fase sólida a la salida de aire del horno. Este adsorbato cargado se transfiere después a una unidad de desorción térmica, en la que las moléculas orgánicas son desorbidas y separadas a través de la columna cromatográfica para ser identificadas (Elert et al., 2017). La identificación de estos sub-productos se basa en el escaneo de la corriente total de iones (TIC) para el fragmento de masa característico de cada producto de descomposición. Una de las desventajas que presenta esta técnica, aparte de su carácter destructivo, es que la presencia de ciertos compuestos en la matriz del microplástico puede alterar la identificación correcta de los sub-productos, por lo que es necesario identificar al menos dos de ellos de forma inequívoca antes de afirmar cuál es el polímero correspondiente. Otra desventaja que presenta esta técnica es que no puede proporcionar información acerca del número de microplásticos presentes en la muestra, su tamaño o su forma (Prata et al., 2019a).

Este método se ha utilizado tanto para analizar microplásticos individuales, como para analizar los aditivos que llevan incorporados, así como para muestras

ambientales complejas y abundantes en las que se encuentran mezclados varios tipos de polímeros que necesitan ser identificados (Primpke et al., 2020).

Al igual que se ha hecho en los apartados anteriores, de los artículos utilizados en las Tablas 1.12-1.17 todos menos uno, reportan la técnica de identificación utilizada, siendo en el 63% de los casos la utilización de algún microscopio en solitario, mientras que otro 15% aplica el uso de microscopio junto con otra técnica como FTIR o microscopio electrónico de barrido (SEM). Un pequeño porcentaje (3%) utiliza el micro-raman, mientras que otro porcentaje más elevado (6,15%) emplea simplemente la identificación visual.

1.5.5. Control de calidad de los procedimientos de muestreo, extracción e identificación

El control de calidad en los estudios realizados con microplásticos es esencial para asegurar que se está proporcionando una información rigurosa y se están evitando al máximo errores analíticos como la sobre o subestimación de concentración de microfibras presente en las muestras (Wesch et al., 2017). Este control debe realizarse en todas las etapas del proceso, desde el muestreo hasta la identificación de las partículas.

La contaminación cruzada de las muestras suele producirse a causa de las microfibras, que están presentes en prácticamente todos los ambientes. Esto sumado a su pequeño tamaño y su baja densidad hace que sea muy difícil controlar cuándo una muestra ha sido contaminada si no se han tomado las precauciones necesarias. Esta contaminación puede proceder de diversas fuentes como la ropa sintética, material de laboratorio sucio, utilización de material de plástico o el propio aire (Duis and Coors, 2016). Existe una serie de normas generales destinadas a mitigar esta contaminación cruzada, que son las siguientes (Cutroneo et al., 2020; Prata et al., 2019a):

- Evitar el uso de ropa sintética durante las labores de muestreo, extracción e identificación o, en su defecto, llevar siempre puesta una bata de algodón blanca.

- Limpiar las superficies de trabajo con etanol al 70% y papel, nunca con bayetas de microfibras. Igualmente, el material de laboratorio que se use debe ser primero lavado con agua destilada, seguido de una inmersión en ácido nítrico al 30% durante una hora, y posteriormente lavar de nuevo con agua destilada hasta asegurar que se ha eliminado todo el nítrico. Una vez seco, el material debe ser tapado con papel de aluminio y guardar hasta su uso.
- Utilizar material de vidrio o de metal en lugar de plástico, para evitar el posible desprendimiento de microfibras y la contaminación de la muestra.
- Llevar a cabo la realización de blancos ambientales y blancos procedimentales. En el primer caso, consiste en disponer un filtro de fibra de vidrio o celulosa sobre una placa Petri abierta al aire libre o en el interior del laboratorio mientras dure el proceso de muestreo o extracción. En el segundo caso, se toma un filtro limpio y se trata de la misma forma que si fuera una muestra, pero utilizando agua destilada, aplicándole el proceso de extracción correspondiente. Normalmente, estos blancos son después examinados al microscopio y la cantidad de microfibras que aparezca se resta a los resultados obtenidos en las muestras.
- Siempre que sea posible, llevar a cabo el tratamiento de las muestras en laboratorio bajo una campana de extracción para evitar el depósito de partículas que puedan estar flotando en el ambiente.

1.6. Interacciones de los microplásticos con otros contaminantes presentes en medios acuáticos

Las actividades antropogénicas industriales, agrícolas, pesqueras, etc. están provocando cada vez una mayor contaminación de los medios acuáticos con muy diversos elementos y compuestos químicos que interactúan entre ellos y con los microplásticos en dichos ambientes. Concretamente, se ha estimado que solo en las aguas de Europa hay más de 700 tipos de sustancias contaminantes pertenecientes a 20 clases químicas diferentes (Crawford and Quinn, 2017). Las actividades

antropogénicas que generan este tipo de contaminación son muy variadas e igualmente variados son los tipos de contaminantes derivados de ellas (Tabla 1.21).

Tabla 1.21. Principales fuentes de contaminación de los medios acuáticos y contaminantes derivados de ellas. Fuente: Modificada de Bashir et al., (2020).

Origen	Contaminante	Ruta de llegada al agua
Agricultura y ganadería	Pesticidas (insecticidas y herbicidas), nutrientes como nitratos o fosfatos, antibióticos, promotores del crecimiento y hormonas	Escorrentía de las tierras de cultivo, infiltración al agua subterránea, vertido directo a arroyos, ríos o desagües
Actividad industrial (textil, alimentaria, automovilística, electrónica, de detergentes)	Pigmentos, mercurio, cadmio, níquel, cobre, cromo, plomo, sustancias perfluoroalquiladas, bifenilos policlorados (PCBs)	Vertido directo a arroyos, ríos o desagües
Industria petrolífera y del carbón	Contaminantes orgánicos persistentes (POPs), fenol, sulfuros, sólidos en suspensión, crudo, fluidos de drenaje, hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs)	Vertidos en las fases de explotación, refinado, transporte, almacenamiento y también rotura de tuberías
Actividad doméstica	Contaminantes diversos dependiendo del tipo de actividad (fármacos, productos de limpieza, productos de higiene personal, bacterias fecales, etc.)	Vertido directo a la red de abastecimiento desde las casas

Los ecosistemas acuáticos, especialmente los medios de agua dulce, están expuestos a una presión contaminante mayor que otros medios, ya que el agua se usa en numerosas actividades industriales, agrícolas y domésticas, y la mayor parte de los vertidos van a parar a medios de agua dulce. A nivel mundial, el 80% del agua residual doméstica se vierte a los ríos, mientras que la industria es responsable del vertido de millones de toneladas anuales de metales pesados, disolventes y otros residuos a los cursos de agua (Bashir et al., 2020; Mateo-

Sagasta et al., 2017). Por otra parte, la agricultura explota mundialmente el 70% del agua dulce disponible y contribuye en gran parte a su contaminación con fertilizantes, pesticidas, sales, etc. En la Unión Europea, se estima que el 38% de los ecosistemas de agua dulce están bajo presión agrícola. Los ecosistemas tienen una tendencia natural a eliminar esta contaminación hasta cierto punto, pero se han alcanzado ya tales niveles de polución que los daños directos e indirectos sobre el medio físico, la flora y la fauna son detectables a lo largo de grandes períodos de tiempo.

1.6.1. Principales mecanismos de interacción contaminantes-microplásticos

- Adsorción

Se define como el proceso a través del cual una sustancia llamada adsorbato se traslada de una fase líquida o gaseosa a una fase sólida (adsorbente) en cuya superficie forma una capa mono-molecular (Crawford and Quinn, 2017) (Figura 1.13). Durante este proceso se producen una serie de interacciones entre el adsorbato y el adsorbente a través de enlaces iónicos o covalentes, o fuerzas de van der Waals que contribuyen a que la sustancia pueda quedarse adherida a la superficie. Este proceso está condicionado por la hidrofobicidad del adsorbato (el contaminante), las propiedades físico-químicas del adsorbente (el microplástico) y la relación superficie específica-volumen (Fred-Ahmadu et al., 2020). Además, también influye el hecho de que el carbono es el principal elemento de los polímeros y a menudo forma grupos funcionales con el hidrógeno. Finalmente, de acuerdo con el tipo de enlaces que forman los contaminantes con los microplásticos, la adsorción puede ser de dos tipos (Figura 1.14) (Hartmann et al., 2017):

- Adsorción física (fisisorción): la unión entre adsorbente y adsorbato se produce en la superficie del microplástico por enlaces de van der Waals. En este caso las partículas del contaminante son atraídas hacia la pared porosa de microplásticos que tienen una superficie específica elevada. Esta unión es débil y puede dar lugar a la rotura de los enlaces y la desorción del

contaminante en el interior de organismos marinos cuando los microplásticos son ingeridos.

- Adsorción química (quimisorción): en este caso, el adsorbato interactúa con el adsorbente y se une a lugares concretos de la superficie a través de enlaces covalentes, mucho más fuertes que los enlaces de van der Waals. Este proceso puede ser irreversible al no producirse rotura de los enlaces con facilidad, y puede dificultar la desorción del contaminante.

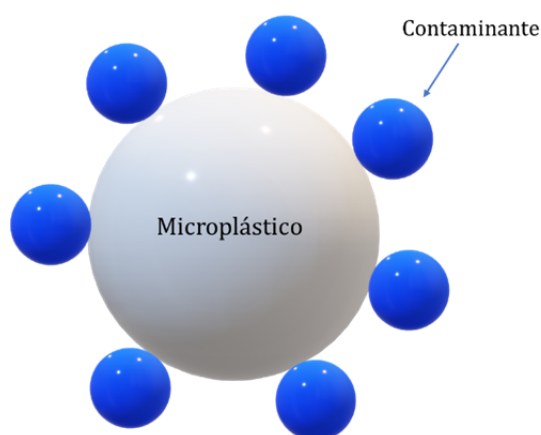


Figura 1.13. Fenómeno de adsorción de contaminantes sobre microplásticos. Fuente: Elaboración propia

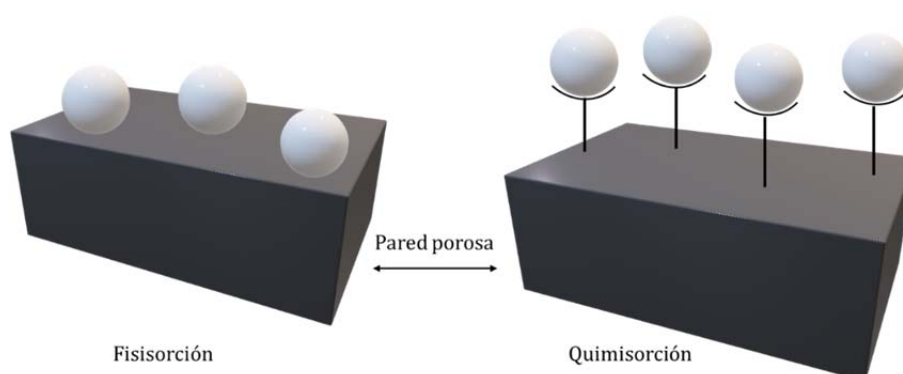


Figura 1.14. Representación esquemática de los procesos de fisorción y quimisorción de contaminantes sobre microplásticos. Fuente: Modificada de Berger and Bhowan (2011).

• Absorción

En este caso, el adsorbato (contaminante) presente en el agua se introduce en la estructura del adsorbente (polímero) y se difunde a través de ella (Figura 1.15). Esta difusión puede ser más superficial o más profunda dependiendo de la

geometría molecular del polímero y el grado de empaquetamiento (Crawford and Quinn, 2017). De acuerdo con estas características, el PE permite una mejor absorción que el PP, por ejemplo, mientras que el PS es el que mejor absorción permite gracias a su grado de cristalinidad. Normalmente esta interacción se produce mediante fuerzas de van der Waals, que son más débiles que los enlaces covalentes y permiten que las moléculas se introduzcan en la matriz del polímero. Este proceso suele ser menos común que la adsorción en el caso de la interacción de contaminantes con microplásticos, ya que los contaminantes en medios acuáticos suelen encontrarse en bajas concentraciones y la absorción es un proceso más susceptible de ocurrir cuanto más alta es la concentración (Fred-Ahmadu et al., 2020).

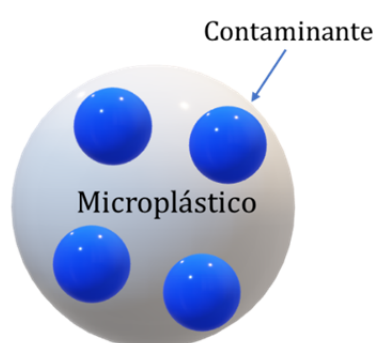


Figura 1.15. Fenómeno de absorción de contaminantes en la matriz de los microplásticos.
Fuente: Elaboración propia.

- Desorción

Se define como el proceso por el cual una sustancia es liberada de la matriz o de la superficie de otra sustancia, dependiendo si en ella estaba actuando un proceso de adsorción o de absorción. Es un proceso común en las interacciones entre contaminantes y microplásticos cuando estos son ingeridos por los organismos. Normalmente, las condiciones de pH y temperatura en el interior del organismo favorecen la liberación de partículas al medio (Crawford and Quinn, 2017). La desorción depende de numerosos factores, pero normalmente es más elevada cuando los enlaces entre las partículas y el polímero son más débiles. Esto es consistente con el hecho de que las moléculas que experimentan absorción en la matriz del polímero se liberan al medio más fácil y rápidamente que aquellas que

experimentan adsorción (Hartmann et al., 2017). También es muy común que se produzca la desorción de los aditivos añadidos que llevan los polímeros. Casi ningún polímero se utiliza en su forma pura, sino que se les añaden numerosas sustancias que permiten mejorar sus propiedades y cualidades físicas, químicas y técnicas. Algunos de los aditivos más frecuentes son el bisfenol A, los ftalatos y los retardantes de llama brominados. Estos aditivos normalmente no forman enlaces covalentes con los polímeros, por lo que pueden ser liberados fácilmente al medio, aumentando la concentración de contaminantes que ya estaban presentes en él o bien produciendo efectos toxicológicos si se liberan en el interior de algún organismo (Fred-Ahmadu et al., 2020).

1.6.2. Factores que influyen en las interacciones entre microplásticos y contaminantes

Existen diversos factores físicos y químicos que han demostrado tener una cierta influencia sobre los procesos de absorción/adsorción y desorción de contaminantes en microplásticos. Estos factores pueden ser de tres tipos: propios del polímero, propios de la sustancia contaminante o propios del medio acuático donde se encuentran (Tourinho et al., 2019).

- Hidrofobicidad

Se define como la capacidad que tiene una sustancia para repeler el agua de su superficie. Hay numerosas sustancias contaminantes comunes en los medios acuáticos que son altamente hidrofóbicas, como es el caso de los bifenilos policlorados, los hidrocarburos aromáticos policíclicos o algunos plaguicidas organoclorados. También se incluyen en este grupo algunos antibióticos como el ciprofloxacina, la trimetoprima o la amoxicilina (Li et al., 2018). También la mayoría de microplásticos comunes (PE, PP, PS o PET) tienen un carácter hidrofóbico, excepto la PA que presenta propiedades más hidrofílicas y, por tanto, suele adsorber bajas concentraciones de contaminantes hidrofóbicos (Tourinho et al., 2019).

La hidrofobicidad es una propiedad relacionada también con las interacciones entre superficies no polares de las sustancias. Concretamente, la polaridad de los microplásticos determina con qué fuerza se van a adherir los contaminantes orgánicos a ellos. Normalmente, los contaminantes hidrofóbicos se adhieren a superficies no polares que suelen ser frecuentes en los microplásticos, especialmente en el caso del PE, PS o PVC (Hüffer and Hofmann, 2016). Esta es una propiedad relacionada con el coeficiente de partición de las sustancias. Este coeficiente entre el agua y el polímero está relacionado con el coeficiente de partición octanol-agua (Kow) (Fred-Ahmadu et al., 2020). Señala la partición de los compuestos orgánicos entre la fase acuosa y la fase sólida, en este caso los microplásticos (Wang et al., 2020). Cuando la concentración del contaminante es baja, la partición de dicha sustancia al medio acuoso y al polímero al que se quiere adsorber es alta, dando lugar a elevados coeficientes de partición octanol-agua, provocados por fuertes interacciones en la superficie del polímero.

- Relación superficie específica-volumen

Normalmente, cuanto más pequeños son los microplásticos, mayor superficie específica tienen y, por tanto, más lugares disponibles para que se produzca la adsorción por parte de los contaminantes presentes en el medio. La superficie específica ha sido estudiada de forma individual por numerosos autores, encontrando que polímeros como el PE, el PP o el PS tienen una superficie específica elevada y, por tanto, mayor capacidad de adsorción (Velzeboer et al., 2014; Wang and Wang, 2018; Zhang et al., 2020). Sin embargo, muchas veces se estudia no solo la superficie específica, sino la relación que mantiene dicha propiedad con el volumen del microplástico. La relación superficie específica-volumen se supone para una partícula totalmente esférica, y se define como la cantidad de superficie de dicha partícula por unidad de volumen de la misma (Crawford and Quinn, 2017). Cuanto más pequeño es un microplástico, mayor superficie específica tiene y mayor será la relación superficie específica-volumen. Es decir, el microplástico tiene más lugares disponibles para la adsorción (Figura 1.16).

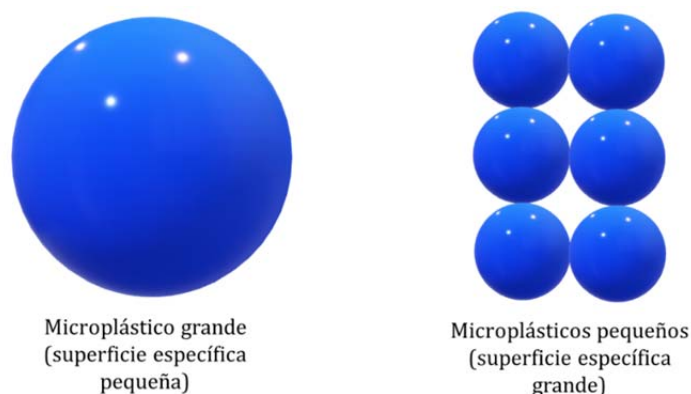


Figura 1.16. Relación superficie específica-volumen de microplásticos grandes frente a microplásticos pequeños. Fuente: Elaboración propia.

- Cristalinidad

Los polímeros pueden clasificarse en cristalinos, semi-cristalinos o amorfos, dependiendo del grado de cristalinidad o, lo que es lo mismo, el grado de alineamiento de sus cadenas moleculares. A veces, las cadenas poliméricas de gran longitud se disponen entrecruzadas o enredadas con otras en forma de ovillo, formando zonas amorfas en el polímero. Cuanto más paralelas entre sí están las cadenas, mayor es el grado de cristalinidad de los polímeros (Fred-Ahmadu et al., 2020). Es un valor que suele ir desde porcentajes bajos hasta el 90%, aunque lo más normal es que los polímeros alternen zonas cristalinas con zonas amorfas en su estructura. Hay muchos factores que afectan a la cristalinidad de un polímero, como la velocidad y temperatura de enfriamiento, los grupos laterales que acompañan las cadenas poliméricas o incluso la presencia de aditivos.

En las zonas cristalinas se necesita una elevada energía para que las moléculas se puedan adsorber, mientras que en las zonas amorfas los átomos pueden moverse con más libertad, favoreciendo la adsorción química (Tourinho et al., 2019). Por tanto, cuanto más cristalino sea un polímero, más baja será su capacidad de adsorción. Algunos de los polímeros más cristalinos son el PP, el PS (especialmente una nueva variedad conocida como sindiotáctico) y el Nylon (o PA). Entre los polímeros más amorfos se encuentran el PMMA, el EPS y el policarbonato. También son muy comunes los polímeros semicristalinos, que

alternan regiones cristalinas y regiones amorfas, entre los que se encuentran el PE y el PVC.

Las zonas amorfas de los polímeros también pueden presentar un estado más elástico o vítreo dependiendo de la temperatura de transición vítrea (T_g). Este parámetro representa la temperatura por encima de la cual las regiones amorfas del polímero cambian de un estado vítreo a un estado viscoelástico mucho menos rígido. Eso quiere decir que, por debajo de dicha temperatura, las regiones amorfas se encuentran en un estado rígido que impide prácticamente la movilidad entre los átomos y disminuye la capacidad de adsorción (Endo and Koelmans, 2016). Los polímeros cuya T_g es inferior a la temperatura ambiente (25°C) se consideran polímeros viscosos o viscoelásticos. Por el contrario, aquellos cuya T_g es superior a la temperatura ambiente se denominan polímeros vítreos. En la Tabla 1.22 se presentan las temperaturas de transición vítrea de algunos polímeros muy conocidos y utilizados.

Tabla 1.22. Temperatura de transición vítrea de algunos polímeros. Fuente: Modificada de Endo and Koelmans, (2016).

Polímero	T_g ($^\circ\text{C}$)
PE de baja densidad	-125
PE de alta densidad	-35
PP	-20 – 100
PS	100
PVC	81
PA	47 – 60
PET	69

- Nivel de degradación (*weathering*)

Cuando los microplásticos permanecen mucho tiempo expuestos a la acción de los agentes meteorológicos o a la acción química del medio acuoso en el que se encuentran, sufren una degradación progresiva que se traduce en la pérdida mecánica y estructural de propiedades, así como en ruptura de la superficie, generación de arrugas o grietas (Auta et al., 2017). Cuando esto ocurre, se produce un aumento de la superficie específica y de la porosidad del microplástico, que tiende por tanto a ser más reactivo con las sustancias contaminantes que tiene

alrededor. Además, las superficies desgastadas de los microplásticos presentan una mayor concentración de grupos oxígeno, lo que produce un aumento de la polaridad y, en consecuencia, una mayor afinidad por contaminantes hidrofóbicos (Rochman et al., 2014).

Song et al., (2017) expusieron plásticos de PE, PP y EPS a la acción de la luz UV durante 12 meses y una posterior abrasión mecánica durante 2 meses. Los resultados mostraron que cada cada plástico produjo 20, 6.084 y 10.501 partículas de plástico, o microplásticos, respectivamente. En el proceso de degradación, se producen cambios en la resistencia a la tracción del plástico, así como cambios en la cristalinidad, debido a que la rotura de las cadenas poliméricas reduce la densidad de los nudos u ovillos de la zona amorfa haciendo que se reestructuren y se produzca una segunda cristalización del plástico (Liu et al., 2020). Además, el color de la superficie también es susceptible de cambiar con la degradación y se generan productos de oxidación en consecuencia. Estos grupos oxidativos también pueden reaccionar con algunos cationes favoreciendo su adsorción a los polímeros.

- Valor de pH del medio

El pH es un parámetro crítico que influye en las reacciones químicas y biológicas y en el equilibrio del ecosistema. Es variable dependiendo del medio acuoso que se trate, pero suele estar en el rango de 6,5 a 9, que es el necesario para que los organismos puedan vivir en él. Concretamente, el agua de mar tiene un pH en el rango de 7,8-8,3, mientras que el agua dulce puede tener un límite inferior más bajo, en torno a 6,5, dependiendo también de otras sustancias que haya en el medio (Fred-Ahmadu et al., 2020).

El efecto del pH en las interacciones entre microplásticos y contaminantes está altamente relacionada con las características de dichas sustancias. Por ejemplo, algunos contaminantes orgánicos se adsorben en mayor cantidad a pH más ácidos, por la acción de la fuerza zwitterion y la disminución de repulsiones electrostáticas entre el contaminante y el polímero (Mei et al., 2020). Los zwitteriones son moléculas que contienen grupos ácidos y grupos básicos y cuya polaridad va cambiando según el valor de pH del medio en el que están. Cuando se

alcanza un pH en el que todas las moléculas están en forma de ión dipolar, se conoce como punto isoeléctrico de la sustancia. En otras ocasiones también influye el grado de protonación (o adición de protones) de los microplásticos según el pH del medio. Por ejemplo, microplásticos de PE y PS han mostrado estar más cargados positivamente a pH ácidos y tener por tanto mejores capacidades de adsorción (Wang et al., 2015). También sucede lo contrario, a mayor valor de pH menor capacidad de adsorción debido al aumento de repulsiones electrostáticas y también a que la superficie de los polímeros adquiere carga negativa. Por ejemplo, el PE y el PS adquieren carga negativa a pH 8, mientras que el PVC ha mostrado buena capacidad de adsorción hasta pH 9 (Liu et al., 2019). La degradación del microplástico en combinación con el pH también es un factor decisivo, ya que se ha demostrado que los polímeros vírgenes tienen mejor capacidad de adsorción a pH más ácidos. Finalmente, este parámetro también es importante en la desorción de contaminantes, ya que se ha demostrado que los valores de pH con carácter más básico junto con una alta temperatura favorecen la desorción (Bakir et al., 2014a).

- Salinidad

El efecto de la salinidad también está muy relacionado con los cambios de pH del medio marino y las variaciones en la composición química, que es muy compleja. Algunos contaminantes orgánicos forman aniones cuando se encuentran en medio marino debido al pH superior al del agua dulce. A los microplásticos les sucede lo mismo, adquieren una carga negativa debido a que el pH del mar es superior al punto de carga nula de los polímeros. Al estar cargados negativamente adsorbente y adsorbato, las interacciones no ocurren con facilidad y disminuye la capacidad de adsorción (Li et al., 2018). Además, a esto se une el hecho de que los cationes sodio (Na^+) del agua de mar se ven atraídos hacia los polímeros cargados negativamente, ocupando los huecos disponibles para la adsorción (Mei et al., 2020). Por tanto, cuanto más salinidad tiene el agua, mayor atracción se produce entre estos cationes con los microplásticos y menor atracción de los contaminantes. También Bakir et al., (2014a) encontraron un efecto negativo de la salinidad en la adsorción de algunos POPs sobre microplásticos de PE y PVC, ya que la salinidad provoca una disminución de la solubilidad de dichos compuestos y

disminuye la partición en las fases sólidas. Por último, también se han dado casos de correlación positiva entre salinidad y adsorción. Velzeboer et al., (2014) demostraron que algunos tipos de microplásticos (concretamente PE y PS) veían incrementada su capacidad de adsorción de bifenilos policlorados con el aumento de salinidad. También Holmes, (2013) demostró que metales como el cromo tenían mayor afinidad por la superficie de los polímeros a medida que incrementaba la salinidad.

- Interacción con otros iones

Las aguas naturales contienen una cierta cantidad de sales disueltas que representan la fuerza iónica de dicha agua. Concretamente, el agua de mar es la que mayor fuerza iónica presenta al tener grandes cantidades de iones cloruro y iones sodio en disolución. También son abundantes en estas aguas el magnesio, los iones sulfato, el calcio, el potasio e incluso los iones amonio en algunos tipos de agua dulce (Fred-Ahmadu et al., 2020). Todos estos iones interactúan con los contaminantes orgánicos, metales y otras sustancias y compiten por los huecos disponibles en la superficie de los microplásticos. Algunas veces favorecen la adsorción mientras que otras veces la disminuyen. Por ejemplo, se ha demostrado que los iones cloruro incrementan la energía cohesiva haciendo que las moléculas del polímero se atraigan más entre ellas y disminuya el volumen de poros, haciendo que la difusión en el interior de la estructura sea más difícil (Liu et al., 2019). Por otra parte, otros estudios han demostrado que cationes como el calcio o el sodio compiten fuertemente por los lugares de intercambio catiónico en la superficie de los microplásticos, proceso que afecta principalmente a la adsorción de metales (Llorca et al., 2018). Algunos metales, como el cobre (Cu^{2+}), se adsorben sobre la superficie de los microplásticos y luego se combinan con compuestos aromáticos y favorecen la posterior adsorción de dichos compuestos (Mei et al., 2020).

- Materia orgánica disuelta

El efecto de la materia orgánica en las interacciones entre microplásticos y contaminantes está relacionado con la composición y concentración de dicha

materia orgánica. Suele tener una composición variada de grupos funcionales y un peso molecular superior a la mayoría de compuestos orgánicos, lo que puede favorecer la entrada de las moléculas a la estructura del polímero impidiendo que entren otros contaminantes (Mei et al., 2020). Por ejemplo, Holmes (2013) constató que la adsorción del plomo se veía alterada por la concentración de materia orgánica disuelta debido a que es un metal altamente reactivo con la superficie de las partículas y tiene una elevada afinidad por los hidróxidos de hierro. Más tarde, Holmes et al., (2014) afirmaron que los cationes bivalentes de elementos como el cadmio, cobalto, níquel y plomo interactúan con las moléculas de la materia orgánica disuelta, uniéndose a ellas y favoreciendo una posterior adsorción sobre la superficie de los microplásticos. Con respecto a los contaminantes orgánicos, las interacciones con la materia orgánica son un poco más complejas y dependen de la presencia de grupos aromáticos en la estructura del polímero o en el propio compuesto orgánico, así como de las interacciones con los grupos carboxilo y carbonilo, la formación de enlaces π - π o van der Waals, etc. Por ejemplo, Zhang et al., (2018) estudiaron el efecto del ácido húmico y ácido fúlvico sobre la adsorción de antibióticos en microplásticos de PS. Los resultados mostraron que el ácido húmico forma copolímeros con los microplásticos de PS a través de los anillos benzénicos y eso provoca una atracción electrostática de zwitteriones que favorece la adsorción de ciertos antibióticos. Por el contrario, el ácido húmico tiende a adsorberse directamente sobre la superficie del polímero saturando sus poros e impidiendo la adsorción de otros compuestos.

1.7. Efectos toxicológicos de los microplásticos sobre los organismos y sobre la salud humana

Cuando se produce la ingestión de microplásticos (normalmente contaminados) por parte de los organismos acuáticos, comienza una transferencia de las sustancias químicas tóxicas hacia los tejidos y órganos. Es decir, los microplásticos actúan como vectores de otros contaminantes en el interior del organismo. Y lo cierto es que la ingesta de microplásticos por parte de la fauna acuática sucede muy a menudo, porque son confundidos con alimento (Crawford and Quinn, 2017). Posteriormente, estos microplásticos y contaminantes asociados

pueden llegar al cuerpo humano a través de la comida, bebida y otras numerosas fuentes de exposición.

No existen todavía demasiados estudios acerca de la desorción de contaminantes procedentes de microplásticos en el interior de los organismos, considerando el efecto de los jugos gástricos y pancreáticos, así como las condiciones de pH y temperatura. Bakir et al., (2014b) estudiaron la desorción de diversos contaminantes orgánicos considerados persistentes (POPs) bajo condiciones fisiológicas simuladas. Los resultados mostraron una desorción favorable ante la presencia de los jugos gástricos y con influencia también de la elevada temperatura. Es más, comprobaron que la desorción de contaminantes bajo estas condiciones es hasta 30 veces mayor que la que se produce en condiciones ambientales. Además, la concentración de los contaminantes en el organismo también aumenta cuanto más lipofílico sea el contaminante (es decir, cuanta más capacidad tenga de disolverse en grasas, lípidos y aceites). Esto sucede con algunos POPs que tienden a bioacumularse y aumentar la biodisponibilidad de estas sustancias en el interior del organismo. Otros autores (Liao and Yang, 2020) estudiaron la desorción de Cr (III) y Cr (VI) contenidos en microplásticos de diversos tipos (PE, PP, PS, PVC y ácido poliláctico (PLA)) en el interior de un simulador *in-vitro* del sistema gastrointestinal humano. Los resultados mostraron una desorción favorable de ambos tipos de cromo durante la fase gástrica, gracias a la acción de los jugos y al bajo nivel de pH (en torno a 3). Además, el PLA sufrió una descomposición considerable por la acción de las enzimas digestivas, favoreciendo una mayor desorción de los contaminantes y la posible generación de partículas nanoplásticas.

Sin duda, deben dedicarse más esfuerzos al estudio sobre estos procesos de entrada de MPs y contaminantes a los tejidos y órganos y sus efectos toxicológicos sobre ellos para continuar avanzando en el entendimiento de este problema ambiental que nos va a acompañar durante mucho tiempo. A continuación, se van a describir brevemente los principales efectos descritos hasta ahora sobre organismos acuático y sobre el cuerpo humano.

1.7.1. Interacciones y efectos sobre organismos acuáticos

- Efectos sobre invertebrados

Algunos estudios han comprobado el efecto que tienen los MPs de polímeros convencionales frente a los MPs de polímeros biodegradables. Green, (2016) llevó a cabo una exposición de 60 días de la ostra europea (*Ostrea edulis* L.) y de los poliquetos *Arenicola marina* L. a la acción de PEAD y PLA (un polímero biodegradable) a bajas y altas concentraciones. Los resultados mostraron que, a medida que aumentaba la concentración de MPs, se elevaba la tasa respiratoria de ambos tipos de organismos produciendo estrés, y disminuían las reservas energéticas, debido probablemente a la sensación de saciedad provocada por la acumulación de MPs en el aparato digestivo. Otro estudio (Browne et al., 2013) utilizó los mismos poliquetos (*Arenicola marina* L.) expuestos a la acción de PVC contaminado con fenantreno demostrando que, tras un tiempo de exposición, el contaminante era desorbido en el interior de los poliquetos y pasaba a los tejidos. Además, en ese mismo estudio comprobó que la desorción también ocurría para dos aditivos añadidos al PVC durante su fabricación: un retardante de llama y triclosan, un agente antibacteriano.

Otro tipo de organismos altamente susceptibles a la ingestión de MPs y contaminantes de todo tipo y que se utilizan como bioindicadores del estado de contaminación marina son los filtradores como mejillones del género *Mytilus* (principalmente tres especies, *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis* y *Mytilus trossulus*). Tienen un estilo de vida sésil y son capaces de filtrar grandes cantidades de agua al día, acumulando en sus tejidos todos los contaminantes que van disueltos en dicha agua. Diversos estudios han demostrado que los mejillones pueden ingerir microplásticos de hasta 2 μm de tamaño y que, expuestos a ciertos polímeros durante unos cuantos días seguidos provocaba el desarrollo de granulocitomas en su aparato digestivo y desequilibrios en los lisosomas (Crawford and Quinn, 2017). Sin embargo, el efecto más extendido que se ha podido comprobar en las distintas especies de mejillones es el daño celular provocado por estrés oxidativo (Guzzetti et al., 2018). Otro estudio (Avio et al.,

2015) expusieron ejemplares de *Mytilus edulis* a la acción de MPs contaminados con pireno y encontraron grandes concentraciones de este contaminante en las glándulas digestivas. Más tarde comprobaron que las altas concentraciones de pireno en estos organismos provocaba no solo estrés oxidativo, sino un cambio a nivel transcripcional (relacionado con el ADN). Pero no solo se han realizado ensayos en laboratorio, sino que también se han encontrado concentraciones reales de MPs y de contaminantes en mejillones en su hábitat natural. Van Cauwenberghe et al., (2015b) y Van Cauwenberghe and Janssen, (2014) encontraron microplásticos en los tejidos de *Mytilus edulis*, *Arenicola marina* y la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas* recogidos a lo largo de la costa de Bélgica, Holanda y Francia. Las concentraciones de MPs encontradas fueron de 0,2-0,36 MPs/g para los mejillones, 1,2 MPs/g para los poliquetos y 0,47 MPs/g para las ostras.

- Efectos sobre crustáceos

Kögel et al., (2020) han realizado un review muy completo en el que analizan 48 publicaciones sobre exposición de diversos tipos de crustáceos a la acción de MPs y sus contaminantes. Concretamente, las especies más utilizadas en estos estudios son la pulga de agua *Daphnia magna*, algunos copépodos, anfípodos y rotíferos, así como otros crustáceos más grandes como el krill o el cangrejo noruego. Los principales polímeros utilizados para la exposición son el PS y el PE, seguidos de lejos por el PET, el PP, la PA y otros materiales. También se utilizaron MPs de distintas formas, como esferas, fragmentos o fibras. Los ensayos consistieron la mayoría de las veces en una exposición diaria de 30 min durante 6 semanas, con distintas concentraciones de MPs. La principal conclusión a la que llegan todos los estudios es que el tamaño de las partículas es determinante, ya que cuanto más pequeñas más dañinas y más efectos tóxicos producen. También se encuentran conclusiones interesantes con respecto al PS, ya que demuestran que el PS unido a grupos de aminas (NH₂) produce mayor toxicidad en menos tiempo que el PS unido a grupos carboxilo (COOH). Dos de esos estudios (Dawson et al., 2018; Gray and Weinstein, 2017) analizaron el efecto del tamaño y la forma de las partículas sobre distintos tipos de camarones. En el caso de *Palaemonetes* expuesto

a partículas de PE de tamaño inferior y superior a 100 μm se encontró una mortalidad mayor relacionada con las partículas más pequeñas, así como asociada a la forma fibrosa frente a la forma esférica de dichas partículas. Por su parte, Dawson et al., (2018) demostraron que no había efectos toxicológicos en *Euphausia superba* tras la exposición a partículas esféricas inferiores a 50 μm . Ziajahromi et al., (2017) constataron que la pulga de agua *Daphnia magna* no ingería partículas de PET superiores a 1 mm de tamaño, pero sí producían cambios en el comportamiento natatorio, así como deformidades en el caparazón y las antenas. Por último, Welden and Cowie, (2016) introdujeron en la alimentación del cangrejo noruego (*Nephrops norvegicus*) fibras de PP durante 8 meses, encontrando una reducción en la ingesta de comida por sensación falsa de saciedad, así como pérdida de masa corporal y grasa.

- Efectos sobre peces

Son numerosos también los estudios que han utilizado ciertos tipos de peces para exposición controlada en laboratorio a MPs y contaminantes. Por ejemplo, Oliveira et al., (2013) expusieron gobios *Pomatoschistus microps* a la acción de esferas de PE de 1-5 μm de tamaño junto con pireno. Los principales daños observados fueron estrés oxidativo y una reducción de la actividad neurotransmisora. Además, la exposición a altas concentraciones producía la muerte tras 96 h de contacto. La exposición del mismo organismo con el mismo tipo de MP, pero cambiando el contaminante por Cr (VI) permitió observar una reducción de la actividad depredadora de gobios juveniles, lo cual en la naturaleza puede tener consecuencias sobre la tasa de crecimiento (Guzzetti et al., 2018). Normalmente, el tamaño de las partículas es un factor influyente, ya que se han encontrado efectos negativos en 15 especies de peces diferentes expuestos a MPs menores de 10 μm (Kögel et al., 2020). Estos efectos varían desde una disminución de longevidad, disminución de actividad neurotransmisora, disminución en el almacenamiento energético y efectos negativos sobre el corazón y los tejidos adiposos. Además, se combinan efectos a corto y largo plazo, que pueden afectar a toda la comunidad. Otros peces que ingieren partículas comprendidas entre 100-300 μm ya presentan variaciones en los efectos, habiendo algunos como el esturión

blanco o los peces de arrecife que sí experimentan modificaciones en el crecimiento, frente a otros como el besugo o la trucha arcoíris en los que no se observan efectos negativos.

Es un hecho, por tanto, que los principales efectos sobre los peces están relacionados con modificaciones en el crecimiento y el comportamiento natatorio. Los peces están preparados por naturaleza para recorrer largas distancias nadando, por lo que son susceptibles de ingerir importantes cantidades de MPs en su trayecto y provocar una bioacumulación de contaminantes en sus organismos (Crawford and Quinn, 2017). Ya hay evidencias de la ingesta de MPs por peces en sus hábitats naturales. Crawford and Quinn (2017) realizaron un review sobre estas evidencias. Por ejemplo, se han encontrado partículas plásticas en el tracto digestivo de peces recogidos en el Canal de la Mancha y en la costa brasileña. Los peces afectados fueron la caballa real (*Scomberomorus cavalla*) y el cazón (*Rhizoprionodon lalandii*). También se han detectado partículas en el interior de gobios recogidos en ríos franceses, mientras que la recogida de peces en el Mediterráneo tras un año expuestos a diversos residuos plásticos demostró la ingesta por parte del 18% de los peces recogidos, siendo el más afectado el atún rojo (*Thunnus thynnus*).

1.7.2. Interacciones y efectos sobre la salud humana

El ser humano está expuesto diariamente a la ingesta de microplásticos a través de la comida y el aire, principalmente (Figura 1.17). Un estudio reciente realizado por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2019) constató la presencia de microplásticos en agua potable, tanto embotellada como agua del grifo. El rango de concentración de microplásticos en dichas aguas se sitúa entre 0 y 10^4 partículas/L, con valores medios comprendidos entre $7 \cdot 10^{-3}$ y 6.292 partículas/L. Las aguas más contaminadas fueron unas embotelladas en vidrio y PET reciclado, mientras que las menos contaminadas fueron aguas del grifo procedentes de corrientes subterráneas, que están más protegidas frente a la contaminación superficial.

Otro estudio (Cox et al., 2019) muy completo agrupó toda la información disponible hasta el momento sobre la presencia de microplásticos en otras fuentes de ingestión, como el pescado y marisco, la sal, la cerveza o la miel y realiza una serie de estimaciones sobre la ingesta diaria y anual de microplásticos de distintos grupos de personas en base a su edad y sexo. Las mayores concentraciones expresadas en partículas/g/L/m³ se encuentran en medios líquidos como el agua y el alcohol (cerveza). Concretamente para el alcohol se reportan datos comprendidos entre 4-83 partículas/L. Las concentraciones presentes en todos los productos estudiados pueden consultarse en la Tabla 1.23.

Tabla 1.23. Cantidad de microplásticos por unidad de masa o volumen encontradas en diversos alimentos y bebidas ingeridos por el ser humano. Fuente: Modificada de WHO (2019) y Cox et al., (2019).

Tipo de comida/bebida	Procedencia	Cantidad MPs/g/L/m ³
Bivalvos	Francia	0,36
	Bélgica	0,37
	Canadá	1,33-4,35
	China	1,38-4,20
	Tailandia	0,46
Crustáceos	Diversos países	0,75
Pescado	Golfo Pérsico	1,00
Sal	China	0,20-0,62
	España	0,12-0,14
Azúcar	Alemania	0,44
Miel	Diversos países	0,09-0,11
Alcohol (cerveza)	Alemania	10,10-82,67
	Canadá	4,05
Agua embotellada en vidrio	Alemania	50-6.292
Agua embotellada en plástico de un solo uso	Alemania	14-2.649
Agua embotellada en plástico reciclado	Alemania	118-4.889
Agua envasada en tetrabrik	Alemania	11
Agua embotellada	Diversos países	10,4-315
Agua del grifo	Diversos países	4,24
	Alemania (procedencia agua subterránea)	7·10 ⁻³
	Dinamarca (procedencia agua subterránea)	0-0,8

Por otra parte, los mismos autores calcularon el consumo diario de partículas de microplásticos estimado para cuatro grupos de personas (niños y niñas, adultos hombres y mujeres) basándose en la alimentación e ingesta de la población americana, y alcanzó valores comprendidos entre 106-142 partículas/día teniendo en cuenta solo comida y bebida. Si a eso se le suman las cantidades inhaladas por el aire, supondría entre 97 y 132 partículas más al día (Tabla 1.24). Extrapolando estos datos al total anual, los autores obtuvieron valores de ingestión entre 74.000-121.000 partículas/año teniendo en cuenta todas las categorías estudiadas.

Tabla 1.24. Consumo diario y anual de partículas de microplásticos en cuatro grupos de edades y sexos diferentes. Fuente: Modificada de Cox et al., (2019).

Grupo	Consumo de MPs diario (Partículas)		Consumo de MPs al año (Partículas)	
	Consumidos	Inhalados	Consumidos	Inhalados
Niños	113	110	41.106±7.124	40.225±44.730
Niñas	106	97	38.722±6.977	35.338±39.296
Adultos hombres	142	170	51.814±8.172	61.928±68.865
Adultos mujeres	126	132	46.013±7.755	48.270±53.676

Los riesgos toxicológicos asociados a la ingesta e inhalación de microplásticos proceden de tres fuentes diferentes: la partícula en sí misma, los compuestos químicos que forman parte de ella (incluyendo monómeros, aditivos y contaminantes adsorbidos) y biofilms generados mayormente en el agua embotellada y agua de grifo (WHO, 2019). Lo cierto es que la misma sustancia puede provocar efectos diferentes dependiendo de la concentración en la que está presente, con qué frecuencia la persona está expuesta a la misma sustancia y también por dónde se produce la exposición (si es ingesta, inhalación o contacto dérmico). Por supuesto, también influye la edad, el sexo y el estado físico general de la persona expuesta. Por tanto, no se puede afirmar con total seguridad que los microplásticos presentes en los distintos alimentos y bebidas supongan un riesgo concreto y elevado para las personas. En la Figura 1.17 se presentan las principales vías de exposición del cuerpo humano a los microplásticos, cómo se produce la

penetración en los distintos sistemas del cuerpo y cuáles son los efectos que se producen.

Algunos estudios han analizado la relación entre el tamaño de las partículas y la capacidad de ser absorbidas por el tracto gastrointestinal o los alveolos pulmonares (Barboza et al., 2018; Wright and Kelly, 2017). Los resultados revelaron, en el caso del tracto gastrointestinal, que las partículas menores de 20 μm pueden ser absorbidas mediante endocitosis por parte de las células epiteliales del tejido asociado a la mucosa intestinal y pasar a los órganos. Sin embargo, solo la fracción más pequeña (entre 0,1 y 10 μm) sería capaz de penetrar a todos los órganos, atravesar membranas y la barrera de la sangre y la placenta. Concretamente, un estudio muy reciente (Ragusa et al., 2021) ha reportado la presencia de microplásticos en placenta humana, partículas de entre 5-10 μm y con formas esféricas e irregulares. Los autores explican que los microplásticos pueden acceder desde el sistema respiratorio o desde el aparato digestivo, a través de endocitosis celular o a través de un transporte paracelular, mediante un mecanismo de translocación. Cuando se produce este último, los microplásticos pueden acceder a las células del sistema linfático. Los principales factores que controlan los procesos de translocación son el tamaño de partícula, la superficie específica, la hidrofobicidad y la presencia de ciertos grupos funcionales. En cuanto a la entrada de microplásticos al sistema respiratorio, parece ser que solo las partículas de tamaño inferior a 2,5 μm y las microfibras son susceptibles de penetrar en los alveolos pulmonares (Wright and Kelly, 2017). Estos mismos autores aseguraron que la toxicidad de los microplásticos está relacionada con procesos de inflamación debido a la naturaleza biopersistente de dichas partículas, así como su carácter hidrofóbico y su composición química.

Otro estudio (Schirinzi et al., 2017) realizó pruebas con distintos tipos de microplásticos contaminados con metales para comprobar la toxicidad a nivel celular en términos de estrés oxidativo, asegurando que algunos nanomateriales de carbón interaccionando con otros contaminantes pueden aumentar su toxicidad en el interior del cuerpo. También se ha demostrado que el cromo (III) y cromo (VI) adsorbidos en microplásticos de los principales tipos de polímeros (PE, PP,

PVC y PS) se libera en el interior del tracto gastrointestinal al entrar en contacto con los jugos gástricos que proporcionan un pH ácido junto con una elevada temperatura (Liao and Yang, 2020). En cuanto a los problemas pulmonares que se pueden producir, en un estudio con partículas de PS de 50 nm de tamaño se observaron efectos genotóxicos y citotóxicos en las células epiteliales del pulmón (Paget et al., 2015). Además, es un hecho que la inhalación repetitiva y en ciertas cantidades de microfibras sintéticas acaba provocando inflamación de los bronquios, asma, fibrosis quística y hasta lesiones alveolares (Campanale et al., 2020).

Por último, el contacto dérmico con los microplásticos no está tan estudiado ni valorado como una fuente de exposición, aunque lo cierto es que la piel está en continuo contacto con monómeros y aditivos propios de los polímeros como el bisfenol A y los ftalatos a través del uso de cremas, cosméticos y otros productos de cuidado personal que los contienen (Peinado et al., 2020). No se debe descartar tampoco la posibilidad de que estos microplásticos puedan atravesar la barrera dérmica y provocar una cierta toxicidad relacionada con procesos inflamatorios, como se ha comentado antes. Está muy estudiado el hecho de que el bisfenol A y los ftalatos actúan como disruptores endocrinos, provocando desórdenes hormonales que afectan al aparato reproductor y pueden ocasionar enfermedades como esterilidad, endometriosis o incluso cáncer (Sazakli and Leotsinidis, 2019).

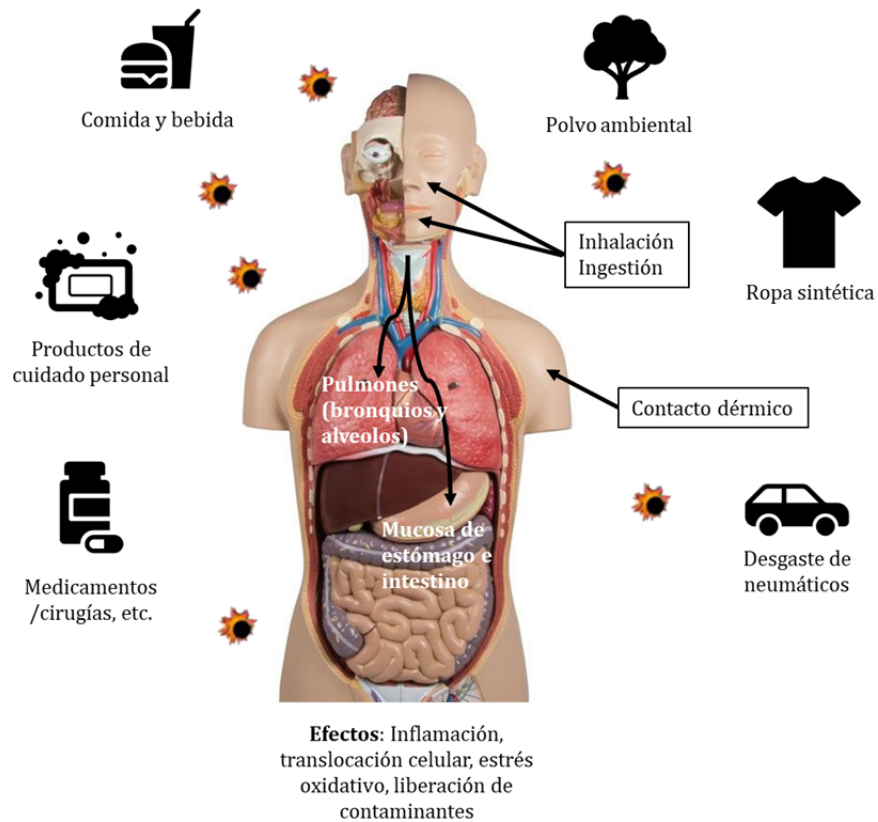


Figura 1.17. Principales fuentes de exposición y entrada al cuerpo humano de microplásticos. Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO 2.
MATERIALES Y
MÉTODOS

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Análisis de microplásticos de polietileno presentes en productos de cuidado personal

2.1.1. Material empleado

Para proceder a la realización de esta parte de la Tesis fue necesario adquirir una serie de productos de cuidado personal (PCPs). El método de selección de los productos se presenta descrito en el apartado 2.1.2. de este capítulo. En total se adquirieron 20 productos de cuatro categorías diferentes: gel de baño, tratamiento corporal, tratamiento facial y tratamiento de pies. En la Figura 2.1 se muestran a modo de ejemplo algunos de los productos adquiridos. Todos los productos elegidos cumplían tres requisitos: eran productos de “lavado” (aquellos que permanecen poco tiempo en contacto con la piel), pertenecían a marcas de consumo masivo (es decir, no se escogieron productos de alta cosmética) y contenían micropartículas de polietileno entre sus ingredientes (Figura 2.2). En la Tabla 2.1 se presentan las cuatro categorías consideradas y cuántos productos de cada categoría se adquirieron para su posterior análisis en laboratorio.

Tabla 2.1. Número de PCPs adquiridos para cada categoría considerada.

Categoría	Número de productos adquiridos
Gel de baño	2
Tratamiento corporal	9
Tratamiento facial	7
Tratamiento de pies	2



Figura 2.1. Muestrario de productos de cuidado personal adquiridos.

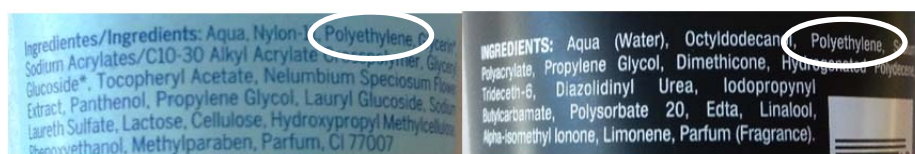


Figura 2.2. Ejemplos de etiquetas de ingredientes en las que aparece el polietileno.

2.1.2. Criterios de selección de los PCPs adquiridos

Todos los productos fueron adquiridos en once superficies comerciales de grandes cadenas nacionales e internacionales, con presencia en la capital de Granada. En cada una de las superficies visitadas se hizo, en primer lugar, un exhaustivo trabajo de recuento contabilizando todos los productos denominados de “lavado” comercializados en cuatro categorías elegidas: gel de baño, tratamiento corporal, tratamiento facial y tratamiento de pies. Para el recuento de productos se partió de las siguientes acotaciones:

- Sólo se contabilizaron productos de “lavado”, aquellos que permanecen poco tiempo en contacto con la piel y son rápidamente vertidos al agua. No se contabilizaron productos “permanentes”, aquellos que permanecen más tiempo sobre la piel, debido principalmente a la dificultad para extraer los compuestos de plástico de ellos, ya que en la mayoría de dichos productos el plástico no se

encuentra en forma de micropartículas, sino que se encuentra en otro estado, formando compuestos con otros ingredientes, etc.

- Sólo se contabilizaron marcas de consumo masivo, ya que son los productos económicamente más accesibles para la mayoría de la población y, por tanto, los que más se venden y también los que constituyen el grueso del mercado.
- Las categorías se eligieron en base a la presencia o ausencia de polietileno en forma de micropartículas entre sus productos. Por tanto, fuera del estudio quedaron algunas categorías de productos de “lavado”, como los champús y productos de cuidado capilar y la categoría de cuidado de manos por no encontrar ningún producto que contuviese polietileno en forma de micropartículas.

Una vez contabilizados todos los productos de diferentes marcas y diferentes tipos que se comercializan dentro de cada categoría elegida, se indicó cuántos de ellos llevaban microplásticos de PE entre sus ingredientes. Finalmente, se escogieron los 20 productos a adquirir intentando obtener la máxima representatividad dentro de cada categoría en cuanto a cantidad de producto por bote, tipo de producto (si eran para distintos tipos de piel, con distintas fragancias, etc.) o tipo de marca (marcas líderes o marcas blancas).

2.1.3. Extracción de micropartículas de los PCPs

Para extraer las micropartículas de los PCPs, en primer lugar, debía disolverse el producto en agua Milli-Q manteniendo una relación sólido-líquido de 1:10. Esta ratio se eligió después de realizar diversas pruebas con distintos productos y comprobar que la proporción sólido-líquido de 1:10 era la que mejor funcionaba para disolver el producto y filtrarlo posteriormente con facilidad. Para la completa disolución, el producto se mantenía agitando en un agitador con placa calefactora durante una hora a 70°C de temperatura y a 1.200 revoluciones por minuto (rpm), adaptando este procedimiento al de otros autores que ya habían realizado estudios similares (Cheung and Fok, 2016; Praveena et al., 2018). Algunos productos contenían entre sus ingredientes una gran proporción de

paraffinum liquidum (un producto derivado del petróleo que tiene la capacidad de formar una película sobre la piel), que dificultaba la disolución del producto, por lo que fue necesario añadir en esos casos 10 mL de un quitagrasas comercial estándar en el proceso de disolución.

Posteriormente, la disolución era filtrada mediante un sistema de vacío utilizando una bomba Rocker 300 y filtros de celulosa FILTER-LAB 1242 con un tamaño de poro de 7-9 μm , con lo que se reduce al máximo la pérdida de micropartículas. Después el filtro se dejaba secar durante 24 horas a 30°C y pasado ese tiempo era pesado en una balanza de precisión Adventurer Pro AV114C para obtener la cantidad de micropartículas. Éstas eran recuperadas del filtro con ayuda de una cucharilla metálica y dispuestas en botes de vidrio para su posterior análisis (Figura 2.3). Todas las extracciones se hicieron por triplicado con cada producto, por lo que los resultados presentados corresponden a valores medios.



Figura 2.3. Ejemplos de micropásticos almacenados en botes de vidrio tras la extracción.

2.1.4. Técnicas de identificación y caracterización de micropásticos

En esta fase lo más importante fue separar correctamente las partículas que eran micropásticos de aquellas que no lo eran. Algunos productos contenían otros tipos de micropartículas exfoliantes aparte de los gránulos de PE, los cuales fueron identificados en las listas de ingredientes como partículas de cáscara de nuez, hueso de uva o celulosa microcristalina. Estas partículas diferían claramente de los micropásticos en el color, la textura y la forma, ya que la mayoría de micropásticos eran blancos o de colores artificiales (como azul o rosa), con una textura suave al tacto y una forma redondeada, mientras que las otras partículas

exfoliantes eran de tonos marrones, más grandes en tamaño y con formas mucho más heterogéneas. Por tanto, siguiendo estos patrones se separaron con pinzas metálicas lo que visualmente se consideraron partículas no hechas de plástico, que además se encontraban en mucha menor cantidad. Posteriormente se aplicaron técnicas de identificación por infrarrojos para cada grupo de partículas para asegurar que la separación era correcta. Las técnicas de identificación y caracterización de los microplásticos de PE llevadas a cabo fueron las siguientes:

- Espectroscopía de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR): se llevó a cabo en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo Spectrum-65, equipado con un sistema de Reflectancia Total Atenuada (ATR) que permite medir en el rango de 4.000 a 400 cm^{-1} con una resolución de 2 cm^{-1} (Figura 2.4). Esta técnica se utilizó en primer lugar para diferenciar las partículas de plástico de aquellas que no lo eran, y en segundo lugar para identificar la composición polimérica de los microplásticos y comprobar si, efectivamente, todos eran de polietileno.



Figura 2.4. Espectrofotómetro de infrarrojos Perkin-Elmer Spectrum-65.

- Técnica de granulometría: se llevó a cabo en un equipo Malvern Mastersizer 2000LF láser con una unidad de dispersión de muestras vía líquida de mínimo volumen HYDRO 2000Up (Figura 2.5). Esta técnica permitió analizar la distribución del tamaño de los

microplásticos extraídos de los PCPs en un rango comprendido entre 0,02 y 1.500 micras mediante difracción de luz láser.



Figura 2.5. Equipo de granulometría Malvern Mastersizer 2000LF. Fuente: Centro de Instrumentación Científica (CIC).

- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM): se llevó a cabo en un microscopio electrónico de barrido ambiental de alta resolución, modelo QuemScan650F, con un sistema de microanálisis de rayos-X, Dual EDS XFlash de Bruker con detector XFlash 6/30 (Figura 2.6). Esta técnica se utilizó para ver la morfología de los gránulos de plástico a nivel microscópico y así poder detectar irregularidades, grietas y otras características que los convierten en potencialmente peligrosos para el medio acuático. Por su parte, el microanálisis se utilizó para detectar elementos químicos que pudieran indicar la presencia de aditivos en estos microplásticos.

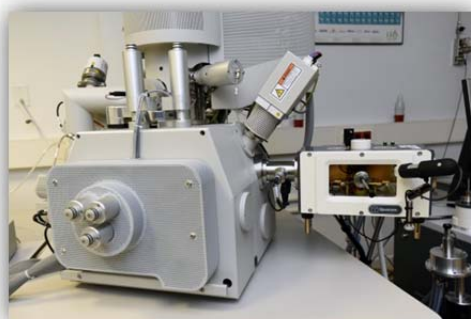


Figura 2.6. Microscopio electrónico de barrido ambiental de alta resolución, modelo QuemScan650F. Fuente: CIC.

2.1.5. Cálculo de las concentraciones de microplásticos

Las cantidades de microplásticos presentes en los PCPs fueron expresadas en porcentaje de MPs en el total del producto y número de partículas por gramo de producto. El porcentaje fue calculado a partir de la cantidad de MPs obtenida tras pesar la muestra y retirar las partículas no plásticas a aquellos productos que las contenían.

Para calcular el número de partículas por producto se siguió la metodología propuesta por Napper et al., (2015). Esta metodología parte de la consideración de que todas las partículas presentes en las muestras son esféricas, y aunque no es totalmente consistente con la realidad, es válido ya que debido al pequeño tamaño de las partículas no hay diferencias apreciables en el volumen que ocupan. La metodología utiliza tres ecuaciones (Ecuaciones I-III):

$$V_t = \frac{M_t}{D} \quad \text{Ecuación I}$$

$$V_p = \frac{4}{3}\pi r^3 \quad \text{Ecuación II}$$

$$N = \frac{V_t}{V_p} \quad \text{Ecuación III}$$

Donde V_t es el volumen total de microplásticos obtenidos en cada producto; M_t es la masa de microplásticos obtenidos en cada producto; D es la densidad del polímero; V_p es el volumen medio de una partícula; r es el radio de la partícula y N es el número de partículas por producto. A continuación, se detalla cómo se obtuvo cada valor para poder aplicar las fórmulas:

- M_t es el valor que se obtiene al pesar los filtros secos con los microplásticos.
- D es la densidad del polietileno en este caso, cuyo valor es la media de la densidad del polietileno de baja densidad (PEBD) ($0,91 \text{ g/cm}^3$) y el polietileno de alta densidad (PEAD) ($0,97 \text{ g/cm}^3$).

- R fue calculado midiendo el diámetro de tres partículas al azar en las fotografías proporcionadas por el SEM para cada producto, con ayuda del software ImageJ, y calculando la media de las tres medidas.

2.2. Acumulación y distribución de microplásticos en playas: El caso-estudio de la Costa Tropical (Granada, España)

2.2.1. Área de estudio

Las muestras de sedimento fueron tomadas en tres playas de la Costa Tropical separadas entre sí una distancia similar, y situadas en el extremo más occidental, en el extremo más oriental y en el centro, con objetivo de tener un estudio lo más representativo posible de toda la costa de Granada. Además, se seleccionaron playas con topologías y naturaleza diferentes para comprobar si la distribución de microplásticos se veía afectada por estos factores. Hechas estas consideraciones, las playas elegidas fueron La Herradura (en el municipio de Almuñécar), Playa Motril (en el municipio de Motril) y La Rábita (en el municipio de Albuñol) (Figura 2.7). En la Tabla 2.2 se reúnen las características más señaladas de dichas playas. Todas las muestras fueron cogidas entre finales de octubre y principios de noviembre de 2018, ya que en esta época es cuando más repunta la cantidad de basura en las playas, de acuerdo con un informe emitido por el MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente) en 2016.

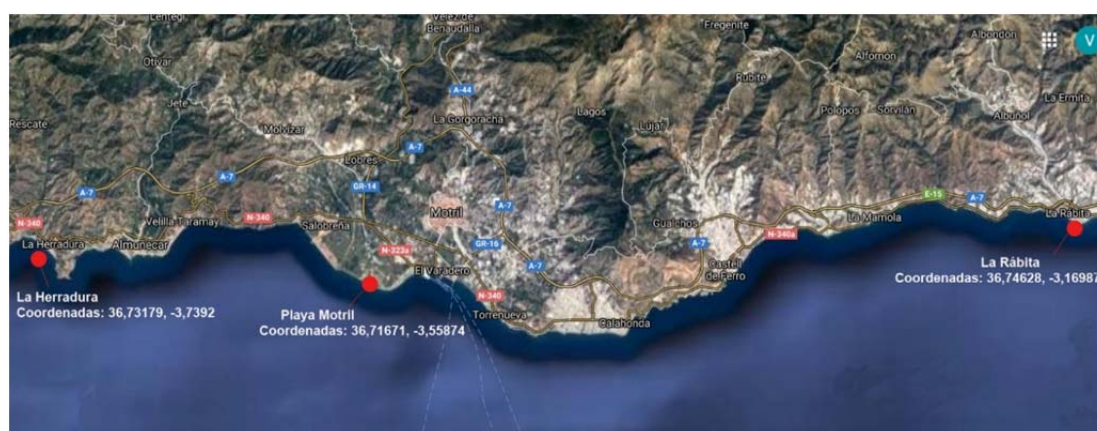


Figura 2.7. Mapa de localización de las playas muestreadas. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2.2. Principales características geomorfológicas de las playas analizadas.

Playa	Actividad	Tipo de sedimento	Topología	Anchura mínima (m)	Anchura máxima (m)
La Herradura	Urbana	Arena y grava	Cerrada (tipo bahía)	16	62
Motril	No urbana	Arena y grava	Abierta (tipo deltaico)	12	116
La Rábita	Urbana	Arena y grava	Abierta (tipo deltaico)	20	65

La provincia de Granada está situada en el sureste de Andalucía, al sur del país. Cubre un área de aproximadamente 12.635 km² y tiene una población de 914.678 habitantes, de la cual el 55% aproximadamente vive en la capital y su área metropolitana, mientras que el 10,5% vive en la costa, siendo Motril y Almuñécar los principales núcleos de población. Las principales características del relieve de Granada están condicionadas por la diferencia de altitud. A lo largo de la provincia destacan dos unidades geológicas: la Cordillera Bética y las Depresiones Neógenas. Dentro de la Cordillera Bética se encuentra Sierra Nevada, en la cual se sitúa el pico más alto de la Península Ibérica, el Mulhacén (3.479 metros), siendo la distancia entre éste y la costa de Granada, en línea recta, de tan solo 35 kilómetros (Agencia Andaluza de la Energía, 2010). La costa de Granada es extremadamente escarpada y las playas amplias y planicies costeras son inusuales en esta zona, donde las montañas y el mar están prácticamente en contacto. Además, es una zona en constante cambio paisajístico debido a una intensa competencia entre los usos del suelo, en los que predomina el desarrollo turístico, las infraestructuras de carreteras y medios de transporte y, sobre todo, la intensa agricultura de invernadero.

La Herradura es una localidad que pertenece al municipio de Almuñécar, situada en el límite oeste de la Costa Tropical, a cuatro kilómetros de la frontera con la provincia de Málaga. La playa que lleva su nombre se sitúa a orillas del Mediterráneo formando una bahía que está dividida en tres partes y rodeada por acantilados. Por otra parte, Motril está situado cerca del estuario del río Guadalfeo, dominando la llanura de este río. Es el municipio más poblado de la Costa Tropical

y también poseedor de una importante red industrial y comercial, con el Puerto de Motril como uno de los principales enclaves en este ámbito. También es un área de numerosos cultivos tropicales. Playa Motril se encuentra aproximadamente a 3,7 km en línea recta de la desembocadura del Guadalfeo por su lado más occidental, y a 5,5 km en línea recta del Puerto de Motril por el lado más oriental. Se encuentra en una zona considerada natural por estar alejada de grandes núcleos de población, aunque sí está rodeada por residenciales turísticos y atractivos varios de ocio, entre ellos un campo de golf. Finalmente, La Rábida es una localidad perteneciente al municipio de Albuñol, situado en la parte más oriental de la Costa Tropical, a cuatro kilómetros de la frontera con la provincia de Almería. Está situada en una zona semi-desértica, dominando la llanura de la ría de Albuñol, rodeada de montañas y acantilados. La playa que lleva su nombre se encuentra, al igual que La Herradura, junto al núcleo de población principal, aunque se trata de una playa abierta de tipo deltaico, situada a 890 metros en línea recta de la desembocadura del Barranco de las Angosturas.

El clima a lo largo de la Costa de Granada es de carácter subtropical, con una media de 320 días soleados al año. Está protegida por la Sierra de Lújar al norte, que frena los vientos fríos de Sierra Nevada, y el cálido mar de Alborán al sur, que actúa como regulador térmico. La temperatura media anual se sitúa entre 17 y 18°C, con veranos cálidos (alrededor de 25-30°C) e inviernos suaves (alrededor de 12-15°C). En cuanto a las precipitaciones, suelen ser escasas a lo largo del año, siendo diciembre y enero los meses más lluviosos con precipitaciones en torno a 40 mm.

2.2.2. Toma de muestras de sedimento

El muestreo se llevó a cabo realizando una adaptación del método descrito por Besley et al., (2017). En cada una de las playas elegidas se marcaron cuatro líneas de muestreo, de 100 metros de longitud cada una, coincidiendo con las siguientes zonas de la playa: línea de rompiente de olas (L1), línea de marea alta (L2), zona supralitoral 1 (L3) y zona supralitoral 2 (cerca al paseo marítimo) (L4). La separación entre cada una de las líneas se decidió en función del relieve y

las características de las playas, y finalmente fue homogeneizado para utilizar las mismas separaciones en las tres playas: 2,5 metros entre L1 y L2, 7 metros entre L2 y L3, 10 metros entre L3 y L4 (Figura 2.8). Para medir la longitud de las líneas y la separación entre ellas se utilizaron herramientas básicas, entre ellas una cinta métrica y barras de hierro para marcar posiciones.

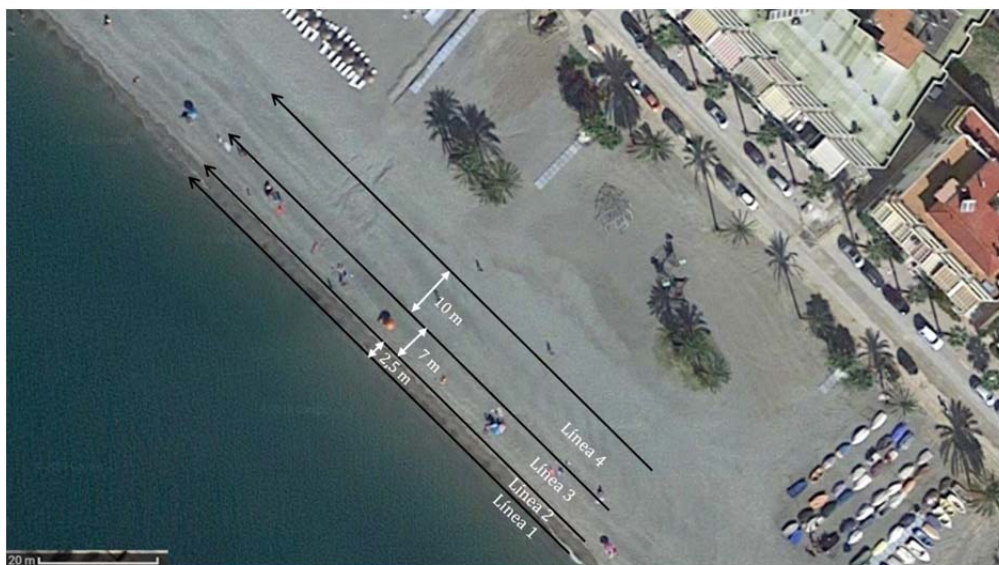


Figura 2.8. Posición de las líneas de muestreo y separación entre ellas en una de las playas de estudio. Fuente: Elaboración propia.

Para realizar la toma de muestras de sedimento se utilizó un cuadrado de madera de 50x50 cm, un vaso de vidrio de 5 cm de diámetro en la boca, un tamiz de acero inoxidable con tamaño de malla 5 mm y recipientes de aluminio. Es muy importante evitar la utilización de utensilios de plástico durante todo el procedimiento de muestreo y posterior tratamiento, ya que las muestras podrían contaminarse fácilmente con micropartículas desprendidas de los objetos de plástico. Así mismo, durante todo el proceso debe llevarse puesta una bata de algodón para evitar contaminación con fibras textiles sintéticas.

El muestreo se realizó de la siguiente forma: en cada una de las líneas de muestreo de 100 metros de longitud se tomaba una muestra cada 10 metros, con un total de 11 muestras por línea. En cada punto de muestreo, con ayuda del cuadrado de madera, se tomaban 5 réplicas, una en cada vértice del cuadrado y otra en el centro (Figura 2.9). Las muestras se cogieron profundizando hasta los

primeros 5 cm de sedimento con ayuda del vaso de vidrio, ya que numerosos estudios han demostrado una mayor concentración de microplásticos en los primeros 5 cm de profundidad del sedimento (Besley et al., 2016). Las muestras fueron a continuación tamizadas in situ utilizando el tamiz de 5 mm. En las playas de Granada fue necesario tamizar in situ debido a las marcadas diferencias en el tamaño de grano del sedimento, con el objetivo de obtener un sedimento homogéneo en el rango de tamaño de los microplásticos (<5 mm). Finalmente, cada muestra era guardada en un recipiente de aluminio sellado y transportada hasta el laboratorio, donde se guardaban en un lugar seco y oscuro para su posterior análisis.

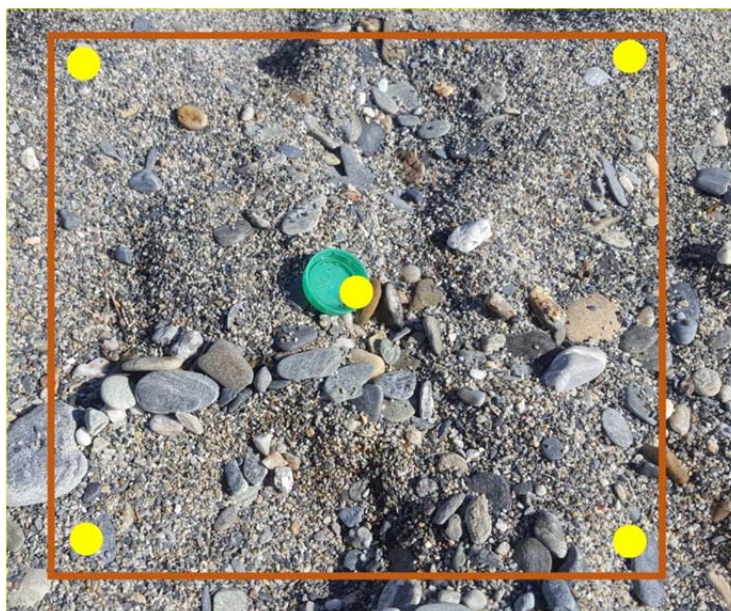


Figura 2.9. Esquema sobre toma de muestras de sedimento en una de las playas. Fuente: Elaboración propia.

2.2.3. Extracción de los microplásticos del sedimento

En primer lugar, el sedimento fue secado en una estufa a 50°C durante 24 horas, dentro de los recipientes de aluminio tapados para evitar contaminación. Esa temperatura es la idónea para secar este tipo de sedimento ya que, si se secaba a temperaturas superiores, el sedimento formaba aglomerados. Posteriormente, todas las muestras pertenecientes a una misma línea eran mezcladas en un cubo metálico herméticamente sellado, y se tomaban dos réplicas de 500 gramos de

sedimento seco, una de la parte superior del cubo y otra de la parte inferior. Esto se hizo para prevenir que algunos polímeros más densos como el polietileno tereftalato (PET) o el policloruro de vinilo (PVC) fueran despreciados.

La extracción de los microplásticos se hizo por diferencia de densidad, utilizando una disolución saturada de NaCl que era añadida al sedimento. Para preparar la disolución, se añadían 350 g de cloruro sódico AGR ACS de Labkem por cada litro de agua, utilizando agua corriente, ya que la disolución era posteriormente filtrada utilizando una bomba de vacío y filtros de celulosa FILTER-LAB 1242 con tamaño de poro 7-9 μm , para eliminar al máximo la presencia de impurezas en la solución salina.

Para realizar la extracción de microplásticos, cada muestra de 500 g de sedimento seco era colocada en un vaso de vidrio y se añadía disolución de NaCl respetando una relación sólido-líquido de 1:4. Con esta relación se creaba una cantidad suficiente de sobrenadante para ser filtrado sin riesgo de mezclarse con el sedimento del fondo. La mezcla era agitada manualmente durante 5 minutos con una espátula de acero inoxidable y se dejaba decantar durante 24 horas. Pasado este tiempo, el sobrenadante era filtrado mediante un sistema de sifón para evitar que el líquido se mezclara con el sedimento más fino del fondo. La filtración en este caso se hizo mediante vacío, utilizando filtros de fibra de vidrio PRAT DUMAS de 47 mm de diámetro y tamaño de poro 1,2 μm . Los filtros eran después guardados en placas Petri de vidrio. Durante todo el proceso se mantenía el material utilizado (vasos de vidrio, placas de filtrado, etc.) tapado con papel de aluminio y solo se destapaba lo mínimo posible cuando había que hacer algún procedimiento.

2.2.4. *Análisis de los microplásticos extraídos*

- Microplásticos visualmente reconocibles

En primer lugar, los microplásticos visualmente reconocibles fueron retirados de los filtros con pinzas metálicas y analizados por FTIR para determinar su composición polimérica. El análisis FTIR se llevó a cabo en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum 65. Después, con la obtención de los

espectros infrarrojos de estos microplásticos se calculó el Índice Carbonilo, que es descrito a continuación.

El Índice Carbonilo es un indicador de la presencia de grupos carbonilo (formados por un doble enlace carbono-oxígeno, C=O) en los espectros infrarrojos, los cuales a menudo resultan de la degradación de los polímeros. Hay algunos polímeros que llevan grupos carbonilo en su forma pura, como es el caso del PET, por lo que en esas muestras no tiene mucho sentido realizar el cálculo del Índice Carbonilo (Velandia-Cabra, 2017). Por el contrario, en muchos de los polímeros los picos del espectro correspondientes al grupo carbonilo se forman cuando el polímero sufre degradación, normalmente tras estar mucho tiempo expuesto a la acción de los agentes meteorológicos (Rodrigues et al., 2018).

Para calcular el Índice Carbonilo, la absorbancia de los picos carbonilo del espectro debe ser comparada con la absorbancia de un pico de referencia en la misma muestra. Por tanto, el cálculo del Índice Carbonilo se haría aplicando esta sencilla fórmula (Ecuación IV):

$$\text{Índice Carbonilo (IC)} = \frac{\text{Absorbancia pico carbonilo}}{\text{Absorbancia pico referencia}} \quad \text{Ecuación IV}$$

La región del espectro donde normalmente se forman los grupos carbonilo en los polímeros degradados se encuentra entre 1.700-1.800 cm^{-1} . Igualmente, hay una zona del espectro que permanece inalterada incluso aunque los polímeros hayan estado expuestos al medio ambiente, que normalmente se encuentra entre 1.450-470 cm^{-1} (Fernández-Barranco, 2015). En este rango se encuentran los picos de referencia que deben ser considerados para el cálculo del Índice Carbonilo de acuerdo con la Ecuación IV. El nivel relativo de foto-oxidación relacionado con los grupos carbonilo puede expresarse como bajo (IC entre 0 y 0,15), medio (IC entre 0,16 y 0,30) y alto (IC >0.31) (Rodrigues et al., 2018).

- Microplásticos visualmente no reconocibles

Una vez que los microplásticos de mayor tamaño fueron retirados de los filtros, se procedió al tratamiento del filtro para el análisis de los microplásticos más pequeños, imposibles de reconocer visualmente. Para ello, los filtros fueron tintados con 1 mL del pigmento Rojo de Nilo a una concentración de 0,01 mg/mL, siguiendo el procedimiento descrito por Prata et al., (2019c). El Rojo de Nilo es un pigmento soluble fluorescente y lipofílico que permite la tinción in situ de los lípidos y ha sido frecuentemente utilizado para evaluar el contenido lipídico de algunas células. Además, es solvatocrómico, lo que quiere decir que la emisión de fluorescencia depende de los cambios en la polaridad del ambiente. Este comportamiento permite que los microplásticos puedan ser clasificados por su hidrofobicidad (por ejemplo, en poliolefinas, poliaromáticos, poliésteres, etc.) (Maes et al., 2017b).

Una vez añadido el Rojo de Nilo, se dejó reaccionar durante 5 minutos y pasado ese tiempo los filtros fueron lavados con agua Milli-Q y guardados nuevamente en las placas Petri para dejarlos secar. Una vez secos, los filtros fueron examinados bajo una lámpara de luz ultravioleta con una longitud de onda de 254 nm, que ha sido demostrada como una longitud de onda que otorga fluorescencia a un gran número de polímeros (Prata et al., 2019c). A esta longitud de onda, la materia orgánica no presenta fluorescencia, lo cual es una gran ventaja en muestras que no han sido digeridas, como es el caso de este estudio. Gracias a la fluorescencia, los microplásticos brillan de color rojo o amarillo y pueden ser diferenciados de la materia orgánica o mineral presente en las muestras. Mientras se mantenían los filtros iluminados con la luz ultravioleta, se fueron tomando fotografías con una cámara profesional.

Finalmente, las fotografías fueron analizadas y en ellas se contabilizó el número de microplásticos presente en cada muestra con ayuda del software Photoshop CS5, y también se midió el tamaño de todos los microplásticos posibles con ayuda del software ImageJ, tomando como referencia el tamaño del filtro (47 mm de diámetro). Posteriormente, los microplásticos fueron agrupados en cinco

categorías de tamaños (<100; 100-200; 200-300; 300-500; >500 micras) (adaptado de Simon-Sánchez et al., 2019).

2.2.5. Análisis estadísticos

Cuando todas las muestras fueron procesadas y se obtuvieron los resultados, se llevaron a cabo diferentes análisis estadísticos que permitieron ver si había diferencias significativas en la acumulación y distribución de los microplásticos entre las distintas playas y entre las distintas líneas de muestreo, considerando también las características descritas en la Tabla 2.2. A la hora de escoger el tipo de análisis realizado se requiere que los datos experimentales cumplan algunos requisitos, y en este apartado se han realizado los siguientes análisis de acuerdo con dichos requisitos:

- ANOVA de un factor para los datos que seguían una distribución normal y cumplían el principio de homocedasticidad (igualdad de varianzas).
- Kruskal-Wallis como análisis equivalente al ANOVA para aquellos datos que no siguen una distribución normal y no cumplen la igualdad de varianzas.
- T-student para muestras relacionadas en aquellos casos que solo necesitan compararse dos grupos.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software Sigmaplot 12.0.

2.3. Ensayos de adsorción y desorción de metales y contaminantes orgánicos sobre microplásticos en medios acuosos

Este capítulo se divide en dos partes que utilizan el mismo material como adsorbente pero distintos reactivos como adsorbatos, por lo que la metodología empleada se ha separado en apartados distintos, aunque haya elementos comunes a ambos.

2.3.1. Material empleado

- Microplásticos fabricados artificialmente

Para los ensayos de adsorción y desorción se eligieron cinco polímeros conocidos como *commodities* por la Sociedad de Industrias del Plástico (SPI), ya que son los que forman parte de los objetos de uso cotidiano y se pueden identificar fácilmente por un número del 1 al 7 insertado dentro de un triángulo que suele estar impreso en la parte inferior del envase u objeto. Estos plásticos son el PET, PE, PVC, PP y PS. Los materiales elegidos para los ensayos tenían la siguiente procedencia: el PE procedía de granza reciclada, la cual fue fabricada con residuos de film PE post-consumo de la Planta de Tratamiento de Residuos de Granada (Ecocentral); el PET y el PS procedían de envases alimentarios usados (una botella y una huevera, respectivamente) antes de ser depositados en el contenedor amarillo; el PP procedía de cajas alimentarias (para contener fruta y verdura) trituradas procedentes de la Planta de Tratamiento de Residuos; por último, el PVC procedía de una tubería de riego inoperativa que llevaba un largo tiempo expuesta a los agentes meteorológicos. Todos ellos fueron triturados en un molino de cuchillas marca IKA MF-10 y tamizados con un tamiz de acero inoxidable de tamaño 5 mm (Figura 2.10). Las formas y grosores obtenidos fueron heterogéneos, lo que simula las condiciones en que los microplásticos se suelen encontrar en el medio natural.

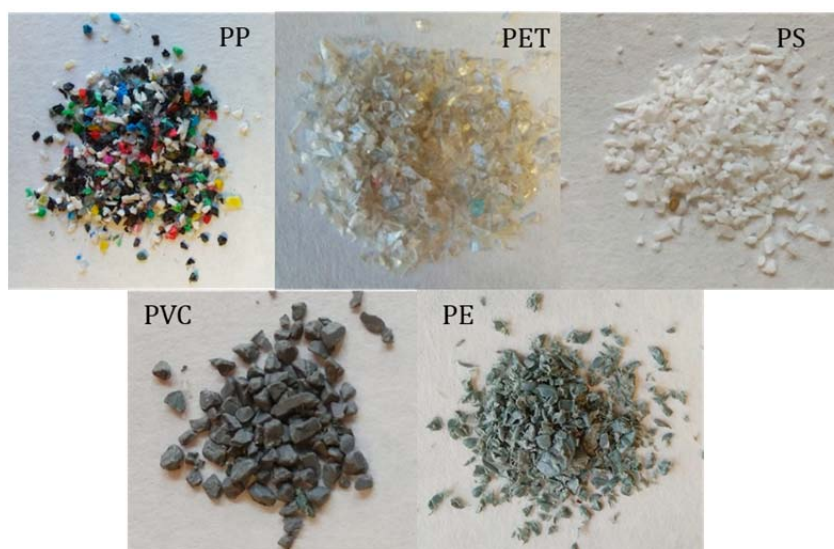


Figura 2.10. Microplásticos triturados y tamizados antes de ser utilizados en los ensayos de adsorción.

- Disoluciones de metales

Para la primera parte de ensayos de adsorción y desorción se eligieron siete metales (algunos de ellos metales pesados), los cuales presentan riesgos potenciales para el medioambiente y pueden proceder de diversas fuentes. Por ejemplo, muchos metales se incorporan como aditivos durante los procesos de fabricación de los plásticos para mejorar sus propiedades. También pueden tener los metales un origen natural, cuando proceden del desgaste y la erosión de rocas que los contienen, o de la erosión y lavado de los distintos horizontes del suelo por el agua de lluvia. Por último, también pueden tener un origen antropogénico, ya que forman parte de numerosas actividades industriales, se encuentran en aguas residuales, en aguas de agricultura, y en lugares de alta presión antropogénica como los puertos comerciales y puertos deportivos. En estos últimos se produce una gran liberación de metales al agua provocada por el desgaste de las pinturas y sustancias antiincrustantes (Brennecke et al., 2016; Wirnkor et al., 2019).

Los metales elegidos para los ensayos fueron cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn), todos ellos tóxicos a ciertas concentraciones. Concretamente, el níquel y el cobalto se eligieron porque se estima que, en los próximos años, España se convertirá en uno de los principales

países productores de estos metales para fabricar baterías de coches eléctricos (Alves-Dias et al., 2018; European Commission, 2018). Para los ensayos, se adquirieron soluciones estándar de concentración 1.000 mg/L de los metales seleccionados de las marcas Panreac y Scharlau.

- Disoluciones de contaminantes orgánicos

Para la segunda parte de ensayos de adsorción y desorción se eligieron seis contaminantes orgánicos pertenecientes a clases diferentes (fármacos, pesticidas y desinfectantes): amoxicilina (AMX), atrazina (ATZ), diuron (DIR), fenol (PHN), paracetamol (PAC) y vancomicina (VAC), todos ellos de la marca Sigma-Aldrich y con una pureza del 98%. En la Tabla 2.3 se muestran las estructuras químicas de estos contaminantes y las principales características por las que fueron elegidos para el estudio.

Los fármacos, especialmente los antibióticos y los antiinflamatorios, son productos a menudo detectados en los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas, en las aguas superficiales, e incluso en el agua potable. Sus efectos positivos sobre microorganismos patógenos hacen que su producción y consumo haya crecido de forma notable. Por ello, se está creando cada vez más conciencia del problema que supone la contaminación acuática originada por las industrias farmacéuticas y el uso que hacemos las personas de estos productos (Wöhler et al., 2020). Por su parte, el paracetamol es un fármaco de amplio consumo mundial y considerado como uno de los principales de la automedicación. Por tanto, su presencia en los medios acuáticos proviene principalmente del consumo humano y es bastante elevada (Al-Kaf et al., 2017).

Por otro lado, la atrazina y el diuron son pesticidas organonitrogenados que han estado durante mucho tiempo autorizados para uso fitosanitario. La atrazina es una de las doce sustancias tóxicas más utilizadas del mundo, mientras que el diuron, ya prohibido en la mayoría de países, es altamente persistente y bioacumulable, por lo que es responsable de la contaminación de muchos suelos a día de hoy (Gil et al., 2012; Villaverde et al., 2018). Su presencia en los ambientes

acuáticos no es despreciable, siendo una clara fuente de contaminación difícil de controlar en el presente.

Por último, el fenol es una sustancia presente en las aguas superficiales como resultado de la contaminación ambiental (procedente de muchas industrias y de la actividad antropogénica en general) y de los procesos naturales de descomposición de la materia orgánica. Está clasificado como un compuesto orgánico volátil (COV) que puede contribuir a la formación de ozono troposférico, dañar cultivos y organismos acuáticos y terrestres, provocando efectos adversos de diferente magnitud dependiendo de las concentraciones a las que hayan sido expuestos (Okasha and Ibrahim, 2010).

Tabla 2.3. Descripción de las características químicas y propiedades de los contaminantes elegidos para el estudio.

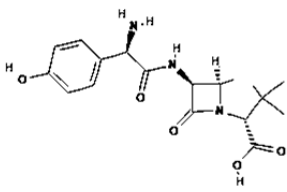
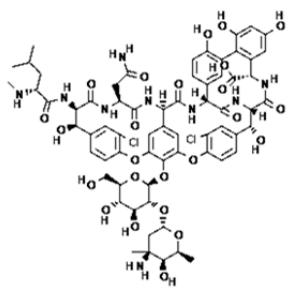
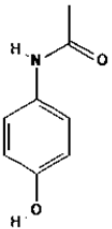
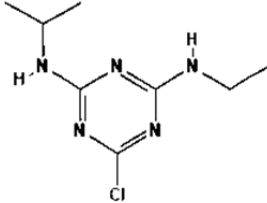
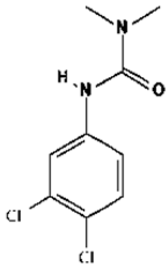
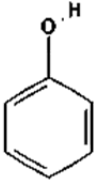
Contaminante	Características químicas
Amoxicilina 	Fórmula molecular: $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ Solubilidad: 3.430 mg/L (a 25°C) Log Kow = 0.87 pH 6.0 (sol ac.) pKa1 = 3,2; pKa2 = 11,7
Vancomicina 	Fórmula molecular: $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$ Solubilidad: 225 mg/L (a 25°C) Log Kow = -3,1 pH 5.0 (sol ac.) pka1 = 2,6; pKa2 = 7,2; pKa3 = 8,6; pKa4 = 9,6; pKa5 = 10,5; pKa6 = 11,7

Tabla 2.3 (Continuación). Descripción de las características químicas y propiedades de los contaminantes elegidos para el estudio.

Contaminante	Características químicas
<p>Paracetamol</p> 	<p>Fórmula molecular: C₈H₉NO₂</p> <p>Solubilidad: 14.000 mg/L (a 25°C)</p> <p>Log Kow = 0,46</p> <p>pH 5.5-6,5 (sol ac.)</p> <p>pKa = 9,38</p>
<p>Atrazina</p> 	<p>Fórmula molecular: C₈H₁₄ClN₅</p> <p>Solubilidad: 33 mg/L (a 25°C)</p> <p>Log Kow = 2,61</p> <p>pH 6,1 (sol ac.)</p> <p>pKa = 1,6</p>
<p>Diuron</p> 	<p>Fórmula molecular: C₉H₁₀Cl₂N₂O</p> <p>Solubilidad: 42 mg/L (a 25 °C)</p> <p>Log Kow = 2,68</p> <p>pH 6,5 (sol ac.)</p> <p>pKa = No se disocia</p>
<p>Fenol</p> 	<p>Fórmula molecular: C₆H₆O</p> <p>Solubilidad: 82.800 mg/L (a 25°C)</p> <p>Log Kow = 1,46</p> <p>pH 6,0 (sol ac.)</p> <p>pKa = 9,99</p>

- Aguas naturales

Algunos ensayos de adsorción con metales y contaminantes orgánicos fueron realizados utilizando “aguas reales”, es decir, tomando muestras de distintos ambientes acuáticos en su estado natural y utilizándolas en laboratorio como medio acuoso para los ensayos. Estas aguas se seleccionaron en función de su posibilidad de estar en contacto con estos contaminantes en el medio natural y fueron las siguientes:

- Agua residual de depuradora: procedente de una Estación Depuradora de Aguas Residuales de Granada, concretamente del efluente que queda tras el tratamiento terciario, es decir, el agua más depurada que ya es directamente vertida.
- Agua de riego: procedente de una acequia de la Vega de Granada que pasa por diversos campos de cultivo y es susceptible de estar en contacto con numerosas sustancias.
- Agua de mar: procedente del mar Mediterráneo, cogida en la costa de Granada. Al mar llegan los efluentes de agua dulce superficiales, por lo que en el medio marino se produce la mayor contaminación y exposición a todo tipo de sustancias y mezclas de ellas.

2.3.2. Caracterización físico-química de los microplásticos

Se llevó a cabo un análisis completo de las principales características de los microplásticos fabricados en laboratorio para este capítulo.

- Tamaño medio de las partículas

Se tomaron fotografías de los microplásticos utilizando una lupa Portable Digital Microscope con 4 aumentos, y posteriormente esas imágenes fueron procesadas con el software ImageJ para medir el diámetro de las partículas utilizando la función de área circular equivalente. Para cada tipo de microplástico, se midieron 3 partículas y se obtuvo un valor medio. En la Figura 2.11 se muestra un ejemplo de cómo se realizó esta medida.

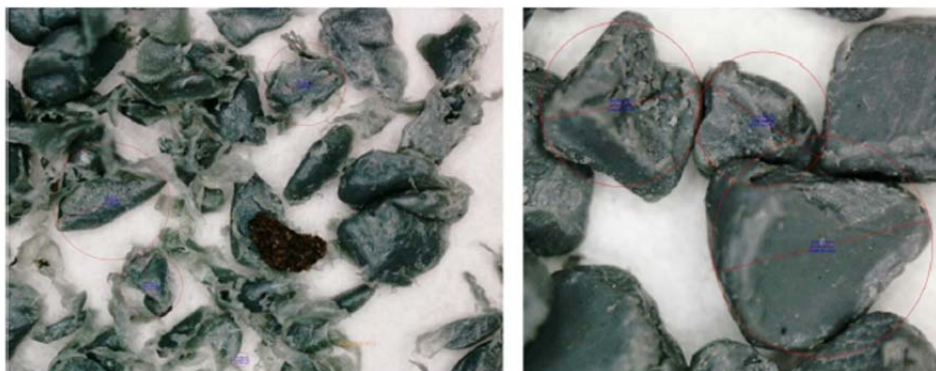


Figura 2.11. Medida del área circular equivalente de tres microplásticos de PVC.

- Superficie específica y porosidad

Fue medida mediante el método Brunner-Emmett-Teller (abreviada como Teoría BET), desarrollado en el año 1938 por los tres científicos que dieron su nombre a la teoría (Brunauer et al., 1938). Se utiliza para medir la superficie específica de materiales sólidos o porosos. Proporciona información muy interesante sobre la estructura física ya que el área que ocupa la superficie de un material afecta al modo en que ese sólido interacciona con el medio en el que se encuentra. Fue medida en un equipo MICROMERITICS ASAP 2020C y se basa en isotermas de adsorción-desorción de N_2 y Ar a 77 K, que se desarrollan variando la presión relativa del gas a una temperatura constante y registrando el volumen de gas adsorbido en la superficie del sólido. Del mismo modo se calculó la porosidad para cada uno de los microplásticos, indicando el volumen de poros, el área ocupada por poros y el tamaño de los mismos. Por último, se calculó el cociente entre la superficie específica de cada polímero y el volumen que ocupa un microplásticos.

- Punto de carga nula

El punto de carga nula (en inglés PZC), se define como el valor de pH en el cual la carga neta total (externa e interna) de la superficie de las partículas (en este caso los contaminantes) de microplásticos es neutra, es decir, el número de sitios positivos y negativos es igual. Es una propiedad muy interesante de calcular en los ensayos de adsorción de microplásticos, ya que dependiendo del PZC de los

polímeros y el pH del medio acuoso en el que se encuentren, así serán las atracciones electrostáticas entre los microplásticos y los contaminantes. Esta propiedad fue determinada mediante el método de deriva de pH, ajustando el pH de 100 mL de agua Milli-Q con 0,1 g de microplásticos en su interior (respetando las mismas proporciones que se usarán más adelante en los ensayos de adsorción y desorción) a valores entre 2 y 11, utilizando las cantidades necesarias de unas soluciones de NaOH y HCl de 0,1 M para el ajuste de pH (Jiao et al., 2017).

- Composición química y grupos funcionales

Estas propiedades fueron determinadas mediante FTIR utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum65. Los espectros infrarrojos obtenidos permitieron ver qué grupos funcionales conformaban la estructura química de cada polímero, lo cual puede ser interesante también a la hora de estudiar las interacciones de éstos con los contaminantes.

- Microanálisis para detectar la presencia de los contaminantes

Finalmente, se utilizó la Microscopía Electrónica de Barrido Ambiental y la técnica de Microanálisis de Rayos X para determinar la presencia de los contaminantes en la superficie de los microplásticos después de los ensayos de adsorción y reforzar la hipótesis de que, efectivamente, son transportadores de sustancias nocivas en medio acuoso. Esto se realizó en el mismo equipo descrito anteriormente (QuemScan650F).

2.3.3. Ensayos de adsorción de metales sobre microplásticos

Se quiere destacar en este apartado que, a pesar de que las concentraciones utilizadas para preparar las disoluciones de metales y de contaminantes orgánicos son más altas que las que se encontrarían en un medio natural, dichas concentraciones fueron elegidas debido a que se suele adsorber poca cantidad y trabajar con concentraciones altas permite observar con mayor precisión cómo son las interacciones contaminante-microplástico. Antes de elegir las concentraciones se realizó un breve repaso por la bibliografía disponible y se

encontraron diversos autores que utilizaban concentraciones similares (Guo et al., 2018; Li et al., 2018; Yu et al., 2020).

- Ensayos de cinética en agua Milli-Q

En estos ensayos se partió de cinco adsorbentes diferentes, que son los microplásticos fabricados artificialmente, y siete adsorbatos, que son los metales elegidos. Por tanto, dado que uno de los objetivos es ver cómo se comportan los microplásticos con los diferentes metales, se hicieron ensayos de cada metal sobre todos los tipos de microplásticos, y se repitió el proceso para los siete metales elegidos. Para los ensayos, se prepararon disoluciones de 1 mg/L a partir de las soluciones estándar adquiridas de 1.000 mg/L, para cada tipo de metal y cada tipo de microplástico (en total, 35 disoluciones de 1 mg/L), utilizando matraces de 100 mL. En cada matraz se dispuso 0,1 g de los microplásticos elegidos (PE, PET, PP, PS y PVC), respetando una relación sólido-líquido de 1:1.000.

Las disoluciones se colocaron en un agitador rotatorio OVAN modelo R4-H DE a 5 rpm durante 14 días, tomando una muestra cada 24 horas (Figura 2.12). Ese tiempo fue suficiente para que se alcanzara el equilibrio a esa concentración. En todos los ensayos con metales, la cantidad de muestra tomada cada vez fue de 2 mL, el mínimo volumen necesario para el equipo de medición.



Figura 2.12. Agitador rotatorio OVAN R4-H DE utilizado en los ensayos.

Las muestras fueron refrigeradas y, posteriormente, se midió la concentración de metal presente en el líquido mediante espectrofotometría de

absorción atómica, utilizando un equipo Perkin-Elmer Analyst 200 (Figura 2.13). La cantidad de metal retenida por el sólido durante el tiempo que duró el ensayo fue determinada con la Ecuación V:

$$q_e = \frac{(C_i - C_e)}{m} \cdot V \quad \text{Ecuación V}$$

Donde q_e es la capacidad de adsorción de cada metal en el equilibrio (mg/g); C_i es la concentración inicial de metal en la fase acuosa (mg/L); C_e es la concentración de cada metal en el equilibrio (mg/L); m es la masa de microplásticos; y V es el volumen de la muestra (L).



Figura 2.13. Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Analyst 200.

Durante el proceso de adsorción también se hicieron tests control a la par que los ensayos de equilibrio. Los tests control consistieron en siete matraces con agua Milli-Q y disolución de metal sin microplásticos para comprobar que no se producía ningún tipo de adsorción por el vidrio del matraz. También se hizo justo lo contrario, mediante un test control con cinco matraces con agua Milli-Q y microplásticos sin disolución de metal, para comprobar que los microplásticos no liberaban metales al medio acuoso.

- Ensayos de equilibrio en agua Milli-Q

Los ensayos de equilibrio de adsorción (isotermas) se realizaron sólo con aquellos metales para los que la capacidad de adsorción de los microplásticos obtenida en el estudio cinético fue superior a 0,2 mg/g. Se prepararon disoluciones

para cada uno de los metales y cada uno de los polímeros elegidos utilizando siete concentraciones diferentes, con el objetivo de asegurar que el equilibrio sería alcanzado. Las concentraciones elegidas fueron 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/L, utilizando matraces de 100 mL, respetando la misma proporción sólido-líquido que en el estudio anterior. Se añadió a cada matraz 0,1 g de los microplásticos elegidos y se dejaron agitando en un agitador rotatorio OVAN modelo R4-H DE a 5 rpm durante 14 días, tomando una muestra cada 7 días. Este tiempo fue el suficiente para que se alcanzara el equilibrio en las distintas concentraciones elegidas. Durante los ensayos se llevó a cabo un control de pH para impedir que se incrementara y prevenir así la precipitación de metales. Concretamente, el pH se mantuvo por debajo de 6,3.

Las muestras eran refrigeradas y posteriormente se medía la cantidad de metal presente en ellas mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Aanalyst 200. Las isothermas correspondientes a cada metal se ajustaron a los modelos más utilizados para el estudio del equilibrio de adsorción, el de Langmuir y el de Freundlich:

- Modelo de Langmuir: asume que la adsorción es monocapa, el soluto y el disolvente en la capa de adsorción forman la solución ideal bidimensional y la adsorción de la molécula de sorbato se produce en un sitio específico del adsorbente.
- Modelo de Freundlich: asume que el proceso de adsorción ocurre en la superficie heterogénea del adsorbente, lo que es aplicable tanto a una adsorción monocapa como multicapa.

Ambos modelos vienen representados por las ecuaciones que aparecen en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4. Ecuaciones y parámetros de los modelos Langmuir y Freundlich para representar el equilibrio de adsorción.

Modelo	Parámetros	Referencia
Langmuir $q_e = \frac{bq_m C_e}{1 + bC_e}$	<p>q_e: capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g)</p> <p>C_e: concentración en el equilibrio en la fase acuosa (mg/L)</p> <p>q_m: capacidad máxima de adsorción del adsorbente (mg/g)</p> <p>b: constante de Langmuir asociada con la tasa de adsorción (L/mg)</p>	(Langmuir, 1918)
Freundlich $q_e = K_f C_e^{1/n}$	<p>k_f: constante de Freundlich relacionada con la capacidad de adsorción (mg^{(n-1)/n} · L^{1/n} g⁻¹)</p> <p>n: factor de heterogeneidad de la superficie (L/mg)</p>	(Freundlich, 1907)

- Ensayos de equilibrio en tres medios acuosos naturales: agua residual de depuradora, agua de riego y agua de mar

En primer lugar, se caracterizaron las aguas y se midieron sus principales propiedades químicas, las cuales son esenciales a la hora de entender la interacción entre los microplásticos y los metales. Las propiedades medidas fueron las siguientes:

- Conductividad (μS/cm), total de sólidos disueltos (mg/L) y pH, medidas las tres con una sonda Crison MM40.
- Demanda Química de Oxígeno (DQO): se midió utilizando un reactor multiparamétrico Hanna Instruments HI833XX con kits de reactivos, siguiendo el método estándar 410.4 de la USEPA para la determinación de la DQO (USEPA, 1993).
- Demanda Biológica de Oxígeno (DBO): se determinó de acuerdo con la norma estándar ISO 5815-2:2003 a través de un proceso de incubación.
- La presencia de otros metales, cationes o aniones de interés que pudieran interactuar con los microplásticos y los metales del

ensayo fueron medidos mediante espectroscopía de emisión de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-masas) con un equipo NexION 300D. Así mismo, también se midió la cantidad que había de forma natural en cada agua de los metales elegidos para hacer los ensayos.

Estas aguas naturales no se trataron para modificar su pH o minimizar el efecto de la materia orgánica, fueron usadas en sus condiciones originales con el objetivo de aproximarse al escenario real lo máximo posible.

Los metales elegidos fueron aquellos que obtuvieron una capacidad máxima de adsorción más elevada en los ensayos de equilibrio. Se prepararon disoluciones para cada metal elegido y cada microplástico correspondiente con concentraciones de 4 y 8 mg/L, en matraces de 100 mL, respetando la misma relación sólido-líquido que en todos los ensayos anteriores. Las concentraciones fueron elegidas en función de los resultados obtenidos en los ensayos anteriores. Se añadió 0,1 g de los microplásticos correspondientes a cada matraz y se mantuvieron agitando en un agitador rotatorio OVAN modelo R4-H DE a 5 rpm durante 14 días, tomando una muestra cada 7 días. Este tiempo fue el suficiente para que se alcanzara el equilibrio, aunque los ensayos se dejaron algunos días más para comprobar si había cambios sustanciales, ya que estos medios acuosos eran muy heterogéneos y las interacciones que podían ocurrir entre microplásticos y metales, muy complejas. Aunque 4 y 8 mg/L son concentraciones más elevadas que las que se encuentran en un medio natural, fueron elegidas con el objetivo de comprobar la máxima cantidad de metal que podía ser adsorbida por los microplásticos durante este proceso.

Las muestras fueron refrigeradas y posteriormente se midió la concentración de metal presente en ellas mediante absorción atómica, y calculando la cantidad adsorbida por los microplásticos de acuerdo con la Ecuación V.

Al igual que en los ensayos de cinética del apartado 2.3.3., con los medios acuosos naturales también se hicieron tests control a la par que los ensayos de equilibrio. Los tests control consistieron en tres matraces con los distintos tipos de

aguas y las disoluciones de metal sin microplásticos para comprobar que no se producía ningún tipo de adsorción por parte del vidrio del matraz. También se hizo justo lo contrario, mediante un test control con tres matraces con los tipos de aguas y microplásticos sin disolución de metal, para comprobar que los microplásticos no liberaban metales al medio acuoso.

2.3.4. Ensayos de adsorción y desorción de contaminantes orgánicos sobre microplásticos

- Ensayos preliminares para determinar el comportamiento de los contaminantes orgánicos en presencia de microplásticos

Estos ensayos se llevaron a cabo para determinar el porcentaje de contaminantes orgánicos que podían adsorber los polímeros, ya que los contaminantes elegidos pertenecen a compuestos muy diferentes (fármacos, pesticidas, etc.) y sus interacciones con los polímeros son más complejas que las de los metales. Para los ensayos, se prepararon disoluciones de 1 mg/L para cada tipo de contaminante y cada tipo de microplástico (en total, 30 disoluciones de 1 mg/L), utilizando matraces de 100 mL. En cada matraz se añadió 0,1 g de los microplásticos elegidos (PE, PET, PP, PS y PVC) y 100 mL de agua Milli-Q, respetando la misma relación sólido-líquido de los ensayos con metales. Las disoluciones se colocaron en un agitador rotatorio OVAN modelo R4-H DE a 5 rpm durante 28 días, tomando una muestra cada 24 horas. Ese tiempo fue suficiente para que se alcanzara el equilibrio a esa concentración. En todos los ensayos realizados con contaminantes orgánicos, la cantidad de muestra tomada fue de 1 mL, el mínimo volumen necesario para el equipo de medición.

Las muestras fueron refrigeradas y, posteriormente, se midió la concentración de contaminante presente en el líquido mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) utilizando un equipo WATERS 2795 con detector PDA WATERS 2998. El porcentaje de contaminante adsorbido fue calculado con la Ecuación VI:

$$R = \frac{C_i - C_e}{C_i} \times 100 \quad \text{Ecuación VI}$$

Donde R es el porcentaje de adsorción de cada contaminante sobre el adsorbente (%).

Durante los ensayos preliminares también se hicieron tests control, que consistieron en seis matraces con agua Milli-Q y disolución de contaminante orgánico sin microplásticos para comprobar que no se producía ningún tipo de adsorción por parte del vidrio del matraz. También se hizo justo lo contrario, mediante un test control con cinco matraces con agua Milli-Q y microplásticos sin contaminantes, para comprobar que los microplásticos no los liberaban al medio acuoso.

- Ensayos de cinética en agua Milli-Q

Tras los resultados obtenidos en los ensayos preliminares, los ensayos de cinética se realizaron únicamente con aquellos contaminantes que mostraron mayor afinidad por los microplásticos, esto es, la amoxicilina y el fenol. Los ensayos se realizaron sobre PET, PVC, PP y PS en el caso del fenol y sobre PET, PE, PVC, PP y PS en el caso de la amoxicilina. Los ensayos de cinética se realizaron siguiendo el mismo protocolo y partiendo de la misma concentración que los ensayos preliminares. Las muestras fueron tomadas a los tiempos considerados (3, 7, 14, 21 y 28 días) comprobando si a los 28 días el equilibrio se había alcanzado para la mayoría de los ensayos. Dichas muestras fueron refrigeradas y medidas posteriormente por HPLC. La capacidad de adsorción sobre cada polímero fue determinada utilizando la Ecuación IV.

Los datos experimentales obtenidos fueron ajustados a los principales modelos de cinética normalmente utilizados: pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden, pseudo-n orden y Elovich, los cuales se describen brevemente a continuación:

- Modelo de pseudo-primer orden o modelo de Lagergren: fue la primera Ecuación de velocidad para la adsorción en un sistema líquido basado en la capacidad de un sólido. Asume que la limitación

del modelo es la transferencia de masa de los átomos desde la disolución hacia la superficie del adsorbente.

- Modelo de pseudo-segundo orden: asume que la capacidad de adsorción es proporcional al número de sitios activos en la superficie del adsorbente, y por tanto la velocidad de adsorción está controlada por este factor.
- Modelo de pseudo-n orden: este modelo fue propuesto debido a la diversidad de mecanismos que pueden estar implicados en el proceso de adsorción, por lo que puede resultar de interés el cálculo conjunto de la constante de velocidad y el orden de reacción.
- Modelo de Elovich: fue inicialmente diseñado para describir la cinética de adsorción de gases sobre superficies sólidas, aunque también es adecuado para describir la cinética de adsorción de contaminantes en disoluciones acuosas. La teoría original considera que se produce un intercambio de especies en la superficie no homogénea del sólido.

En la Tabla 2.5 se presentan las ecuaciones de cada modelo y los parámetros necesarios para su aplicación:

Tabla 2.5. Ecuaciones y parámetros correspondientes a los modelos de cinética descritos.

Modelo	Parámetros	Referencia
Datos experimentales q_t y t	q_t : concentración adsorbida en los microplásticos en el tiempo de muestra (mg/g) t : tiempo de muestra (días)	
Pseudo-primer orden $q_t = q_e - q_e \cdot \exp(-K_1 t)$	k_1 : constante de pseudo-primero orden (1/día)	(Lagergren, 1898)
Pseudo-segundo orden $q_t = \frac{t}{\frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{t}{q_e}}$	k_2 : constante de pseudo-segundo orden (mg/g·día)	(Ho and Mckay, 2000)
Pseudo-n orden $q_t = q_e - [q_e^{1-n} - (1-n)k_n t]^{\frac{1}{1-n}}$	k_n : constante de pseudo-n orden [(día ⁻¹)(mg/g) ¹⁻ⁿ] n : orden de reacción	(Özer, 2007)

Tabla 2.5 (Continuación). Ecuaciones y parámetros correspondientes a los modelos de cinética descritos.

Modelo	Parámetros	Referencia
Elovich $q_t = \frac{1}{\alpha} \ln(1 + a \cdot \alpha \cdot t)$	α : tasa de adsorción de contaminante inicial (mg/(g·min)) a : constante de desorción (g/mg)	(Han et al., 2006)

- Ensayos de equilibrio en agua Milli-Q

Los ensayos de equilibrio de adsorción (isotermas) se realizaron con fenol y amoxicilina, al igual que los ensayos de cinética. Se prepararon disoluciones para cada uno de los contaminantes y cada uno de los polímeros elegidos utilizando cinco concentraciones diferentes, con el objetivo de asegurar que el equilibrio sería alcanzado. Las concentraciones elegidas fueron 1, 2, 4, 8 y 16 mg/L, utilizando matraces de 100 mL, respetando la misma proporción sólido-líquido que en el apartado anterior.

Se añadió 0,1 g de microplásticos a los matraces correspondientes y se dejaron agitando en un agitador rotatorio OVAN modelo R4-H DE a 5 rpm durante 28 días, tomando una muestra cada 7 días. Durante los ensayos se llevó a cabo un control de pH y temperatura para impedir que las variaciones provocaran la precipitación o degradación de los contaminantes. Concretamente, el pH se mantuvo por debajo de 6,3 y la temperatura a 15°C.

Las muestras eran refrigeradas y posteriormente se medía la cantidad de contaminante presente en ellas mediante HPLC. Las isotermas correspondientes a cada contaminante y cada polímero se representaron con los datos obtenidos aplicando los modelos de Langmuir y Freundlich, descritos en la Tabla 2.4 (del apartado 2.3.3.2).

- Ensayos de desorción en agua Milli-Q

Los ensayos de desorción se basaron en observar el efecto de la variación de pH y de temperatura de las distintas disoluciones estudiadas. Para ello, se eligieron tres valores de pH (2, 4 y 6) y dos temperaturas (20 y 40°C), a las cuales fueron sometidas cada una de las disoluciones. Estos valores de pH y temperatura fueron elegidos para representar medios acuáticos naturales y el tracto digestivo de los organismos, ya que también son una importante fuente de exposición a los microplásticos, y es una metodología que también será empleada en el cuarto y último capítulo de la presente Tesis. El pH en la mayoría de ambientes naturales es próximo a 6 y la temperatura entre 15-25°C, mientras que en el estómago de los mamíferos se pueden encontrar valores de pH de 2 a 3 y temperaturas de 36-38°C (Abad et al., 2019). Los ensayos se hicieron eligiendo los polímeros que más cantidad de fenol y amoxicilina adsorbieron en los ensayos de equilibrio del apartado 2.3.4.3, esto es, PE y PS para la amoxicilina y PET, PVC y PS para el fenol. En total, se prepararon 30 disoluciones.

Para realizar los ensayos de desorción fue preciso en primer lugar realizar un ensayo de adsorción en las mismas condiciones que las descritas en el apartado 2.3.4, a una concentración de 16 mg/L, para obtener microplásticos “contaminados” en suficiente cantidad. Se eligió esta concentración porque fue aquella con la que se produjo mayor adsorción de contaminante en los microplásticos. Para recuperar los microplásticos tras el ensayo de adsorción, las disoluciones fueron filtradas en bomba de vacío utilizando filtros de celulosa FILTER-LAB 1242 con tamaño de poro 7-9 μm , y posteriormente se dejaron secar en una estufa a 30°C durante 12 horas, cubiertos con papel de aluminio para evitar contaminación ambiental.

Se prepararon los 30 matraces para el ensayo de desorción, cada uno conteniendo 100 mL de agua Milli-Q y ajustando los pH elegidos antes de añadir los microplásticos. Los microplásticos secos fueron añadidos a estos matraces manteniendo la misma relación sólido-líquido utilizado en los tests de adsorción. Los matraces a temperatura de 20°C se mantuvieron agitando en un agitador

orbital Comecta Ivymen AG-200 durante 5 días en un lugar fresco, controlando la temperatura con un termómetro. Por otro lado, los matraces a temperatura de 40°C se mantuvieron agitando en un baño termostático con agitador Memmert WNB 14, que mantenía la temperatura constante. El tiempo de agitación se eligió tomando como referencia el estudio de desorción realizado por Bakir et al., (2014b).

Se tomaron muestras en los días 1, 3 y 5 del ensayo. La cantidad de muestra tomada cada vez fue de 1 mL. Las muestras fueron refrigeradas y la cantidad de contaminante presente se midió por HPLC. El porcentaje de contaminante desorbido fue calculado de acuerdo con la Ecuación VII:

$$\% \text{ Desorbido} = \frac{C_f}{q_{em}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación VII}$$

Donde C_f es la concentración final de contaminante en la disolución (mg/L).

2.4. Estudio de los microplásticos como vectores de metales pesados en el interior del tracto gastrointestinal humano mediante simulación dinámica

2.4.1. Materiales y reactivos químicos

- Microplásticos y metales pesados

La elección de los microplásticos y los metales pesados utilizados en este capítulo se basó en los resultados obtenidos en los ensayos del apartado 2.3.3.1. Esos ensayos demostraron que el Cr y el Pb fueron los metales que se adsorbían más rápido y en mayor cantidad, concretamente sobre los polímeros PE y PP, respectivamente. Por tanto, para realizar los ensayos del presente capítulo se eligieron como metales el Cr y el Pb, y como microplásticos el PE y el PP. Para preparar las disoluciones de metales, se adquirieron soluciones estándar de concentración 1.000 mg/L de la marca PANREAC. Por otro lado, los microplásticos de PE y PP tenían la misma procedencia que aquellos descritos en el apartado 2.3.1.1.

• Reactivos químicos en el proceso de simulación gastrointestinal

Fue necesario preparar un Fluido Salivar Simulado (referido como FSS de aquí en adelante) y un Fluido Gástrico Simulado (referido como FGS de aquí en adelante), correspondientes a la fase gástrica de la digestión. La composición de dichos fluidos fue adoptada de Brodkorb et al., (2019). Los reactivos utilizados fueron los descritos en la Tabla 2.6.

Por otra parte, para llevar a cabo la simulación de las fases duodenal y absorción intestinal fue necesaria la utilización de diferentes enzimas y sales biliares, que son naturalmente segregadas por el cuerpo humano durante los procesos de digestión. Las enzimas utilizadas fueron las siguientes (Tabla 2.7), procedentes en su mayoría del cerdo, ya que realizan funciones similares a las presentes en el cuerpo humano y son más fáciles de conseguir.

Tabla 2.6. *Reactivos utilizados para la simulación de saliva y fluidos gástricos humanos.*

Compuesto y procedencia	Fórmula química y pureza
Cloruro potásico de Merck	KCl - 99,5% de pureza
Bicarbonato de sodio anhidro de Sigma-Aldrich	NaHCO ₃ - 99% de pureza
Dihidrogenofosfato de potasio anhidro de Panreac	KH ₂ PO ₄ - 99% de pureza
Cloruro sódico de Panreac	NaCl - 99% de pureza
Cloruro magnésico hexahidratado de Panreac	MgCl ₂ · 6H ₂ O - 98% de pureza
Ácido clorhídrico de Panreac	HCl - 35% de pureza
Cloruro cálcico dihidratado de Panreac	CaCl ₂ · 2H ₂ O - 99% de pureza

Tabla 2.7. *Enzimas utilizadas para simular el funcionamiento del aparato digestivo del ser humano.*

Enzima	Procedencia
Alfa-amilasa	Saliva humana
Pepsina	Mucosa gástrica porcina
Lipasa	Páncreas porcino
Pancreatina	Páncreas porcino
Tripsina	Páncreas bovino
Sales biliares	Sigma Aldrich
Fosfolípidos (Lipoid p45)	Lipoid GmbH

Además, también se utilizó leche desnatada para simular la presencia de una comida real junto con la ingesta de microplásticos en el momento de iniciar la simulación.

2.4.2. Contaminación artificial de microplásticos en laboratorio

Para preparar los microplásticos contaminados con metales pesados previos a los ensayos de simulación gastrointestinal, se prepararon disoluciones de ambos metales (Cr y Pb) en agua Milli-Q con una concentración de 100 mg/L, para asegurar la máxima retención posible del contaminante en el microplástico. Se dispusieron 100 mL de cada disolución en un matraz y se añadieron 0,5 g de PE a la disolución de Cr y otros 0,5 mg de PP a la disolución de Pb. Esta cantidad de microplásticos fue elegida como la cantidad idónea para los ensayos posteriores en el simulador dinámico.

Las disoluciones se mantuvieron agitando en un agitador orbital Comecta Ivymen AG-200 a 160 rpm durante 21 días, el tiempo necesario para que se alcanzara el equilibrio en la adsorción. Al terminar este período de tiempo, se tomó una muestra de cada disolución y la concentración de metal en el líquido fue medida mediante espectroscopía de emisión de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-masas) con un equipo NexION 300D. La cantidad de metal retenida por los microplásticos fue después determinada de acuerdo con la Ecuación IV.

Para obtener los microplásticos de la disolución tras el ensayo de adsorción, la disolución fue filtrada utilizando una bomba de vacío y filtros de celulosa FILTER-LAB 1242 con tamaño de poro de 7-9 μm . Posteriormente se dejaron secar en una estufa a 30°C durante 24 horas, cubiertos con papel de aluminio para evitar contaminación ambiental. Después de realizar los ensayos en el simulador dinámico, los microplásticos fueron examinados bajo una lupa Portable Digital Microscope con 4 aumentos, con el objetivo de detectar posibles alteraciones en la superficie del plástico provocadas por la acción de los agentes químicos de la digestión.

2.4.3. Simulador gastrointestinal en bioreactor de membrana (GITSMB) – SimuGIT

El simulador gastrointestinal dinámico utilizado (SimuGIT) fue desarrollado por el Grupo de Investigación TEP025 del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Granada. El biorreactor dinámico in vitro de membranas para la simulación del tracto gastrointestinal GITSMB (SimuGIT), que se muestra esquemáticamente en la Figura 2.14, consiste en un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) conectado en serie a un reactor tubular de flujo continuo (PFR) equipado con una membrana cerámica de microfiltración tubular monocanal. El CSTR utilizado para simular la digestión gástrica en el estómago es un fermentador de mesa suministrado por Braun Biotech International (modelo Biostat B). Está compuesto por un recipiente de vidrio convencional de tanque agitado y autoclavable equipado con un agitador de hélice (180W, modelo Rushton) y un sistema de control de la unidad proporcional-integral-derivativa (PID) para la temperatura, el nivel, la espuma, el oxígeno disuelto y el pH.

La unidad del sistema de control incluye una interfaz RS-422 que permite el control del CSTR con un ordenador. El CSTR tiene una cubierta externa para mantener la temperatura constante, de manera que la temperatura en el recipiente se mide por medio de un sensor digital Pt-100 y se controla con precisión ($T_{setpoint} \pm 0,1 \text{ } ^\circ\text{C}$) por el lazo PID conectado a un baño termostático de laboratorio. El sistema CSTR también tiene entradas de muestreo y de adición de reactivos por medio de varias bombas peristálticas (Eyela, modelo MP-3). El pH dentro del CSTR se mide mediante un electrodo de pH (Hamilton, modelo Easyferm Plus K8) sumergido en el recipiente y ajustado por un sistema de control de pH de fabricación propia basado en módulos de adquisición de datos, que actúan sobre dos bombas peristálticas diferentes que dosifican las soluciones ácidas y básicas (HCl o NaHCO₃).

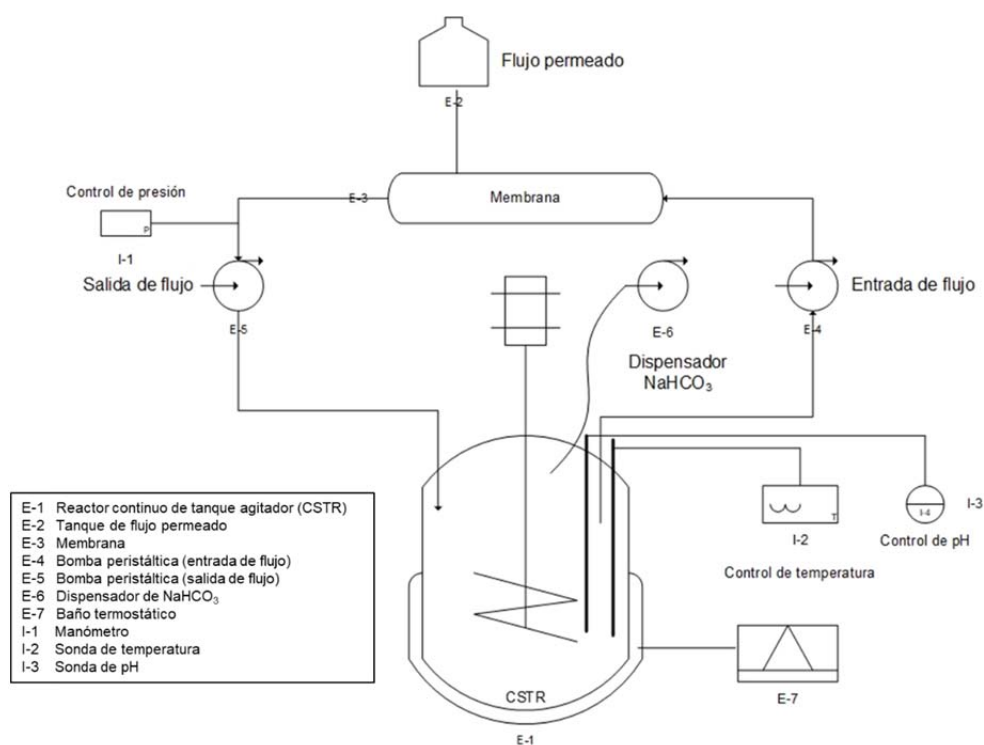


Figura 2.14. Diagrama de flujo del simulador gastrointestinal por bioreactor de membrana utilizado (SimuGIT). Fuente: Elaboración propia.

La solución digerida que sale del CSTR es continuamente conducida al PFR. Para ello, el sistema de control PID actúa sobre las bombas peristálticas de impulsión y retorno (dos de las cuatro bombas peristálticas integradas en el fermentador portátil descrito anteriormente) de manera que, al variar el caudal de estas bombas es posible regular la presión en el interior de los circuitos hidráulicos, así como la tasa de filtración del producto. Además de este mecanismo de control de presión desarrollado en el propio laboratorio, la presión de servicio se puede ajustar con precisión (punto de consigna $P \pm 10$ mmHg) con una válvula reguladora de presión accionada por muelle (modelo SS-R4512MM-SP, Swagelok) y monitorizada por un manómetro digital (Endress + Hauser, modelo Ceraphant PTC31).

El PFR continuo, conectado en serie al CSTR sirve para la simulación de las condiciones del intestino. Consiste en un tubo cilíndrico de acero inoxidable (suministrado por Prozesstechnik GmbH, Basilea, Suiza) equipado con una membrana cerámica monocanal MF en configuración tubular suministrada por

Atech Innovations GmbH. La membrana MF utilizada para los experimentos es una inorgánica de superficie activa α -Al₂O₃ con un diámetro medio de poro igual a 0,2 μ m y un corte de peso molecular en el rango de 1,2 kDa (modelo 20N). Las dimensiones de la membrana seleccionada son 1.000 mm de longitud, 6 mm de diámetro de conducto y 2 \pm 0,5 mm de grosor. Este tipo de membrana MF también presenta una serie de ventajas, como una alta resistencia a la temperatura (adecuada para la esterilización por vapor 121°C) y a la presión (hasta 10 bar) durante los protocolos de limpieza, estabilidad del pH (0 a 14), posibilidad de retroimpulso, muy alta resistencia a la abrasión (contra reactivos químicos agresivos), recuperación óptima de la permeabilidad, así como una alta selectividad y rendimiento, y un servicio de larga duración. El PFR está integrado con el CSTR por medio de un sistema de impulsión y retorno hecho de tubos de polietileno químicamente resistentes. Por último, una balanza de masa electrónica de precisión con conectividad USB (Sartorius, modelo Quintix 5102, precisión de 1 mg) se acopla a un sistema automático de muestreo y registro de datos para registrar valores de permeado (fracción bioaccesible que cruza la membrana) con el tiempo.

2.4.4. Condiciones de los ensayos en el GITSMB

- Fase gástrica

Cuando comenzó el ensayo, la temperatura del baño que mantiene caliente la camisa del reactor se fijó en 37,5 \pm 1°C durante todo el proceso, así como la velocidad de agitación del reactor se fijó en 50 rpm para simular los movimientos peristálticos del estómago. A continuación, se prepararon 800 mL de FGS y 14 mL de FSS utilizando los reactivos mencionados en la sección 2.4.1. Una vez preparado, el FGS se introdujo en el reactor y se calentó a una temperatura de 37,5°C. En este punto, el pH bajó a 3, ya que se simuló el estómago vacío antes de añadir el alimento con los microplásticos.

Paralelamente, se pesaron 20 g de leche desnatada y se le añadieron los 0,5 g de microplásticos contaminados. Como se eligieron dos polímeros y dos metales diferentes (PE-Cr y PP-Pb), se realizaron dos pruebas separadas. A continuación, se

mezcló el FSS con el preparado alimenticio y los microplásticos, se añadió 1 mL de solución de alfa-amilasa (75 U/mL), 0,1 mL de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ de concentración 0,3M y 4,9 mL de agua destilada (proporción final de FSS-preparado alimenticio de 1:1). Se agitó la mezcla durante 2 minutos y se ajustó el pH a 7 (si era necesario).

Una vez que el FGS estaba caliente, se añadió la mezcla del alimento con el FSS al tanque del reactor, se agitó durante unos segundos y se tomó una muestra inicial. A continuación, se añadieron 10 mL de solución de pepsina (2000 U) y 50 mg de fosfolípido (Lipoid p45) y se ajustó el pH a 3 mediante una dosificación controlada de HCl 6M. A partir de este momento, se tomó una muestra cada 5 minutos durante la siguiente media hora.

- Fase duodenal

Cuando la fase gástrica terminó con la última muestra tomada, el pH del FGS se elevó a 6,5 mediante la dosificación de NaHCO_3 1M a una tasa de 2,05 mL-min y se tomó una muestra después del ajuste. Este pH simula la acción de los jugos pancreáticos sobre los alimentos que se están digiriendo. Se procedió entonces a añadir las enzimas intestinales: 10 mL de solución de lipasa pancreática (2000 U/mL), sales biliares (para una concentración final de 5 mM), 10 mL de solución de pancreatina (10%) y 1 mL de solución de tripsina (50 mg/ensayo). La digestión en el duodeno tarda unos 10 minutos después de la adición de las enzimas, y se tomó una muestra tras ese período de digestión. La duración total aproximada de esta fase (incluyendo el aumento del pH, la adición de enzimas y la digestión) fue de 30 minutos.

- Fase de absorción intestinal

Para simular la fase de absorción intestinal, se bombearon los fluidos del biorreactor para que fluyeran a través del sistema de filtración modular descrito en la sección 2.4.3. Se eligió un tamaño de membrana de 0,2 μm para estos ensayos, basándose en pruebas ya realizadas anteriormente (Abad et al., 2019; González et al., 2019). El límite de sobrepresión del sistema se fijó en 50 mmHg, de manera que la difusión de los metales a través de la membrana se debiera

únicamente al transporte pasivo. Es importante recordar que las características de ionización de un compuesto pueden tener un profundo efecto en la velocidad de su transferencia por difusión pasiva porque sólo las especies unidas son capaces de moverse por difusión pasiva a través de la membrana. Una vez que el circuito se preparó y los fluidos comenzaron a caer en el biorreactor, se consideró que la fase de absorción intestinal había comenzado y duró 180 minutos. Las muestras se tomaron a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos. Se tomaron dos muestras cada vez, una del fluido absorbido por la membrana (al que hemos llamado permeado) y otra del fluido no absorbido, que forma parte del residuo colónico (al que hemos llamado retenido).

En resumen, cada ensayo llevado a cabo en el simulador gastrointestinal duró aproximadamente 4 horas: fase gástrica (30 minutos), fase duodenal (30 minutos) y fase de absorción intestinal (180 minutos). Cada prueba se realizó por duplicado. A lo largo del ensayo, el programa del sistema generó un archivo de datos en el que se registraron todos los eventos y procesos que ocurrieron durante la simulación. Este archivo se procesó después en Microsoft Excel para obtener información sobre todas las variables.

CAPÍTULO 3.
RESULTADOS Y
DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se resumen los resultados más importantes obtenidos en las distintas investigaciones llevadas a cabo, descritas en el capítulo anterior. El capítulo se ha dividido en cinco subcapítulos, correspondientes a los trabajos publicados contenidos en esta Tesis. Una descripción detallada y una discusión más completa de los resultados puede leerse en cada uno de los trabajos publicados que se incluyen como ANEXO a este capítulo.

3.1. Análisis de microplásticos de polietileno presentes en productos de cuidado personal

En primer lugar, como ya se comentó en el apartado 2.1.2, se realizó un recuento exhaustivo de todos los productos de cuidado personal disponibles en las grandes superficies de Granada diferenciándolos en cuatro categorías: gel de baño, tratamiento corporal, tratamiento facial y tratamiento de pies. Tras el recuento, se determinó cuántos de ellos llevaban microplásticos de PE entre sus ingredientes. El resultado aparece recogido en el artículo derivado de esta investigación, en Anexo I.

Para la publicación de los resultados que se incluyen en el artículo 1, se eligieron 10 productos de los 20 que fueron comprados y analizados en total, intentando mantener un equilibrio entre las distintas categorías de productos. Algunos resultados de los 10 productos restantes pueden consultarse en el Anexo II. Se eligieron 3 exfoliantes faciales, 5 exfoliantes corporales y 2 geles de baño, a los que se nombró con letras de la A a la J dado que se consideró no apropiado incluir la marca. La distribución de productos fue la siguiente:

- Exfoliantes faciales: A, B y C
- Exfoliantes corporales: D, E, F, G, H
- Geles de baño: I, J

Al extraer los microplásticos mediante filtración, se comprobó que la gran mayoría de estas partículas eran blancas y de formas irregulares, excepto en los productos F y G en los que se veían de forma esférica a simple vista. Los productos

D, E y G también contenían partículas de colores, como marrón, azul o rosa. En los productos que también contenían otras partículas de composición no plástica se observó que estas eran de tonos marrones, de tamaño visiblemente más grande y con formas más toscas e irregulares. Como ya se comentó en el apartado 2.1.3, estas partículas fueron identificadas en el listado de ingredientes de los productos como cáscara de nuez, hueso de uva o celulosa microcristalina.

Para corroborar la composición de los microplásticos, se hicieron espectros infrarrojos tanto de las partículas blancas como de las partículas de colores presentes en esos 10 productos. Estos espectros fueron comparados con un espectro del polietileno virgen. El espectro del polietileno virgen presenta cuatro picos de absorción característicos, situados en la región de 3.500-600 cm^{-1} , localizados concretamente a 2.915,77, 2.845,13, 1.469,40 y 713,54 cm^{-1} . Estos picos corresponden a diferentes vibraciones del grupo metileno (CH_2) y han sido corroborados por numerosos autores. En las muestras a las que se realizó el espectro, se obtuvieron para todas las partículas blancas espectros infrarrojos similares a los del polietileno virgen, salvo algunos pequeños picos de absorción que se desviaban de esta tendencia y que serán comentados más adelante. Por tanto, estos resultados permitieron concluir y afirmar que las partículas de color blanco de los productos estaban compuestas de polietileno.

En el caso de las partículas de colores, las de color azul (presentes en el producto E) presentaron también un espectro infrarrojo muy similar al del polietileno, por lo que se concluyó que eran de la misma composición. Sin embargo, las partículas marrones mostraron un espectro muy diferente, que puso de manifiesto que no correspondían a polietileno. En el producto G el espectro obtenido mostraba una mezcla de picos de absorción del polietileno con picos de otras sustancias no similares a ningún polímero termoplástico que se encuentre entre los denominados *commodities*. Sin embargo, en el producto D el espectro no se pudo corresponder con el de ningún polímero de origen plástico, por lo que se concluyó que no se trata de ninguna sustancia de este tipo.

Como se ha comentado en el párrafo anterior, en los espectros infrarrojos de las partículas blancas se observaban algunos picos de absorción que no correspondían con los del polietileno virgen. Concretamente, esta tendencia se observó en los productos A, B y E. Tal como se comprobó en bibliografía, estos picos podrían indicar la presencia de impurezas o aditivos que normalmente se añaden a los plásticos o microplásticos para mejorar sus propiedades mecánicas, su resistencia a la degradación, etc. Por este motivo, se llevó a cabo un microanálisis sobre las partículas blancas de los productos A, B y E, tal como se describió en el apartado 2.1.3. El microanálisis reveló que el producto A contenía magnesio y sílice, la cual puede encontrarse en forma de silicatos u óxidos de sílice, de acuerdo con lo descrito por otros autores. El producto B mostró una composición similar, con predominancia de aluminio y sílice, mientras que el producto E principalmente mostró aluminio y flúor. Estos resultados pusieron de manifiesto la presencia de aditivos químicos en los microplásticos de estos productos de cuidado personal. Los aditivos químicos en este tipo de productos normalmente se añaden para que los microplásticos tengan un buen poder abrasivo sobre la piel, que el producto sea agradable al tacto, proporcionando la viscosidad adecuada, que proporcione brillo a la piel, que elimine grasa y suciedad, etc.

Otro de los aspectos analizados fue el tamaño y la concentración de microplásticos en los productos de cuidado personal, para lo que se realizaron análisis granulométricos y cálculos matemáticos de acuerdo con la metodología descrita en los apartados 2.1.3 y 2.1.4. Los análisis granulométricos revelaron que tanto los exfoliantes faciales como los corporales contenían partículas con rangos de tamaño muy amplios (entre 8,7-2.188 micras en exfoliantes faciales y entre 5-2.188 micras en exfoliantes corporales), aunque el tamaño medio estuvo comprendido entre 264 y 423 micras en exfoliantes faciales, y entre 400 y 551 micras en exfoliantes corporales. Los geles de baño presentaron microplásticos con rangos de tamaño algo menos amplios (entre 15-1.260 micras), y tamaños medios comprendidos entre 297 y 409 micras.

En cuanto a la abundancia (en porcentaje) y la concentración (en partículas/g) de microplásticos en dichos productos, en los exfoliantes faciales se obtuvieron porcentajes comprendidos entre el 1,89% y el 5,64% en peso del producto. Sin embargo, la concentración fue muy dispar, obteniendo en el producto B la mayor concentración de partículas de todos los productos analizados (3.730 partículas/g). En el caso de los exfoliantes corporales, se obtuvieron porcentajes comprendidos entre el 0,85% y el 7,80%, y la concentración de partículas fue directamente proporcional al porcentaje en peso de microplásticos presente. La concentración más pequeña fue de 123 partículas/g y correspondió al exfoliante corporal que presentaba un 0,85% en peso de microplásticos. Por último, en el caso de los geles de baño, ambos presentaron porcentajes relativamente bajos de microplásticos (0,99% y 1,30%) y una concentración de partículas de 295 y 978 partículas/g, respectivamente. Cuando se analizan detenidamente los resultados presentados en el artículo, se puede ver que la concentración de partículas en los productos está más relacionada con el tamaño de las propias partículas que con el porcentaje en peso que contienen. Por ejemplo, en el producto D se obtuvo la concentración de partículas más baja (123 partículas/g), pero estos microplásticos presentaron el segundo tamaño medio más grande de todos los analizados. Por el contrario, en el producto B se obtuvo la mayor concentración de partículas (3.730 partículas/g) y estas tenían el tamaño medio más bajo de todos los analizados. También se dio el caso de productos (F y H) que contenían microplásticos con un tamaño medio considerable y también presentaban una concentración elevada.

Por último, se llevó a cabo un análisis morfológico sobre los microplásticos de los productos estudiados, el cual reveló que la mayoría de las partículas no eran realmente esféricas. Solo los productos F y G contenían partículas completamente esféricas, mientras que en los demás aparecían formas irregulares, aristas pronunciadas, etc.

Todos estos factores estudiados son realmente importantes a la hora de entender el riesgo que pueden suponer para el medio acuático. Por ejemplo, los microplásticos con formas irregulares y superficies bastas o rugosas son más

fáciles de ser confundidos con comida por los organismos marinos. Además, en los microplásticos que presentan poros, fracturas, etc. es más fácil que pueda producirse adsorción de otros contaminantes presentes en el agua. Por tanto, comprender cómo son los microplásticos añadidos intencionadamente a los productos en términos de composición, forma, presencia de aditivos, etc. es un avance que puede ayudar en futuros estudios para reducir la presencia de estas partículas en productos de uso cotidiano. Además, este ha sido el primer estudio que se ha realizado en España sobre las características de los microplásticos presentes en productos de cuidado personal.

El contenido de este capítulo ha sido publicado en el siguiente artículo científico:

ARTÍCULO 1: V. Godoy; M.A. Martín-Lara; M. Calero; G. Blázquez. Physical-chemical characterization of microplastics present in some exfoliating products from Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 139, 2019, 91-99.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.026>


Indicios de calidad

Factor de Impacto: 4.049

- Categoría Marine & Freshwater Biology → Ránking 4/107 (Q1)
- Categoría Environmental Sciences → Ránking 69/265 (Q2)


Marine Pollution Bulletin 139 (2019) 91–99

Contents lists available at [ScienceDirect](#)



Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul



Physical-chemical characterization of microplastics present in some exfoliating products from Spain

V. Godoy*, M.A. Martín-Lara, M. Calero, G. Blázquez


Chemical Engineering Department, Faculty of Sciences, University of Granada, Avda. Puentenueva s/n, 18071, Granada, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
 Microplastics
 Ocean pollution
 Personal care products
 Plastic contaminants
 Polyethylene

ABSTRACT

Plastic pollution in oceans is a global problem, with growing research efforts focusing on the threat of microplastics (< 5 mm fractions). A source of microplastics pollution is derived from personal care products that contain polyethylene micro-spheres which are not captured by wastewater plants. In this work, ten personal care products (mainly scrubs) containing microplastics and marketed in Spain, were physico-chemically characterized. The obtained results proved that those microplastics had different particle size and are presented in high percentages in some cases, between 6 and 7% of the total product. Products with smaller particles usually showed higher concentrations than products with larger particles. Although all the microplastics were shown to be polyethylene, some impurities were observed that demonstrated the presence of silicates and oxides in the microplastics. Regards to morphology, the shape of the particles was irregular in general, although some completely spherical particles can be observed.



3.2. Acumulación y distribución de microplásticos en playas: El caso-estudio de la Costa Tropical (Granada, España)

Para el estudio realizado en este capítulo, se seleccionaron tres playas de las costas de Granada: La Herradura (Almuñécar), Playa Motril (Motril) y La Rábida (Albuñol), coincidiendo con el extremo más occidental, el más oriental y la parte central.

3.2.1. Reconocimiento visual de microplásticos *in situ*

En primer lugar, se analizó el sedimento *in situ* para reconocer visualmente la presencia de algún microplástico. Esto se hizo en las tres playas, y permitió la identificación de 14 microplásticos en total. Estos microplásticos visualmente reconocibles fueron analizados para determinar su composición polimérica y el índice carbonilo que presentaban. De los 14 microplásticos recogidos, 6 fueron identificados en La Herradura, 5 en La Rábida y 3 en Motril. Con respecto al área total muestreada en cada playa (11 m²), el número de microplásticos identificados visualmente fue equivalente a 0,56 partículas/m² en La Herradura, 0,44 partículas/m² en La Rábida y 0,28 partículas/m² en Motril. Esta presencia tan baja de microplásticos reconocibles visualmente se debe principalmente a las características del sedimento de estas playas, de tamaño muy grueso y muy poroso, lo que hace que sea fácilmente removido por las olas e impida que las partículas puedan asentarse y permanecer en ese estado durante un tiempo.

Cuando las partículas fueron analizadas por FTIR, se encontraron un total de cuatro composiciones diferentes: PA, PE, PET y PP. De los 14 microplásticos analizados, 5 estaban compuestos de PE, 4 de PA, 4 de PP y 1 de PET.

Por otro lado, para calcular el índice carbonilo fue necesario saber en qué región del espectro se encontraban picos de absorción relacionados con los grupos carbonilo (y, por tanto, con la degradación) y dónde se encontraban los picos de absorción que no se ven afectados por la foto-oxidación. El índice carbonilo no fue calculado para el PET, porque este polímero ya contiene grupos carbonilo en su estado puro y tiene fuertes enlaces C=O en la zona de 1.730 cm⁻¹, lo que resulta en

un elevado pico de absorción que no se corresponde con la degradación real. En el resto de polímeros, los resultados tras calcular el índice carbonilo indicaron una degradación baja-media en todos los casos, siendo el PP el polímero que presentaba el índice carbonilo más alto, mientras que PA y PE presentaron una degradación baja.

3.2.2. Análisis de los microplásticos presentes en el sedimento no reconocibles visualmente

El primer punto a tener en cuenta en el momento de analizar la concentración y distribución de microplásticos son las características geomorfológicas de las playas. En el caso de estas tres playas de Granada, presentan el mismo tipo de sedimento (arena y grava) pero distinta influencia antropogénica y distinta morfología.

En primer lugar, se extrajo la concentración de microplásticos para cada playa y cada línea de muestreo, cuyos datos se pueden consultar al completo en el artículo 2. Tras analizar en laboratorio los filtros tintados con Rojo de Nilo, fueron encontrados un total de 400 microplásticos de tamaño <5 mm, divididos de la siguiente manera: 189 partículas en La Herradura, 128 partículas en Motril y 83 partículas en La Rábida. En todos los datos expresados en este trabajo se ha utilizado el valor de la mediana y el rango intercuartílico (RIQ) como una forma más segura de expresar los resultados, ya que se trata de distribuciones numéricas no muy extensas y con algunos valores atípicos.

La Herradura es la playa que presenta la mayor concentración de microplásticos, lo que pone de manifiesto también que en la playa cerrada tipo bahía es donde se encuentra la contaminación más elevada. Sin embargo, no hay una tendencia clara en la concentración de microplásticos entre playas urbanas y no urbanas. Esto podría deberse al hecho de que Playa Motril no se considera urbana en sí misma, pero sí está localizada cerca de zonas de ocio turístico. Por otro lado, La Rábida es la playa que presenta menor concentración de microplásticos a pesar de que en ella se observó a simple vista una mayor presencia de macroplásticos. En los datos de concentración de microplásticos se

aprecia que no hay una gran dispersión, ya que los valores mínimo y máximo están próximos al percentil 1 (25%) y el percentil 3 (75%), respectivamente. Los datos muestran más disparidad en La Rábida, con ligeras diferencias entre el 25% y el 50% de las muestras. Sin embargo, estas diferencias entre playas no son estadísticamente significativas, tal como reveló el análisis Kruskal-Wallis llevado a cabo ($H=2,999$; $p=0,223$). En todos los análisis estadísticos realizados se consideró un nivel de significación (α) de 0,05, por lo que si el contraste de las hipótesis obtiene un p-valor superior a 0,05 se considera que el resultado no es estadísticamente significativo.

Los microplásticos fueron recogidos a lo largo de cuatro transectos diferentes en cada playa, descritos y especificados en el apartado 2.2.2: L1 (línea de rompiente de olas), L2 (línea de marea alta), L3 (zona supralitoral 1) y L4 (zona supralitoral 2), con el objetivo de estudiar la influencia de la distancia al mar en la distribución de microplásticos. En La Herradura, las líneas 1 y 3 presentaron la mayor concentración de partículas/kg de sedimento seco. Esto se repitió para Motril en las líneas 3 y 4, y para La Rábida en las líneas 1 y 4. Esta distribución puede deberse a numerosos factores, como la morfología de la playa, el tipo de corrientes marinas, el viento o la proximidad de actividad antropogénica. La coincidencia en las tres playas fue que la línea 2 (línea de marea alta) presentó la concentración de partículas más baja. La línea de marea alta sufre importantes variaciones a lo largo del día en términos de acumulación de basura marina, por lo que influye mucho el momento del día en el que se toman las muestras. Debido a que el muestreo en la línea 2 en este estudio se llevó a cabo justo después del pico máximo de marea, es posible que la corriente hubiera removido partículas en esa zona en lugar de depositarlas. Para corroborar los datos, se realizó un análisis ANOVA de una vía para comprobar la influencia de la distancia al mar en la distribución de microplásticos, pero se obtuvo un valor del factor F-Snedecor de 0,566 y un p-valor de 0,644, lo que indica que no hay una clara relación entre la distancia al mar y la acumulación de microplásticos.

Con respecto a las morfologías de los microplásticos, se encontraron fragmentos y pequeñas microesferas, siendo estas últimas mucho más abundantes.

La distribución de los fragmentos en las distintas líneas de muestreo resultó ser homogénea, no habiendo una clara influencia de la distancia al mar en dicha distribución. Sin embargo, la concentración de microesferas resultó ser mucho más baja en la línea 2 que en las otras líneas de muestreo. Este hecho corrobora la explicación antes proporcionada sobre una menor concentración de microplásticos en general en la línea 2. Además, algunos autores han constatado que los microplásticos con morfologías irregulares se depositan más rápidamente que los esféricos, lo cual podría justificar también por qué en la línea 2 se encuentran menos microesferas. En cualquier caso, de forma generalizada en las tres playas se encontró mayor concentración de microesferas, que representan entre el 78-92% del total de microplásticos encontrados. Estos hechos fueron apoyados por análisis estadísticos, concretamente un análisis ANOVA de una vía para fragmentos y Kruskal-Wallis para microesferas, ya que los datos de estas últimas no seguían una distribución normal y requerían de una prueba no paramétrica. Tanto los resultados del análisis ANOVA como los de Kruskal-Wallis revelaron que la distancia al mar no tiene una influencia estadísticamente significativa sobre la distribución de microplásticos.

El último aspecto referido a la caracterización de los microplásticos fue el tamaño, que se midió con ayuda del software ImageJ, tomando como límite de tamaño las partículas capaces de ser diferenciadas en la fotografía (este límite coincidió con 100 micras aproximadamente). El 50% de las partículas encontradas en cada línea de muestreo resultaron ser menores de 100 micras. Después de este tamaño, las más abundantes estaban comprendidas entre 100 y 300 micras, especialmente en la línea de rompiente de olas. En general, los microplásticos analizados en este estudio tienen tamaños más pequeños que los reportados por otros autores, lo que puede estar relacionado con una mayor fricción y abrasión ocasionadas por el tamaño de sedimento tan grueso que hay en estas playas. Entre las tres playas, La Rábita presentó tamaños de microplásticos más grandes que en las otras dos, con un 30% del total de partículas concentradas en el rango de 100-200 micras. Como en los otros apartados de este subcapítulo, estos datos fueron contrastados con análisis estadísticos, utilizando en este caso el análisis Kruskal-

Wallis que reveló que no había diferencias significativas en la distribución de tamaños de microplásticos entre las diferentes líneas de muestreo, obteniendo un valor del factor $H=7,805$ y un p-valor de 0,05. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las diferentes playas, obteniendo un valor del factor $H=4,498$ y un p-valor de 0,106.

Como se ha comentado antes, la naturaleza y la topología de las tres playas era diferente. En el caso de la naturaleza, La Herradura y La Rábida están consideradas playas urbanas, mientras que Motril es no urbana. La influencia de este factor fue contrastada con ayuda de análisis estadísticos, en este caso el estadístico T-Student. El análisis obtuvo un p-valor de 0,871, muy superior al límite 0,05 que se ha considerado como valor α , por lo que se aceptó que los dos grupos comparados (playa urbana y no urbana) no difieren desde un punto de vista estadístico en la distribución de microplásticos. Lo mismo sucedió con la topología, se analizó el grupo correspondiente a la playa cerrada tipo bahía (La Herradura) frente al grupo de las playas abiertas (La Rábida y Motril), obteniendo un p-valor de 0,064, que siendo superior a 0,05 permite afirmar que tampoco la topología fue un factor estadísticamente significativo a la hora de explicar la distribución de los microplásticos en estas playas.

3.2.3. Comparación con otras playas del Mediterráneo y relaciones medioambientales

Los resultados obtenidos en las playas de Granada fueron comparados con los resultados de otras playas del Mediterráneo disponibles en bibliografía, concretamente playas de Eslovenia, Grecia y España. En esta comparación se tuvieron en cuenta diversos factores, como la época del año en la que se realizó el muestreo, el tamaño de filtro utilizado para la extracción o las propias condiciones de la playa. En las playas de Granada se obtuvieron concentraciones de microplásticos mayores que en las playas griegas y eslovenas, en general, a pesar de que una de las playas griegas analizadas se encontraba cerca de una zona de actividad industrial.

Sin embargo, comparadas con el resto de playas españolas del Mediterráneo, en las playas de Granada se obtuvieron concentraciones de microplásticos menores. Por ejemplo, en las playas del delta del Ebro se obtuvieron concentraciones medias de 422 ± 119 MPs/kg sedimento seco, frente a las $45,00 \pm 24,75$ MPs/kg sedimento seco encontradas en La Herradura. En comparación con las playas españolas del Mediterráneo estudiadas por el Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (CEDEX) en la campaña de otoño de 2018, se encontraron concentraciones medias de microplásticos mayores que las de la Costa Tropical en la playa de Cal Francés (47 partículas/kg sedimento seco) y en La Pineda (199 partículas/kg sedimento seco). Por el contrario, en la playa de Las Azucenas en Motril se encontró una concentración mucho más baja (10 partículas/kg sedimento seco) que la reportada en este estudio para Playa Motril (32 partículas/kg sedimento seco), a pesar de tratarse del mismo año de muestreo y el mismo municipio.

La conclusión a la que se llegó fue que las playas de la costa de Granada no estaban tan contaminadas como otras playas españolas en esa campaña de muestreo, que fue realizada en otoño. Sin embargo, es evidente que existe una alta variabilidad dependiendo de la zona, la estación del año, etc., por lo que se quiere resaltar la necesidad de realizar más estudios de este tipo en la Costa Tropical, tomando muestras en distintas estaciones del año y a lo largo de varios años consecutivos.

Por último, un aspecto a destacar es que la costa de Granada es la peculiaridad de tener una intensa agricultura de invernadero, lo que genera grandes cantidades de residuos que no siempre son gestionados correctamente y que sin duda pueden contribuir a una mayor polución de las playas con macrolásticos. Es posible que los microplásticos encontrados en este estudio procedan de residuos de plástico mayores de los invernaderos y los envases fitosanitarios. Teniendo en cuenta que los principales tipos de plástico utilizados en la agricultura son el polietileno y el polipropileno, y viendo los resultados que se obtuvieron para las partículas reconocibles in situ (apartado 3.2.1), hay bastantes probabilidades de que se cumpla esa afirmación.

Por tanto, dada la controversia que generan todos los factores explicados, se considera esencial continuar realizando estudios en esta zona costera de España, en otras épocas del año y abarcando más zonas para comprender mejor cómo se relacionan todos estos factores geomorfológicos y antropogénicos.

El contenido de este capítulo ha sido publicado en el siguiente artículo científico:

ARTÍCULO 2: V. Godoy; J.C. Prata; G. Blázquez; A.I. Almendros; A.C. Duarte; T. Rocha-Santos; M. Calero; M.A. Martín-Lara Effects of distance to the sea and geomorphological characteristics on the quantity and distribution of microplastics in beach sediments of Granada (Spain). *Science of the Total Environment*, 746, 2020, 142023.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142023>

Indicios de calidad

Factor de Impacto: 6.551

- Categoría Environmental Sciences → Ránking 22/265 (Q1)

Science of the Total Environment 746 (2020) 142023

Contents lists available at ScienceDirect


Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Effects of distance to the sea and geomorphological characteristics on the quantity and distribution of microplastics in beach sediments of Granada (Spain)

Verónica Godoy ^{a,*}, Joana C. Prata ^b, Gabriel Blázquez ^a, Ana Isabel Almendros ^a, Armando C. Duarte ^b, Teresa Rocha-Santos ^b, Mónica Calero ^a, María Ángeles Martín-Lara ^a


^a Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain
^b Centre for Environmental and Marine Studies (CESAM) & Department of Chemistry, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal



HIGHLIGHTS

- The beaches of Granada had been poorly studied because of their complex geology.
- The highest contamination by microplastics was found in an enclosed bay-type beach.
- The morphology and size more common were microspheres with a size <100 µm.
- On the three beaches analysed, the high tide line was the least contaminated.
- The beaches of Granada presented lower pollution than other coastal sites in Spain.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:
 Received 3 July 2020
 Received in revised form 25 August 2020
 Accepted 25 August 2020
 Available online 27 August 2020

Editor: Kevin V. Thomas

Keywords:
 Microplastics
 Beach pollution
 Mediterranean
 Marine litter
 Spanish coast

ABSTRACT

Microplastics became an unprecedented challenge and mapping their contamination all over the world is needed in order to establish baseline levels and identify the polymers in order to enhance adequate legislation and policy. The main objective of this study is to demonstrate the existence of microplastic pollution on three beaches on the coast of Granada (Spain), namely La Herradura, Motril Beach and La Rábida, characterizing the particles and the relationships in their distribution. This may contribute supporting the studies carried out at a national level in accordance with the Directive on Marine Strategy (2008/56/EC). The results showed a greater median concentration of particles/kg of dry sediment in La Herradura (45.0 ± 24.7) than in Motril (31.5 ± 21.5) and La Rábida (22.0 ± 23.2). These data revealed a higher contamination by microplastics in an enclosed bay-type beach (La Herradura) in comparison with open delta-type beaches. The predominant morphologies were microspheres and fragments, with maximum median concentrations of 38.0 ± 23.7 and 6.0 ± 0.7 particles/kg, respectively. The distribution and size of the particles is affected by the geomorphological and sedimentary characteristics of these beaches, which are different from any other in Spain and in the Mediterranean in general. The beaches of Granada showed more microplastic contamination than Greek or Slovenian beaches, but less than other Spanish beaches. In this area of the Mediterranean, the presence of microplastics can be affected by the wind, sea currents or methodological aspects such as the pore size of the filters used. All of these factors were analysed when comparing the beaches of Granada with other

3.3. Ensayos de adsorción de metales sobre microplásticos en medios acuosos

3.3.1. Caracterización de los microplásticos

En primer lugar, se analizaron algunas características físicas y morfológicas de los microplásticos: superficie específica, tamaño de poro, volumen de poros, área de poros y punto de carga nula (PZC). La combinación de la superficie específica y la porosidad de los microplásticos es bastante influyente en la capacidad de adsorción de estos. En los microplásticos analizados se apreció una relación inversamente proporcional entre la superficie específica de las partículas y el tamaño de los poros. Por ejemplo, el PS fue el material que presentó la superficie específica más grande ($3,2 \text{ m}^2/\text{g}$) y el tamaño de poro más pequeño (39 \AA) en contraste con el PET, que presentó la superficie específica más pequeña ($0,35 \text{ m}^2/\text{g}$) y el tamaño de poro más grande (45 \AA). En general, la superficie específica de los microplásticos siguió el orden decreciente PS >PP >PE >PVC >PET. Otro factor también influyente en la capacidad de adsorción es el PZC ya que, si este valor en los polímeros es inferior al pH del medio acuoso en el que se encuentren, estarán cargados negativamente y esto generará una atracción electrostática entre los polímeros y los metales, que se encuentran en forma de cationes. En este estudio, los valores obtenidos de PZC están comprendidos entre 3,2 y 6,4 siguiendo un orden decreciente PVC >PET >PP >PS >PE.

Por otro lado, los microplásticos fueron también analizados por FTIR para comprobar su composición polimérica y extraer los picos de absorción, de tal forma que se observara la presencia de grupos funcionales que pudieran influir en los ensayos de adsorción. Estos picos fueron comparados con los obtenidos por otros autores para establecer los grupos funcionales.

Se observó que hay grupos funcionales que son comunes a todos los polímeros, y otros que son propios de cada uno, como la presencia de anillos aromáticos en PET y PS, la presencia de grupos CH_3 en el PP, o los peróxidos en el PE. La capacidad de adsorción de los microplásticos depende en gran medida de las interacciones intermoleculares entre los contaminantes y el polímero. Algunas

de estas interacciones más típicas son los enlaces de van der Waals y los enlaces de hidrógeno entre otros. Por tanto, cada polímero reacciona de forma diferente a los iones que hay en el medio debido en parte a la presencia de esos grupos funcionales propios de cada uno y cómo están unidos entre sí.

Por último, para finalizar con la parte de caracterización, los microplásticos fueron observados bajo el microscopio electrónico de barrido (SEM) tras los ensayos de adsorción, para ver sus características morfológicas y detectar la presencia de los metales adheridos en su superficie. La morfología es otro aspecto importante a la hora de entender las relaciones entre los microplásticos y los contaminantes presentes en el medio, ya que la presencia de fracturas, cavidades o superficies irregulares aumenta las posibilidades de adsorción de contaminantes. Las superficies del PE, PP y PVC mostraron fracturas e irregularidades consistentes con la exposición ambiental a la que habían estado sometidos. No ocurrió lo mismo con el PS, que no mostró ninguna fractura ni rotura, debido a su procedencia de un residuo no expuesto al medioambiente (descrito en apartado 2.3.1). La superficie del PET era similar a la del PS.

El microanálisis reveló la presencia de los metales adsorbidos en las superficies de los distintos microplásticos y permitió también observar otros compuestos que indican la presencia de aditivos, igual que ya se vio en el apartado 3.1. Concretamente se observó titanio y hierro en el PP y el PVC, los cuales se encuentran normalmente en forma de óxidos y son pigmentos inorgánicos que se añaden con frecuencia durante la fabricación de los plásticos. También se observaron pequeñas cantidades de calcio, aluminio, magnesio o sílice en casi todos los microplásticos. Concretamente, el aluminio y el magnesio pueden formar parte de aditivos retardantes de llama y también pueden favorecer o detener la adsorción de contaminantes, dependiendo del tamaño de las moléculas y el peso molecular de los contaminantes.

3.3.2. Ensayos preliminares de adsorción de metales sobre microplásticos

El principal resultado de los ensayos de cinética con concentración de 1 mg/L de metales fue que el equilibrio de adsorción se alcanzó para todos los tipos

de microplásticos tras 120 horas de contacto con los contaminantes (5 días). Por tanto, las interacciones entre los metales y los polímeros fueron relativamente rápidas. Resultados similares fueron reportados también por otros autores. Concretamente, el PE y el PVC fueron los polímeros que mostraron mayor afinidad de adsorción por los metales, siendo el orden de adsorción decreciente PE >PVC >PS >PP >PET. En el caso del PE el metal que más se adsorbió a la concentración de 1 mg/L fue el Cr y se obtuvo una capacidad de adsorción, q_e , de 0,5 mg/g. En el caso del PVC se obtuvo el mismo valor q_e , pero para el Zn. En el PP y PS el metal que mejor se adsorbió fue el Pb (con valores de q_e de 0,45 y 0,61 mg/g, respectivamente), mientras que el PET solo mostró tener capacidad de adsorción con el Pb. Los metales que mostraron, en general, tasas de adsorción menores fueron el Co y el Ni. Como se ha comentado en el apartado 3.3.1, la adsorción está influenciada por una combinación de propiedades y características de los microplásticos y de los contaminantes y no se puede atribuir a un solo factor.

3.3.3. Ensayos de equilibrio en agua Milli-Q

Los ensayos de equilibrio en agua Milli-Q se hicieron con los cinco polímeros, pero solo con los metales que obtuvieron en los ensayos preliminares al menos un valor de q_e superior a 0,2 mg/g a una concentración de metal de 1 mg/L. Los parámetros de adsorción fueron estimados utilizando los modelos no lineales de Langmuir y Freundlich. En general, se obtuvieron mejores coeficientes de correlación con el modelo de Langmuir frente al de Freundlich, por lo que dicho modelo es más adecuado para describir la adsorción de metales sobre microplásticos. Este hecho fue también contrastado con el p-valor, del que se obtuvieron valores más bajos en el modelo de Langmuir que en el de Freundlich. Cuanto más bajo es el p-valor, más alto es el nivel de significancia de los ensayos.

En el modelo de Langmuir, el valor de capacidad máxima de adsorción de los microplásticos, q_m , más alto obtenido fue de 5,55 mg/g, que corresponde al ensayo de PP con el Pb. En general, para el Pb se obtuvieron valores de q_m relativamente altos con todos los polímeros, siendo el más bajo de 1,90 mg/g en el caso del PVC. Para el Cr también se obtuvieron valores de q_m elevados en el caso del PE y el PVC,

y lo mismo ocurrió con el Cu en el caso del PP. Los valores del parámetro b de Langmuir muestran que existe una buena afinidad entre los polímeros y los metales, especialmente el Cu y el Pb, que obtuvieron valores de b más altos. El modelo de Freundlich proporcionó peores resultados en el ajuste de los datos de equilibrio lo cual pudo contrastarse con los valores del coeficiente de correlación y el p -valor. El hecho de que se ajuste mejor el modelo de Langmuir denota que en las interacciones entre microplásticos y contaminantes predomina la adsorción química.

Los resultados de los ensayos de equilibrio fueron claves para elegir los metales y los polímeros que se iban a utilizar en los ensayos de adsorción con aguas naturales. De este modo, se eligieron para cada polímero los dos metales que obtuvieron el valor de q_m más alto en las isotermas: PE con Cr y Pb, PET con Pb, PP con Pb y Cu, PS con Pb y Co, PVC con Cr y Pb.

3.3.4. Ensayos de equilibrio en aguas naturales

Estos ensayos se hicieron con tres aguas naturales, agua de mar, agua residual de depuradora y agua de riego y dos concentraciones de metales: 4 y 8 mg/L. La caracterización realizada a las aguas mostró la presencia de una gran cantidad de iones sodio y cloruro en el agua de mar, seguidos por magnesio, sulfuros, calcio y potasio. También se detectaron pequeñas cantidades de cromo y cobre, dos de los metales utilizados en los ensayos. En el agua residual de depuradora también se hallaron concentraciones altas de sodio y cloruro, seguidas por los sulfatos, el amonio y el calcio. Por último, en el agua de riego las concentraciones de estos iones fueron mucho más bajas que en las otras dos, destacando el estroncio como uno de los iones más abundantes. El pH de estas aguas siguió el orden descendiente agua residual (7,81) > agua de mar (7,72) > agua de riego (6,56).

Los resultados de los ensayos de adsorción mostraron, en general, una mayor capacidad de adsorción de los metales sobre microplásticos en aguas naturales que en el agua Milli-Q. Concretamente, excepto para el Co y el Cu, en todos los casos la capacidad de adsorción obtenida fue mayor en el agua residual

de depuradora y en el agua de riego frente al agua de mar y al agua Milli-Q. El Co obtuvo los valores de q_e más bajos de todos los ensayos, siendo el mayor el obtenido en el agua Milli-Q (0,535 mg/g). En el caso del Cu, obtuvo valores de q_e más altos en el agua de mar que en el agua de riego (2,87 mg/g en agua de mar frente a 0,995 mg/g en agua de riego). En el caso del PE y el PVC, cuyos ensayos se hicieron con Cr y Pb, se obtuvieron valores de q_e ligeramente más altos para el Cr con PVC (especialmente en el agua de mar y en el agua de riego), mientras que para el PE los valores de q_e del Cr y Pb fueron similares en todas las aguas.

El hecho de que la capacidad de adsorción se viera más favorecida en el agua residual y en el agua de riego puede estar relacionado con la presencia de materia orgánica en estas aguas. La materia orgánica puede promover la unión de los metales con la fase sólida, como ya ha sido demostrado por autores que han estudiado fenómenos de adsorción en suelos con presencia de metales y materia orgánica. Hay diversos procesos que pueden ocurrir entre los metales y los microplásticos en presencia de materia orgánica. En primer lugar, se pueden producir interacciones hidrofóbicas entre los metales y la materia orgánica, o pueden formarse complejos entre ambos que después sean adsorbidos por los microplásticos. En segundo lugar, la materia orgánica también puede ser adsorbida por los microplásticos, y después producirse la interacción con los metales, por lo que estos quedarían también adheridos al polímero.

Por otra parte, diversos autores han demostrado que el pH del agua también influye significativamente en la adsorción de algunos metales, como Cr y Pb. La precipitación de estos metales suele ocurrir en ambientes acuosos con pH superior a 7, en los que además haya carbonatos, sulfuros o fosfatos en disolución y con los que pueden reaccionar, como es el caso de los tres tipos de aguas utilizadas en los ensayos. Más aun, el Pb no es muy soluble en agua de mar (aprox. 2 mg/L), por lo que probablemente desde el principio del ensayo una parte haya sido precipitada y otra haya sido adsorbida sobre los microplásticos. En el caso del agua de mar juega además un papel importante la salinidad. La compleja composición química del agua de mar a veces puede incrementar la adsorción de metales sobre microplásticos y otras veces la disminuye. En estos ensayos, concretamente para

Cr y Cu con PVC y PP, respectivamente, la adsorción fue más favorable en el agua de mar frente a otros metales y polímeros. Esto puede deberse principalmente a la combinación de cationes para formar nuevas moléculas que se adsorben mejor sobre la superficie de los polímeros. Sin embargo, ocurre lo contrario en el caso del PE y el PS con Cr y Co, respectivamente. Aquí la adsorción fue más baja en comparación con otros ensayos en agua de mar, y puede deberse principalmente a una mayor competencia con los cationes del entorno por los lugares de adsorción en el polímero. Otros autores no han encontrado una clara relación entre ambos parámetros (salinidad y adsorción).

Por último, la adsorción en aguas naturales puede estar también influenciada por el punto de carga nula (PZC en inglés) de los polímeros. En este trabajo, todos los polímeros elegidos obtuvieron un PZC inferior al pH de las aguas utilizadas, por tanto, estaban cargados negativamente. Esto implica que, en general, existe una atracción electrostática entre los polímeros y los metales, que se encuentran en forma de cationes en la disolución.

Como se pudo comprobar a la vista de los resultados y de sus múltiples interpretaciones posibles, se puede concluir que las interacciones entre metales contaminantes presentes en los medios acuosos y los microplásticos son complejas y dependen de muchos factores, a destacar: la heterogeneidad de los polímeros, la compleja composición de las aguas naturales, el pH, el tipo de metales que haya en disolución, la salinidad, la presencia de materia orgánica, etc. Por ello, no se puede afirmar que la adsorción de contaminantes de este tipo sobre los microplásticos esté producida por un factor en concreto.

El contenido de este capítulo ha sido publicado en el siguiente artículo científico:

ARTÍCULO 3: V. Godoy; G. Blázquez; M. Calero; L. Quesada; M.A. Martín-Lara. The potential of microplastics as carriers of metals. *Environmental Pollution*, 255, 2019, 113363.


<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113363>

Indicios de calidad

Factor de Impacto: 6.793

- Categoría Environmental Sciences → Ránking 21/265 (Q1)

Environmental Pollution 255 (2019) 113363




ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution


journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol



The potential of microplastics as carriers of metals[☆]

V. Godoy^{*}, G. Blázquez, M. Calero, L. Quesada, M.A. Martín-Lara

Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071, Granada, Spain



ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Article history:</i> Received 25 June 2019 Received in revised form 7 October 2019 Accepted 7 October 2019 Available online 8 October 2019</p> <hr style="width: 50%; margin-top: 10px;"/> <p><i>Keywords:</i> Adsorption Isotherms Metals Microplastics Natural waters</p>	<p>Microplastics can adsorb chemical pollutants such as metals or pharmaceuticals, and transferred them along the food chain. In this work, an investigation of the adsorption of Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn by five different types of microplastics was performed in Milli-Q water and natural waters (seawater, urban wastewater and irrigation water) via a series of batch adsorption experiments. The effects of concentration of metals and physicochemical characteristics of polymers were particularly studied. Results revealed a significant adsorption of lead, chromium and zinc on microplastics, especially on polyethylene and polyvinyl chloride. In the case of polyethylene terephthalate, it showed little adsorption capacity. Specific surface, porosity and morphology are characteristics that affect the molecular interactions. The adsorption isotherms were better described by Langmuir model, which indicates that the main adsorption mechanism might be chemical adsorption. Finally, results obtained in natural waters indicated that dissolved organic matter may play a major role on metal adsorption on microplastics. Results showed an enhancement of metal adsorption in waters with high chemical and biological oxygen demands as urban wastewater and irrigation water.</p> <p style="text-align: right; font-size: x-small;">© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.</p>

3.4. Ensayos de adsorción de contaminantes orgánicos sobre microplásticos en medios acuosos

3.4.1. Caracterización de los microplásticos

Con el objetivo de completar la caracterización llevada a cabo en el capítulo anterior (y descrita en el apartado 3.3.1), en esta ocasión se midió el tamaño medio de las partículas (en μm), la densidad de los microplásticos (en g/cm^3) y la relación de área superficial a volumen (en m^{-1}). Los resultados mostraron tamaños medios de partículas comprendidos entre 2,7 y 4,3 μm , en orden descendente PVC >PE >PP >PS >PET. La densidad media de estos microplásticos, ya comprobada en otras ocasiones por numerosos autores, estuvo comprendida entre 0,9 y 1,4 g/cm^3 , siendo los menos densos el PE y el PP, y los más densos el PET y el PVC. Por último, la relación área superficial a volumen fue muy superior en el PVC al resto de polímeros.

3.4.2. Ensayos preliminares de adsorción. Efectos de las características químicas de los contaminantes sobre los materiales plásticos

En primer lugar, se realizaron ensayos de adsorción con una concentración de 1 mg/L para cada contaminante (amoxicilina (AMX), atrazina (ATZ), diuron (DIR), fenol (PHN), paracetamol (PAC) y vancomicina (VAC)). Los resultados mostraron que el fenol y la amoxicilina fueron los contaminantes orgánicos que mayor capacidad de adsorción tuvieron sobre los microplásticos. El fenol obtuvo porcentajes de adsorción superiores al 80% para el PET y el PS, mientras que en la amoxicilina los valores más altos fueron del 28,7% para el PP y del 37,5% para el PE. El resto de contaminantes mostraron una escasa afinidad sobre los polímeros testados, obteniéndose porcentajes de adsorción inferiores al 20% en el PET y el PVC con paracetamol. Algunas de las propiedades más estudiadas de estos contaminantes para entender cómo se produce la adsorción sobre los microplásticos son la hidrofobicidad, los coeficientes de partición octanol-agua o la forma iónica de estos contaminantes. Los contaminantes orgánicos tienen valores del logaritmo del coeficiente octanol-agua ($\log K_{ow}$) más altos cuanto más hidrofóbicos son. Cuanto más hidrofóbico es un contaminante orgánico, más

afinidad tiene por la superficie hidrofóbica de los microplásticos. En este trabajo, los valores de log Kow consultados en bibliografía para los contaminantes elegidos son decrecientes en el orden DIR >ATZ >PHN>AMOX >PAC >VAC. Estos resultados justificarían la capacidad de adsorción del fenol y la amoxicilina, pero no puede aplicarse al caso del diuron o la atrazina, por lo que es evidente que otros factores están implicados en el proceso de adsorción.

Otro parámetro también es la forma iónica de los contaminantes en disolución, lo que está relacionado con la constante de ionización (pKa), que es diferente para cada compuesto orgánico. En este estudio, los contaminantes utilizados tenían valores de pKa comprendidos entre 1,6 y 11,7, teniendo algunos de ellos varias constantes de ionización, como la amoxicilina y la vancomicina. Cuando el pH del medio es inferior al pKa del compuesto, predomina la forma ionizada que está cargada negativamente y, por tanto, desfavorece la adsorción al crearse repulsión electrostática entre el contaminante y la superficie del plástico, también cargada negativamente. Esto explicaría la baja o nula adsorción del diuron (DIR) y la atrazina (ATZ).

Las características de los polímeros también son factores influyentes en los procesos de adsorción. En este estudio, los microplásticos utilizados tienen la misma procedencia que los usados con metales, por lo que las características físico-químicas son las mismas. La superficie específica es mayor en PP y PS, y también la relación superficie específica a volumen. Esto justificaría los valores de adsorción del PS y el PP con los contaminantes orgánicos, pero no serviría para justificar la elevada adsorción de fenol sobre el PET. El PE también presenta una superficie específica relativamente alta y una buena relación de superficie específica a volumen, lo que también justificaría sus valores de adsorción. La elevada adsorción de fenol sobre el PET podría deberse a la formación de enlaces van der Waals o enlaces π - π con los contaminantes orgánicos debido a la presencia de anillos aromáticos en la estructura del polímero, frente a otros como el PE y el PP que no los tienen.

En base a estos ensayos se eligieron los polímeros y contaminantes orgánicos a utilizar, que fueron el fenol y la amoxicilina por ser los que mostraban capacidad de adsorberse en todos los polímeros en las condiciones utilizadas en este trabajo.

3.4.3. Ensayos de cinética

Los resultados del estudio cinético con la amoxicilina mostraron que la capacidad de adsorción continuaba aumentando con el tiempo de contacto y no se llegó a alcanzar el equilibrio con ninguno de los microplásticos utilizados. PS y PET mostraron las capacidades de adsorción más bajas, que iban de 0,08 mg/g a los 3 días hasta 0,65 mg/g a los 28 días. Por otro lado, el PE obtuvo la capacidad de adsorción más alta, con valores que iban de 0,14 mg/g a los 3 días de contacto hasta 0,88 mg/g a los 28 días. En el caso del fenol, sí se alcanzó el equilibrio para todos los polímeros tras 21 días de contacto. Se obtuvieron valores finales de adsorción de 0,78, 0,94, 0,95 y 0,95 mg/g para PP, PS, PVC y PET, respectivamente. Estos resultados se ajustaron a los modelos cinéticos descritos en el apartado 2.3.4.2.

En general, el modelo de pseudo-segundo orden fue el que mejor reprodujo la cinética del proceso para los dos contaminantes, lo que indica que el mecanismo principal de adsorción sería la quimisorción. No obstante, en el caso de la amoxicilina, los valores calculados de q_e del modelo de pseudo-segundo orden fueron más altos que los experimentales. Esto puede deberse, como se ha indicado anteriormente, a que en ninguno de los casos se alcanzó el equilibrio. Para el fenol, sin embargo, los valores de q_e calculados fueron similares a los obtenidos experimentalmente.

3.4.4. Ensayos de equilibrio

Los ensayos de equilibrio se hicieron nuevamente con amoxicilina y fenol para cada uno de los polímeros elegidos. Los resultados fueron ajustados a los modelos de Langmuir y Freundlich. En general, el modelo de Langmuir ajustó mejor los datos que el de Freundlich, con coeficientes de correlación r^2 de entre

0,97 y 0,99. Esto indica que el proceso de adsorción de ambos contaminantes sobre los polímeros fue de tipo monocapa para todas las concentraciones estudiadas.

Todos los polímeros obtuvieron una elevada capacidad de adsorción para la amoxicilina, aunque no se alcanzó el equilibrio en el tiempo propuesto para el ensayo. También se obtuvieron elevados valores de capacidad de adsorción para el fenol. El PE obtuvo el valor de q_m más elevado para la amoxicilina (8,798 mg/g), mientras que el PET y el PS fueron los que obtuvieron valores de q_m más altos para el fenol, siendo de 2,802 y 2,766 mg/g, respectivamente. El PP obtuvo los valores de q_m más bajos para ambos contaminantes, siendo de 4,028 mg/g para la amoxicilina y de 1,249 mg/g para el fenol. A pesar de que los valores de q_m fueron especialmente altos para la adsorción de fenol en el PET y el PS, los valores de los parámetros b y n , que representan la afinidad entre los polímeros y los contaminantes, fueron especialmente altos para la adsorción de fenol sobre PVC. Esto quiere decir que puede existir una buena afinidad entre los contaminantes orgánicos y el PVC, pero que la capacidad de adsorción no es tan elevada como en otros polímeros por la influencia de otros factores como se ha venido comentando hasta ahora.

3.4.5. Ensayos de desorción. Influencia del pH y la temperatura. Influencia del tiempo de contacto

En este capítulo, se completó el estudio de adsorción de contaminantes en los microplásticos, analizando el comportamiento de desorción de los contaminantes retenidos por éstos. Los ensayos se realizaron con los polímeros que obtuvieron el q_m más alto para ambos contaminantes, esto es, PE y PS para la amoxicilina y PET, PS y PVC para el fenol. Se eligieron tres polímeros para el fenol por haber obtenido valores de q_m muy similares. Se hicieron con tres valores de pH (2, 4 y 6) y dos temperaturas (25 y 40°C).

Los resultados de los ensayos mostraron, en general, que la liberación de contaminantes fue menor a la temperatura de 25°C y a pH 2. Esto quiere decir que, a temperatura ambiente y pH muy ácidos, las sustancias químicas permanecen retenidas en los microplásticos. A esta temperatura, los polímeros que menor

desorción experimentaron fueron el PS con amoxicilina y el PVC con fenol. El porcentaje de contaminante liberado al agua aumentó entre 1,3 y 7,9 veces con el aumento de temperatura hasta 40°C. Los resultados también mostraron una alta dependencia de la desorción con el pH de la disolución. El incremento en el pH de la disolución provocó un aumento de entre 1,7 y 11,2 veces la desorción de contaminantes, con la excepción de la amoxicilina a 25°C, ensayo en el que disminuyó la desorción con el aumento de pH. El incremento en la desorción fue muy notable en el caso del fenol con PS, que experimentó un aumento del 3,2% al 35,8% de liberación de fenol con el incremento de pH de 2 a 6. También se produjo un aumento notable en el caso de la amoxicilina con PE, que pasó del 25% al 58% de desorción con el aumento de pH de 2 a 6.

En el ensayo de desorción de amoxicilina a 25°C se observó un efecto combinado de adsorción-desorción con el aumento de pH. A pH 2 la amoxicilina se libera al medio acuoso porque tanto el contaminante como los microplásticos están cargados positivamente y no se produce atracción electrostática (por acción del PZC). A pH 6 la amoxicilina adquiere una carga positiva debido a la presencia del grupo NH_3^+ que provoca un incremento de nuevo en la adsorción de este contaminante sobre los polímeros. Sin embargo, este efecto no se observa a 40°C, debido probablemente a que en estos ensayos la temperatura es un factor más predominante que el pH. En general, se puede concluir que la desorción es bastante favorable a temperaturas altas y a valores de pH moderadamente neutros.

Otro aspecto que también se observó fue la influencia del tiempo de contacto entre los microplásticos y la disolución en la desorción de los contaminantes. En el caso del fenol, se observó un aumento importante de la desorción entre las 24 y las 72 horas, siendo mayor esta desorción a pH 6 y a temperatura de 40°C. En el caso de la amoxicilina, se observó la misma tendencia a pH 2 y 6 y a temperatura de 40°C, mientras que a 25°C se observó una disminución en la desorción, relacionado con la posterior adsorción de amoxicilina que se produce por los motivos ya explicados anteriormente.

El contenido de este capítulo ha sido publicado en el siguiente artículo científico:

ARTÍCULO 4: V. Godoy; M.A. Martín-Lara; M. Calero; G. Blázquez. The relevance of interaction of chemicals/pollutants and microplastic samples as route for transporting contaminants. *Process Safety and Environmental Protection*, 138, 2020, 312-323.


<https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.03.033>

Indicios de calidad

Factor de Impacto: 4.966

- Categoría Environmental Engineering → Ránking 13/53 (Q1)
- Categoría Chemical Engineering → Ránking 23/143 (Q1)


Process Safety and Environmental Protection 138 (2020) 312–323



Contents lists available at ScienceDirect

Process Safety and Environmental Protection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psep



The relevance of interaction of chemicals/pollutants and microplastic samples as route for transporting contaminants

V. Godoy, M.A. Martín-Lara*, M. Calero, G. Blázquez

Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 4 January 2020
Received in revised form 23 March 2020
Accepted 24 March 2020
Available online 11 April 2020

Keywords:
Microplastics
Adsorption
Release
Amoxicillin
Phenol

ABSTRACT

Microplastics have been converted a very important issue during current time. In addition, their capacity to adsorb other pollutants implies an additional problem. In this work, the potential of five types of microplastics derived from plastic waste, that include polyethylene, polyethylene terephthalate, polypropylene, polystyrene and polyvinyl chloride, to act as transporters of amoxicillin, atrazine, diuron, paracetamol, phenol and vancomycin was studied. Results suggested that microplastics, especially polyethylene, polyethylene terephthalate, polystyrene and polyvinyl chloride, revealed an essential protagonist as carriers of amoxicillin and phenol. The kinetic study showed that the sorption processes (from water to plastic) was slow and needs more than 28 days (amoxicillin) or about 21 days (phenol) to reach equilibrium. The modelling of equilibrium showed a better fit of the Langmuir model. The maximum Langmuir sorption capacities reached values between 4.03 and 8.80 mg/g for amoxicillin and between 1.25 and 2.80 mg/g for phenol. With respect to release tests, the liberation of the loaded pollutants was minor at the lower tested temperature ($T=25^{\circ}\text{C}$) and lower tested pH ($\text{pH}=2$). Percentage of chemicals released increased between 1.3 and 7.9 times as the temperature increased until 40°C . Similarly, the results revealed that release was greatly pH dependent. In these experiments, a singular behaviour was observed for amoxicillin at 25°C , a combined effect of adsorption-release seems happen.

© 2020 Institution of Chemical Engineers. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

3.5. Estudio de los microplásticos como vectores de metales pesados en el interior del tracto gastrointestinal humano mediante simulación dinámica

3.5.1. Caracterización de los microplásticos tras los ensayos in vitro

Dado que los microplásticos utilizados en este estudio (PE y PP) tienen la misma procedencia que los utilizados en los apartados 3.3 y 3.4, su caracterización ya ha sido realizada en capítulos anteriores, por lo que se considera que características como la superficie específica, porosidad, tamaño de poro y punto de carga nula son las mismas. Concretamente, la superficie específica del PE y PP son las más grandes de los cinco tipos de microplásticos descritos hasta ahora (1,4 y 2,7 m²/g, respectivamente). La porosidad es mayor en el PE que en el PP (40·10⁻³ y 30·10⁻³ cm³/g, respectivamente), mientras que el tamaño de poro es inversamente proporcional al volumen, por lo que el PP presenta poros más grandes que el PE. Como ya se comentó en el apartado 3.3.1, estos factores son algunos de los que influyen en la adsorción y desorción de los iones metálicos en la superficie del plástico.

En este capítulo, los microplásticos fueron analizados tras finalizar los ensayos *in vitro* para detectar posibles degradaciones o alteraciones en la superficie de las partículas, así como cambios de color tras pasar por las diferentes condiciones del simulador gastrointestinal. En el caso de los microplásticos de PP, se observó una ligera degradación en los bordes de las partículas y algunas partículas se habían fragmentado en otras más pequeñas. Sin embargo, el PE sufrió una mayor alteración, ya que perdió buena parte del color original de las partículas y se degradaron en profundidad los bordes de éstas.

El hecho de que se produjera una mayor degradación en el PE pudo estar relacionada con su procedencia de granza reciclada en la que se encuentran mezclados distintos tipos de polietileno (principalmente de alta y baja densidad). Estos polímeros presentan distintas propiedades en cuanto a densidad, cristalinidad, resistencia química, etc., y pueden presentar distinto

comportamiento con el ambiente que les rodea, lo que podría haber causado esta mayor degradación en las partículas de PE frente a las de PP.

Cabe señalar que, en ambos tipos de microplásticos, la alteración física sufrida también pudo influenciar la capacidad de adsorción y de difusión del Cr y Pb en la estructura del polímero.

3.5.2. Cantidad de metal adsorbida por los microplásticos en los ensayos previos de adsorción

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.4.2. antes de comenzar los ensayos *in vitro* fue necesario contaminar artificialmente los microplásticos con los metales en el laboratorio mediante un ensayo de adsorción. Los resultados obtenidos en este ensayo fueron un q_e de 2,31 mg/g en el caso del PE con Cr, y un q_e de 4,92 mg/g en el caso del PP con Pb. Dado que el ensayo de adsorción se realizó con 0,5 g de microplásticos para cada tipo, la cantidad de metal presente en estas partículas es la mitad del q_e , esto es, 1,16 mg de Cr en los microplásticos de PE y 2,46 mg de Pb en los de PP. Tras estos ensayos de adsorción se procedió a realizar los ensayos *in vitro* en el simulador.

3.5.3. Ensayo in vitro de simulación gastrointestinal con PE-Cr

El resultado más destacable que se obtuvo en este ensayo fue que el 86,08% del Cr retenido en los microplásticos se había liberado tras estar dos minutos en contacto con la fracción FGS. Esto quiere decir que, en el minuto 2 del ensayo había 0,99 mg de Cr bioaccesibles en la fase gástrica. Esta liberación tan rápida pudo deberse a una preferencia química del metal por el medio ácido. También pudieron influir las características del polímero. Como se ha comentado en el apartado 3.5.1, las partículas de PE sufrieron una degradación importante durante los ensayos, lo que pudo provocar la rotura de enlaces químicos y la formación de grietas, favoreciendo la difusión de las partículas y, por tanto, su rápida liberación al medio.

A partir de ese momento de máxima liberación (minuto 2), la cantidad de Cr presente en el líquido comenzó a descender notablemente y, al terminar la fase

gástrica (en el minuto 27 del ensayo), tan solo permanecían en el FGS 0,38 mg de Cr. Este hecho puede explicarse por fenómenos de precipitación. El Cr^{3+} en disolución puede formar diferentes complejos o precipitar, dependiendo de los iones presentes en el medio, el pH y otros factores. Algunos artículos consultados indican que la precipitación del Cr^{3+} como hidróxido ocurre a pH 5-6, pero en otros este valor se sitúa por debajo de 4 para que se produzca la precipitación, lo que coincidiría con las condiciones de estos ensayos. Además, se utilizaron numerosos compuestos químicos que proporcionan una amplia variedad de cationes y aniones al medio, con los que el Cr^{3+} puede interactuar para formar complejos en disolución o precipitados. De los resultados obtenidos se puede concluir que, en estos ensayos, se han formado especies hidratadas y un óxido de cromo que precipita a pH 4. Por tanto, la disminución de la cantidad de Cr presente en el líquido puede deberse a la precipitación del mismo.

Cuando comenzó la fase duodenal, se produjo un aumento de pH hasta 6,5 relacionado con la adición de los jugos pancreáticos. Durante esta fase, la cantidad de Cr en el líquido permaneció prácticamente inalterada, y al finalizar había 0,34 mg de Cr biodisponibles para el comienzo de la fase de absorción intestinal. En esta fase ya no se producen más cambios de pH porque no hay adición de enzimas ni jugos. En este punto, el Cr precipitado pasa a formar parte del residuo colónico, que es un fluido no absorbido que pasaría por el colon y sería finalmente excretado a través de la orina y las heces. El Cr biodisponible (0,34 mg) es susceptible de ser absorbido por la membrana durante la fase de absorción intestinal. Esto fue lo que sucedió a medida que progresó dicha fase, de tal modo que cuando finalizó, 0,23 mg del Cr biodisponible habían sido absorbidos por la membrana. Esto quiere decir que el 67,65% del Cr biodisponible fue absorbido por la membrana o el 23,11% respecto al Cr total inicialmente adsorbido.

3.5.4. Ensayo *in vitro* de simulación gastrointestinal con PP-Pb

En este ensayo, el Pb se liberó de forma más lenta y gradual que el Cr en el ensayo anterior. La máxima cantidad liberada se produjo a los 20 minutos de comenzar el ensayo, y tan solo se liberó el 32,41% del Pb inicial retenido en los

microplásticos, equivalente a 0,80 mg. Como ya han demostrado otros autores, el Pb se libera relativamente bien a pH ácidos, en medios como ácidos orgánicos o ácido nítrico. El hecho de que la liberación sea más lenta y gradual que la del Cr puede deberse a una combinación entre la estructura del PP (diferente a la del PE) y el carácter químico del Pb, que puede producir enlaces más fuertes con el PP que aquellos del Cr con el PE. Algunos autores han demostrado también que la interacción más favorable entre metales y microplásticos ocurre con cationes bivalentes, tales como el Pb^{2+} , Cd^{2+} o Cu^{2+} . Además, tal como se describió en el apartado 3.3.1, los microplásticos de PP utilizados contienen óxido de titanio como aditivo en su estructura, un pigmento inorgánico que es ampliamente utilizado en la producción de plásticos. Este pigmento puede contribuir a la formación de superficies cargadas negativamente y actuar favoreciendo la adsorción y retención del metal sobre el polímero.

A partir del minuto 20 del ensayo, en el que se produce la máxima cantidad liberada, comenzó una disminución lenta y progresiva de la cantidad de Pb disponible en el líquido. Al igual que ocurrió con el Cr, esta disminución puede deberse a la precipitación del Pb en forma de otros compuestos, especialmente en la fase duodenal debido al incremento de pH que se produce por la adición de los jugos pancreáticos. Cuando el pH aumenta por encima de 6, el Pb^{2+} reacciona con los iones carbonato (CO_3^{2-}) disponibles en el medio y precipita en forma de hidroxicarbonato de plomo, también conocido como hidrocercusita.

De la cantidad máxima de Pb liberada al líquido (0,80 mg), más del 25% precipitó antes de la fase de absorción intestinal, y prácticamente el 20% precipitó durante la fase duodenal. Al finalizar dicha fase, había 0,60 mg de Pb biodisponibles para el comienzo de la fase de absorción intestinal, mientras que los 0,20 mg restantes habían precipitado y pasaron a formar parte del residuo colónico, que posteriormente pasaría por el colon y sería finalmente excretado.

Durante la fase de absorción intestinal, el comportamiento del Pb fue muy similar al del Cr en el ensayo anterior, aunque el Pb fue absorbido por la membrana en mayor cantidad que el Cr. Cuando terminó dicha fase, 0,57 mg del Pb

biodisponible al comienzo de la fase había sido absorbido, lo que indica que el 95% del Pb biodisponible fue absorbido por la membrana. Por otro lado, con respecto al total de Pb inicial adsorbido en los microplásticos de PP, los 0,57 mg representan el 23,17%.

3.5.5. Evolución del pH, temperatura y presión durante los ensayos *in vitro*

Estos tres parámetros son la base de la simulación gastrointestinal llevada a cabo en los ensayos de este apartado. La evolución de los tres fue muy similar en los dos ensayos, como era de esperar tratándose del mismo tipo de simulación en ambos.

El pH varía con la adición de los jugos gástricos y pancreáticos, así como de las enzimas y sales biliares. Al inicio de los ensayos, cuando el estómago está vacío y se añade el FGS, el valor de pH se sitúa en torno a 3. Este pH sube hasta 5 cuando se añade el alimento (leche desnatada en este ensayo) con los microplásticos y el FSS. En este momento es cuando el FGS empieza a actuar y se debe bajar de nuevo el pH hasta 3, añadiendo HCl 6 M. Este valor de pH ya se mantiene durante toda la fase gástrica.

Cuando comienza la fase duodenal, el pH debe aumentar hasta 6,5 simulando el paso de la comida con el FGS y los microplásticos a través del duodeno. Esto se consigue añadiendo NaHCO_3 hasta alcanzar el pH deseado. Después se procede a añadir la lipasa y las sales biliares, y el pH comienza de nuevo a subir lentamente durante la fase de absorción intestinal hasta situarse en valores cercanos a 7,5. Este valor está reconocido como el que se encuentra normalmente en el íleon del intestino delgado.

Por otro lado, la temperatura fue monitorizada durante toda la duración de los ensayos y no se observaron cambios significativos, manteniéndose siempre constante en 37,5°C.

Finalmente, la presión fue controlada durante toda la fase de absorción intestinal con ayuda de un sistema de control PID que mantenía la presión fija a 50 mmHg. Esta presión simula la presión real fisiológica en el interior del intestino

humano. Es una presión muy ligera que se aplica durante la fase de absorción intestinal para que la difusión de los metales se lleve a cabo solo por difusión pasiva. Por tanto, la biodisponibilidad se debe únicamente a la capacidad de cada elemento para pasar a través de la membrana.

Se podría concluir que, en general, el uso del simulador dinámico gastrointestinal para estudiar el comportamiento de los microplásticos y sus contaminantes asociados ha mostrado ser útil y fácilmente reproducible. Es un tipo de estudio que puede servir como antesala de otros estudios más rigurosos o incluso de estudios *in vivo*, para conocer mejor cómo entran los microplásticos al cuerpo humano y qué efectos producen sobre él.

El contenido de este capítulo ha sido publicado en:

ARTÍCULO 5: V. Godoy; A. Martínez-Férez; M.A. Martín-Lara; J.A. Vellido-Pérez; M. Calero; G. Blázquez. Microplastics as Vectors of Chromium and Lead during Dynamic Simulation of the Human Gastrointestinal Tract. *Sustainability*, 12, 2020, 4792.

<https://doi.org/10.3390/su12114792>

Indicios de calidad

Factor de Impacto: 2.576

- Categoría Environmental Sciences → Ránking 120/265 (Q2)
- Categoría Green & Sustainable Science & Technology → Ránking 26/41 (Q3)



Article

Microplastics as Vectors of Chromium and Lead during Dynamic Simulation of the Human Gastrointestinal Tract

Verónica Godoy *, Antonio Martínez-Férez, María Ángeles Martín-Lara *[‡],
José Antonio Vellido-Pérez[‡], Mónica Calero and Gabriel Blázquez[‡]

Department of Chemical Engineering, Faculty of Sciences, University of Granada, Avda. Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain; amferez@ugr.es (A.M.-F.); javellido@ugr.es (J.A.V.-P.); mcalero@ugr.es (M.C.); gblazque@ugr.es (G.B.)

* Correspondence: vgcadero@ugr.es (V.G.); marianml@ugr.es (M.Á.M.-L.)

Received: 16 May 2020; Accepted: 9 June 2020; Published: 11 June 2020



Abstract: The human body is exposed to the ingestion of microplastics that are often contaminated with other substances, which can be released into our body. In this work, a dynamic in-vitro simulator of the gastrointestinal tract based on a membrane reactor has been used for the first time to study the release, bioaccessibility, and bioavailability of chromium (Cr) and lead (Pb) from polyethylene and polypropylene microplastics previously contaminated in the laboratory. The results showed that 23.11% of the initial Cr and 23.17% of the initial Pb present in microplastics were able to cross the tubular membrane, simulating the intestinal absorption phase. The pH evolution during the gastric phase and the duodenal phase, the interaction mechanisms with physiological fluids, and the properties of the polymers, such as specific surface, porosity, and/or surface degradation, affected the kinetics of release from the microplastics and the behavior of both heavy metals. Cr was released very early in the gastric phase, but also began simultaneously to precipitate quite fast, while Pb was released slower and in less quantity than Cr, and did not precipitate until the beginning of the duodenal phase. This study shows, for the first time, how useful the dynamic gastrointestinal simulator is to study the behavior of microplastics and some problematic heavy metals along the human gastrointestinal tract, and can serve as a reference for future studies focused on the effects of these substances in the human body.

Keywords: gastrointestinal dynamic simulator; microplastic pollution; human health; intestinal absorption; heavy metals

CONCLUSIONES

CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral consiste en realizar un análisis del impacto ambiental de los microplásticos desde diferentes puntos de vista: vertido intencional al medio acuático, impacto ambiental sobre las playas y el agua e impacto sobre la salud humana. Además, se pretendía acompañar este análisis de una caracterización lo más completa posible de las propiedades físico-químicas de los microplásticos y sus relaciones con el medio. Para ello, se estudiaron cuatro ámbitos diferentes de los microplásticos: qué cantidad de microplásticos están presentes en productos de cosmética e higiene personal y que composición, tamaño y morfología tienen estas partículas; qué concentraciones de microplásticos están presentes en sedimentos de playas de la costa de Granada y de dónde viene dicha contaminación; qué capacidad de adsorción y desorción presentan los microplásticos cuando se encuentran en el agua con metales pesados o contaminantes orgánicos; y por último, estudiar el comportamiento de microplásticos contaminados con metales pesados en el interior del tracto digestivo humano simulado. Tras realizar este trabajo, las principales conclusiones que se han extraído de esta Tesis se resumen en distintos puntos a continuación.

- El estudio sobre la presencia de microplásticos en productos de cuidado personal ha proporcionado información novedosa y ha sido un trabajo pionero en España, que podría ser utilizado en el futuro para la realización de estudios similares y contribuir a tomar medidas para la reducción de la presencia de microplásticos en el medioambiente.
- El estudio de mercado realizado en diferentes productos de cuidado personal, reveló que los exfoliantes corporales y de pies son los que presentaron más polietileno en su composición, llegando en algunos productos a un valor superior a 3.000 partículas/g. Los microplásticos encontrados en estos productos tenían tamaños variables que iban desde aproximadamente 8 μm hasta 2 mm, aumentando el número de partículas cuanto más pequeñas eran las mismas. Además, su morfología era irregular y algunos de ellos contenían aditivos químicos en forma de silicatos u

óxidos, lo que contribuye a que puedan adsorber más rápidamente otros contaminantes presentes en el agua.

- En los sedimentos de las tres playas analizadas se encontró contaminación moderada por microplásticos, siendo La Herradura la playa más contaminada con 189 partículas en total y una concentración media de $45,0 \pm 24,7$ partículas/kg de peso seco y La Rábida la menos contaminada con 83 partículas en total y una concentración media de $22,0 \pm 23,2$ partículas/kg de peso seco. En comparación con otras playas de España, éstas de Granada presentaron menor contaminación, probablemente influenciado por las peculiares características geomorfológicas de la costa. Además, en las tres playas, la línea de pleamar fue la menos contaminada, mientras que en los otros tres transectos la distribución fue homogénea. Esto puede estar relacionado con el muestreo después del pico de la marea alta, ya que la marea puede arrastrar las partículas presentes.
- En los microplásticos encontrados en el sedimento, predominan los tamaños inferiores a 100 μm , lo que podría estar relacionado con un aumento de la fricción y abrasión de los microplásticos provocado por el gran tamaño del sedimento en la costa de Granada. Además, a pesar de las diferencias encontradas entre las playas, no existe una relación clara y significativa desde un punto de vista estadístico entre la acumulación de microplásticos y las características geomorfológicas de las playas.
- Los microplásticos pueden actuar como portadores de contaminantes en diferentes entornos acuáticos. Los resultados han mostrado que los microplásticos, especialmente PE, PP, PS y PVC tienen una alta afinidad por metales como Cr, Cu, Co y Pb, que viene condicionada por la superficie específica, la porosidad y la morfología de los sólidos. El equilibrio del proceso de adsorción de los metales en los microplásticos se ajusta bien al modelo de Langmuir, siendo el Pb, el Cr y el Cu los metales adsorbidos en mayor cantidad.
- El estudio del proceso de adsorción de metales presentes en entornos acuáticos reales mostró que, en aguas residuales y agua de riego, la

presencia de materia orgánica aumentó la adsorción de plomo y cromo por los microplásticos. Por otro lado, el pH de estas aguas y la presencia de sales como carbonatos, sulfatos o fosfatos, alteran el proceso de retención, produciéndose un fenómeno combinado de adsorción-precipitación. Con respecto al agua de mar, los efectos combinados de la salinidad y la composición química de la solución a veces aumentan la adsorción de metales y otras la disminuyen, no encontrándose una relación clara entre esos parámetros y el comportamiento del proceso de adsorción.

- Los resultados de la interacción de los microplásticos con contaminantes orgánicos mostraron que, en general, la capacidad de adsorción fue mucho mayor para amoxicilina y fenol. El PET y el PS fueron los polímeros que mejor adsorbieron el fenol, mientras que el PE fue el polímero que presentó una mayor capacidad de adsorción de amoxicilina. Los resultados también mostraron que el modelo de pseudo-segundo orden es el que mejor reproduce la cinética del proceso de adsorción, mientras que el modelo de Langmuir es el más adecuado para describir el equilibrio.
- El estudio del proceso de desorción de los contaminantes orgánicos retenidos en los microplásticos, mostró que la desorción está influenciada principalmente por la temperatura y el pH del medio, presentando una tendencia ascendente con el aumento de ambos parámetros. La desorción de amoxicilina a 25°C presentó un comportamiento particular de adsorción-desorción en función del aumento de pH, principalmente debido a la combinación de interacciones electrostáticas positivas entre los polímeros y el contaminante.
- Una vez analizado el comportamiento de los distintos microplásticos como adsorbentes de metales, se avanzó en la investigación estudiando la bioaccesibilidad y biodisponibilidad en el cuerpo humano de dos metales pesados (Cr y Pb) contenidos en microplásticos de dos polímeros (PE y PP), mediante el uso de un simulador gastrointestinal dinámico. Este es el primer estudio que ha utilizado este tipo de simulador para analizar la

liberación de contaminantes presentes en microplásticos dentro del cuerpo humano.

- Los resultados obtenidos mostraron comportamientos muy diferentes para ambos tipos de polímeros y metales. El Cr se liberó muy rápidamente al estómago y comenzó a precipitar a los pocos minutos, mientras que el Pb se liberó más lentamente y en menor cantidad que el Cr, comenzando a precipitar cuando el pH aumentó a 6,5 en el duodeno. La cantidad máxima liberada fue de 0,99 y 0,80 mg de Cr y Pb, respectivamente, lo que equivale al 86,08% y 32,41% del Cr y Pb iniciales adsorbidos en los microplásticos, respectivamente.
- Cuando se alcanzó la etapa de absorción intestinal, había 0,34 y 0,60 mg de Cr y Pb, respectivamente, susceptibles de ser absorbidos en el intestino. De estas cantidades, sorprendió comprobar que el 67,65% y el 95% de Cr y Pb, respectivamente, fue absorbido por la membrana. El tipo de polímero y sus propiedades como la superficie específica y la porosidad o incluso el desgaste superficial que sufren los microplásticos durante los ensayos, podrían influir en la difusión de los metales y justificar su comportamiento diferente.
- Los seres humanos pueden ingerir microplásticos que, en muchos casos, están contaminados con otras sustancias con las que están en contacto en el medioambiente o que proceden de los propios aditivos que los acompañan. Estas sustancias pueden liberarse en el interior del cuerpo humano pudiendo provocar, incluso en pequeñas concentraciones, efectos relacionados con la aparición de algunas enfermedades. El uso del simulador gastrointestinal dinámico para estudiar el comportamiento de los microplásticos y sus contaminantes asociados ha mostrado ser útil y reproducible, por lo que puede servir de base para analizar los efectos que pueden provocar estas sustancias en los seres vivos.

CONCLUSIONS

The main objective of this PhD Thesis is to analyse the environmental impact of microplastics from different points of view: intentional discharge into the aquatic environment, environmental impact on beaches and water, and impact on human health. In addition, the aim was to complement this analysis with a complete characterisation of the physico-chemical properties of microplastics and their relationships with the environment. To this end, four different areas of microplastics were studied: the quantity of microplastics present in cosmetic and personal care products and the composition, size and morphology of these particles; the concentrations of microplastics present in beach sediments on the coast of Granada and where this contamination comes from; the adsorption and desorption capacity of microplastics when they are in water together with heavy metals or organic pollutants; and finally, the behaviour of microplastics contaminated with heavy metals in a simulated human digestive tract. After carrying out this work, the main conclusions drawn from this Thesis are summarised in the following points.

- The study on the presence of microplastics in personal care products has provided new information and has been a pioneering work in Spain, which could be used in the future to carry out similar studies and could contribute to taking measures to reduce the presence of microplastics in the environment.
- The market study carried out on different personal care products revealed that body and foot scrubs were the ones with the highest levels of polyethylene in their composition, with some products containing more than 3000 particles/g. The microplastics found in these products ranged in size from approximately 8 μm to 2 mm, with the number of particles increasing when the particles were smaller. In addition, their morphology was irregular and some of them contained chemical additives in the form of silicates or oxides, which contribute to their ability to adsorb more rapidly other pollutants present in the water.

Conclusions

- In the sediments of the three beaches analysed, moderate contamination by microplastics was found, La Herradura being the most contaminated beach with 189 particles in total and a mean concentration of 45.0 ± 24.7 particles/kg dry weight, whereas La Rábita was the least contaminated with 83 particles in total and a mean concentration of 22.0 ± 23.2 particles/kg dry weight. Compared to other beaches in Spain, these beaches in Granada showed less contamination, probably influenced by the peculiar geomorphological characteristics of the coast. Moreover, on all three beaches, the high tide line was the least polluted, while on the other three transects the distribution was homogeneous. This may be related to sampling after the peak of the high tide, as the tide may wash away the particles present in sediment.
- In the microplastics found in the sediment, sizes smaller than $100 \mu\text{m}$ predominated, which could be related to an increase in friction and abrasion of microplastics caused by the large size of the sediment on the coast of Granada. Despite the differences found between beaches, there was no clear and statistically significant relationship between microplastic accumulation and the geomorphological characteristics of the beaches.
- Microplastics can act as carriers of pollutants in different aquatic environments. Results have shown that microplastics, especially PE, PP, PS and PVC had a high affinity for metals such as Cr, Cu, Co and Pb, which is conditioned by the specific surface area, porosity and morphology of the solids. The equilibrium of the adsorption process of metals on microplastics fitted well with the Langmuir model, Pb, Cr and Cu being the most adsorbed metals.
- The study of the adsorption process of metals present in natural aquatic environments showed, on the one hand, that the presence of organic matter in wastewater and irrigation water increased the adsorption of lead and chromium by microplastics. On the other hand, the pH of these waters and the presence of salts such as carbonates, sulphates or phosphates, modified the retention process, producing a combined adsorption-precipitation

phenomenon. With respect to seawater, the combined effects of salinity and the chemical composition of the solution sometimes increased the adsorption of metals and sometimes decreased it, but no clear relationship between these parameters and the behaviour of the adsorption process has been found.

- The results of the interaction of microplastics with organic pollutants showed that, in general, the adsorption capacity was much higher for amoxicillin and phenol. PET and PS were the polymers that best adsorbed phenol, while PE was the polymer with the highest adsorption capacity for amoxicillin. The results also proved that the pseudo-second order model best reproduced the kinetics of the adsorption process, while the Langmuir model is the most adequate to describe the equilibrium.
- The study of the desorption process of organic pollutants retained on microplastics showed that the desorption was mainly influenced by the temperature and pH of the medium, presenting an increasing trend with the increase of both parameters. The desorption of amoxicillin at 25°C showed a particular adsorption-desorption behaviour as a function of increasing pH, mainly due to the combination of positive electrostatic interactions between the polymers and the contaminant.
- Once the behaviour of the different microplastics as metal adsorbents had been analysed, research progressed by studying the bioaccessibility and bioavailability in the human body of two heavy metals (Cr and Pb) contained in microplastics composed of PE and PP, using a dynamic gastrointestinal simulator. This is the first study that has used this type of simulator to analyse the release of contaminants present in microplastics into the human body.
- The results obtained showed very different behaviours for both types of polymers and metals. Cr was released very quickly into the stomach and started to precipitate within a few minutes, while Pb was released more slowly and in smaller quantities than Cr, starting to precipitate when the pH increased to 6.5 in the duodenum. The maximum amount released was 0.99

Conclusions

and 0.80 mg Cr and Pb, respectively, equivalent to 86.08% and 32.41% of the initial Cr and Pb adsorbed on the microplastics, respectively.

- When the intestinal absorption stage began, 0.34 and 0.60 mg Cr and Pb, respectively, were available to be absorbed in the intestine. Of these amounts, it was surprising to find that 67.65% and 95% of Cr and Pb, respectively, were absorbed by the membrane. The type of polymer and its properties such as specific surface area and porosity or even the surface wear that the microplastics underwent during the tests could influence the diffusion of the metals and justify their different behaviour.
- Microplastics are in many cases contaminated with other substances present in the environment or chemical additives added during the manufacturing process. These substances can be released into the human body and can cause, even in small concentrations, effects related to the onset of certain diseases. The use of the dynamic gastrointestinal simulator to study the behaviour of microplastics and their associated pollutants has proven to be useful and reproducible and can therefore serve as a basis for analysing the effects that these substances can have on living organisms.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Abad, P., Arroyo-manzanares, N., García-campa, A.M., Martínez-ferrez, A., 2019. Effects of different vehiculization strategies for the allium derivative propyl propane thiosulfonate during dynamic simulation of the pig gastrointestinal tract. *Can. J. Anim. Sci.* 99, 244–253. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0063>

Abidli, S., Antunes, J.C., Ferreira, J.L., Lahbib, Y., Sobral, P., Trigui El Menif, N., 2018. Microplastics in sediments from the littoral zone of the north Tunisian coast (Mediterranean Sea). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 205, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.03.006>

Agencia Andaluza de la Energía, 2010. Anexo 2. Descripción del medio físico, en: *Estudio de los recursos geotérmicos en Andalucía*. 159 pp.

Akhbarizadeh, R., Moore, F., Keshavarzi, B., Moeinpour, A., 2017. Microplastics and potentially toxic elements in coastal sediments of Iran's main oil terminal (Khark Island). *Environ. Pollut.* 220, 720–731. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.038>

Al-Azzawi, M.S.M., Kefer, S., Weißer, J., Reichel, J., Schwaller, C., Glas, K., Knoop, O., Drewes, J.E., 2020. Validation of sample preparation methods for microplastic analysis in wastewater matrices-Reproducibility and standardization. *Water* 12, 2445.

Al-Kaf, A.G., Naji, K.M., Abdullah, Q.Y., Edrees, W.H., 2017. Occurrence of Paracetamol in Aquatic Environments and Transformation by Microorganisms: A Review. *Chronicles Pharm. Sci.* 1, 341–355.

Alfonso, M.B., Arias, A.H., Piccolo, M.C., 2020a. Microplastics integrating the zooplanktonic fraction in a saline lake of Argentina: influence of water management. *Environ. Monit. Assess.* 192:117. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8080-1>

Alfonso, M.B., Scordo, F., Seitz, C., Mavo Manstretta, G.M., Ronda, A.C., Arias, A.H., Tomba, J.P., Silva, L.I., Perillo, G.M.E., Piccolo, M.C., 2020b. First evidence of microplastics in nine lakes across Patagonia (South America). *Sci. Total Environ.* 733, 139385. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139385>

Alomar, C., Estarellas, F., Deudero, S., 2016. Microplastics in the Mediterranean Sea: Deposition in coastal shallow sediments, spatial variation and preferential grain size. *Mar. Environ. Res.* 115, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.01.005>

Álvarez-Hernández, C., Cairós, C., López-Darias, J., Mazzetti, E., Hernández-Sánchez, C., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J., 2019. Microplastic debris in beaches of Tenerife (Canary Islands, Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 146, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.064>

Alves Dias, P., Blagoeva, D., Pavel, C., Arvanitidis, N., 2018. Cobalt: demand-supply balances in the transition to electric mobility. Publication Office of the European Union. 98 pp. <https://doi.org/10.2760/97710>

Amec Foster, Infrastructure UK Limited, 2017. Intentionally added microplastics in products. Final Report 172271i3. 213 pp.

Anderson, P.J., Warrack, S., Langen, V., Challis, J.K., Hanson, M.L., Rennie, M.D., 2017. Microplastic contamination in Lake Winnipeg, Canada. *Environ. Pollut.* 225, 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.072>

Andrady, A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>

Antunes, J., Frias, J., Sobral, P., 2018. Microplastics on the Portuguese coast. *Mar. Pollut. Bull.* 131, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.025>

Asdrubali, F., D'Alessandro, F., Baldinelli, G., Bianchi, F., 2014. Evaluating in situ thermal transmittance of green buildings masonries: A case study. *Case Stud. Constr. Mater.* 1, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.cscm.2014.04.004>

Atwood, E.C., Falcieri, F.M., Piehl, S., Bochow, M., Matthies, M., Franke, J., Carniel, S., Scavo, M., Laforsch, C., Siegert, F., 2019. Coastal accumulation of microplastic particles emitted from the Po River, Northern Italy: Comparing remote sensing and hydrodynamic modelling with in situ sample collections. *Mar. Pollut. Bull.* 138, 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.045>

Auta, H.S., Emenike, C.U., Fauziah, S.H., 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ. Int.* 102, 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>

Avio, C.G., Gorbi, S., Regoli, F., 2015. Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea. *Mar. Environ. Res.* 111, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.014>

Baensch-Baltruschat, B., Kocher, B., Stock, F., Reifferscheid, G., 2020. Tyre and road wear particles (TRWP) - A review of generation, properties, emissions, human health risk, ecotoxicity, and fate in the environment. *Sci. Total Environ.* 733, 137823. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137823>

Baini, M., Fossi, M.C., Galli, M., Caliani, I., Campani, T., Finoia, M.G., Panti, C., 2018. Abundance and characterization of microplastics in the coastal waters of Tuscany (Italy): The application of the MSFD monitoring protocol in the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 543–552. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.016>

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2014a. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 140, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.01.004>

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2014b. Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environ. Pollut.* 185, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.007>

Ballent, A., Corcoran, P.L., Madden, O., Helm, P.A., Longstaffe, F.J., 2016. Sources and sinks of microplastics in Canadian Lake Ontario nearshore, tributary and beach sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 110, 383–395. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.037>

Barboza, L.G., Vethaak, A.D., Lavorante, B.R.B.O., Lundebye, A., Guilhermino, L., 2018. Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.047>

Bashir, I., Lone, F.A., Bhat, R.A., Mir, S.A., Dar, Z.A., Dar, S.A., 2020. Concerns and threats of contamination on aquatic ecosystems, in: Hakeem, K.R., Bhat, R.A., Qadri, H. (Eds.), *Bioremediation and Biotechnology: Sustainable Approaches to Pollution Degradation*. Springer Nature Switzerland AG, 1–26. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35691-0_3

Bayo, J., Rojo, D., Olmos, S., 2019. Abundance, morphology and chemical composition of microplastics in sand and sediments from a protected coastal area: The Mar Menor lagoon (SE Spain). *Environ. Pollut.* 252, 1357–1366. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.024>

Bellasi, A., Binda, G., Pozzi, A., Galafassi, S., Volta, P., Bettinetti, R., 2020. Microplastic contamination in freshwater environments: A review, focusing on interactions with sediments and benthic organisms. *Environ.* 7, 30. <https://doi.org/10.3390/environments7040030>

Berger, A.H., Bhowan, A.S., 2011. Comparing physisorption and chemisorption solid sorbents for use separating CO₂ from flue gas using temperature swing adsorption. *Energy Procedia* 4, 562–567. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2011.01.089>

Bergmann, M., Mützel, S., Primpke, S., Tekman, M.B., Trachsel, J., Gerdts, G., 2019. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. *Sci. Adv.* 5, 11. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1157>

Besley, A., Vijver, M., Behrens, P., Bosker, T., 2017. A standardized method for sampling and extraction methods for quantifying microplastics in beach sand. *MPB* 114, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.055>

Blumenröder, J., Sechet, P., Kakkonen, J.E., Hartl, M.G.J., 2017. Microplastic contamination of intertidal sediments of Scapa Flow, Orkney: A first assessment. *Mar. Pollut. Bull.* 124, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.009>

Booth, A.M., Kubowicz, S., Beegle-Krause, C., Skancke, J., Nordam, T., Landsem, E., Throne-Holst, M., Jahren, S., 2018. Microplastic in global and Norwegian marine environments: Distributions, degradation mechanisms and transport. Report M-918. 147 pp.

Bosker, T., Guaita, L., Behrens, P., 2018. Microplastic pollution on Caribbean beaches in the Lesser Antilles. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 442–447. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.060>

Boucher, J., Friot, D., 2017. Primary microplastics in the oceans: a global evaluation of sources, IUCN. 43 pp.

Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., Canning-Clode, J., 2016. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 178, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>

Bretas Alvim, C., Castelluccio, S., Ferrer-Polonio, E., Bes-Piá, M.A., Mendoza-Roca, J.A., Fernández-Navarro, J., Alonso, J.L., Amorós, I., 2021. Effect of polyethylene microplastics on activated sludge process - Accumulation in the sludge and influence on the process and on biomass characteristics. *Process Saf. Environ. Prot.* 148, 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.10.014>

Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A.R., Martins, C., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C.N., Souchon, I., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Recio, I., 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc.* 14, 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

Browne, M.A., Niven, S.J., Galloway, T.S., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2013. Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *Curr. Biol.* 23, 2388–2392. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.012>

Brunauer, S., Emmett, P.H., Teller, E., 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* 60, 309–319. <https://doi.org/10.1021/ja01269a023>

Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., 2020. A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 1212. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041212>

Carpenter, E.J., Smith, J., 1972. Plastics on the Sargasso Sea surface. *Science* 175, 1240–1241.

Carretero, O., Frias, J.P.G.L., Pereiro, D., Lopes, C., Antunes, J., Andrade, J., Camedda, A., Gorupii, A., De Lucia, G., Pedrotti, L., Sobral, P., Caetano, M., Tirelli, V., Nash, R., Gago, J., 2017. WP4: Microplastic sampling comparison. R/V Ramón Margalef, BASEXPEMIPS 201704. BASEMAN Cruise Report. 22 pp. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27319.32162>

Castañeda, R.A., Avlijas, S., Anouk Simard, M., Ricciardi, A., 2014. Microplastic pollution in st. lawrence river sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 71, 1767–1771. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0281>

Catarino, A.I., Thompson, R., Sanderson, W., Henry, T.B., 2017. Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 947–951. <https://doi.org/10.1002/etc.3608>

CEDEX, 2019. Apoyo Técnico en las Estrategias Marinas. Programa de seguimiento de micropartículas en playas (BM-6) 2019. Informe Técnico para el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. 206 pp.

Cheang, C.C., Ma, Y., Fok, L., 2018. Occurrence and composition of microplastics in the seabed sediments of the coral communities in proximity of a metropolitan area. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 2270. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102270>

Chen, M., Jin, M., Tao, P., Wang, Z., Xie, W., Yu, X., Wang, K., 2018. Assessment of microplastics derived from mariculture in Xiangshan Bay, China. *Environ. Pollut.* 242, 1146–1156. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.133>

Cheung, P.K., Fok, L., 2016. Evidence of microbeads from personal care product contaminating the sea. *Mar. Pollut. Bull.* 109, 582–585. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.046>

Cincinelli, A., Martellini, T., Guerranti, C., Scopetani, C., Chelazzi, D., Giarrizzo, T., 2019. A potpourri of microplastics in the sea surface and water column of the Mediterranean Sea. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 110, 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.026>

Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2013. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 70, 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.009>

Cole, M., 2016. A novel method for preparing microplastic fibers. *Sci. Rep.* 6, 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep34519>

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C., Galloway, T.S., 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Sci. Rep.* 4, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep04528>

Cox, K.D., Covernton, G.A., Davies, H.L., Dower, J.F., Juanes, F., Dudas, S.E., 2019. Human consumption of microplastics. *Environ. Sci. Technol.* 53, 7068–7074. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517>

Cózar, A., Martí, E., Duarte, C.M., García-de-Lomas, J., Van Sebille, E., Ballatore, T.J., Eguíluz, V.M., Ignacio González-Gordillo, J., Pedrotti, M.L., Echevarría, F., Troublè, R., Irigoien, X., 2017. The Arctic Ocean as a dead end for floating plastics in the North Atlantic branch of the Thermohaline Circulation. *Sci. Adv.* 3, 1–9. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600582>

Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J.I., Ubeda, B., Ágálvez, J., Irigoien, X., Duarte, C.M., 2015. Plastic accumulation in the Mediterranean Sea. *PLoS One* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121762>

Crawford, C.B., Quinn, B., 2017. *Microplastic pollutants*, Emily Thom. ed. Elsevier, Amsterdam. 315 pp.

Crichton, E.M., Noël, M., Gies, E.A., Ross, P.S., 2017. A novel, density-independent and FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic sediments. *Anal. Methods* 9, 1419–1428. <https://doi.org/10.1039/c6ay02733d>

Cutroneo, L., Reboa, A., Besio, G., Borgogno, F., Canesi, L., Canuto, S., Dara, M., Enrile, F., Forioso, I., Greco, G., Lenoble, V., Malatesta, A., Mounier, S., Petrillo, M., Rovetta, R., Stocchino, A., Tesan, J., Vagge, G., Capello, M., 2020. Correction to: Microplastics in seawater: sampling strategies, laboratory methodologies, and identification techniques applied to port environment (*Environmental Science and Pollution Research*, (2020), 27, 9, (8938-8952), 10.1007/s11356-020-07783-8). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 20571. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08704-5>

Dawson, A.L., Kawaguchi, S., King, C.K., Townsend, K.A., King, R., Huston, W.M., Bengtson Nash, S.M., 2018. Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. *Nat. Commun.* 9, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03465-9>

De Carvalho, D.G., Baptista Neto, J.A., 2016. Microplastic pollution of the beaches of Guanabara Bay, Southeast Brazil. *Ocean Coast. Manag.* 128, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2016.04.009>

De Falco, F., Gullo, M.P., Gentile, G., Di Pace, E., Cocca, M., Gelabert, L., Brouta-Agnésa, M., Rovira, A., Escudero, R., Villalba, R., Mossotti, R., Montarsolo, A., Gavignano, S., Tonin, C., Avella, M., 2018. Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environ. Pollut.* 236, 916–925. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.057>

De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K., Robbens, J., 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Mar. Pollut. Bull.* 85, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.006>

Desforges, J.P.W., Galbraith, M., Dangerfield, N., Ross, P.S., 2014. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 79, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.12.035>

Di, M., Wang, J., 2018. Microplastics in surface waters and sediments of the Three Gorges Reservoir, China. *Sci. Total Environ.* 616–617, 1620–1627. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.150>

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

Dodson, G.Z., Shotorban, A.K., Hatcher, P.G., Waggoner, D.C., Ghosal, S., Noffke, N., 2020. Microplastic fragment and fiber contamination of beach sediments from selected sites in Virginia and North Carolina, USA. *Mar. Pollut. Bull.* 151, 110869. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110869>

Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., Saad, M., Renault, N., Tassin, B., 2015. Microplastic contamination in an urban area: A case study in Greater Paris. *Environ. Chem.* 12, 592–599. <https://doi.org/10.1071/EN14167>

Dris, R., Gasperi, J., Tassin, B., 2018. Sources and fate of microplastics in urban areas: A focus on Paris megacity, in: Wagner, M., Lambert, S. (Eds.), *Freshwater Microplastics - The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer US, 69–83. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5>

Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ. Sci. Eur.* 28, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

Edo, C., Tamayo-Belda, M., Martínez-Campos, S., Martín-Betancor, K., González-Pleiter, M., Pulido-Reyes, G., García-Ruiz, C., Zapata, F., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., 2019. Occurrence and identification of microplastics along a beach in the Biosphere Reserve of Lanzarote. *Mar. Pollut. Bull.* 143, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.061>

EEA, 2019. Textiles and the environment in a circular economy. Eionet Report - ETC/WMGE 2019/7. 56 pp.

EEA, 2018. Marine Litter Watch: Citizens collect plastic and data to protect Europe's marine environment, Marine Litter Watch Report. 5 pp.

Elert, A.M., Becker, R., Duemichen, E., Eisentraut, P., Falkenhagen, J., Sturm, H., Braun, U., 2017. Comparison of different methods for MP detection: What can we learn from them, and why asking the right question before measurements matters? *Environ. Pollut.* 231, 1256–1264. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.074>

Elkhatib, D., Oyanedel-Craver, V., 2020. A critical review of extraction and identification methods of microplastics in wastewater and drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 54, 7037–7049. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06672>

Ellen MacArthur Foundation, 2017. *The New Plastics Economy: rethinking the future of plastics & catalysing action*, Ellen MacArthur Foundation. 66 pp. <https://doi.org/10.1103/Physrevb.74.035409>

Endo, S., Koelmans, A.A., 2016. Sorption of hydrophobic organic compounds to plastics in the marine environment: Equilibrium., in: Takada, H., Karapanagioti, H. (Eds.), *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. Springer US, 75–100. <https://doi.org/10.1007/698>

Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borrorro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G., Reisser, J., 2014. Plastic pollution in the world's oceans: More than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLoS One* 9, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>

Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., Amato, S., 2013. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>

Eunomia, 2016. Study to support the development of measures to combat a range of marine litter sources. Report for European Commission DG Environment. 411 pp.

Eunomia and ICF, 2018. Investigating options for reducing releases in the aquatic environment of microplastics emitted by (but not intentionally added in) products - Final Report, Report for DG Env EC.

European Commission, 2018. Report on Raw Materials for Battery Applications, Commission Staff Working Document. 47 pp.

Fastelli, P., Blašković, A., Bernardi, G., Romeo, T., Čižmek, H., Andaloro, F., Russo, G.F., Guerranti, C., Renzi, M., 2016. Plastic litter in sediments from a marine area likely to become protected (Aeolian Archipelago's islands, Tyrrhenian sea). *Mar. Pollut. Bull.* 113, 526–529. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.054>

Felsing, S., Kochleus, C., Buchinger, S., Brennholt, N., Stock, F., Reifferscheid, G., 2018. A new approach in separating microplastics from environmental samples based on their electrostatic behavior. *Environ. Pollut.* 234, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.013>

Fernández-Barranco, C., 2015. Caracterización de nanocomposites poliamida 66/sepiolita y su comportamiento tras la degradación. Tesis Doctoral, Universidad de Jaén. 289 pp.

Fischer, E.K., Paglialonga, L., Czech, E., Tamminga, M., 2016. Microplastic pollution in lakes and lake shoreline sediments - A case study on Lake Bolsena and Lake Chiusi (central Italy). *Environ. Pollut.* 213, 648–657. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.012>

Fok, L., Cheung, P.K., 2015. Hong Kong at the Pearl River estuary: A hotspot of microplastic pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 99, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.050>

Fossi, M.C., Panti, C., Guerranti, C., Coppola, D., Giannetti, M., Marsili, L., Minutoli, R., 2012. Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? A case study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Mar. Pollut. Bull.* 64, 2374–2379. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.08.013>

Fred-Ahmadu, O.H., Bhagwat, G., Oluyoye, I., Benson, N.U., Ayejuyo, O.O., Palanisami, T., 2020. Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. *Sci. Total Environ.* 706, 135978. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135978>

Free, C.M., Jensen, O.P., Mason, S.A., Eriksen, M., Williamson, N.J., Boldgiv, B., 2014. High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Mar. Pollut. Bull.* 85, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.001>

Frère, L., Paul-Pont, I., Rinnert, E., Petton, S., Jaffré, J., Bihannic, I., Soudant, P., Lambert, C., Huvet, A., 2017. Influence of environmental and anthropogenic factors on the composition, concentration and spatial distribution of microplastics: A case study of the Bay of Brest (Brittany, France). *Environ. Pollut.* 225, 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.023>

Freundlich, H., 1907. Über die adsorption in lösungen. *Zeitschrift für Phys. Chemie* 385–470.

Frias, J., Pagter, E., Nash, R., O'Connor, I., Carretero, O., Filgueiras, A., Viñas, L., Gago, J., Antunes, J., Bessa, F., Sobral, P., Goruppi, A., Tirelli, V., Pedrotti, M.L., Suaria, G., Aliani, S., Lopes, C., Raimundo, J., Caetano, M., Palazzo, L., de Lucia, Giuseppe Andrea Camedda, A., Muniategui, S., Grueiro, G., Fernandez, V., Andrade, J., Dris, R., Laforsch, C., Scholz-Böttcher, B.M., Gerdtts, G., 2018. Standardised protocol for monitoring microplastics in sediments, JPI-Oceans BASEMAN project. 23 pp.

Frias, J.P.G.L., Gago, J., Otero, V., Sobral, P., 2016. Microplastics in coastal sediments from Southern Portuguese shelf waters. *Mar. Environ. Res.* 114, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.12.006>

Frias, J.P.G.L., Nash, R., 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Mar. Pollut. Bull.* 138, 145–147. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022>

Gajšt, T., Bizjak, T., Palatinus, A., Liubartseva, S., Kržan, A., 2016. Sea surface microplastics in Slovenian part of the Northern Adriatic. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.031>

Galafassi, S., Nizzetto, L., Volta, P., 2019. Plastic sources: A survey across scientific and grey literature for their inventory and relative contribution to microplastics pollution in natural environments, with an emphasis on surface water. *Sci. Total Environ.* 693, 133499. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.305>

GESAMP, 2019. Guidelines for the monitoring and assessment of plastic litter in the ocean (Kershaw P.J., Turra A. and Galgani F. editors), (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP/ISA Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection, Rep. Stud. GESAMP.

GESAMP, 2015. Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment, IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3803.7925>

Gewert, B., Ogonowski, M., Barth, A., MacLeod, M., 2017. Abundance and composition of near surface microplastics and plastic debris in the Stockholm Archipelago, Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 120, 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.062>

Gigault, J., Halle, A. ter, Baudrimont, M., Pascal, P.Y., Gauffre, F., Phi, T.L., El Hadri, H., Grassl, B., Reynaud, S., 2018. Current opinion: What is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* 235, 1030–1034. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024>

Gil, M., Soto, A., Usma, J., Gutiérrez, O., 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción+Limpia* 7, 52–73.

Gimiliani, G.T., Fornari, M., Redígolo, M.M., Willian Vega Bustillos, J.O., Moledo de Souza Abessa, D., Faustino Pires, M.A., 2020. Simple and cost-effective method for microplastic quantification in estuarine sediment: A case study of the Santos and São Vicente Estuarine System. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 2, 100020. <https://doi.org/10.1016/j.csee.2020.100020>

Gomiero, A., Strafella, P., Fabi, G., 2018. From macroplastic to microplastic Litter: Occurrence, composition, source identification and interaction with aquatic organisms. Experiences from the Adriatic Sea, in: *Plastics in the Environment*. 20 pp. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81534>

González-Pleiter, M., Edo, C., Velázquez, D., Casero-Chamorro, M.C., Leganés, F., Quesada, A., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., 2020. First detection of microplastics in the

freshwater of an Antarctic Specially Protected Area. *Mar. Pollut. Bull.* 161, 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111811>

González, E., Gómez-Caravaca, A.M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Martínez-Férez, A., Segura-Carretero, A., Robert, P., 2019. Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 279, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.127>

Gouin, T., Avalos, J., Brunning, I., Brzuska, K., Graaf, J. De, Kaumanns, J., Koning, T., Meyberg, M., Rettinger, K., Schlatter, H., Thomas, J., Welie, R. Van, Wolf, T., 2015. Use of micro-plastic beads in cosmetic products in Europe and their estimated emissions to the North Sea environment. *SOFW J.* 141, 40–46.

Gray, A.D., Weinstein, J.E., 2017. Size- and shape-dependent effects of microplastic particles on adult daggerblade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 3074–3080. <https://doi.org/10.1002/etc.3881>

Gray, A.D., Wertz, H., Leads, R.R., Weinstein, J.E., 2018. Microplastic in two South Carolina Estuaries: Occurrence, distribution, and composition. *Mar. Pollut. Bull.* 128, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.030>

Green, D.S., 2016. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environ. Pollut.* 216, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.043>

Green, D.S., Kregting, L., Boots, B., Blockley, D.J., Brickle, P., da Costa, M., Crowley, Q., 2018. A comparison of sampling methods for seawater microplastics and a first report of the microplastic litter in coastal waters of Ascension and Falkland Islands. *Mar. Pollut. Bull.* 137, 695–701. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.004>

Guo, X., Pang, J., Chen, S., Jia, H., 2018. Sorption properties of tylosin on four different microplastics. *Chemosphere* 209, 240–245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.100>

Guo, X., Wang, J., 2019. The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 142, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019>

Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., Faggio, C., 2018. Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 64, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.10.009>

Hamid, F., Bhatti, M.S., Anuar, Norkhairiyah, Anuar, Norkhairah, Mohan, P., Periathamby, A., 2018. Worldwide distribution and abundance of microplastic: How dire is the situation? *Waste Manag. Res.* 36, 873–897. <https://doi.org/10.1177/0734242X18785730>

Han, R., Zou, W., Zhang, Z., Shi, J., Yang, J., 2006. Removal of copper (II) and lead (II) from aqueous solutions by manganese oxide coated sand: I. Characterization and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 137(1), 384–395.

Hanvey, J.S., Lewis, P.J., Lavers, J.L., Crosbie, N.D., Pozo, K., Clarke, B.O., 2017. A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Anal. Methods* 9, 1369–1383. <https://doi.org/10.1039/c6ay02707e>

Hartline, N.L., Bruce, N.J., Karba, S.N., Ruff, E.O., Sonar, S.U., Holden, P.A., 2016. Microfiber masses recovered from conventional machine washing of new or aged garments. *Environ. Sci. Technol.* 50, 11532–11538. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03045>

Hartmann, N.B., Rist, S., Bodin, J., Jensen, H.S., Schmidt, S.N., Mayer, P., Meibom, A., Baun, A., 2017. Microplastics as vectors for environmental contaminants: Exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 488–493. <https://doi.org/10.1002/ieam.1904>

He, S., Peng, Y., Jin, Y., Wan, B., Liu, G., 2020. Review and analysis of key techniques in marine sediment sampling. *Chinese J. Mech. Eng.* 33:66. <https://doi.org/10.1186/s10033-020-00480-0>

Hengstmann, E., Tammenga, M., vom Bruch, C., Fischer, E.K., 2018. Microplastic in beach sediments of the Isle of Rügen (Baltic Sea) - Implementing a novel glass elutriation column. *Mar. Pollut. Bull.* 126, 263–274. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.010>

Heo, N.W., Hong, S.H., Han, G.M., Hong, S., Lee, J., Song, Y.K., Jang, M., Shim, W.J., 2013. Distribution of small plastic debris in cross-section and high strandline on Heungnam beach, South Korea. *Ocean Sci. J.* 48, 225–233. <https://doi.org/10.1007/s12601-013-0019-9>

Herrera, A., Asensio, M., Martínez, I., Santana, A., Packard, T., Gómez, M., 2018. Microplastic and tar pollution on three Canary Islands beaches: An annual study. *Mar. Pollut. Bull.* 129, 494–502. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.020>

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012a. Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>

Hidalgo-Ruz, V., Macaya, V., Eastman, L., Thiel, M., 2012b. Muestreo nacional de microplásticos en las playas de Chile. Coquimbo. Proyecto EXPLORA-CONICYT 15/020. 21 pp.

Hidalgo-Ruz, V., Thiel, M., 2013. Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): A study supported by a citizen science project. *Mar. Environ. Res.* 87–88, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.02.015>

Ho, Y.S., McKay, G., 2000. The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat. *Water Res.* 34(3), 735–742.

Holmes, L., 2013. Interactions of trace metals with plastic production pellets in the marine environment. Doctor of Philosophy, University of Plymouth. 199 pp. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.014>

Holmes, L.A., Turner, A., Thompson, R.C., 2014. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. *Mar. Chem.* 167, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.06.001>

Horton, A.A., Svendsen, C., Williams, R.J., Spurgeon, D.J., Lahive, E., 2017. Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK – Abundance, sources and methods for effective quantification. *Mar. Pollut. Bull.* 114, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.004>

Hüffer, T., Hofmann, T., 2016. Sorption of non-polar organic compounds by micro-sized plastic particles in aqueous solution. *Environ. Pollut.* 214, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.018>

Hurley, R.R., Lusher, A.L., Olsen, M., Nizzetto, L., 2018. Validation of a method for extracting microplastics from complex, organic-rich, environmental matrices. *Environ. Sci. Technol.* 52, 7409–7417. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01517>

Imhof, H.K., Ivleva, N.P., Schmid, J., Niessner, R., Laforsch, C., 2013. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Curr. Biol.* 23, R867–R868. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.001>

Imhof, H.K., Sigl, R., Brauer, E., Feyl, S., Giesemann, P., Klink, S., Leupolz, K., Löder, M.G.J., Löschel, L.A., Missun, J., Muszynski, S., Ramsperger, A.F.R.M., Schrank, I., Speck, S., Steibl, S., Trotter, B., Winter, I., Laforsch, C., 2017. Spatial and temporal variation of macro-, meso- and microplastic abundance on a remote coral island of the Maldives, Indian Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.010>

Isobe, A., Uchida, K., Tokai, T., Iwasaki, S., 2015. East Asian seas: A hot spot of pelagic microplastics. *Mar. Pollut. Bull.* 101, 618–623. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.042>

Jambeck, J., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T., Perryman, M., Andrady, A.L., Narayan, R., Law, K., 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 1655–1734.

Jiang, C., Yin, L., Li, Z., Wen, X., Luo, X., Hu, S., Yang, H., Long, Y., Deng, B., Huang, L., Liu, Y., 2019. Microplastic pollution in the rivers of the Tibet Plateau. *Environ. Pollut.* 249, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.022>

Jiao, Y., Han, D., Lu, Y., Rong, Y., Fang, L., Liu, Y., Han, R., 2017. Characterization of pine-sawdust pyrolytic char activated by phosphoric acid through microwave irradiation

and adsorption property toward CDNB in batch mode. *Desalin. Water Treat.* 77, 247–255. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.20780>

JRC, 2017. Textiles and clothing manufacturing: Vision for 2025 and actions needed, EUR 28634 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg. 38 pp. <https://doi.org/10.2760/279200>

Kaiser, D., Kowalski, N., Waniek, J.J., 2017. Effects of biofouling on the sinking behavior of microplastics. *Environ. Res. Lett.* 12, 124003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa8e8b>

Kane, I.A., Clare, M.A., 2019. Dispersion, accumulation, and the ultimate fate of microplastics in deep-marine environments: A review and future directions. *Front. Earth Sci.* 7:80. <https://doi.org/10.3389/feart.2019.00080>

Kanhai, L.D.K., Gårdfeldt, K., Lyashevskaya, O., Hassellöv, M., Thompson, R.C., O'Connor, I., 2018. Microplastics in sub-surface waters of the Arctic Central Basin. *Mar. Pollut. Bull.* 130, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.011>

Käppler, A., Windrich, F., Löder, M.G.J., Malanin, M., Fischer, D., Labrenz, M., Eichhorn, K.J., Voit, B., 2015. Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy: a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm^{-1} for FTIR transmission measurements. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 6791–6801. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8850-8>

Karami, A., Golieskardi, A., Keong Choo, C., Larat, V., Galloway, T.S., Salamatinia, B., 2017. The presence of microplastics in commercial salts from different countries. *Sci. Rep.* 7, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep46173>

Karlsson, T.M., Arneborg, L., Broström, G., Almroth, B.C., Gipperth, L., Hassellöv, M., 2018. The unaccountability case of plastic pellet pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 129, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.041>

Kedzierski, M., Le Tilly, V., César, G., Sire, O., Bruzard, S., 2017. Efficient microplastics extraction from sand. A cost effective methodology based on sodium iodide recycling. *Mar. Pollut. Bull.* 115, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.002>

Kilponen, J., 2016. Microplastics and harmful substances in urban runoffs and landfill leachates: Possible emission sources to marine environment. Thesis in Environmental Engineering, Lahti University of Applied Sciences. 77 pp.

Koelmans, A.A., Besseling, E., Shim, W.J., 2015. Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review, in: Bergmann, M. (Ed.), *Marine Anthropogenic Litter*. Elsevier, pp. 325–340. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3>

Kögel, T., Bjorøy, Ø., Toto, B., Bienfait, A.M., Sanden, M., 2020. Micro- and nanoplastic toxicity on aquatic life: Determining factors. *Sci. Total Environ.* 709, 136050. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136050>

Kooi, M., Koelmans, A.A., 2019. Simplifying microplastic via continuous probability distributions for size, shape, and density. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 6, 551-557. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00379>

Kreider, M.L., Panko, J.M., McAtee, B.L., Sweet, L.I., Finley, B.L., 2010. Physical and chemical characterization of tire-related particles: Comparison of particles generated using different methodologies. *Sci. Total Environ.* 408, 652-659. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.016>

Labbe, A.B., Bagshaw, C.R., Uttal, L., 2020. Inexpensive adaptations of basic microscopes for the identification of microplastic contamination using polarization and Nile Red fluorescence detection. *J. Chem. Educ.* 97, 4026-4032. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00518>

Lagergren, S., 1898. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Sven. Ak. Handl.* 24, 1-39.

Langmuir, I., 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361-1403.

Lassen, C., Hansen, S.F., Magnusson, K., Hartmann, N.B., Rehne Jensen, P., Nielsen, T.G., Brinch, A., 2015. Microplastics. Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark, Danish Environmental Protection Agency. Environmental project No. 1793. 208 pp.

Lechner, A., Keckeis, H., Lumesberger-Loisl, F., Zens, B., Krusch, R., Tritthart, M., Glas, M., Schludermann, E., 2014. The Danube so colourful: A potpourri of plastic litter outnumbers fish larvae in Europe's second largest river. *Environ. Pollut.* 188, 177-181. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.02.006>

Lee, J., Hong, S., Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, Y.C., Jang, M., Heo, N.W., Han, G.M., Lee, M.J., Kang, D., Shim, W.J., 2013. Relationships among the abundances of plastic debris in different size classes on beaches in South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 349-354. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.013>

Lei, K., Qiao, F., Liu, Q., Wei, Z., Qi, H., Cui, S., Yue, X., Deng, Y., An, L., 2017. Microplastics releasing from personal care and cosmetic products in China. *Mar. Pollut. Bull.* 123, 122-126. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.016>

Lenz, R., Labrenz, M., 2018. Small microplastic sampling in water: Development of an encapsulated filtration device. *Water* 10, 1055. <https://doi.org/10.3390/w10081055>

Leslie, H.A., 2014. Review of microplastics in cosmetics, IVM Institute for Environmental Studies. Report R14/29. 33 pp.

Leslie, H.A., Brandsma, S.H., van Velzen, M.J.M., Vethaak, A.D., 2017. Microplastics en route: Field measurements in the Dutch river delta and Amsterdam canals, wastewater treatment plants, North Sea sediments and biota. *Environ. Int.* 101, 133–142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.01.018>

Li, J., Zhang, K., Zhang, H., 2018. Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ. Pollut.* 237, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.050>

Liao, Y., Yang, J., 2020. Microplastic serves as a potential vector for Cr in an in-vitro human digestive model. *Sci. Total Environ.* 703, 134805. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134805>

Lin, L., Zuo, L.Z., Peng, J.P., Cai, L.Q., Fok, L., Yan, Y., Li, H.X., Xu, X.R., 2018. Occurrence and distribution of microplastics in an urban river: A case study in the Pearl River along Guangzhou City, China. *Sci. Total Environ.* 644, 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.327>

Liu, G., Zhu, Z., Yang, Y., Sun, Y., Yu, F., Ma, J., 2019. Sorption behavior and mechanism of hydrophilic organic chemicals to virgin and aged microplastics in freshwater and seawater. *Environ. Pollut.* 246, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.100>

Liu, P., Zhan, X., Wu, X., Li, J., Wang, H., Gao, S., 2020. Effect of weathering on environmental behavior of microplastics: Properties, sorption and potential risks. *Chemosphere* 242, 125193. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125193>

Llorca, M., Schirinzi, G., Martínez, M., Barceló, D., Farré, M., 2018. Adsorption of perfluoroalkyl substances on microplastics under environmental conditions. *Environ. Pollut.* 235, 680–691. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.075>

Lo, H.S., Xu, X., Wong, C.Y., Cheung, S.G., 2018. Comparisons of microplastic pollution between mudflats and sandy beaches in Hong Kong. *Environ. Pollut.* 236, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.031>

Lots, F.A.E., Behrens, P., Vijver, M.G., Horton, A.A., Bosker, T., 2017. A large-scale investigation of microplastic contamination: Abundance and characteristics of microplastics in European beach sediment. *Mar. Pollut. Bull.* 123, 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.057>

Lusher, A., Hollman, P., Mandoza-Hill, J., 2017. Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. 126 pp. <https://doi.org/dmd.105.006999> [pii]\r10.1124/dmd.105.006999

Maes, T., Van der Meulen, M.D., Devriese, L.I., Leslie, H.A., Huvet, A., Frère, L., Robbens, J., Vethaak, A.D., 2017a. Microplastics baseline surveys at the water surface and in sediments of the North-East Atlantic. *Front. Mar. Sci.* 4, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00135>

Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A.G., 2017b. A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci. Rep.* 7, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep44501>

Magnusson, K., Eliasson, K., Fråne, A., Haikonen, K., Hulten, J., Olshammar, M., Stadmark, J., Voisin, A., 2016. Swedish source and pathways for microplastics to the marine environment - A review of existing data, IVL Swedish Environmental Research Institute. Report Number C 183. 86 pp.

Mansui, J., Molcard, A., Ourmières, Y., 2015. Modelling the transport and accumulation of floating marine debris in the Mediterranean basin. *Mar. Pollut. Bull.* 91, 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.037>

Martín-Lara, M.A., Godoy, V., Moreno, J.A., Calero, M., Soto, J.M., 2018. Characterization and analysis of commercial polyethylene bags as a prior step to their mechanical recycling: A case study in Granada, Spain. *Adv. Environ. Waste Manag. Recycl.* 1(1). <https://doi.org/10.33140/aewmr.01.01.06>

Martins, J., Sobral, P., 2011. Plastic marine debris on the Portuguese coastline: A matter of size? *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2649–2653. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.028>

Masura, J., Baker, J., Foster, G., Arthur, C., 2015. Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment: Recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments, NOAA Marine Debris Program National, Technical Memorandum NOS-OR&R-48. 31 pp.

Mateo-Sagasta, J., Zadeh, S.M., Turrall, H., 2017. Water pollution from agriculture: A global review, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. 29 pp.

Mathalon, A., Hill, P., 2014. Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Mar. Pollut. Bull.* 81, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.02.018>

McCormick, A., Hoellein, T.J., Mason, S.A., Schlupe, J., Kelly, J.J., 2014. Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environ. Sci. Technol.* 48, 11863–11871. <https://doi.org/10.1021/es503610r>

Mehdinia, A., Dehbandi, R., Hamzehpour, A., Rahnama, R., 2020. Identification of microplastics in the sediments of southern coasts of the Caspian Sea, north of Iran. *Environ. Pollut.* 258, 113738. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113738>

Mei, W., Chen, G., Bao, J., Song, M., Li, Y., Luo, C., 2020. Interactions between microplastics and organic compounds in aquatic environments: A mini review. *Sci. Total Environ.* 736, 139472. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139472>

Moore, C.J., Lattin, G.L., Zellers, A.F., 2011. Quantity and type of plastic debris flowing from two urban rivers to coastal waters and beaches of Southern California. *Rev. Gestão Costeira Integr.* 11, 65–73. <https://doi.org/10.5894/rgci194>

Morris, R.J., 1980. Floating plastic debris in the Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 11, 125. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(80\)90073-9](https://doi.org/10.1016/0025-326X(80)90073-9)

MSFD, 2013. MSDF Guidance on monitoring of marine litter in European seas, Joint Research Centre of the European Commission, Report EU 26113 EN. 124 pp. <https://doi.org/10.2788/99475>

Naidoo, T., Goordiyal, K., Glassom, D., 2017. Are Nitric Acid (HNO₃) Digestions efficient in isolating microplastics from juvenile fish? *Water. Air. Soil Pollut.* 228:470. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3654-4>

Naji, A., Esmaili, Z., Khan, F.R., 2017. Plastic debris and microplastics along the beaches of the Strait of Hormuz, Persian Gulf. *Mar. Pollut. Bull.* 114, 1057–1062. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.032>

Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Pollut. Bull.* 99, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>

Nuelle, M.T., Dekiff, J.H., Remy, D., Fries, E., 2014. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environ. Pollut.* 184, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.027>

Okasha, A.Y., Ibrahim, H.G., 2010. Phenol removal from aqueous systems by sorption of using some local waste materials. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* 9, 796–807.

Oliveira, M., Ribeiro, A., Hylland, K., Guilhermino, L., 2013. Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecol. Indic.* 34, 641–647. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.06.019>

OSPAR Commission, 2018. OSPAR Background document on pre-production plastic pellets. Report Number 710/2018. 33 pp. <https://doi.org/978-1-911458-50-0>

Özer, A., 2007. Removal of Pb(II) ions from aqueous solutions by sulphuric acid-treated wheat bran. *J. Hazard. Mater.* 141, 753–761.

Paget, V., Dekali, S., Kortulewski, T., Grall, R., Gamez, C., Blazy, K., Aguerre-Chariol, O., Chevillard, S., Braun, A., Rat, P., Lacroix, G., 2015. Specific uptake and genotoxicity induced by polystyrene nanobeads with distinct surface chemistry on human lung epithelial cells and macrophages. *PLoS One* 10, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123297>

Pakula, C., Stamminger, R., 2010. Electricity and water consumption for laundry washing by washing machine worldwide. *Energy Effic.* 3, 365–382. <https://doi.org/10.1007/s12053-009-9072-8>

Pan, Z., Guo, H., Chen, H., Wang, S., Sun, X., Zou, Q., Zhang, Y., Lin, H., Cai, S., Huang, J., 2019. Microplastics in the Northwestern Pacific: Abundance, distribution, and characteristics. *Sci. Total Environ.* 650, 1913–1922. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.244>

Peinado, F.M., Iribarne-Durán, L.M., Ocón-Hernández, O., Olea, N., Artacho-Cordón, F., 2020. Endocrine disrupting chemicals in cosmetics and personal care products and risk of endometriosis. 21 pp. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93091>

Peng, G., Xu, P., Zhu, B., Bai, M., Li, D., 2018. Microplastics in freshwater river sediments in Shanghai, China: A case study of risk assessment in mega-cities. *Environ. Pollut.* 234, 448–456. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.034>

Piperagkas, O., Papageorgiou, N., Karakassis, I., 2019. Qualitative and quantitative assessment of microplastics in three sandy Mediterranean beaches, including different methodological approaches. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 219, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.016>

PlasticsEurope, 2019. *Plastics - the Facts 2019*. https://www.plasticseurope.org/application/files/9715/7129/9584/FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.pdf

Prata, J.C., Castro, J.L., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Cerqueira, M., Rocha-Santos, T., 2020. An easy method for processing and identification of natural and synthetic microfibers and microplastics in indoor and outdoor air. *MethodsX* 7, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.11.032>

Prata, J.C., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019a. Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: A critical review. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 110, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029>

Prata, J.C., da Costa, J.P., Girão, A. V., Lopes, I., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019b. Identifying a quick and efficient method of removing organic matter without damaging microplastic samples. *Sci. Total Environ.* 686, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.456>

Prata, J.C., Reis, V., Matos, J.T.V., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019c. A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT). *Sci. Total Environ.* 690, 1277–1283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.060>

Praveena, S.M., Shaifuddin, S.N.M., Akizuki, S., 2018. Exploration of microplastics from personal care and cosmetic products and its estimated emissions to marine environment: An evidence from Malaysia. *Mar. Pollut. Bull.* 136, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.012>

Primpke, S., Fischer, M., Lorenz, C., Gerdts, G., Scholz-Böttcher, B.M., 2020. Comparison of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry and hyperspectral FTIR imaging spectroscopy for the analysis of microplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* 412, 8283–8298. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02979-w>

Project Oceanography, 2002. Unit IV Deep-Sea sediment coring, Spring, 99-108. <https://www.marine.usf.edu/pjocean/packets/sp02/sp02u4p2.pdf>

Quinn, B., Murphy, F., Ewins, C., 2017. Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment. *Anal. Methods* 9, 1491–1498. <https://doi.org/10.1039/c6ay02542k>

Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., Papa, F., Rongioletti, M.C.A., Baiocco, F., Draghi, S., D'Amore, E., Rinaldo, D., Matta, M., Giorgini, E., 2021. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environ. Int.* 146, 106274. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106274>

Retama, I., Jonathan, M.P., Shruti, V.C., Velumani, S., Sarkar, S.K., Roy, P.D., Rodríguez-Espinosa, P.F., 2016. Microplastics in tourist beaches of Huatulco Bay, Pacific coast of southern Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.053>

Rist, S., Vianello, A., Winding, M.H.S., Nielsen, T.G., Almeda, R., Torres, R.R., Vollertsen, J., 2020. Quantification of plankton-sized microplastics in a productive coastal Arctic marine ecosystem. *Environ. Pollut.* 266, 115248. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115248>

Rocha-Santos, T., Duarte, A.C., 2015. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 65, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>

Rochman, C.M., Hentschel, B.T., The, S.J., 2014. Long-term sorption of metals is similar among plastic types: Implications for plastic debris in aquatic environments. *PLoS One* 9(1), e85433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085433>

Rodrigues, M. O., Abrantes, N., Gonçalves, F.J.M., Nogueira, H., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M., 2018. Spatial and temporal distribution of microplastics in water and

sediments of a freshwater system (Antuã River, Portugal). *Sci. Total Environ.* 633, 1549–1559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.233>

Ryan, P.G., 2015. A brief history of marine litter research, in: Bergmann, M., Gutow, L., Klage, M. (Eds.), *Marine Anthropogenic Litter*. Elsevier, 1–25. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01360>

Sazakli, E., Leotsinidis, M., 2019. Possible effects of microplastics on human health, in: Karapanagioti, H.K., Kalavrouziotis, I.K. (Eds.), *Microplastics in Water and Wastewater*. IWA Publishing, London, pp. 177–191.

Scheurer, M., Bigalke, M., 2018. Microplastics in Swiss floodplain soils. *Environ. Sci. Technol.* 52, 3591–3598. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06003>

Schirinzi, G.F., Pérez-Pomeda, I., Sanchís, J., Rossini, C., Farré, M., Barceló, D., 2017. Cytotoxic effects of commonly used nanomaterials and microplastics on cerebral and epithelial human cells. *Environ. Res.* 159, 579–587. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.043>

Schmidt, N., Thibault, D., Galgani, F., Paluselli, A., Sempéré, R., 2018. Occurrence of microplastics in surface waters of the Gulf of Lion (NW Mediterranean Sea). *Prog. Oceanogr.* 163, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.11.010>

Shimizu, K., Sokolov, S. V., Kätelhön, E., Holter, J., Young, N.P., Compton, R.G., 2017. In situ detection of microplastics: Single microparticle-electrode impacts. *Electroanalysis* 29, 2200–2207. <https://doi.org/10.1002/elan.201700213>

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

Sommer, F., Dietze, V., Baum, A., Sauer, J., Gilge, S., Maschowski, C., Gieré, R., 2018. Tire abrasion as a major source of microplastics in the environment. *Aerosol Air Qual. Res.* 18, 2014–2028. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2018.03.0099>

Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., Han, G.M., Jung, S.W., Shim, W.J., 2017. Combined effects of UV exposure duration and mechanical abrasion on microplastic fragmentation by polymer type. *Environ. Sci. Technol.* 51, 4368–4376. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06155>

Sruthy, S., Ramasamy, E. V., 2017. Microplastic pollution in Vembanad Lake, Kerala, India: The first report of microplastics in lake and estuarine sediments in India. *Environ. Pollut.* 222, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.038>

Stock, F., Kochleus, C., Bänsch-Baltruschat, B., Brennholt, N., Reifferscheid, G., 2019. Sampling techniques and preparation methods for microplastic analyses in the aquatic

environment – A review. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 113, 84–92.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.014>

Stolte, A., Forster, S., Gerdt, G., Schubert, H., 2015. Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. *Mar. Pollut. Bull.* 99, 216–229.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.022>

Strand, J., Lundsteen, S., Murphy, F., 2019. Microplastic-like particles in seabed sediments from inner Danish waters 2015. Aarhus University, DCE - Danish Centre for Environment and Energy, Scientific Report No. 320. 22 pp.
<http://dce2.au.dk/pub/SR320.pdf>

Su, L., Xue, Y., Li, L., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D., Shi, H., 2016. Microplastics in Taihu Lake, China. *Environ. Pollut.* 216, 711–719.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.036>

Suaria, G., Aliani, S., 2014. Floating debris in the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 86, 494–504. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.025>

Sundt, P., Schulze, P.-E., Syversen, F., 2014. Sources of microplastic- pollution to the marine environment. Report no. M-321/2015. 86 pp. <https://doi.org/M-321|2015>

Tang, C., Li, Y., Jiang, P., Yu, Z., Acharya, K., 2015. A coupled modeling approach to predict water quality in Lake Taihu, China: Linkage to climate change projections. *J. Freshw. Ecol.* 30, 59–73. <https://doi.org/10.1080/02705060.2014.999360>

ThermoFisher Scientific, 2018. Microplastics in the environment. Application note No. 52921. 4 pp. <https://nicoletcz.cz/app/uploads/2019/03/Microplastics-in-the-Environment-LowRes.pdf>

Thompson, R.C., 2015. Microplastics in the marine environment: sources, consequences and solutions, in: Bergmann, M., Gutow, L., Kluge, M. (Eds.), *Marine Anthropogenic Litter*. Elsevier, 185-200. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_7

Thompson, R.C., Olson, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004. Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304, 838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>

Tourinho, P.S., Kočí, V., Loureiro, S., van Gestel, C.A.M., 2019. Partitioning of chemical contaminants to microplastics: Sorption mechanisms, environmental distribution and effects on toxicity and bioaccumulation. *Environ. Pollut.* 252, 1246–1256.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.030>

Tunçer, S., Artüz, O.B., Demirkol, M., Artüz, M.L., 2018. First report of occurrence, distribution, and composition of microplastics in surface waters of the Sea of Marmara, Turkey. *Mar. Pollut. Bull.* 135, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.054>

Turner, A., Holmes, L., 2011. Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta (central Mediterranean). *Mar. Pollut. Bull.* 62, 377–381. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.09.027>

UNEP, 2016. Marine plastic debris & microplastics. Global lessons and research to inspire action and guide policy change. IVM Institute for Environmental Studies. Report no. DEP/2010/NA. 252 pp.

UNEP, 2015. Plastic in cosmetics. Are we polluting the environment through our personal care? IVM Institute for Environmental Studies. Report no. DEP/1918/NA. 33 pp.

USEPA, 1993. Method 410.4, Revision 2.0: The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry. United States Environ. Prot. Agency 1–12.

Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbens, J., Janssen, C.R., 2015a. Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Mar. Environ. Res.* 111, 5–17. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>

Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2015b. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environ. Pollut.* 199, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>

Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environ. Pollut.* 193, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>

Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., Janssen, C.R., 2013. Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environ. Pollut.* 182, 495–499. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.013>

Van den Berg, P., Huerta-Lwanga, E., Corradini, F., Geissen, V., 2020. Sewage sludge application as a vehicle for microplastics in eastern Spanish agricultural soils. *Environ. Pollut.* 261, 114198. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114198>

Van der Hal, N., Ariel, A., Angel, D.L., 2017. Exceptionally high abundances of microplastics in the oligotrophic Israeli Mediterranean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 151–155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.052>

Vaughan, R., Turner, S.D., Rose, N.L., 2017. Microplastics in the sediments of a UK urban lake. *Environ. Pollut.* 229, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.057>

Velandia-Cabra, J.R., 2017. Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja. *Rev. Ontare* 5, 115–140. <https://doi.org/https://doi.org/10.21158/23823399.v5.n0.2017.2005> Cómo

Velzeboer, I., Kwadijk, C.J.A.F., Koelmans, A.A., 2014. Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes. *Environ. Sci. Technol.* 48, 4869–4876. <https://doi.org/10.1021/es405721v>

Vermaire, J.C., Pomeroy, C., Herczegh, S.M., Haggart, O., Murphy, M., 2017. Microplastic abundance and distribution in the open water and sediment of the Ottawa River, Canada, and its tributaries. *Facets* 2, 301–314. <https://doi.org/10.1139/facets-2016-0070>

Verschoor, A., de Poorter, L., Dröge, R., Kuenen, J., de Valk, E., 2016. Emission of microplastics and potential mitigation measures. Abrasive cleaning agents, paints and tyre wear. RIVM Report 2016-0026. 73 pp.

Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A., Da Ros, L., 2013. Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 130, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.03.022>

Villaverde, J., Rubio-Bellido, M., Lara-Moreno, A., Merchan, F., Morillo, E., 2018. Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. *Chemosphere* 193, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.172>

Von Friesen, L.W., Granberg, M.E., Hassellöv, M., Gabrielsen, G.W., Magnusson, K., 2019. An efficient and gentle enzymatic digestion protocol for the extraction of microplastics from bivalve tissue. *Mar. Pollut. Bull.* 142, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.016>

Vox, G., Loisi, R.V., Blanco, I., Mugnozza, G.S., Schettini, E., 2016. Mapping of agriculture plastic waste. *Agric. Agric. Sci. Procedia* 8, 583–591. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.080>

Wang, F., Shih, K.M., Li, X.Y., 2015. The partition behavior of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanesulfonamide (FOSA) on microplastics. *Chemosphere* 119, 841–847. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.047>

Wang, F., Zhang, M., Sha, W., Wang, Y., Hao, H., Dou, Y., Li, Y., 2020. Sorption behavior and mechanisms of organic contaminants to nano and microplastics. *Molecules* 25, 272–280. <https://doi.org/10.3390/molecules25081827>

Wang, J., Peng, J., Tan, Z., Gao, Y., Zhan, Z., Chen, Q., Cai, L., 2017a. Microplastics in the surface sediments from the Beijiing River littoral zone: composition, abundance, surface textures and interaction with heavy metals. *Chemosphere* 171, 248–258. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.074>

Wang, W., Ndungu, A.W., Li, Z., Wang, J., 2017b. Microplastics pollution in inland freshwaters of China: A case study in urban surface waters of Wuhan, China. *Sci. Total Environ.* 575, 1369–1374. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.213>

Wang, W., Wang, J., 2018. Comparative evaluation of sorption kinetics and isotherms of pyrene onto microplastics. *Chemosphere* 193, 567–573. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.078>

Wang, W., Yuan, W., Chen, Y., Wang, J., 2018. Microplastics in surface waters of Dongting Lake and Hong Lake, China. *Sci. Total Environ.* 633, 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.211>

Webb, H.K., Arnott, J., Crawford, R.J., Ivanova, E.P., 2013. Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly(ethylene terephthalate). *Polymers (Basel)*. 5, 1–18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>

Weinstein, J.E., Crocker, B.K., Gray, A.D., 2016. From macroplastic to microplastic: Degradation of high-density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 1632–1640. <https://doi.org/10.1002/etc.3432>

Welden, N.A.C., Cowie, P.R., 2016. Long-term microplastic retention causes reduced body condition in the langoustine, *Nephrops norvegicus*. *Environ. Pollut.* 218, 895–900. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.020>

Welden, N.A.C., Lusher, A.L., 2017. Impacts of changing ocean circulation on the distribution of marine microplastic litter. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 483–487. <https://doi.org/10.1002/ieam.1911>

Wesch, C., Elert, A.M., Wörner, M., Braun, U., Klein, R., Paulus, M., 2017. Assuring quality in microplastic monitoring: About the value of clean-air devices as essentials for verified data. *Sci. Rep.* 7, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05838-4>

WHO, 2019. Microplastics in drinking-water. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 101 pp.

Wirnkor, V.A., Ebere, E.C., Ngozi, V.E., Oharley, N.K., 2019. Microplastic-Toxic Chemical Interaction : a Review Study on Quantified Levels , Mechanism and Implication. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1352-0>

Wöhler, L., Hoekstra, A.Y., Hogeboom, R.J., Brugnach, M., Krol, M.S., 2020. Alternative societal solutions to pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Clean. Prod.* 277, 124350. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124350>

WRAP, 2017. Mapping clothing impacts in Europe: the environmental cost, prepared by Sarah Gray from European Clothing Action Plan (ECAP). 40 pp.

Wright, S.L., Kelly, F.J., 2017. Plastic and human health: a micro issue? *Environ. Sci. Technol.* 51, 6634–6647. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00423>

Wright, S.L., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environ. Pollut.* 178, 483–492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>

Xiong, X., Wu, C., Elser, J.J., Mei, Z., Hao, Y., 2019. Occurrence and fate of microplastic debris in middle and lower reaches of the Yangtze River – From inland to the sea. *Sci. Total Environ.* 659, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.313>

Yang, L., Zhang, Y., Kang, S., Wang, Z., Wu, C., 2021. Microplastics in freshwater sediment: a review on methods, occurrence, and sources. *Sci. Total Environ.* 754, 141948. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141948>

Yona, D., Sari, S.H.J., Iranawati, F., Bachri, S., Ayuningtyas, W.C., 2019. Microplastics in the surface sediments from the eastern waters of Java Sea, Indonesia. *F1000Research* 8, 1–14. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17103.1>

Yu, F., Yang, C., Huang, G., Zhou, T., Zhao, Y., Ma, J., 2020. Interfacial interaction between diverse microplastics and tetracycline by adsorption in an aqueous solution. *Sci. Total Environ.* 721, 137729. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137729>

Yu, X., Ladewig, S., Bao, S., Toline, C.A., Whitmire, S., Chow, A.T., 2018. Occurrence and distribution of microplastics at selected coastal sites along the southeastern United States. *Sci. Total Environ.* 613–614, 298–305. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.100>

Zbyszewski, M., Corcoran, P.L., 2011. Distribution and degradation of fresh water plastic particles along the beaches of Lake Huron, Canada. *Water. Air. Soil Pollut.* 220, 365–372. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0760-6>

Zhang, K., Su, J., Xiong, X., Wu, X., Wu, C., Liu, J., 2016. Microplastic pollution of lakeshore sediments from remote lakes in Tibet plateau, China. *Environ. Pollut.* 219, 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.048>

Zhang, S., Yang, X., Gertsen, H., Peters, P., Salánki, T., Geissen, V., 2018. A simple method for the extraction and identification of light density microplastics from soil. *Sci. Total Environ.* 616–617, 1056–1065. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.213>

Zhang, W., Zhang, L., Hua, T., Li, Y., Zhou, X., 2020. The mechanism for adsorption of Cr (VI) ions by PE microplastics in ternary system of natural water environment. *Environ. Pollut.* 257, 113440. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113440>

Zhao, S., Zhu, L., Wang, T., Li, D., 2014. Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: first observations on occurrence, distribution. *Mar. Pollut. Bull.* 86, 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.032>

Zhu, L., Bai, H., Chen, B., Sun, X., Qu, K., Xia, B., 2018. Microplastic pollution in North Yellow Sea, China: observations on occurrence, distribution and identification. *Sci. Total Environ.* 636, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.182>

Zhu, X., 2015. Optimization of elutriation device for filtration of microplastic particles from sediment. *Mar. Pollut. Bull.* 92, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.054>

Ziajahromi, S., Kumar, A., Neale, P.A., Leusch, F.D.L., 2017. Impact of microplastic beads and fibers on waterflea (*Ceriodaphnia dubia*) survival, growth, and reproduction: implications of single and mixture exposures. *Environ. Sci. Technol.* 51, 13397–13406. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03574>

ANEXOS

ANEXO I. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA INVESTIGACIÓN

PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF MICROPLASTICS PRESENT IN SOME EXFOLIATING PRODUCTS FROM SPAIN

Authors: V. Godoy, M. Calero, M.A. Martín-Lara, Blázquez, G.

¹Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain. Email address: gblazque@ugr.es; anita_almendros@hotmail.com; mcaleroh@ugr.es; marianml@ugr.es

Abstract

Plastic pollution in oceans is a global problem, with growing research efforts focusing on the threat of microplastics (<5 mm fractions). A source of microplastics pollution is derived from personal care products that contain polyethylene micro-spheres which are not captured by wastewater plants. In this work, ten personal care products (mainly scrubs) containing microplastics and marketed in Spain, were physico-chemically characterized. The obtained results proved that those microplastics had different particle size and are presented in high percentages in some cases, between 6-7% of the total product. Products with smaller particles usually showed higher concentrations than products with larger particles. Although all the microplastics were shown to be polyethylene, some impurities were observed that demonstrated the presence of silicates and oxides in the microplastics. Regards to morphology, the shape of the particles was irregular in general, although some completely spherical particles can be observed.

Keywords: *Microplastics; Ocean pollution; Personal care products; Plastic contaminants; Polyethylene.*

1. INTRODUCTION

In the last few years, marine pollution caused by plastics has become a particularly important debate. Approximately 6.4 million tons of plastic are dumped every year in seas and oceans, which represents 80% of the total marine garbage (Barnes et al, 2009; Jambeck et al, 2015; Rojo-Nieto and Montoto, 2017). These objects can be "macroplastics",

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

fragments larger than 2.5 cm, or “microplastics”, plastic fragments smaller than 5 mm (Cole et al. 2011).

In recent years, pollution from microplastics (MPs) has become important due to the potential risk they represent for marine fauna and humans. These particles can result from the physical and chemical degradation of larger plastics in the environment (secondary MPs) or can reach the sea directly by dumping products that contain them (primary MPs). Primary MPs are present in some cosmetics or personal care products, in drilling fluids for extracting oil or natural gas, products for cleaning with pressurised air jets, some paints or the chippings of virgin polymers (Cole et al, 2011; ACA¹, 2016; Duis and Coors, 2016; Sundt et al. 2014). This paper focuses on MPs contained in personal care products, which are included as ingredients in scrubs, bath gels, toothpastes, nail polishes or sun creams, among others (Leslie, 2014). They are usually added in substitution of some natural ingredient, as it provides the product with highly desirable properties such as adequate viscosity, binding power, abrasive power, additional shine or the ability to form a film on the skin (UNEP², 2015). These particles may vary in shape, size and composition depending on the product (Cheung and Fok, 2017), and although 93% of these micro-particles are composed of polyethylene (PE) (Gouin et al. 2015), particles of polypropylene, polymethylmethacrylate or nylon may also appear (Lei et al. 2017).

There is a growing awareness of marine litter and its reduction. In December 2017, the UNEP passed a resolution on marine litter and microplastics (UNEP, 2017). More recently, in January 2018 the European Commission approved its action plan for managing plastic waste within the framework of the Circular Economy (European Commission, 2018). The latter agreement defined concrete measures aimed at reducing pollution by microplastics in European countries. With regard to microplastics intentionally added to personal care products, some studies have investigated them and many well-known brands have withdrawn them from their products. However, it is difficult to calculate the quantity of MPs emitted by each source and each country, and existing estimations are not always in accordance with reality. With respect to the European Union (EU), according to Gouin et al. (2015) a total of 4360 tons of primary MPs were produced for use in cosmetics in 2012. However, a much more recent study carried out by Amec Foster Wheeler Environment & Infrastructure UK Limited (2017) states that the production of

¹ Asociación de Ciencias Ambientales

² United Nations Environment Programme

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

microplastics for use in cosmetics in the EU in 2015 was reduced to 793 tonnes. In the case of Spain, no work has presented a study about personal care products in recent years (after EU action plan for circular economy), and there is a great lack of knowledge on this subject and the information provided is more uncertain. According to a CEDEX³ report (2016), in 2011 the annual emission of microplastics from cosmetics was 395 tonnes. However, according to the estimates proposed by Gouin et al. (2015), in 2012 in Spain the emission of MPs present in cosmetics would have been approximately 750 tonnes. This represents a great variation in only one year of difference, which induces to think that the information is diffuse and not very close to reality. Therefore, this study has focused on analysing the use of MPs in cosmetic products marketed only in Spain, with the aim of confirming that they are still present.

Another important aspect of microplastics to consider are their negative effects, which often go unnoticed by the small size of these particles. One of the main problems is that MPs mix with plankton and sediments, causing suspended or detritivorous organisms to ingest them by accident, as they are not always able to distinguish them from food (Lusher, 2015). The danger increases when these small organisms are eaten by larger organisms such as birds, marine mammals, turtles, fishes, etc. which causes microplastics to be transferred along the food chain, until reach the human being (GESAMP⁴, 2015; Lusher et al. 2017). Another problem related with these particles is that they function as mechanisms for transporting toxic substances present in the marine environment, such as persistent organic pollutants (POPs), pharmaceuticals, or even heavy metals such as nickel or copper (Bayo et al, 2017; GESAMP, 2015; Lusher et al, 2017).

The present study has analysed a series of cosmetic and personal care products of common use, marketed in Spain, with the following objectives: (1) to analyse what types of products are marketed in the province of Granada (Spain) with microplastic content, and what percentage they represent with respect to the total number of personal care products marketed; (2) to quantify the quantity of these particles (in percentage and in number of particles per gram of product) present in each of them, as well as the average size of these particles; (3) to analyse their polymeric composition, their morphology and the possible presence of additives and other chemical substances.

³ Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas

⁴ Group of Experts on the Scientist Aspects of Marine Environmental Protection

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Eleven large supermarkets in the province of Granada (Spain) were visited, which are present in almost all Spanish provinces. In each one, products from four different categories were reviewed: bath gel, body treatment, facial treatment and foot treatment. In addition, only mass-consumer brands were taken into account, as they are the most affordable for the majority of the population and, therefore, the most sold products, in accordance with the information provided by the National Association of Perfumery and Cosmetics (STANPA). The procedure to be followed was as indicated: firstly, all the products marketed in each of the four categories were counted. Then, all the scrubs present within these products were counted. Finally, the ingredients list for each exfoliant were reviewed and those containing polyethylene were taken into account, as this is the main MP added to personal care products. All the obtained results are shown in Table 1.

Table 1. Market study carried out on different categories of cosmetic and personal care products, including those containing PE particles.

Treatment	Number of products	Scrubs	Scrubs with PE	% of scrubs with PE	% products with PE of the total
Body	315	19	12	63.16	3.81
Facial	786	40	11	27.50	1.40
Foot	44	5	4	80.00	9.09
Bath gels	469	4	2	50.00	0.43

The category of facial treatments was the one that presented the greatest variety of products in supermarkets, although little more than 1% contain PE particles. On the other hand, foot treatments were the ones that presented less kind of products, but almost 10% contained microplastics in the form of PE. It is also important to note that more than 50% of exfoliating bath gels, foot scrubs and body scrubs marketed in Granada (Spain) contain polyethylene particles. These figures should be similar on a national level, as all the shopping centres visited are represented in the rest of the Spanish provinces.

Following market analysis, ten personal care products were purchased from a variety of brands, including polyethylene among their ingredients. The products were divided into the following categories: three facial scrubs, five body scrubs and two

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

exfoliating bath gels. These products were chosen because they belong to the categories that sell the most on the market. Since the trade mark of those products is not of particular relevance, they have been named with the letters A-J.

2.2. Methods

2.2.1. Microplastics separation

The process of obtaining the microplastics present in these cosmetics was carried out in the following way: the product was dissolved in distilled water respecting a solid-liquid ratio of 1:10 and was kept stirring for one hour at 70°C and 1200 rpm. Tests were performed in triplicate for all products. In some cases where the cosmetic was too dense or greasy it was necessary to add 10 mL of a standard commercial grease-cleaner to the solution to facilitate subsequent filtration. In the present study, this technique was applied to body scrubs F and G. Vacuum filtration of the solution was then performed using a Filter-Lab 1242 filter with a pore size of 7-9 μm . The filtered cake was then allowed to dry at 50°C for 24 hours and the particles were weighed on an Adventurer Pro AV114C scale and stored in a glass jar for further analysis.

2.2.2. Identification and characterization of microplastics

Due to the fact that some of the microparticles present in the scrubs studied might not be polymers, the first phase of the characterization consisted in differentiating the polymer particles from those that were not. For this purpose, it was considered that particles with the same shape and colour were of the same type and, grouping them with the help of tweezers, each type of particle in each product was identified by means of Fourier Transform Infrared (FTIR) analysis. It was carried out in a Perkin-Elmer spectrophotometer, Spectrum-65 model, equipped with an Attenuated Total Reflectance (ATR) device that allows to measure very absorbent, very thick or irregular samples, in the range of 4000-400 cm^{-1} and with a resolution of 2 cm^{-1} . The microparticles that turned out not to be synthetic were removed with the help of tweezers, as they were present in small quantities.

The granulometry technique was also used to measure the distribution of the particle size obtained. This technique was carried out using a Malvern Mastersizer 2000LF laser with a Malvern HYDRO 2000Up minimum volume liquid sample dispersion unit,

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

which measures the size distribution in a range of 0.02-2000 μm . The resulting particle sizes are expressed as a volume weighted mean.

The number of particles present in each sample was then calculated using the procedure proposed by Napper et al (2015). For this purpose, all particles present in the samples were considered to be spherical and a series of equations (I-III) were used. Although not fully consistent with reality, the particles can be considered to be spherical due to the fact that, because of their small size, there are no appreciable differences in the volume they occupy:

$$(I) \quad V_t = M_t/D$$

$$(II) \quad V_p = 4/3 \pi r^3$$

$$(III) \quad N = V_t/V_p$$

Where V_t is the total volume of plastic obtained, M_t is the mass of plastic obtained, D is the mean density of the polymer, V_p is the mean volume of a particle, r is the radius of that particle and N is the number of particles per sample.

Finally, the characterization was completed with an analysis of the morphology and surface characteristics of the particles, as well as a microanalysis to find out the chemical composition of these particles. This characterization was carried out using a Quanta650F high-resolution environmental scanning electron microscope (ESEM) with a Bruker XFlash EDS microanalysis system with xFlash 6/30 detector for elemental analysis from the incorporated Boron.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Shape and colour

All the products analysed indicated the presence of polyethylene among their ingredients. When the particles were separated by filtering, it was found that all the products had white particles that were visible to the naked eye. These particles were very small and irregular in shape in all cases except for F and G products, where their morphology appeared more spherical to the naked eye. Other products, such as D, E and G also contained other light brown, blue and dark brown particles, respectively. In products D and E, these particles were the same size as the white ones and also had irregular

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

shapes. In product G, these particles were larger than white and had planar and irregular shapes.

3.2. Granulometric analysis and concentrations

The microplastics present in facial scrubs had very wide particle size ranges (Table 2), being the most homogeneous product A, while product C showed variations, with a peak particle concentration around 150 μm and another peak around 800 μm (Figure 1A). Likewise, product C was the one containing the smallest microplastics (<9 μm). As for the mean particle size, in products A and C they were >400 μm , while in product B the mean size was <300 μm .

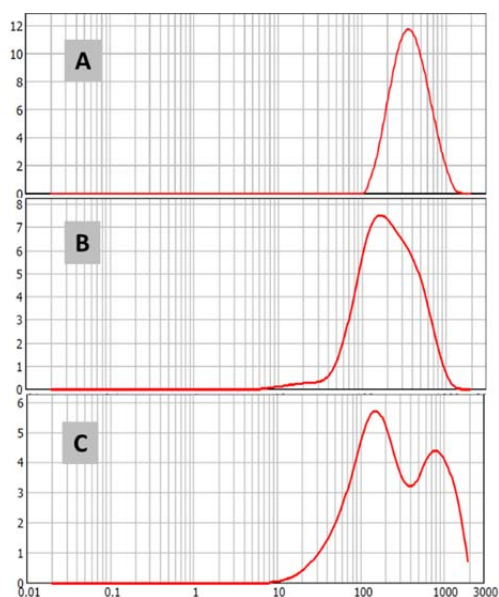
In the body scrubs analyzed, the size ranges of the microplastics were very similar, the smallest being 5 μm and the largest up to 2 mm. Figure 1C shows that most microplastics were between 60-100 μm and 110-1000 μm in size. As for the average particle size, in D and G products they were greater than 500 μm , while in E, F and H they were closer to 400 μm (Table 2).

Finally, in exfoliating bath gels the microplastics were generally slightly smaller in product J than in product I (Figure 1B). In product I they could reach more than 1 mm in size, while in product J the maximum size was 830 μm (Table 2). In terms of average particle size, in product I they exceeded 400 μm while in product J they did not reach 300 μm .

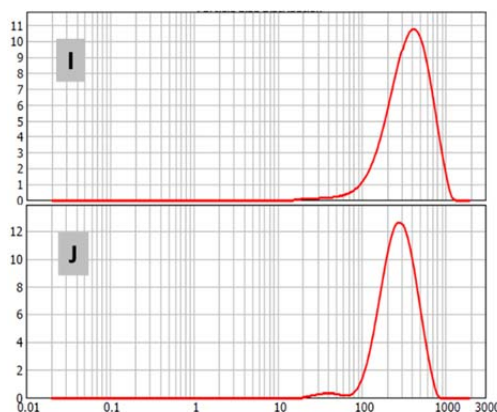
Table 2. *Granulometric characteristics of the microplastics extracted in ten personal care products.*

Type of product	Product	Size range (μm)	Average size (μm)	Percentage of MPs per sample (%)
Facial scrubs	A	112-1588	419.04	1.89
	B	11.5-1445	264.49	3.23
	C	8.7-2188	423.52	5.64
Body scrubs	D	10-2188	519.73	0.85
	E	11.5-2188	465.15	2.80
	F	5-2188	400.48	6.72
	G	15-2188	551.39	6.76
	H	23-1260	405.50	7.80
Exfoliating bath gels	I	15-1260	409.34	0.99

A) Facial scrubs



B) Exfoliating bath gels



C) Body scrubs

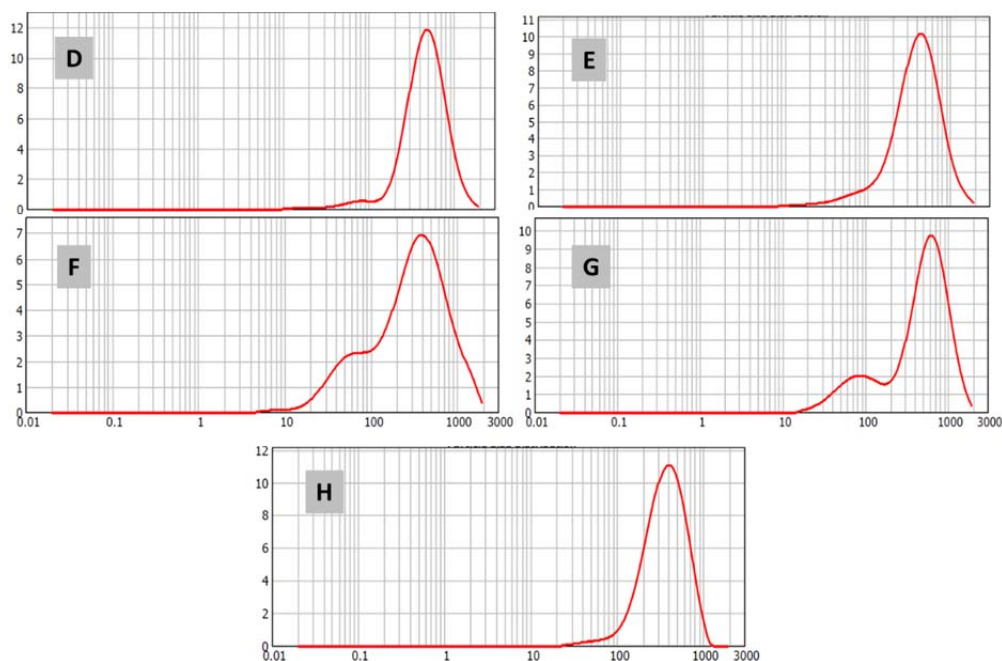


Figure 1. Distribution of particle sizes for MPs extracted from ten personal care products: A) Facial scrubs; B) Exfoliating bath gels; C) Body scrubs.

In order to facilitate comparison with other studies, the mean size in microns was taken as a reference (Table 2). The microplastics analyzed in this study were much larger in size than those reported by other authors (Bayo et al. 2017; Cheung and Fok, 2017; Martínez-García, 2014; Praveena et al. 2018), which are between 73-185 μm , 85-186 μm ,

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

70-190 μm and 3-178 μm , respectively. The microplastics of products B and J were close in size to the results obtained by Fendall and Sewell (2009) and by Napper et al. (2015) which are between 196-375 μm and 163-326 μm , respectively. Products A, C, E, F, H and I had larger particle sizes than those found in the literature, although they were approximate to those reported by Lei et al. (2017), which obtain sizes of 200-380 μm for facial scrubs and 350-460 μm for bath gels. Particles of D and G products had mean sizes greater than the ranges found. However, according to Gouin et al. (2015), 70% of polyethylene microgranules used in personal care products have sizes >450 μm , being 420 μm the ideal size to be considered effective as exfoliating agents.

The microplastics analyzed here could reach the sea due to their small size, as they would pass through all available filters in a wastewater treatment plant, as their smallest pores are 2-10 mm (Duis and Coors, 2016). The concerns about microplastics in effluent from wastewater treatment plants have increased in recent years. Municipal wastewater treatment plants of Granada are equipped with an integral system similar to that is currently used in central European cities. Initially, wastewater is subjected to primary treatment (settling) to reduce the amount of suspended material. Then, wastewater is subjected to secondary treatment that includes activated sludge process (biological treatment) in an aeration tank followed by secondary clarifier. According to some technical reports and interview with technicians of municipal wastewater treatment plants of Granada, most of microplastics are mainly removal in both primary and secondary treatments. However, actual treatment technologies remove high percentages of microplastics but cannot remove 100% of microplastics (Schneiderman, 2015; Talvitie et al., 2015; Carr et al., 2016, Murphy et al., 2016). In this sense, the microplastics with smaller size are not completely retained by wastewater treatment plants. Therefore, small amounts of microplastics detected in wastewater effluent are a source of microplastics. In addition, given the large volumes of effluent discharged to the aquatic environment annually by wastewater treatment plants, this source of microplastics can be considered important. On the other hand, most of the microplastics are transferred to sludge, and sludge typically is used as fertilizer in fields, as a result sludge also might act as a significant route of microplastics to the environment.

The abundance of particles in the products analyzed was variable and related more to the size than to the percentage of MPs they contained. The lowest concentration was presented by product D (Figure 2) with 123 particles/g, which contained 0.85% MPs. In

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

this case it was fulfilled that it was the product with the lowest percentage of MPs and also the second one with the highest average particle size. The highest concentration was found in product B, with 3730 particles/g, which contained 3.23% MPs and the smallest average particle size. The importance of particle size was highlighted here. Products F and H, however, had considerable particle sizes and also contained a large number of particles per gram, 2136 and 2315, respectively. This could be due to the fact that the number of particles was calculated using the mean diameter per volume, but the size distribution also includes smaller particles that might be being underestimated, as detailed by Napper et al. (2015). These results were far removed from the concentrations obtained by Lei et al. (2017), which were too low, and by Cheung and Fok (2017), which were too high. In general, they were closer to the concentrations reported by Napper et al. (2015).

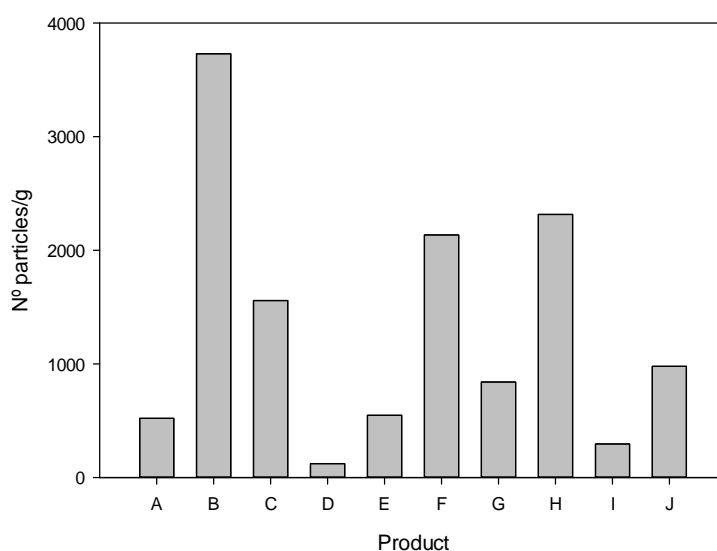


Figure 2. Estimation of the number of MPs presented in ten personal care products marketed in Spain.

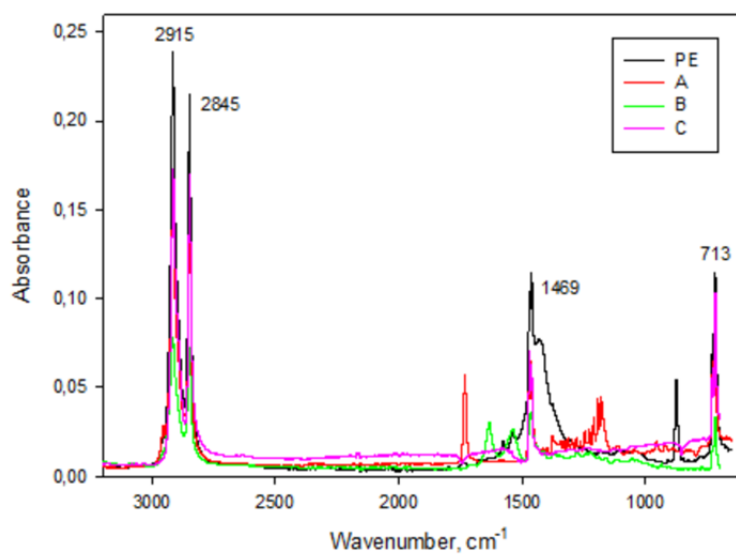
In total, two products were found to contain <1% by weight of MPs, four containing between 1-5% by weight of MPs and four others containing between 5-10% (Table 2). These results were consistent with those obtained by Praveena et al. (2018) for products containing polyethylene, present in a percentage between 1.5-7.2%. According to Gouin et al. (2015), personal care products may contain up to 10% by weight of MPS.

3.3. Identification by Fourier Transform Infrared Analysis (FT-IR)

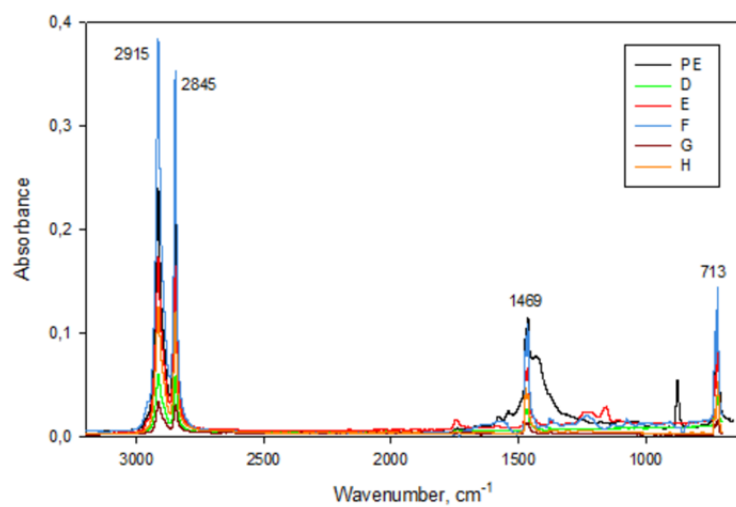
Microspheres of facial scrubs, body scrubs, bath gels and non-white particles were identified by FT-IR analysis. As detailed in section 2.2.2, all white particles were considered to be of the same composition (polymeric) and were therefore analysed together. The coloured particles were analysed separately. All microparticles were compared with a virgin polyethylene spectrum.

The reference spectrum obtained for virgin polyethylene presented four characteristic absorption peaks, in the region of 3500-600 cm^{-1} , located at 2915.77, 2845.13, 1469.40 and 713.54 (Figure 3). These peaks correspond to different vibrations of the methylene group (CH_2) and coincided with those obtained by different authors (Liço et al. 2014; Smith, 1999). In the case of facial scrubs, the spectrum of product C was similar to that of virgin polyethylene, while A and B showed some absorption peaks outside the reference spectrum (Figure 3A). The spectra of the body scrubs were very similar to that of virgin polyethylene with the exception of product E, which showed a pair of small absorption peaks outside the reference spectrum (Figure 3B). In the case of bath gels, both products obtained spectra very similar to the reference spectrum (Figure 3C). With this information, it could be concluded that the white particles of all the products were polymeric and composed of polyethylene. However, the presence of absorption peaks slightly different from those of this material, could indicate the presence of impurities or additives that are normally added to plastics to improve their mechanical properties, their resistance to degradation, etc. (Fries et al. 2011). For this purpose, a microanalysis was carried out on samples A, B and E, as described in section 3.3.

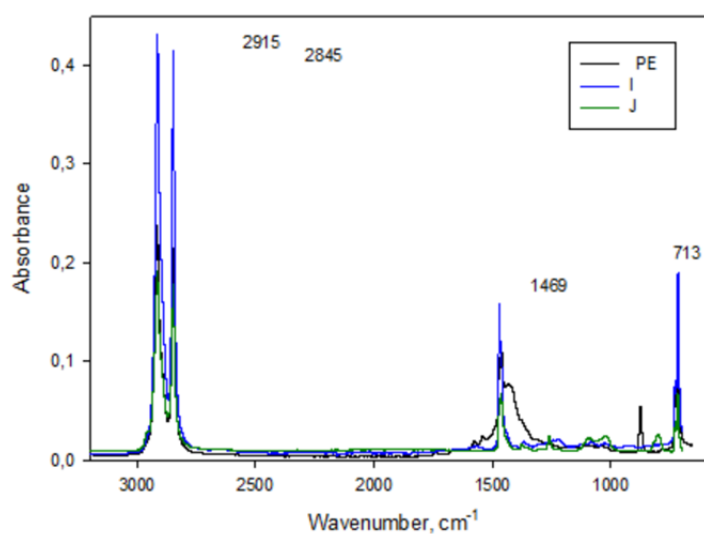
A) Facial scrubs



B) Body scrubs



C) Exfoliating bath gels



D) Other particles

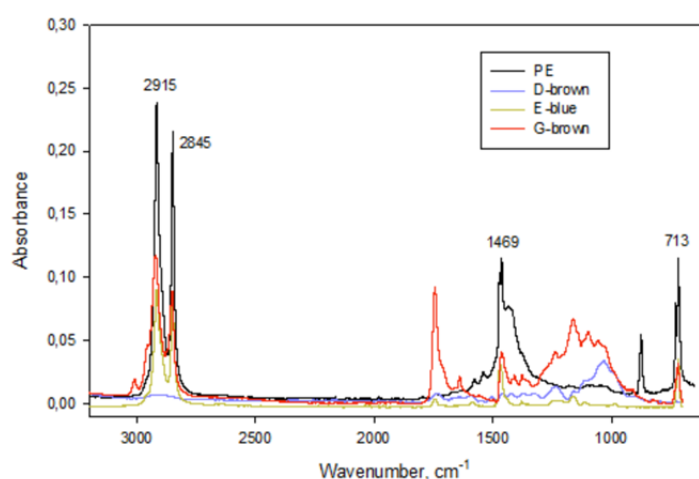


Figure 3. FT-IR spectra of microplastics extracted in A-F products compared to virgin polyethylene: A) Facial scrubs; B) Body scrubs; C) Bath gels; D) Other particles (colored particles).

In addition to the white microspheres, the D, E and G products contained brown and blue particles. Their infrared spectra were compared to that of virgin polyethylene (Figure 3D). The blue particles of product E were the only ones to show a spectrum similar to that of polyethylene. The brown particles of products D and G presented a very different spectrum. According to the ingredients described on the packaging of these products, these particles could be small pieces of walnut shell and grape stone, respectively.

Personal care products often contain naturally occurring exfoliating particles, as also reported by Lei et al (2017).

3.4. Morphological characterization and microanalysis

The morphological analysis carried out with the SEM revealed that most of the microparticles were not actually spherical (Figure 4). Only the F and G products had completely spherical particles, while the rest showed irregular shapes, with numerous flakes, edges and corners, showing a wrinkled paper appearance. In products D and E some rectangular shaped grains can be observed. These morphologies were similar to those obtained by other authors, such as Bayo et al. (2017) and Lei et al. (2017).

In the environment, the majority of microplastics are not spherical, more abundant are those with elongated, cylindrical, irregular or rough edges (Hidalgo-Ruz et al. 2012). The shape of microplastics can be a determining factor when it comes to presenting a risk to marine organisms. Some scientific researchs relate the shape and size of microplastics with greater toxicity in both vertebrate and invertebrate organisms. Microplastics with rough surfaces and irregular shapes are more likely to be confused with food by marine organisms, and also have greater adsorption capacities of contaminants present in water (Anderson et al. 2016; Napper et al. 2015; Thompson et al. 2004).

The microanalysis was carried out on products A, B and E (Figure 5), which obtained infrared spectra slightly different from those of virgin polyethylene. This analysis revealed that product A contained magnesium and silicon, which may be in the form of silicates or silicon oxides (Martínez-García, 2014). Product B had a similar composition, with aluminium and silicon. Product E, on the other hand, mainly showed the presence of aluminium and fluorine. These results confirmed the presence of chemical additives in the personal care products analyzed.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

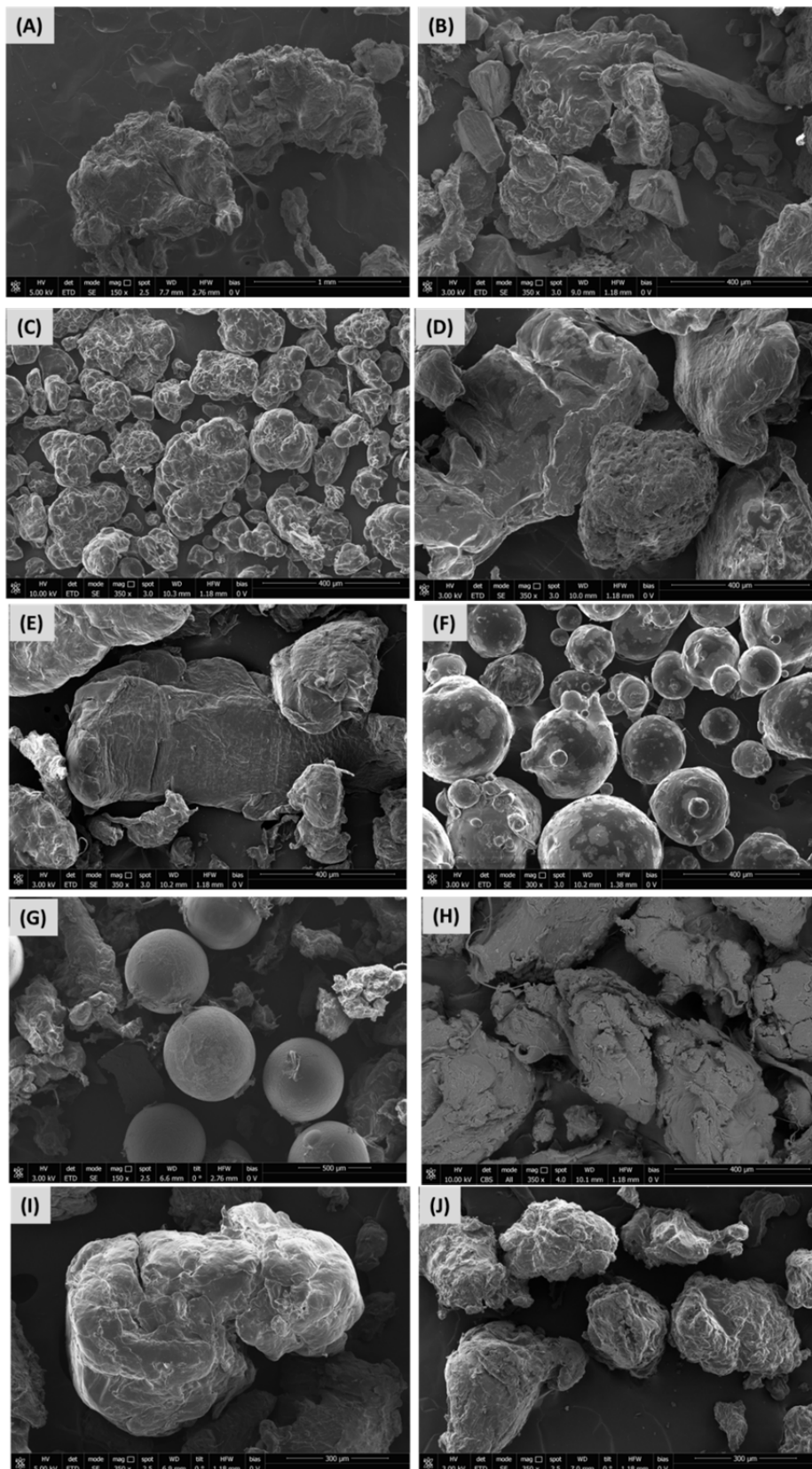


Figure 4. SEM photograph of the analyzed microplastics.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Chemical additives are usually incorporated into polymers to improve their properties. In the case of personal care products, they can increase viscosity, mechanical strength, remove grease and dirt, or act as stabilizers or antioxidants (Avio et al. 2017; Caliman and Gavrilescu, 2009). These additives are a major concern for the marine environment since they can be desorbed from the polymer and may cause harmful effects on marine organisms. For example, there are a variety of widely used chemical additives that can act as endocrine disruptors (Gallo et al. 2018; Hahladakis et al. 2018). On the other hand, microplastics also have the ability to adsorb other pollutants present in water, such as pharmaceuticals, fertilizers or disinfectants (Bakir et al. 2014; Hüffer et al. 2018; Li et al. 2018; Wu et al. 2016), and the presence of additives in polymers can accelerate these adsorption processes.

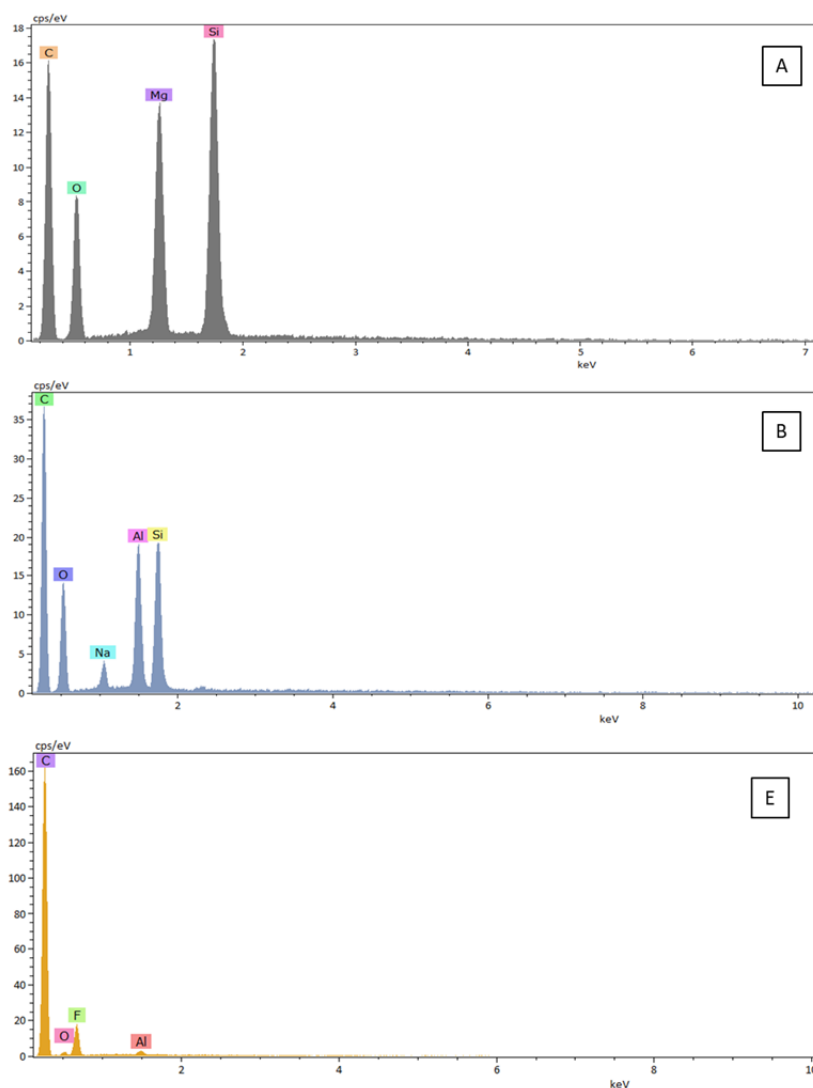


Figure 5. Microanalysis performed on microplastics of products A, B and E.

4. CONCLUSIONS

The present study is, to the best of the authors' knowledge, the first one carried out in Spain on microplastics present in personal care products, which implies novel information and a pioneering study that could be used in the future to carry out actions to reduce the manufacture of these microgranules and actions to improve detection in wastewater treatment plants.

The MPs obtained in the study were part of different facial exfoliants, body exfoliants and bath gels marketed in the province of Granada, in the south of Spain. The market study carried out on different categories of personal care products revealed that body and facial exfoliants were more abundant, however, it was body scrubs and foot scrubs that presented more polyethylene among their products's ingredients. More than 60% and more than 80% of body and foot scrubs respectively contained polyethylene particles. The MPs presented in the personal care products analysed had variable sizes, ranging from approximately 8 μm to 2 mm. This represents an environmental problem, since the smallest particles can reach the sea as they are not retained by the wastewater treatment plants. Likewise, the smaller the particles, the more there was in the product. Some of the products analyzed had more than 3000 particles/gram.

The particles have been shown to have different shapes, and were composed mainly of polyethylene; one of the most commonly used polymers in people's daily lives. Their morphology was irregular in most cases and some of them contained chemical additives in the form of silicates or oxides. These two characteristics can make them more easily confused with food by marine animals, and can adsorb more quickly other contaminants present in the water.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the University of Granada (Spain) [grant number LIFE17ENV/ES/000229].

REFERENCES

ACA, 2016. *GT-16 Basuras Marinas*. Documento final del grupo de trabajo del Congreso Nacional del Medio Ambiente (CONAMA).

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Amec Foster Wheeler Environment & Infrastructure UK Limited, 2017. *Intentionally added microplastics in products*. European Commission (DG Environment) Final report. Doc Ref: 39168. 220 pp.

Anderson, J., Park, B.J., Palace, V.P., 2016. *Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems*. Environmental Pollution 218, 269-280.

Avio, C., Gorbi, S., Regoli, F., 2017. *Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat*. Marine Environmental Research 128, 2-11.

Bakir, A., Rowland, S., Thompson, C., 2014. *Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions*. Estuarine, Coastal and Shelf Science 140, 14-21.

Barnes, D., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. *Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments*. Philosophical Transactions of The Royal Society B 364, 1985-1998.

Bayo, J., Martínez, A., Guillén, M., Olmos, S., Roca, M.J., Alcolea, A., 2017. *Microbeads in commercial facial cleansers: threatening the environment*. Clean-Soil, Air, Water 45 (7), 1-11.

Caliman, F.A., Gavrilescu, M., 2009. *Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment – A review*. Clean-Soil, Air, Water 37 (4-5), 277-303.

Carr, S.A., Liu, J., Tesoro, A.G., 2016. *Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants*. Water Research 91, 174-182.

CEDEX, 2016. *Estudio sobre cuantificación de fuentes de microplásticos e identificación de posibles medidas para su reducción en la fuente*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. España.

Cheung, P.K., Fok, L., 2017. *Characterisation of plastic microbeads in facial scrubs and their estimated emissions in Mainland China*. Water Research 122, 53-61.

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T., 2011. *Microplastics as contaminants in the marine environment: A review*. Marine Pollution Bulletin 62, 2588-2597.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Duis, K., Coors, A. 2016. *Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects*. Environmental Science Europe 28:2. DOI: 10.1186/s12302-015-0069-y.

EU. Communication from the commission to the European parliament, the council, the European economic and social committee and the committee of the regions. An European strategy for plastics in a circular economy. COM/2018/028 final.

Fendall, L.S., Sewell, M.A., 2009. *Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers*. Marine Pollution Bulletin 58, 1225-1228.

Fries, E., Dekiff, J., Willmeyer, J., Nuelle, M.T., Ebert, M., Remy, D., 2013. *Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy*. Environmental Science Processes & Impacts 15, 1949-1956.

Gallo, F., Fossi, C., Weber, R., Santillo, D., Sousa, J., Ingram, I., Nadal, A., Romano, D., 2018. Marine litter plastics and microplastics and their toxic chemicals components: the need for urgent preventive measures. Environmental Sciences Europe 30:13, DOI: 10.1186/s12302-018-0139-z.

GESAMP, 2015. *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment*. Kershaw, P. J., (ed.). Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Reports and Studies 90, 96 pp.

Gouin, T., Avalos, J., Brunning, I., Brzuska, K., de Graaf, J., Kaumanns, J., Koning, T., Meyberg, M., Rettinger, K., Schlatter, H., Thomas, J., van Welie, R., Wolf, T., 2015. *Use of micro-plastic beads in cosmetic products in Europe and their estimated emissions to the North Sea Environment*. SOFW-Journal 141, 40-46.

Greenpeace, 2017. *Plásticos en los océanos. Datos, comparativas e impactos*. Dossier de prensa. Madrid, España.

Hahladakis, J., Velis, C., Weber, R., Iacovidou, E., Purnell, P., 2018. *An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling*. Journal of Hazardous Materials 344, 179-199.

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, C., Thiel, M., 2012. *Microplastics in the marine environment: A review of the methods use for identification and quantification*. Environmental Science & Technology 46, 3060-3075.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Hüffer, T., Weniger, A.K., Hofmann, T., 2018. *Sorption of organic compounds by aged polystyrene microplastic particles*. Environmental Pollution 236, 218-225.

Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Lavender, K., 2015. *Plastic waste inputs from land into the ocean*. Research 347, 768-771.

Lei, K., Qiao, F., Liu, Q., Zhanliang, W., Qi, H., Cui, S., Yue, X., Deng, Y., An, L., 2017. *Microplastics releasing from personal care and cosmetic products in China*. Marine Pollution Bulletin 123, 122-126.

Leslie, H.A., 2014. *Review of microplastics in cosmetics*. Report R14/29. IVM Institute for Environmental Studies. Amsterdam, Netherlands.

Li, J., Zhang, K. and Zhang, H., 2018. *Adsorption of antibiotics on microplastics*. Environmental Pollution 237, 460-467.

Liço, E., Marku, J., Chatzhitheodoridis, E., 2014. *Physico-mechanical properties changes in virgin and recycled polyethylene fibers during recycling process*. Zastita Materijala 55, 373-377.

Lusher, A., 2015. *Chapter 10 – Microplastics in the marine environment: Distribution, interactions and effects*. Marine Anthropogenic Litter, M. Bergmann et al. (eds). DOI 10.1007/978-3-319-16510-3_10.

Lusher, A.L., Hollman, P.C.H., Mendoza-Hill, J.J., 2017. *Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 615. Rome, Italy.

Martínez-García, A.D. 2014. *Análisis y caracterización de microplásticos presentes en limpiadores faciales y su impacto sobre el medio ambiente*. Trabajo Fin de Máster, Universidad Politécnica de Cartagena, España.

Murphy, F., Ewins, C., Carbonnier, F., Quinn, B., 2016. *Wastewater treatment works (WwTW) as a source of microplastics in the aquatic environment*. Environmental Science Technology 50, 5800-5808.

Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. *Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics*. Marine Pollution Bulletin 99, 178-185.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Praveena, S., Shaifuddin, S., Akizuki, S. 2018. *Exploration of microplastics from personal care and cosmetic products and its estimated emissions to marine environment: An evidence from Malaysia*. Marine Pollution Bulletin 136, 135-140.

Rojo-Nieto, E., Montoto, T., 2017. *Basuras marinas, plásticos y microplásticos: orígenes, impactos y consecuencias de una amenaza global*. Ecologistas en Acción (ed.), 54 pp.

Schneiderman, E.T., 2015. *Discharging Microbeads to Our Waters: an Examination of Wastewater Treatment Plants in New York*. Last access on December 4, 2018. https://ag.ny.gov/pdfs/2015_Microbeads_Report_FINAL.pdf

Smith, B.C., 1999. *Chapter 8 – Infrared spectra of polymers*. Infrared spectral interpretation. A systematic approach. CRC Press (ed.), pp. 177-188.

Sundt, P., Schulze, P., Syversen, F. (2014). *Sources of microplastics-pollution to the marine environment*. Project Report, 108 pp. Norway.

Talvitie, J., Heinonen, M., Paakkonen, J.P., Vahtera, E., Mikola, A., Setälä, O. and Vahala, R., 2015. *Do wastewater treatment plants act as a potential point source of microplastics? Preliminary study in the coastal Gulf of Finland, Baltic Sea*. Water Science Technology 72, 1495-1504.

Thompson, R., Olsen, Y., Mitchell, R., Davis, A., Rowland, S., John, A., McGonigle, D., Russell, A., 2004. *Lost at Sea: where is all the plastic?* Science 304, 838.

UNEP, 2015. *Plastic in cosmetics. Are we polluting the environment through our personal care?* Project Report, ISBN: 978-92-807-3466-9, 38 pp.

UNEP, 2017. *Draft resolution on marine litter and microplastics*. Last access on December 12, 2018. <https://papersmart.unon.org/resolution/uploads/k1709154.docx>

Wu, C., Zhang, K., Huang, X., Liu, J., 2016. *Sorption of pharmaceuticals and personal care products to polyethylene debris*. Environmental Science Pollution Research 23, 8819-8826.

**EFFECTS OF DISTANCE TO THE SEA AND GEOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS
ON THE QUANTITY AND DISTRIBUTION OF MICROPLASTICS IN BEACH SEDIMENTS
OF GRANADA (SPAIN)****Authors: V. Godoy^{1*}, J.C. Prata², G. Blázquez¹, A.I. Almendros¹, A.C. Duarte², T. Rocha-Santos², M. Calero², M.A. Martín-Lara²**

¹Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain. Email address: gblazque@ugr.es; anita_almendros@hotmail.com; mcalero@ugr.es; marianml@ugr.es

² Centre for Environmental and Marine Studies (CESAM) & Department of Chemistry, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal. Email address: pratajc@ua.pt; aduarte@ua.pt; ter.alex@ua.pt

Abstract

Microplastics became an unprecedented challenge and mapping their contamination all over the world is needed in order to establish baseline levels and identify the polymers in order to enhance adequate legislation and policy. The main objective of this study is to demonstrate the existence of microplastic pollution on three beaches on the coast of Granada (Spain), namely La Herradura, Motril Beach and La Rábita, characterizing the particles and the relationships in their distribution. This may contribute supporting the studies carried out at a national level in accordance with the Directive on Marine Strategy (2008/56/EC). The results showed a greater median concentration of particles/kg of dry sediment in La Herradura (45.0 ± 24.7) than in Motril (31.5 ± 21.5) and La Rábita (22.0 ± 23.2). These data revealed a higher contamination by microplastics in an enclosed bay-type beach (La Herradura) in comparison with open delta-type beaches. The predominant morphologies were microspheres and fragments, with maximum median concentrations of 38.0 ± 23.7 and 6.0 ± 0.7 particles/kg, respectively. The distribution and size of the particles is affected by the geomorphological and sedimentary characteristics of these beaches, which are different from any other in Spain and in the Mediterranean in general. The beaches of Granada showed more microplastic contamination than Greek or Slovenian beaches, but less than other Spanish beaches. In this area of the Mediterranean, the presence of microplastics can be affected by the wind,

sea currents or methodological aspects such as the pore size of the filters used. All of these factors were analysed when comparing the beaches of Granada with other Mediterranean beaches. This study shows that there is contamination by microplastics on the beaches of Granada, which have been little explored until now due to the difficult geological and granulometric characteristics, and gives support to other national studies.

Keywords: *Microplastics; Beach pollution; Mediterranean; Marine litter; Spanish coast*

1. INTRODUCTION

Contamination by microplastics (MPs) has become a problem due to the potential environmental damage produced and the harmful effects on organisms. These particles can be primary, manufactured by humans with a purpose, such as microbeads added to personal care products, in drilling fluids for extracting oil or gas, sandblasting for cleaning or boat paints (Duis and Coors, 2016). Microplastics can also be secondary, which result from the physical and chemical degradation of macroplastics in the environment, such as those produced by the tyres wear, washing of synthetic clothes or by physical-chemical degradation of larger microplastics (De Falco et al., 2018; Karlsson et al., 2018).

Microplastics are found in almost every marine and freshwater environment on Earth, including beach sediments, bottled water or food (Hamid et al., 2018; Novotna et al., 2019). Furthermore, microplastics are present in all types of environments, including those considered to be pristine or distant from the sources of production of these particles, such as the depths of the oceans or Arctic ice (Obbard et al., 2014; Woodall et al., 2014).

One of the coastal and marine environments most affected by plastic pollution is the Mediterranean Sea. The first study that reported the abundance of floating plastic debris in the Mediterranean Sea was conducted by Morris, 1980, who determined a concentration of about 1300 items per km² near Malta. Those small plastic fragments were found to be approximately 1.5 cm in diameter. Currently, it is estimated that the average plastic concentration in Mediterranean surface waters is 243,853 items per km² (Cózar et al., 2015) with sizes between 0.2-500 mm, being the highest concentration of particles located between 0.5-2.5 mm . Some factors that contribute to the issue of marine litter are

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

the intense coastal and maritime tourism, the great flow of navigation, the industrial and fishing activities and also the configuration of the Mediterranean sea as a closed basin with a particular system of currents (Cincinelli et al., 2019).

Particularly, the Spanish coast is highly affected by intense tourist activity. In Spain, CEDEX (Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas) has been collaborating since 2014 in the Monitoring Programme for Microparticles on beaches, according to the Framework Directive on Marine Strategy (2008/56/EC) (CEDEX, 2018). The microparticle monitoring program on beaches (Subprogram BM-6) includes the collection of samples and laboratory determinations. Within this programme, the following beaches in contact with the Mediterranean Sea were monitored: Las Azucenas (municipality of Motril, Granada), San Miguel in Cabo de Gata (Almería), La Llana in San Pedro del Pinatar (Murcia), Marenys in Tavernes de Valldigna (Valencia), Cal Francés in Viladecans (Barcelona) and La Pineda, in Vila Seca (Tarragona).

Under the same programme, the beach of Carchuna (Granada) was chosen in 2016 as a reference for monitoring in the Strait and Alboran Sea Demarcation. However, the granulometric conditions of the coast of Granada have degraded to such an extent that it is impossible to find sandy sediment in the area of the breaker line at present as it is mainly made up of gravel. Such conditions, which are indicative of a significant erosive action of the waves, are not suitable for microplastic particles carried by the sea to be deposited on the beach. If the sand particles themselves, of much higher density, do not remain there in a stable manner, it is less likely that microplastic particles will be retained. Kazmiruk et al., (2018) demonstrated, through sampling in different coastal areas of British Columbia, that higher concentrations of microplastics were found in fine sediments (size <250 µm). Also, Maes et al., (2017) found a negative relationship between sediment grain size and the amount of microplastics in seabed sediments through statistical analysis, which means that more particles can be found in areas with fine sediment (<500 microns).

Therefore, in the autumn of 2017, CEDEX decided to investigate whether any other beaches nearby might be eligible for inclusion in the Subprogramme. After visits to certain beaches, samples were taken and analysed at Las Azucenas beach, in a sector close to the port of Motril, and due to the good results obtained, it was incorporated into Subprogramme BM-6 to replace Carchuna beach. However, the Strait and Alboran Demarcation presents some particularly important features, such as the transition between the Mediterranean and the Atlantic, together with the special problem of

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

pollution by plastics from intensive greenhouse agriculture in that area. Furthermore, the far western part of the Granada coast has not been studied to the best of the authors' knowledge.

Therefore, the present study aims to analyze mixed sand and gravel sediments from beaches on the coast of Granada, from the far eastern point to the far western point, considering beaches not analyzed so far by CEDEX. The main objective is to demonstrate the existence of microplastic pollution on these beaches and characterize the particles and the relationships in their distribution thus supporting the studies carried out at a national level in accordance with the Directive on Marine Strategy (2008/56/EC).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Area of study

The province of Granada is located in the southeast of Andalusia, in the south of the country. Its area covers 12,635 km² and has a population of 914,678 inhabitants (2019), of which approximately 25% live in the capital. The main population centers are Granada capital and its metropolitan area (55%), followed by the Granada Coast (10.5%) with the municipalities of Motril and Almuñécar as the main population centers (INE, 2019). The main characteristic of the relief of the province of Granada is related to the difference in altitude. Throughout the province there are two major geological units: the Betic Mountain chain and the Neogene Depressions. In the mountain range of Sierra Nevada (Penibetic Range) is located the peak Mulhacén (3,479 m), the highest peak in the Iberian Peninsula. The distance between that peak and the coast line of Granada, in a straight line, is only 35 kilometers (Agencia Andaluza de la Energía, 2010).

The coastline of Granada is extremely steep. Beaches and coastal plains are unusual on this stretch of coast, where the mountains and the sea are in contact. The forms due to the active erosion of the sea front dominate to the deposit and sedimentation formations. At present, these coasts are experiencing an intense transformation of the landscape due to the competition between land uses: tourist development, the expansion of greenhouse and crop agriculture, and the road and transport infrastructure.

La Herradura is a town that belongs to the municipality of Almuñécar, located in the western end of the region of Granada coast, four kilometers from the border with the province of Malaga. In 2018 it had a population of 3,995 inhabitants. La Herradura is

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

located on the shores of the Mediterranean, in a bay that has a single beach, divided into three parts and surrounded by cliffs. Motril is located near the estuary of the Guadalfeo River, dominating the plain of this river, an area of numerous tropical crops. It has a population of 58,020 inhabitants (INE, 2019) and its geographical position makes it an important industrial and commercial centre in which the manufacture of paper and the commercial and fishing port of Motril stand out. Finally, La Rábita is a town belonging to the municipality of Albuñol, located on the eastern side of the coast of Granada, four kilometers from the border with the province of Almería. In 2018 it had a population of 1,985 inhabitants. It is located in a semi-desert area, on the plain at the estuary of the Albuñol wadi, surrounded by mountains and cliffs.

The climate along the entire coast of Granada is subtropical, with 320 sunny days per year. It is protected by the Lújar mountain range to the north, which slows down the cold winds of Sierra Nevada, and the warm Alboran sea to the south, which acts as a thermal regulator. The average annual temperature is between 17 and 18 °C, with warm summers (around 25-30 °C) and mild winters (around 12-15 °C). As for rainfall, it is usually scarce throughout the year, with December and January being the rainiest months with rainfall of around 40 mm.

Sand samples were taken from three beaches located in the described municipalities: La Herradura (municipality of Almuñécar), Motril Beach (municipality of Motril) and La Rábita (municipality of Albuñol) (Figure 1). Two beaches located at the western and eastern extremes (La Herradura and La Rábita, respectively) and one beach located in the central part of the coast of Granada (Motril Beach) were chosen, with the aim of cover all the tropical coast with representative results. Samples were taken in November 2018.

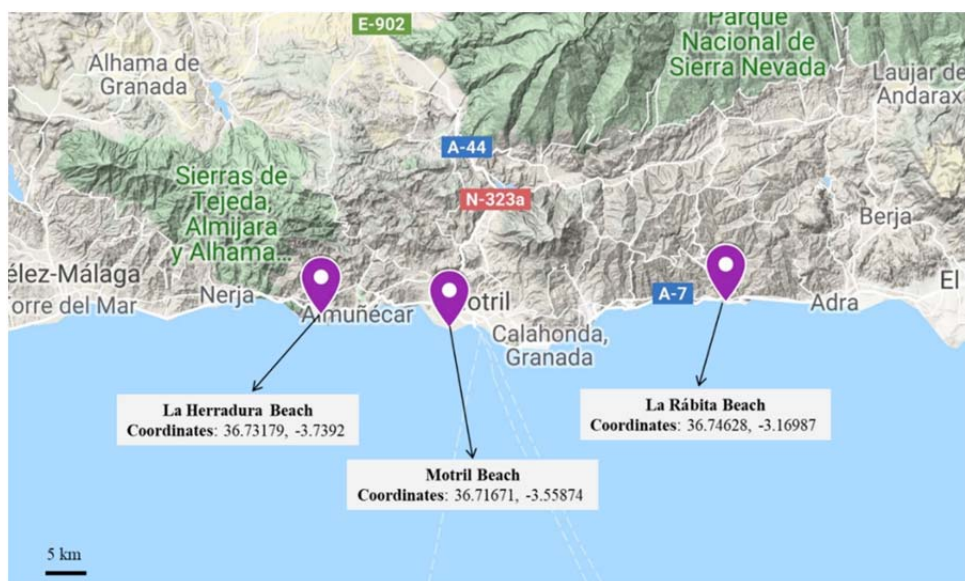


Figure 1. Geographical location and coordinates of the three beaches chosen for sampling on the coast of the province of Granada (Spain).

2.2. Sediment sampling

Sediment sampling was conducted following a modification of the method described by Besley et al., (2017). On each of the chosen beaches, four 100-metre-long lines were marked, coinciding with the following beach areas: wave breaking line, high tide line, supralittoral zone 1 and supralittoral zone 2 (close to the promenade) (Fig. 2). The separation between the lines was decided on the basis of the relief of the beaches, and was finally as follows: 2.5 metres between the first and second lines, 7 metres between the second and third lines and 10 metres between the third and fourth lines.





Figure 2. Area sampled on the three selected beaches of the Costa de Granada: Line 1 (wave breaker), Line 2 (high tide), Line 3 (supralittoral zone 1) and Line 4 (supralittoral zone 2, near the promenade).

For the sampling, a 50x50 cm wood square was designed to avoid contamination by plastics. On each 100-metre-long line, a sampling was made every 10 metres, with a total of 11 samples per line and 44 samples per beach. Since 0.25 m² was sampled at each point, the total area sampled at each beach was 11 m². At each sampling point, 5 sub-samples were taken, one at each corner of the square and one at the centre. The samples were taken with a glass beaker, deepening to the first 5 centimetres, and were sieved *in situ* with a 5 mm stainless steel sieve. At the beaches of Granada, it was necessary to sieve due to differences in sediment size, in order to obtain a homogeneous sediment within the microplastic size range (<5 mm). Finally, each sample was then stored in a sealed

aluminium container and transported to the laboratory, where they were stored in a dry, dark place.

2.3. Microplastics extraction

First, the sediment was dried in an oven at 60°C for 24 hours. Higher temperatures are not recommended, as the sand forms agglomerates and makes sieving difficult. All dry samples belonging to the same line were mixed in a hermetically sealed bucket. After this, two replicates of 500 g of dry sediment were taken, one from the top and another from the bottom of the bucket. This was done to prevent some polymers such as polyethylene terephthalate (PET) or polyvinyl chloride (PVC) from being neglected for their high density.

The extraction of the microplastics from the sediment was done by density difference, using a saturated solution of NaCl. For this purpose, 350 g of sodium chloride AGR ACS from Labkem were added per litre of water, using water from the public network. The solution was subsequently filtered under vacuum system, using cellulose filters FILTER-LAB 1242, with pore size of 7-9 µm, to remove possible impurities from the salt and microplastics present in the sodium chloride. The density of the obtained solution was 1.20 g/ml.

To make the extraction, the sample of 500 g of dry sediment was placed in a glass vessel and NaCl solution was added respecting a solid-liquid ratio of 1:4. The sediment was stirred manually for 5 minutes with a stainless-steel spatula and then left to rest for 24 hours. After this time, the supernatant was filtered by means of a siphoning system to avoid turbidity of the supernatant with the finer sediment. In this process, PRAT DUMAS glass fiber filters of 47 mm diameter and pore size 1.2 microns were used, and then were stored in glass Petri dishes. Although the NaCl solution was filtered using a pore size of 7-9 microns and therefore contamination could be present in the glass fiber filters, this contamination would not be detectable as subsequent analysis procedures, following the method developed by Prata et al., (2019), only allow detection of particles larger than 50 microns. Cotton laboratory coats were used throughout the extraction process and analysis of microplastics, in order to prevent contamination from airborne textile fibers.

2.4. Microplastics analysis

First, the larger microplastics were removed from the filters using tweezers and analyzed in a Perkin Elmer Fourier Transform Infrared Spectrometer, model Spectrum 65, at the range of 4000-400 cm^{-1} with a resolution of 2 cm^{-1} , to determine their polymer composition. The Carbonyl Index was also calculated for these larger microplastics, which is often used as an indicator of the presence of carbonyl groups, which may result from polymer degradation (M.O. Rodrigues et al., 2018). Peaks of the infrared spectrum of carbonyl groups are often formed when the polymer undergoes degradation, to calculate the Carbonyl Index, the absorbance of carbonyl peaks must be compared with the absorbance of a reference peak in the same sample. Therefore, the calculation of the Carbonyl Index is expressed as follows:

$$\text{Carbonyl Index (CI)} = \frac{\text{(Absorbance carbonyl peak)}}{\text{(Absorbance reference peak)}} \quad (\text{I})$$

The region of the spectrum where the carbonyl groups formed in the degraded polymers usually appear is between 1700-1800 cm^{-1} (Fernández-Barranco, 2015; La Rubia, 2014; M.O. Rodrigues et al., 2018). Likewise, there is a zone of the spectrum that remains unaltered in most polymers even if they are exposed to the environment, which is usually found between 1450-1470 cm^{-1} . Within this range are the reference peaks to be considered for calculating the Carbonyl Index according to Eq (I). The relative level of photo-oxidation related to carbonyl groups can be expressed as low (CI between 0 and 0.15), medium (CI between 0.16-0.30) and high (CI >0.31) (Rodrigues et al., 2018).

Then, filters on the filtration system were stained with 1 ml of Nile Red pigment with a concentration of 0.01 mg/ml, following the procedure described by Prata et al., (2019). It was left to react for 5 minutes, and then the filters were washed with Milli-Q water and placed on Petri dishes again for drying. Once dried, they were examined using ultraviolet (UV) light at 254 nm which has been shown to fluoresce for the largest number of different polymers (Prata et al., 2019). Finally, photographs were taken with a professional camera and were then analyzed using the ImageJ software, which measured the sizes of each microplastic, taking as a reference the size of the filter (which is 47 mm in diameter) to make an estimation of the size. Then, microplastics were grouped in five size categories (<100; 100-200; 200-300; 300-500; >500 μm) (adapted from Simon-Sánchez et al., 2019).

2.5. Statistical analysis

All concentrations of microplastics have been expressed with median values and the interquartile range (IQR), as in some cases the data did not follow a normal distribution.

When the samples were processed and the results obtained, different types of statistical analyses were carried out with the SigmaPlot 12.0 plotting and statistics software. The type of analysis carried out depends on certain factors being satisfied, and in the present study the following analyses have been performed: one-way ANOVA for samples that followed a normal distribution; Kruskal-Wallis as equivalent to ANOVA for samples that did not follow a normal distribution and equality of variances; t-student for related samples that followed a normal distribution, when only two groups needed to be compared. An $\alpha=0.05$ was considered.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Visual and FTIR identification of microplastics

Visual recognition of the sediment *in situ* along the sampling on the three beaches allowed the identification of only 14 microplastics, which were collected with metal tweezers and stored for later analysis by FTIR (for polymer identification and carbonyl index calculation). A total of 6 particles were identified in La Herradura, 5 in La Rábida and 3 in Motril. With respect to the total area sampled in each beach (11 m²), the number of microplastics identified *in situ* would be equivalent to 0.56 particles/m² at La Herradura, 0.44 particles/m² at La Rábida and 0.28 particles/m² at Motril. The scarce presence of microplastics that can be visually identified is mainly due to the very thick sediment that characterizes these beaches, which makes the substrate very porous and easy to be constantly removed by the waves, so it is almost impossible for a particle to settle and remain there for some time (Bergillos et al., 2016). In addition, the density of the polymers (between 1.38 g/cm³ for PVC and 0.85 g/cm³ for PP) is much lower than the density of the sediments (which is between 2.5-2.9 g/cm³ depending on the mineral composition of the sediment) (King and Galvin, 2002; Sharma, 2019). This means that, with a thick sediment that moves very easily when it is hit by waves, a particle of lower density such as a polymer cannot stay on a surface for long.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

When the particles were analysed by FTIR a total of four different compositions were found: polyamide (PA), polypropylene (PP), polyethylene (PE) and polyethylene terephthalate (PET). Of the 14 particles found, 5 were composed of PE, 4 of PA, 4 of PP and one of PET. As the number of visually recognisable MPs on site was very low, the sampling line from which they originated was not taken into account. An example of the infrared spectrum of each of the polymers obtained can be seen in Figure 3, together with an example photograph of some of the microplastics analysed. To identify polymer type, infrared spectra of samples were compared to a library of spectra of reference materials, where the functional groups defining it could be easily identified (Chang et al., 2007; Pereira et al., 2017; Smith, 1998; Zięba-Palus, 2017).

The infrared spectra of PA, PE and PP showed peaks related to carbonyl groups in the region of 1730-1795 cm^{-1} , while the unaltered peaks were found between 1450-1475 cm^{-1} . The comparison of the absorbance of the carbonyl peaks with the absorbance of the reference peaks in the same sample reveals the photo-oxidation that these polymers may suffer when exposed to the weather. Carbonyl Index was not calculated for PET, because this polymer contained carbonyl groups in its pure condition and has a strong C=O bonds in 1730 cm^{-1} , which result in a high absorbance peak (Velandia-Cabra, 2017). According to the results presented in Table 1, PP was the polymer with the highest carbonyl index and, therefore, the highest degradation. However, according to the levels of degradation explained in section 2.4, PA and PE show low degradation (CI less than 0.15), while PP shows medium-low photo-oxidation (CI between 0.15-0.31).

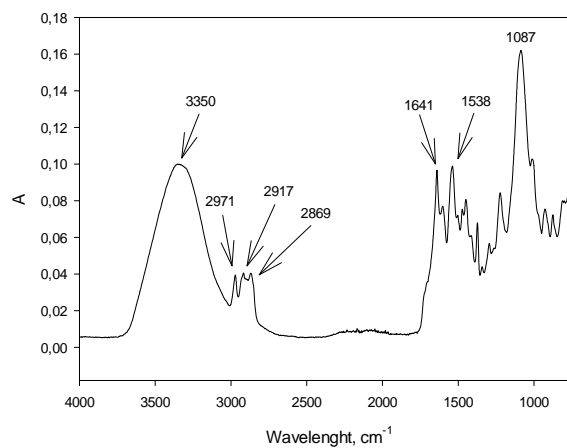
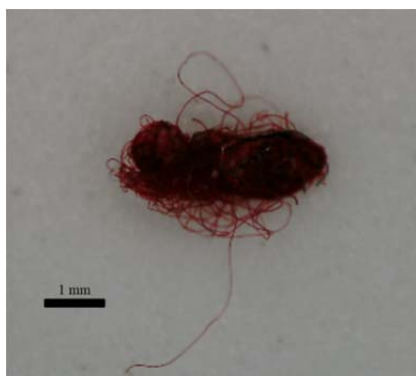
With regards to the size of these particles, they ranged from 3 to 11 mm (Fig. 3), which would no longer be considered a microplastic, but rather a mesoplastic.

Table 1. Calculation of Carbonyl Index for the polymers identified in the visually recognisable microplastics of the beaches of Granada.

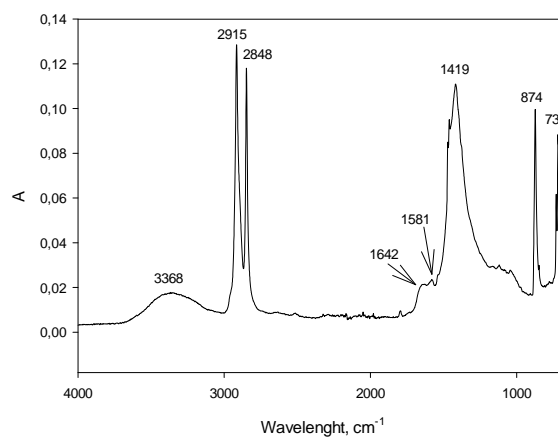
Parameter	PA	PE	PP
Carbonyl peak wavelength (cm^{-1})	1,777	1,794	1,731
Reference peak wavelength (cm^{-1})	1,450	1,471	1,455
Absorbance of carbonyl peak	0.0084	0.0096	0.0104
Absorbance of reference peak	0.0807	0.085	0.0638
CI*	0.10	0.11	0.16

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

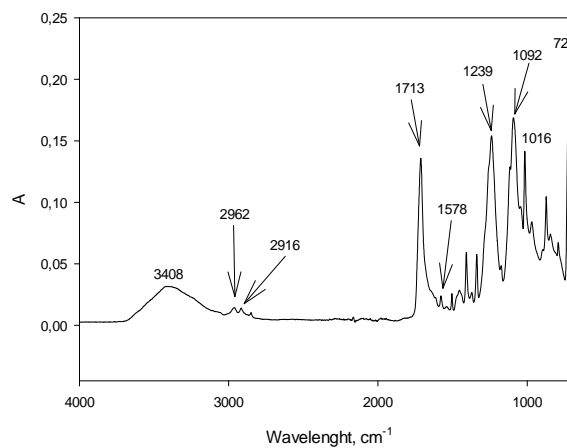
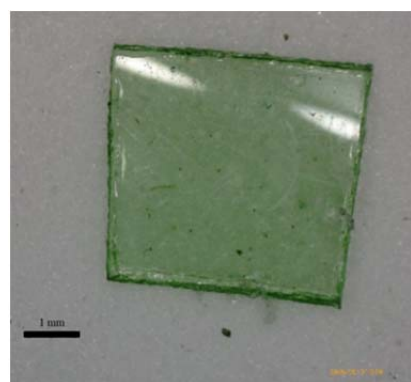
A) PA



B) PE



C) PET



D) PP

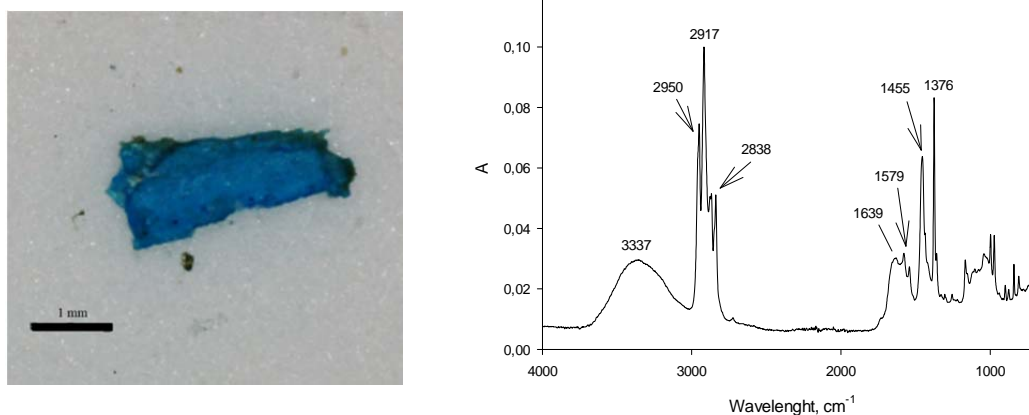


Figure 3. Example of some microplastics found in situ at the sampling site on the three analyzed beaches, and their corresponding infrared spectra. A) PA; B) PE; C) PET; D) PP.

3.2. Analysis and interpretation of the microplastics in sand samples

The beaches chosen on the coast of Granada to be analysed for microplastic contamination have some different characteristics from each other that can influence the distribution and concentration of this contamination (Table 2). Although the three beaches have the same type of sediment because they are affected by the Betic System, two of the characteristics that can influence are the type of beach (urban or non-urban) and the topology (open beach or enclosed beach). The nature of the beach has already been analysed by other authors to see its influence on contamination by microplastics (Bayo et al., 2019). These authors found a higher concentration of MPs in urban beaches than in natural or semi-natural beaches, but without significant statistical differences.

After analysis the filters stained with Nile Red in laboratory, a total of 400 microplastics of size <5 mm was observed, divided as follows: 189 particles in La Herradura, 128 particles in Motril and 83 particles in La Rábita. The results showed moderate contamination on the three beaches analysed, with a greater predominance of contamination on the beach of La Herradura (Table S1), while La Rábita obtained the least contamination by microplastics. Expressed as the median values, a total of 45.0 ± 24.7 , 31.5 ± 21.5 and 22.0 ± 23.2 particles/kg of dry sediment were obtained at La Herradura, Motril and La Rábita, respectively. If these results are compared with the characteristics of the beaches in Table 2, it is evident that there is more pollution on the enclosed beach than on the open beaches. However, there is no clear trend in the concentration of

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

microplastics between urban and non-urban beaches. This may be due to the fact that Motril is not considered an urban beach but is located near touristic recreational areas.

Table 2. *Main geomorphological characteristics of the beaches analysed on the coast of Granada (adapted from Ministerio de Medio Ambiente) and microplastic concentrations (medians±IQR) found in the current study.*

Beach	Beach nature	Type of sediment	Topology	Minimum width (m)	Maximum width (m)	Concentration (particles/kg)
La Herradura	Urban	Sand and gravel	Enclosed (bay type)	16	62	45.0±24.7
Motril	Not urban	Sand and gravel	Open (estuary type)	12	116	31.5±21.5
La Rábita	Urban	Sand and gravel	Open (estuary type)	20	65	22.0±23.2

The microplastics were collected along four different transects on each beach, divided as specified in section 2.2 of this article: L1 (wave breaker line), L2 (high tide line), L3 (supralittoral zone 1) and L4 (supralittoral zone 2), in order to see the influence of the distance to the sea on the distribution of microplastics. In La Herradura, lines 1 and 3 (wave breaker zone and supralittoral zone 1) presented the highest concentration of particles/kg. On the contrary, following this same criterion, Motril showed a higher concentration in lines 3 and 4, while La Rábita showed a higher concentration of particles in lines 1 and 4. This may be due to several factors, such as the morphology of the beach itself, the type of sea currents and winds affecting it or the proximity or distance of recurrent human activity. Figure 4 shows the distribution of microplastics per kg of dry sediment in each beach, comparing between the three selected beaches. At first glance, it should be noted that La Herradura is the one with the greatest contamination. There is not great dispersion in the data, as both the minimum and maximum values are close to the 1st (25%) and 3rd percentiles (75%). The beach where the data show the greatest disparity is La Rábita, with slightly differences between 25% and 50% of the samples. The Kruskal-Wallis test carried out to observe the differences in MPs pollution among beaches revealed no statistically significant differences ($H=2.999$; $p=0.223$). The influence of human activity and beach morphology has been statistically analysed and will be discussed later.

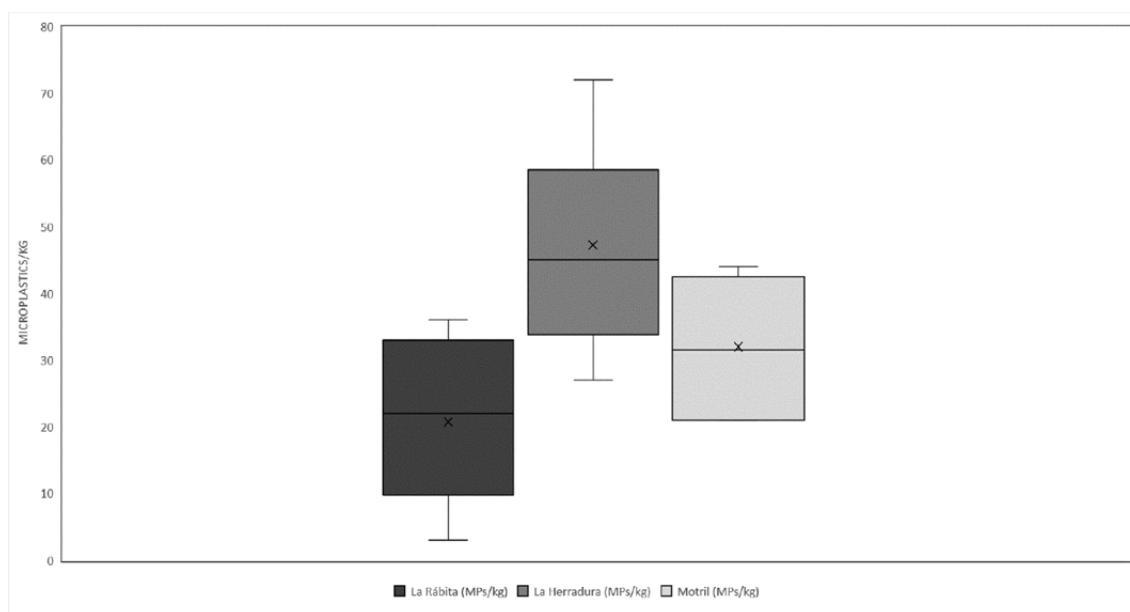


Figure 4. Concentration of microplastics in the three beaches analyzed. The X symbol indicates the average value ($n = 4$). The tails show both the maximum and minimum concentrations obtained, and the box represents the upper (75%) and lower (25%) quartiles.

Comparing the three beaches, La Rábita is the one with the least contamination by microplastics in general, despite being the one closest to urban areas (Fig. 2C) and also the one with the most contamination by macroplastics (mainly plastic bottles and bags). Although macroplastics are not the subject of this study, this incidence was also observed and photographs were taken of the various rubbish found along the beach (Table S2). Moreover, on the three beaches analysed, line 2 (high tide) was the one that showed the least pollution. The one-way ANOVA analysis carried out, which aimed to see the influence of the distance to the sea on the distribution of microplastics, obtained a F-snedecor factor of 0.566 and a p-value of 0.644, indicating that there is no clear relationship of the distance to the sea with the accumulation of microplastics (Table S3).

As for the morphologies present, fragments and small microspheres were found, the latter being much more abundant. In Table S2, the presence of these shapes can be compared among the different beaches analyzed, highlighting La Herradura as the one with the most microspheres (38.0 ± 23.7 particles/kg), while in Motril the highest number of fragments was found (6.0 ± 0.7 particles/kg). With regards to the line distribution, i.e. the influence of the proximity to the sea in the shape of MPs found, in Figure 5 it can be observed that the concentration of fragments is similar in all lines, whereas the concentration of microspheres is considerably lower in line 2 compared to the other lines. According to Browne et al., (2010), microplastics with irregular morphologies are

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

deposited significantly faster than spherical ones. In addition, line 2 is the high-tide line, which can undergo great daily variations in terms of accumulation in marine debris in general and microplastics in particular, as has already been demonstrated by several authors (Imhof et al., 2017b; Piehl et al., 2019). Since sampling on line 2 in this study was carried out just after the high tide peak, it is possible that the tide would have removed particles on that line instead of depositing them. These factors may explain the lower concentration of micro-plastics in general and of microspheres in particular on this line. The presence of the fragments is very homogeneous at any distance from the sea (Fig. 5), being a little more abundant in the area near the promenade and the urban activity. In any case, the microspheres are more abundant than the fragments, with percentages ranging from 78% to 92%.

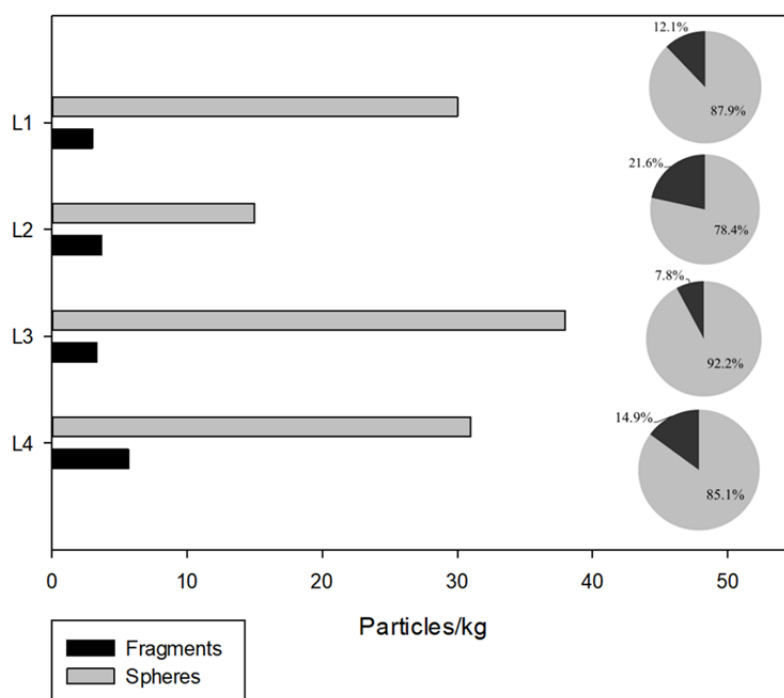


Figure 5. Concentration of fragments and microspheres found in the different transects analysed, expressed as median values of particles/kg and percentage of each shape per line (L1=wave breaker; L2=high tide; L3=supralittoral zone 1; L4=supralittoral zone 2, near the promenade).

The mentioned differences in the distribution of fragments with the distance to the sea are not statistically representative, since the results of the one-way ANOVA analysis for fragments obtained an F-snedecor value of 0.572 and a p-value of 0.649 (Table S2). Since $p > 0.05$, it can be considered that there is no effect of the distance to the sea on the fragment type morphology. The Kruskal-Wallis analysis was used to study the distribution

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

of spheres because a normal distribution of the data was not fulfilled. The results of this analysis also revealed that there were no statistically significant differences in the microspheres with the distance to the sea ($H=3.873$; $p=0.276$).

The t-student tests were carried out with the aim of observing the influence that the factors "nature of the beach" and "topology", defined according to Table 2, have on the distribution of microplastics. In the interaction of the microplastics with the nature of the beach a critical level of $p = 0.871$ was obtained (Table S4), much higher than 0.05, so it can be accepted that the two groups compared (urban beach and non-urban beach) do not differ in a statistically significant way in the distribution of the microplastics. The data reinforce the results from statistical analysis, since in urban beaches (La Herradura and La Rábita) the median value of fragments and microspheres found was 3.0 and 30.0 MPs/kg, respectively, while in the non-urban beach (Motril Beach) these concentrations were 6.0 and 27.0 MPs/kg.

The t-student test for the beach topology obtained a critical level of $p = 0.064$, also higher than 0.05, so it can be considered that the two groups compared (open deltaic system beach and bay beach) do not differ significantly from a statistical viewpoint in the distribution of microplastics (Table S5). The data obtained were median values of 4.0 and 5.0 fragments/kg for open beaches (Motril and La Rábita) and the enclosed beach (La Herradura), respectively. A higher median value of microspheres was obtained in the enclosed beach (38.0 microspheres/kg) than in the open beaches (23.5 microspheres/kg), but these are not significantly different from a statistical point of view.

With regards to the size of the microplastics analyzed, in general it can be concluded that more than 50% of the particles found in each line are smaller than 100 microns (Figure 6). There are other studies that also report similar sizes for the majority of microplastics found in beach sediments (Claessens et al., 2011; Hengstmann et al., 2018). Beyond that size, the most abundant were the MPs between 100 and 300 microns, especially in the wave breaker line. Similar sizes were also abundant on the line near the seafront. The size distribution between the different lines is homogeneous and follows a decreasing exponential trend (Fig. 6).

Due to this generalized trend between sampling lines, the Kruskal-Wallis analysis carried out revealed that there were no significant differences in the size distribution between lines 1-4 ($H=7.805$; $p=0.05$) (Table S5). In general, the microplastics analyzed in

this study have smaller sizes than those reported for beach sediments by other authors (Antunes et al., 2018; Dowarah and Devipriya, 2019; Sagawa et al., 2018; Simon-Sánchez et al., 2019). This may be due to increased friction and abrasion of the microplastics on the beaches of Granada caused by the large size of the sediment. Among the three beaches, La Rábita presented larger microplastic sizes than the other two, with a 30% of the total amount of particles in the size range of 100-200 microns. The Kruskal-Wallis analysis carried out also revealed no significant differences in the size distribution between beaches ($H=4.498$; $p=0.106$).

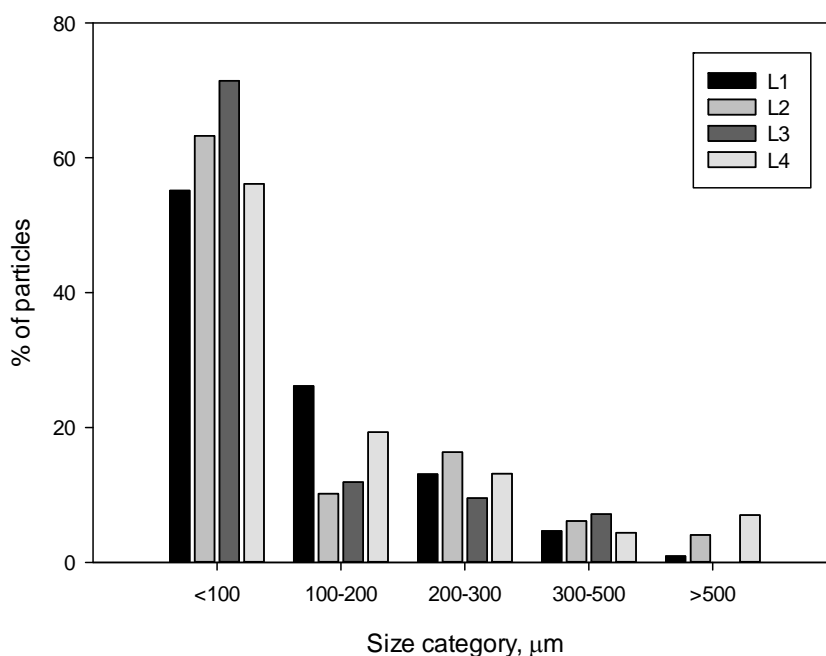


Figure 6. Comparison of the frequency of different size classes between the different beach lines analysed (L1=wave breaker; L2=high tide; L3=supralittoral zone 1; L4=supralittoral zone 2, near the promenade).

3.3. Comparison with other Mediterranean beaches and environmental implications

The concentrations of microplastics on beaches vary greatly in space, even within a single beach, and in time, throughout the year. Therefore, in order to have an accurate estimation of the microplastic contamination produced on a beach, it would be necessary to carry out samples during several consecutive years and in different seasons, for example spring and autumn. Likewise, it is difficult to identify the origin of microplastics on beaches, especially when it comes to particles as small as those obtained in this study.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

However, despite these challenges, there are some factors that may be critical in the distribution and origin of this pollution.

Both La Rábita and Motril are open beaches affected by marine delta systems (Table 2), which receive wind currents of between 3-6 m/s on average on days of regular weather, as were the sampling days, with maximum speed values of between 10-20 m/s (Puertos del Estado, n.d.). La Herradura is a beach enclosed by two cliffs, shaped like a bay, and also with finer sediment than Motril and La Rábita, although all are classified as sand and gravel. After consulting the historical data from (Puertos del Estado, n.d.), it was found that the wind conditions on La Herradura beach during that month were very similar to those of Motril and La Rábita. Another factor is the influence of the waves and currents. The wave information consulted shows that in La Herradura the average wave height in October 2018 was 1.08 m, while in Motril and La Rábita it was 0.8 m. This information, together with the geomorphology of the beach and its smaller sediment size, could justify the presence of more microplastics in La Herradura, which can be carried away by stronger waves and remain seated for longer, also conditioned by the enclosed beach morphology it has.

Another factor that may affect the concentration of pollution on these Mediterranean beaches is the configuration of marine currents typical of this sea. The existing climate in the Mediterranean means that this is a concentration basin that suffers from high evaporation and a chronic water deficit, which is only compensated by the entry of water from the Atlantic through the Strait of Gibraltar, a point that is about 200 km from the sampling area of this study. This main current that enters the Mediterranean is attached to the African coast due to the Coriolis force, and moves between the African coast and the coast of Almeria and Granada in the form of circular currents (Balbín et al., 2014). This maritime behaviour may also affect the dispersion of pollution, but further study focusing on this aspect would be necessary.

The quantities of microplastics obtained in this study are higher than those obtained by other authors for Mediterranean beaches (Table 3), as is the case of two beaches studied on Salamina Island (Greece), in which a total of 98 particles were obtained (Tziourrou et al., 2019), mostly composed of PE. On these beaches there was a greater presence of pellets, which was associated with nearby industrial activity. This could also apply to the beach of Motril, despite being classified as "non-urban", it is close

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

to the port of Motril. This port is home to more than 20 companies dedicated to the trade of diesel and gasoline, as well as cement and fertilizers.

The microplastics obtained are also greater than the results obtained in most Slovenian beaches analyzed by Korez et al., (2019), who reported an average concentration of 7.2 ± 1.9 MPs/kg with a maximum of 44.6 ± 6.0 MPs/kg in the month of March, compared to an average of 10.9 ± 6.0 MPs/kg with a maximum of 82.1 ± 21.0 MPs/kg in the month of August. In this study, most of the MPs obtained were smaller than 2 mm, which coincides with the beaches of Granada. Following the comparison in Mediterranean beaches, also the results obtained in this study were showed higher values than Greek beaches studied by Piperagkas et al., (2019), who reported average concentrations between 5 and 20 MPs/kg in almost all beaches except one.

The results are much lower than those found by Simon-Sánchez et al., (2019) in beaches of the Ebro delta, which were 422 ± 119 MPs/kg of dry sediment, or those reported by Yabanlı et al., (2019) who found up to 1,500 particles/kg of dry sediment in beaches of the Datça peninsula, affected by the intersection of the Mediterranean Sea and the Aegean Sea. In the study by Simon-Sánchez et al., (2019), which includes Spanish beaches, authors found more fragments in the river waters than in the sediments themselves, a sign once again of the spatial variability present in microplastics. The amounts obtained in the present study are also much lower than those found by Alomar et al., (2016) on beaches on the islands of Mallorca and Cabrera (Balearic Islands, Spain). In that study, the MPs found varied from 100.78 ± 55.49 MPs/kg of dry sediment to 897.35 ± 103.31 MPs/kg, in areas far away from densely populated areas. Laglbauer et al., (2014) reported average values of 133 MPs/kg in the wave breaker area on Slovenian beaches, which is much higher than the data obtained for Line 1 in this study.

Table 3. Concentrations of microplastics found in Mediterranean beach sediments.

Location	Concentration (MPs/kg d.w)	Predominant shapes	Extraction method	Filter pore size (μm)	Reference
Coast of Granada (Spain)	20-48	Fragments and spheres	Density separation	1.2	Present study
Psili Ammos beach (Salamina Island, Greece)	62	Pellets and fragments	Density separation	n.d.	Tziourrou et al., 2019
Kanakia (Salamina Island, Greece)	36	Pellets and fragments	Density separation	n.d.	Tziourrou et al., 2019
Slovenian beaches	7-82	Fibres and films	Density separation	100	Korez et al., 2019
Beaches in Northern Crete (Greece)	5-25	Fibres and fragments	Fluidization and flotation	42	Piperagkas et al., 2019
Sandy beaches in Ebro River Delta (Spain)	422	Fibres and fragments	Density separation	0.7	Simón-Sánchez et al., 2019
Coastline of Datça Peninsula (Slovenia)	592-2,072	Fragments	Density separation	0.7	Yavanli et al., 2019
Mallorca and Cabrera (Balearic Islands)	100-897	Filaments and fragments	Density separation	n.d.	Alomar et al., 2016
Coastal area of the Mar Menor lagoon (Spain)	8-166	Fragments and films	Density separation	0.45	Bayo et al., 2019
Slovenian beaches	133-155	Fibres	Density separation	250	Laglbauer et al., 2014

Recently, Bayo et al., (2019) sampled and studied the presence of microplastics on beaches and sediments in the Mar Menor, obtaining concentrations ranging from 8 to more than 160 MPs/kg, with an average concentration of 53 particles/kg, slightly higher than the results obtained in this study. Another interesting aspect to consider is the pore size of the filters used in the different studies (Table 3). The studies that found high amounts of microplastics were those that used filters with very small pore size (0.7 microns). The study by Laglbauer et al, (2014) obtained a considerable number of MPs using a very large pore size filter, but the authors stated that more than 70% of the MPs found were larger than 1 mm. This may be due to the pore size of the filter (250 μm).

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Something similar occurs in the study by Alomar et al., (2016), which despite not reporting the pore size used, stated that all the MPs found were larger than 0.5 mm. In the present study a very small pore size was used (1.2 microns) and more than 50% of the microplastics found were smaller than 100 microns. However, relatively low quantities were found as in other Spanish beaches (Alomar et al., 2016; Bayo et al., 2019; Simon-Sánchez et al., 2019). This indicates that it is important to use a filter with the smallest possible pore size, but also indicates that the beaches of Granada are not as polluted as other Spanish beaches.

Following the comparison with other Spanish beaches, CEDEX (Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas) has been collaborating since 2014 in the Monitoring Programme for Microparticles on beaches, within Subprogramme BM-6, belonging to the Monitoring Programme organised in accordance with the Framework Directive on Marine Strategy (2008/56/EC) (CEDEX, 2018). Within this programme, the following beaches analyzed are in contact with the Mediterranean Sea: Las Azucenas (municipality of Motril, Granada), San Miguel in Cabo de Gata (Almería), La Llana in San Pedro del Pinatar (Murcia), Marenys in Tavernes de Valldigna (Valencia), Cal Francés in Viladecans (Barcelona) and La Pineda, in Vila Seca (Tarragona). In the 2018 autumn sampling campaign, the same year in which the sampling of the present study was carried out, concentrations of MPs higher than those obtained in this study were obtained for the beaches of Cal Francés (47 particles/kg) and La Pineda (199 particles/kg).

On the contrary, the number of MPs found at Las Azucenas beach in Motril was much lower (10 particles/kg) than that reported in this study for Motril beach (32 particles/kg), even for the same year of sampling and the same municipality. In terms of morphology, fragments and pellets were the most detected.

However, as the CEDEX report itself informed, the coast of Granada is the most peculiar of the Spanish Mediterranean due to its geomorphological characteristics (Bergillos et al., 2016). Its granulometric conditions are not the most suitable for this type of sampling and study, as the beaches have been deteriorating to such an extent that it is currently impossible to find a sandy sediment in the area of the breaker line and it is mainly made up of gravel. Such conditions, which are indicative of a significant erosive action of the waves, are not suitable for the microplastic particles that could be transported by the sea to be deposited on the beach. If the sand particles, of much higher density, do not remain there in a stable manner, the less likely microplastic particles will

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

be retained. This would explain why in the present study hardly any large microplastics were found on the three beaches (only the 14 described in section 3.1) and only particles smaller than 2 mm, whose occurrence and distribution may be much more random. It would also explain the differences in the number of particles found by the CEDEX team compared to those in this study, even if it is the same year and the same season as the sampling.

In addition, this area has another peculiarity that makes it interesting to study in depth the pollution by macro, meso and micro plastics, such as the massive use of agricultural plastics for greenhouses and phytosanitary containers, which generates large amounts of waste that are not always managed correctly and that can undoubtedly lead to greater pollution of beaches (Junta de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente, 2019). The common plastic types used in agriculture are low-density polyethylene, high-density polyethylene, polypropylene, and high-strength polystyrene. This information is consistent with the particles found *in situ* in this study, with regards to polyethylene and polypropylene. Therefore, given the absence of any notable industrial activity in the areas studied (except the port of Motril) and the presence of intense agricultural activity, it is possible that most of the granular fragments and particles found in this study come from the degradation of macroplastics used in agriculture.

Due to the controversy generated by all these factors and the difficulties already exposed to consider the existing contamination in the Granada coast and the abundance of microplastics, the authors consider it essential to continue carrying out studies of contamination by plastics and micro-plastics in this area, deepening in all these geomorphological aspects and of human activity.

4. CONCLUSIONS

On the three beaches analysed (La Herradura, Motril Beach and La Rábita), moderate contamination by microplastics was found, with La Herradura being the most contaminated (189 particles in total, a median concentration of 45.0 ± 24.7 particles/kg d.w.) and La Rábita the less contaminated (83 particles in total, a median concentration of 22.0 ± 23.2 particles/kg d.w.). These data revealed a higher contamination by microplastics in an enclosed bay-type beach (La Herradura) in comparison with open delta-type beaches, although no statistically significant differences between beaches were found. On the three beaches, the high tide line was the least contaminated, while on the other three

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

transects the distribution was homogeneous. This may be related to do the sampling after the high tide peak, as the tide may remove the particles present.

The most common morphologies were fragments and granules of sizes <100 microns (approximately 55-75% of particles), 100-200 microns (15-25%) and 200-300 microns (<20%). The predominance of size less than 100 microns could be related to increased friction and abrasion of the microplastics caused by the large size of the sediment. Compared with other Mediterranean beaches, Granada's beaches showed a higher contamination by MPs than those found in Greek or Slovenian beaches, for example. On the contrary, they presented lower pollution than many other coastal sites in Spain, such as the Catalan coast, the Mar Menor coast or the coast of the Balearic Islands.

Despite the differences between beaches shown in the data, there is no clear and significant relationship from a statistical point of view between the accumulation of microplastics and the geomorphological characteristics of the beaches, such as the distance to the sea, the type of the beach (enclosed bay or open delta) and the urban or natural character of the beaches. However, the distribution of microplastics can vary spatially and temporally. Therefore, it would be important in future studies to monitor these beaches more continuously and thoroughly over time and to provide more information regarding the type of plastic contamination on them.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to FCT/MCTES for the financial support [UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020], through national funds. This work was also funded by Portuguese Science Foundation (FCT) through scholarship [PD/BD/135581/2018] under POCH funds, co-financed by the European Social Fund and Portuguese National Funds from MEC. Finally, this work was also supported by Fundación CEI•MAR through movility program “Ayudas de Movilidad Internacional para Estudiantes de Doctorado”, financed by the Secretaría General de Universidades, Investigación y Tecnología de la Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad de la Junta de Andalucía.

REFERENCES

- Agencia Andaluza de la Energía, 2010. Anexo 2. Descripción del medio físico.
- Alomar, C., Estarellas, F., Deudero, S., 2016. Microplastics in the Mediterranean Sea: Deposition in coastal shallow sediments, spatial variation and preferential grain size. *Mar. Environ. Res.* 115, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.01.005>
- Antunes, J., Frias, J., Sobral, P., 2018. Microplastics on the Portuguese coast. *Mar. Pollut. Bull.* 131, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.025>
- Balbín, R., López-Jurado, J.L., Flexas, M.M., Reglero, P., Vélez-Velchí, P., González-Pola, C., García, A., Alemany, F., 2014. Interannual variability of the early summer circulation around the Balearic Islands: Driving factors and potential effects on the marine ecosystem. *J. Mar. Syst.* 138, 70–81.
- Bayo, J., Rojo, D., Olmos, S., 2019. Abundance, morphology and chemical composition of microplastics in sand and sediments from a protected coastal area: The Mar Menor lagoon (SE Spain). *Environ. Pollut.* 252, 1357–1366. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.024>
- Bergillos, R.J., Ortega-Sánchez, M., Masselink, G., Losada, M.A., 2016. Morpho-sedimentary dynamics of a micro-tidal mixed sand and gravel beach, Playa Granada, southern Spain. *Mar. Geol.* 379, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2016.05.003>
- Besley, A., Vijver, M., Behrens, P., Bosker, T., 2017. A standardized method for sampling and extraction methods for quantifying microplastics in beach sand. *MPB* 114, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.055>
- Browne, M.A., Galloway, T.S., Thompson, R.C., 2010. Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3404–3409. <https://doi.org/10.1021/es903784e>
- CEDEX, 2018. Apoyo técnico en las estrategias marinas. Programa de seguimiento de micropartículas en playas (BM-6) - 2018.
- Chang, C.-W., Liou, G.-S., Hsiao, S.-H., 2007. Highly stable anodic green electrochromic aromatic polyamides: synthesis and electrochromic properties. *J. Mater. Chem.* 17, 1007–1015. <https://doi.org/10.1039/b613140a>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Cincinelli, A., Martellini, T., Guerranti, C., Scopetani, C., Chelazzi, D., Giarrizzo, T., 2019. A potpourri of microplastics in the sea surface and water column of the Mediterranean Sea. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 110, 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.026>

Claessens, M., Meester, S. De, Van Landuyt, L., Clerck, K. De, Janssen, C.R., 2011. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2199–2204. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>

Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J.I., Ubeda, B., Gálvez, J., Irigoien, X., Duarte, C.M., 2015. Plastic accumulation in the mediterranean sea. *PLoS One* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121762>

De Falco, F., Gullo, M.P., Gentile, G., Di Pace, E., Cocca, M., Gelabert, L., Brouta-Agnésa, M., Rovira, A., Escudero, R., Villalba, R., Mossotti, R., Montarsolo, A., Gavignano, S., Tonin, C., Avella, M., 2018. Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environ. Pollut.* 236, 916–925. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.057>

Dowarah, K., Devipriya, S.P., 2019. Microplastic prevalence in the beaches of Puducherry, India and its correlation with fishing and tourism/recreational activities. *Mar. Pollut. Bull.* 148, 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.066>

Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ. Sci. Eur.* 28, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

Fernández-Barranco, C., 2015. Caracterización de nanocomposites poliamida 66/sepiolita y su comportamiento tras la degradación. Universidad de Jaén.

Hengstmann, E., Tamminga, M., vom Bruch, C., Fischer, E.K., 2018. Microplastic in beach sediments of the Isle of Rügen (Baltic Sea) - Implementing a novel glass elutriation column. *Mar. Pollut. Bull.* 126, 263–274. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.010>

Imhof, H.K., Sigl, R., Brauer, E., Feyl, S., Giesemann, P., Klink, S., Leupolz, K., Löder, M.G.J., Löschel, L.A., Missun, J., Muszynski, S., Ramsperger, A.F.R.M., Schrank, I., Speck, S., Steibl, S., Trotter, B., Winter, I., Laforsch, C., 2017. Spatial and temporal variation of macro-, meso- and microplastic abundance on a remote coral island of the Maldives, Indian Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.010>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

INE, 2019. Granada: Población por municipios y sexo [WWW Document]. URL <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=2871> (accessed 2.25.20).

Junta de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente, A. y P., 2019. Plan Director Territorial de Gestión de Residuos no Peligrosos de Andalucía 2010-2019.

Karlsson, T.M., Arneborg, L., Broström, G., Almroth, B.C., Gipperth, L., Hassellöv, M., 2018. The unaccountability case of plastic pellet pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 129, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.041>

Kazmiruk, T.N., Kazmiruk, V.D., Bendell, L.I., 2018. Abundance and distribution of microplastics within surface sediments of a key shellfish growing region of Canada. *PLoS One* 13, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225945>

King, D.B., Galvin, C.J., 2002. Chapter 1. Coastal sediment properties. p. 45.

Korez, Š., Gutow, L., Saborowski, R., 2019. Microplastics at the strandlines of Slovenian beaches. *Mar. Pollut. Bull.* 145, 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.054>

La Rubia, M.D., 2014. Estudio de la influencia de la exposición ultravioleta en el deterioro del polipropileno virgen y reciclado, in: CONAMA. Madrid, Spain, p. 9.

Laglbauer, B.J.L., Franco-Santos, R.M., Andreu-Cazenave, M., Brunelli, L., Papadatou, M., Palatinus, A., Grego, M., Deprez, T., 2014. Macrodebris and microplastics from beaches in Slovenia. *Mar. Pollut. Bull.* 89, 356–366. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.036>

Maes, T., Van der Meulen, M.D., Devriese, L.I., Leslie, H.A., Huvet, A., Frère, L., Robbens, J., Vethaak, A.D., 2017. Microplastics baseline surveys at the water surface and in sediments of the North-East Atlantic. *Front. Mar. Sci.* 4, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00135>

Morris, R.J., 1980. Floating plastic debris in the Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 11, 125. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0025-326X\(80\)90073-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0025-326X(80)90073-9)

Novotna, K., Cermakova, L., Pivokonska, L., Cajthaml, T., Pivokonsky, M., 2019. Microplastics in drinking water treatment - Current knowledge and research needs. *Sci. Total Environ.* 667, 730–740. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.431>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Obbard, R.W., Sadri, S., Wong, Y., Khitun, A.A., Baker, I., Thompson, R.C., 2014. Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. *Earth's Futur.* 2, 315–320. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/2014EF000240>

Pereira, A.P. dos S., Prado da Silva, M.H., Pereira Lima, É., Paula, A. dos S., Tommasini, F.J., 2017. Processing and Characterization of PET Composites Reinforced With Geopolymer Concrete Waste. *Mater. Res.* 20, 411–420. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2017-0734>

Piehl, S., Mitterwallner, V., Atwood, E.C., Bochow, M., Laforsch, C., 2019. Abundance and distribution of large microplastics (1–5 mm) within beach sediments at the Po River Delta, northeast Italy. *Mar. Pollut. Bull.* 149, 110515. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110515>

Piperagkas, O., Papageorgiou, N., Karakassis, I., 2019. Qualitative and quantitative assessment of microplastics in three sandy Mediterranean beaches, including different methodological approaches. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 219, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.016>

Prata, J.C., da Costa, J.P., Girão, A. V., Lopes, I., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019a. Identifying a quick and efficient method of removing organic matter without damaging microplastic samples. *Sci. Total Environ.* 686, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.456>

Prata, J.C., Reis, V., Matos, J.T.V., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019b. A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT). *Sci. Total Environ.* 690, 1277–1283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.060>

Puertos del Estado, n.d. Puertos del Estado. Predicción del oleaje y nivel del mar.

Rodrigues, M.O., Abrantes, N., Gonçalves, F.J.M., Nogueira, H., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M., 2018. Spatial and temporal distribution of microplastics in water and sediment of freshwater system (Antua River, Portugal). *Sci. Total Environ.* 633, 1549–1559. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.233>

Sagawa, N., Kawai, K., Hinata, H., 2018. Abundance and size of microplastics in a coastal sea: Comparison among bottom sediment, beach sediment, and surface water. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 532–542. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.036>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Shahul Hamid, F., Bhatti, M.S., Anuar, Norkhairiyah, Anuar, Norkhairah, Mohan, P., Periathamby, A., 2018. Worldwide distribution and abundance of microplastic: How dire is the situation? *Waste Manag. Res.* 36, 873–897. <https://doi.org/10.1177/0734242X18785730>

Sharma, R., 2019. Experimental analysis of microplastics in beach sediment samples by density separation and microscopic examination.

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

Smith, B.C., 1998. Infrared spectral interpretation. A systematic approach. CRC Press.

Tziourrou, P., Megalovasilis, P., Tsounia, M., Karapanagioti, H.K., 2019. Characteristics of microplastics on two beaches affected by different land uses in Salamina Island in Saronikos Gulf, east Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 149, 110531. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110531>

Velandia-Cabra, J.R., 2017. Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja. *Rev. Ontare* 5, 115–140. <https://doi.org/https://doi.org/10.21158/23823399.v5.n0.2017.2005>

Woodall, L.C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G.L.J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A.D., Narayanaswamy, B.E., Thompson, R.C., 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. *R. Soc. Open Sci.* 1. <https://doi.org/10.1098/rsos.140317>

Yabanlı, M., Yozukmaz, A., Şener, İ., Ölmez, Ö.T., 2019. Microplastic pollution at the intersection of the Aegean and Mediterranean Seas: A study of the Datça Peninsula (Turkey). *Mar. Pollut. Bull.* 145, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.003>









Zięba-Palus, J., 2017. The usefulness of infrared spectroscopy in examinations of adhesive tapes for forensic purposes. *Forensic Sci. Criminol.* 2. <https://doi.org/10.15761/fsc.1000112>

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Compiled data resulting from sampling of microplastics in three beaches from the coast of Granada, Spain.

Beach	Sampling line	Fragments/kg d.w.	Spheres/kg d.w.	Total number of particles/kg d.w.
La Herradura	L1	8	46	54
	L2	4	23	27
	L3	2	70	72
	L4	6	30	36
	Median	5.0	38.0	45.0
	IQR	3.0	23.7	24.7
Motril	L1	3	18	21
	L2	6	15	21
	L3	6	38	44
	L4	6	36	42
	Median	6.0	27.0	31.5
	IQR	0.7	19.2	21.5
La Rábita	L1	2	30	32
	L2	1	2	3
	L3	2	10	12
	L4	5	31	36
	Median	2.0	20.0	22.0
	IQR	1.0	22.2	23.2

Table S2. Examples of macroplastic waste found on the three beaches analysed.

LA RÁBITA	
	
	
LA HERRADURA	
	
MOTRIL	
	

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table S3. One-way ANOVA and Kruskal-Wallis parameters obtained between the dependent variable "Microplastics" (also divided into fragments and spheres) and the factors "Lines" and "Beach".

Analysis	Dependent variable	Origin	F-Snedecor/H-Kruskal-Wallis	Significance	Squared partial Eta
One-way ANOVA	Microplastics	Lines	0.566	0.644	0.078
	Fragments	Lines	0.572	0.649	0.177
Kruskal-Wallis	Spheres	Lines	3.873	0.276	-
	Microplastics	Beach	2.999	0.223	-

Table S4. T-student for related samples performed for beach nature (urban/non-urban) and topology (open beach/enclosed beach).

Dependent variable	Cluster variable	t-value	Sig.
N° of Microplastics	Nature	0.167	0.871
	Topology	2.081	0.064

Table S5. Kruskal-Wallis analysis carried out to observe significant differences in the distribution of size classes between sampling lines and between beaches.

Dependent variable	Origin	H Kruskal-Wallis	Sig.
N° of Microplastics	Lines	7.805	0.05
	Beaches	4.498	0.106

THE POTENTIAL OF MICROPLASTICS AS CARRIERS OF METALS

Authors: V. Godoy*; G. Blázquez; M. Calero; L. Quesada; M.A. Martín-Lara

¹Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain. Email address: vgcalero@ugr.es; gblazque@ugr.es; mcaleroh@ugr.es; lucia9s@ugr.es; marianml@ugr.es

ABSTRACT

Microplastics can adsorb chemical pollutants such as metals or pharmaceuticals, and transferred them along the food chain. In this work, an investigation of the adsorption of Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn by five different types of microplastics was performed in Milli-Q water and natural waters (seawater, urban wastewater and irrigation water) via a series of batch adsorption experiments. The effects of concentration of metals and physicochemical characteristics of polymers were particularly studied. Results revealed a significant adsorption of lead, chromium and zinc on microplastics, especially on polyethylene and polyvinyl chloride. In the case of polyethylene terephthalate, it showed little adsorption capacity. Specific surface, porosity and morphology are characteristics that affect the molecular interactions. The adsorption isotherms were better described by Langmuir model, which indicates that the main adsorption mechanism might be chemical adsorption. Finally, results obtained in natural waters indicated that dissolved organic matter may play a major role on metal adsorption on microplastics. Results showed an enhancement of metal adsorption in waters with high chemical and biological oxygen demands as urban wastewater and irrigation water.

Main finding of the work: PE, PP, PS and PVC showed high potential as metal carriers. Combination of all properties of polymers influences the adsorption behavior. Higher adsorption was found in natural water with high organic matter content.

Keywords: *Adsorption; Isotherms; Metals; Microplastics; Natural waters*

1. INTRODUCTION

Plastic has become an indispensable material in people's lives and is used in almost all sectors: packaging, construction, automotive, medicine, agriculture, etc. Plastic production has increased exponentially since the 1960s, reaching 335 million tonnes in 2016 (PlasticsEurope, 2018). The generation of plastic waste has increased in the same way, and poor management causes most waste to end up in landfills or dispersed in the form of marine waste (Geyer et al., 2017). Each year 8 million tonnes of waste are dumped into the sea, of which 80% is plastic (UNEP, 2016).

Microplastics (MPs), plastic fragments <5 mm in size, can be primary, if they are intentionally added to certain products such as cosmetics, ship paints, sandblasting for building cleaning, etc., or secondary, if they come from the physical and chemical degradation of larger plastic wastes (Cole et al., 2011; Duis and Coors, 2016; Godoy et al., 2019; Sundt et al., 2014). A significant environmental problem caused by microplastics is ingestion by marine organisms when confused with plankton (Egbeocha et al., 2018; Mrosovsky et al., 2009; Sleight et al., 2017). Numerous studies have detected the presence of microplastics in the digestive tract of many marine species, such as molluscs, cetaceans, bivalves, pinnipeds and even zooplankton (Botterell et al., 2019; de Sá et al., 2018; Gallo et al., 2018; Nelms et al., 2019). These studies have shown that almost all commonly used polymers can be ingested by organisms, especially polyethylene and polystyrene.

Furthermore, contaminants carried by microplastics may be transported along the food chain until they reach humans (Carbery et al., 2018). Among the chemical substances present in microplastics are those added during their manufacture (additives) and those present in water that are adsorbed on the surface of microplastics, such as persistent organic pollutants, pharmaceuticals, pesticides or herbicides, or metals. Among pollutants that microplastics can accumulate, metals as chromium, copper, nickel, lead and zinc have been widely studied (Brennecke et al., 2016; Dobaradaran et al., 2018; Hodson et al., 2017; Holmes, 2013; Saeedi et al., 2018). Also, some metals are frequently added as catalysts, pigments and stabilizers during plastic manufacturing (Fahrenfeld et al., 2019; Nakashima et al., 2012).

Numerous studies have demonstrated the capacity of microplastics to adsorb chemical substances that are frequent in seawater or in wastewater from treatment plants (Bakir et al., 2014; Bayo et al., 2017; Brennecke et al., 2016; Guo et al., 2018; Li et al., 2018;

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Llorca et al., 2018). This implies a high risk for marine fauna that eat them, i.e. negative effects on feeding behaviour, reproduction and growth of organisms (Anderson et al., 2016; Botterell et al., 2019). In the case of humans, it is presumed that long term exposure to ingestion of contaminated particles may potentially lead to chronic toxicity effects (Brennecke et al., 2016).

Some studies have shown the presence, high in some cases, of metals in microplastics found in different natural environments. These metals can be incorporated on plastics during the plastic production as metal additives to enhance its properties and as a consequence of adsorption of metals existing in aquatic environments. Al, Fe, Sn, Mn or Cr were the most abundant metals in microplastics from beached sediments on the English coast (Ashton et al., 2010), along the coast of the Persian Gulf, in Iran (Dobaradaran et al., 2018) or in sediments and seawater off the coast of Egypt (Ghani, 2015). The presence of Zn and Cu, which are toxic at high concentrations, and other more dangerous metals such as Pb or As, has also been demonstrated at various points along the coast of China, as well as in the Mediterranean Sea (Wang et al., 2012; Wang et al., 2018; Zhao et al., 2018).

These metals may have a natural source, such as weathering and wear of rocks that contain them, soil erosion or dragging by rainwater, or they may have an anthropogenic origin (Brennecke et al., 2016; Harikrishnan et al., 2017). Major anthropogenic sources of metals in the marine environment are industrial and urban wastewaters, sewage effluents, agricultural runoff, ports, marinas, and antifouling coatings on boats and ships (Sundt et al., 2014).

The adsorption capacity of microplastics is a recent issue and there are some countries in which its study has not been expanded, as is the case of Spain. Each polymer behaves differently when exposed to water pollutants such as metals. Its adsorption capacity may be influenced by its own physical-chemical characteristics, such as morphology, specific surface or the presence of additives. It also varies according to the properties of the aqueous medium in which they are found, such as pH, the presence of organic matter or other ions in solution (Murphy et al., 2016).

Based on this hypothesis, in the present study tests were carried out in order to investigate the kinetics and adsorption equilibrium of some metals on microplastics, simulating four different environments and using the most common polymers currently

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

used in people's lives, which therefore represent the bulk of plastic waste abandoned. The main novelty of this study is the use of different natural waters to study the interaction between microplastics and metals. Most studies focus on seawater or urban wastewater, but there are few studies that have demonstrated the presence of trace metals in irrigation water for agriculture, and even less the interactions of microplastics with those metals in irrigation water, which will be done in the present study.

Some of the most dangerous and abundant trace metals in coastal areas, already mentioned, were chosen. Also, other more novel metals in this type of studies (Ni and Co) were chosen, whose behaviour towards microplastics has been poorly studied. In the coming years, it is estimated that Spain will be the main producer of these metals for the manufacture of batteries for electric cars. The objectives were: 1) to check which polymers adsorb the widest variety of metals and quantify the maximum concentration that each type of polymer can adsorb; 2) to observe how fast each polymer adsorbs each metal; 3) to evaluate how the structure and properties of the microplastics affect the adsorption capacity, 4) to analyze influence of environment (Milli-Q water, seawater, urban wastewater, irrigation water) in adsorption behavior of polymers.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Five polymers named as “commodities” by the Plastic Industries Society (SPI) were chosen, as they are the most frequent in daily use objects, and are identified with a number within a triangle at the bottom of the container. These polymers were: polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), polypropylene (PP), polystyrene (PS) and polyvinyl chloride (PVC). They all came from daily objects already converted into waste except PE, which came from recycled pellets. PET came from a bottle, PP from fruit boxes, PS from an egg cup and PVC from an irrigation pipe. All of them were shredded into <5 mm fragments, with irregular shapes and thicknesses, as found in the natural environment.

Seven metals were then chosen: Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn, which present risks to the environment and can come from multiple anthropogenic sources. For this purpose, standard solutions of 1000 mg L⁻¹ were purchased for the selected metals. Finally, the tests were carried out in four different environments: Milli-Q water, Mediterranean seawater

from the coast of Granada (Spain), wastewater from an urban wastewater treatment plant in Granada (Spain) and irrigation water from the fertile plain of Granada (Spain).

2.2. Methods

2.2.1. Characterization of microplastics

A complete analysis of the main characteristics of the selected microplastics was carried out. Specific surface was measured by the Brunner-Emmet-Teller (BET) method, while porosity was analyzed by porosimetry based on the calculation of adsorption-desorption isotherms with nitrogen and argon, using ASAP 2420 equipment. Point of zero charge (PZC) was determined using the pH drift method, by adjusting pH of 100 mL of Milli-Q water with microplastics to a value between 2 and 11, using 0.1 mol L⁻¹ NaOH solution and 0.1 mol L⁻¹ HCl (Jiao et al., 2017). Chemical composition was determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) using a Perkin Elmer Spectrum 65 spectrometer. Finally, SEM/EDS analysis was conducted on microplastics using environmental scanning electron microscopy through Quanta650F equipment with Cryostat and a Thermo Fisher Scientific Noran System 7 EDS System in order to provide high resolution imaging of particle surface structures, as well as elemental composition signatures.

2.2.2 Experiments in Milli-Q water

The adsorption kinetics tests were performed in Milli-Q water. For this purpose, five solutions of 1 ppm were obtained from each stock solution using 100 mL volumetric flasks, one for polymer type. 0.1 g of PE, PET, PP, PVC and PS, respectively, were placed in each 1 ppm solution, respecting a plastic-water ratio of 1:10. These solutions were placed in a rotatory shaker model R4-H DE Rotator HD from OVAN® at 5 rpm for 14 days, taking a sample every 24 hours. The experiment was duplicated for each metal. A previous control test without plastics was carried out with metal solutions to check that there was no metal adsorption by the flasks and there was no precipitation of metals. Afterwards, another control test was made, putting only plastic in the water (without metals), to check that the plastics did not release the chosen metals.

The blank vials containing metals without microplastics were subjected to the same procedure. The samples were kept refrigerated and, subsequently, the concentration of metal present in the water in each sample was measured using Perkin-Elmer AAnalyst 200

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

atomic absorption equipment. The loss of metals during sorption tests were then determinate using the following equation:

$$q_e = \frac{(C_i - C_e)}{m} \cdot V \quad (1)$$

Where q_e is the equilibrium adsorption capacity of each metal on the adsorbent (mg g^{-1}); C_i is the initial concentration of the metal (mg L^{-1}) in the aqueous phase; C_e is the equilibrium concentration of each metal (mg L^{-1}) in the aqueous phase; m is the mass of microplastic, and V is the sample volume (L).

Adsorption equilibrium tests (isotherms) were carried out with the metals whose adsorption on the plastic after the contact time was greater than 0.2 mg g^{-1} . Milli-Q water solutions were prepared for each metal and polymer using seven different concentrations, in order to ensure that equilibrium is reached. The selected concentrations were 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 and 32 ppm, in 100 mL volumetric flasks. 0.1 g of plastic was added to each solution and placed in the rotary shaker at 5 rpm for 2 weeks, taking one sample every 7 days. A control of pH during adsorption was performed to avoid an increase of pH of solution to prevent metal precipitation. Particularly, pH was kept below 6.3. The samples were kept refrigerated and, subsequently, the concentration of metal present in the water of each sample was measured by atomic absorption spectroscopy.

The isotherms corresponding to each metal were represented with the data obtained, applying the Langmuir and the Freundlich models. Langmuir's model assumes that the adsorption is monomolecular; the solute and solvent in the adsorption layer are two-dimensional ideal solution, sorption of the sorbate molecule occurs at a specific site of the sorbent (Figuerola et al., 2015). This model is represented by the following equation (2):

$$q_e = \frac{bq_m C_e}{1 + bC_e} \quad (2)$$

Where q_e is the equilibrium adsorption capacity of each metal on the adsorbent (mg g^{-1}); C_e is the equilibrium concentration of each metal (mg L^{-1}) in the aqueous phase; q_m is the maximum adsorption capacity of the adsorbent (mg g^{-1}); b is the Langmuir constant associated with the adsorption rate (L mg^{-1}).

On the other hand, Freundlich model is an empirical adsorption model based on the assumption that the sorption process occurs on the heterogeneous surface of a sorbent,

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

which is applicable to both monolayer and multilayer sorption (Figueroa et al., 2015). It is represented by the following equation (3):

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (3)$$

Where k_f ($\text{mg}^{(n-1)/n} \cdot \text{L}^{1/n} \cdot \text{g}^{-1}$) is the Freundlich constant related to adsorption capacity; n is surface heterogeneity factor of Freundlich model (L mg^{-1}).

2.2.3. Experiments in three natural environments: seawater, wastewater from an urban wastewater treatment plant and irrigation water.

In order to carry out the tests on seawater, urban wastewater and irrigation water, the properties of waters were first analyzed. The pH, conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$) and total dissolved solids (mgL^{-1}) were measured using a Crison MM40 probe. Chemical oxygen demand (COD) was determined using a multiparametric Hanna instruments HI833XX series photometer, with reagent kits that follow USEPA approved standard 410.4 for the determination of COD (USEPA, 1993). Biological oxygen demand (BOD) was determined in accordance with standard ISO 5815-2:2003, through an incubation process. The presence of other metals, cations or anions that could interact with the polymers and metals of the experiment was also measured using inductively coupled plasma emission spectroscopy.

These natural waters were not treated to modify their pH or to minimize the effect of organic matter; they were used in entirely natural conditions, with the aim of approaching the natural scenario as much as possible. The metals chosen were the ones most adsorbed during isothermal tests in the Milli-Q water. Solutions were prepared in seawater, urban wastewater and irrigation water for each metal and polymer, using the concentrations at which maximum adsorption capacity was reached in the Milli-Q water isotherms: 4 and 8 ppm, in 100 mL volumetric flasks. In spite of being too high concentrations to be found in the natural environment, they were chosen because the objective was to analyse the maximum amount of metal that can be adsorbed on microplastics surface during the adsorption process. 0.1 g of plastic was added to each solution and placed in the rotary shaker at 5 rpm for 2 weeks, taking a sample every 7 days. A previous test without plastics was carried out to check that there was no adsorption by the flasks. Afterwards, another test was made, putting only plastic in the water, to check that the plastics did not release the chosen metals.

In natural waters, experiments were left again during 2 weeks due to the heterogeneity of the media and the chemical interactions that can occur. Before preparing

the blanks following the same procedure as described in section 2.2.1., concentrations of the selected metals in the natural waters were measured, representing the background metal concentration used. The samples were kept refrigerated and subsequently the concentration of metal in seawater was measured using atomic adsorption equipment.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Characterization of MPs and effects on adsorption behavior

Table 1 shows the physical-chemical properties of the microplastics that most influence adsorption phenomena. The largest specific surface was obtained for PS, following the order PS >PP >PE >PVC >PET. On the other hand, the volume of pores was the same for PE and PS, slightly lower for PP and PVC, and much lower for PET. However, the largest pore size was found in PET, while PE and PS showed the smallest sizes, although there were no significant differences among the pore size of all polymers. Numerous authors found a positive relationship between the specific surface, porosity and adsorption capacity of microplastics (Bakir et al., 2014; Brennecke et al., 2016; Napper et al., 2015; Rochman et al., 2014). Finally, the PZC was obtained at acidic values in general, with PVC being the highest with a value of 6.4. The PZC can be very variable depending on the method used (Kosmulski, 2009).

Table 1. Physicochemical properties of tested microplastics.

Polymer	BET Surface Area (m ² /g)	Pore size (Å)	Pore volume (cm ³ /g)	Pore area (m ² /g)	PZC
PE	1.4	40	40·10 ⁻³	0.48	3.2
PET	0.35	45	50·10 ⁻⁴	0.11	6.2
PP	2.7	41	30·10 ⁻³	0.97	5.6
PS	3.2	39	40·10 ⁻³	1.1	3.3
PVC	0.59	44	20·10 ⁻³	0.22	6.4

The infrared spectra obtained for the microplastics are shown in Figure 1. The absorption peaks obtained were compared with those obtained by other authors to establish the functional groups (León-Bermúdez and Salazar, 2008; Martín-Lara et al., 2018; Pereira et al., 2017; Ramesh et al., 2007). There are numerous C-H stretchings that are common in all types of microplastics. On the other hand, each polymer has its own characteristics, such as aromatic rings (in PET and PS), CH₃ stretchings (in PP), terephthalate groups (in PET) or peroxides (in PE). The sorption capacity from water to plastic depends on intermolecular interactions between the pollutants and the polymer.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

The most relevant types of interactions for sorption of chemicals in water are Van der Waals interactions, hydrogen bonding interactions, and cavity formation (Endo and Koelmans, 2016). Therefore, the adsorption capacity varies due to the different chemical structure of each polymer and the possible interactions that can occur between the molecules of the plastic and the water. This will be discussed in the next sub-sections of the paper.

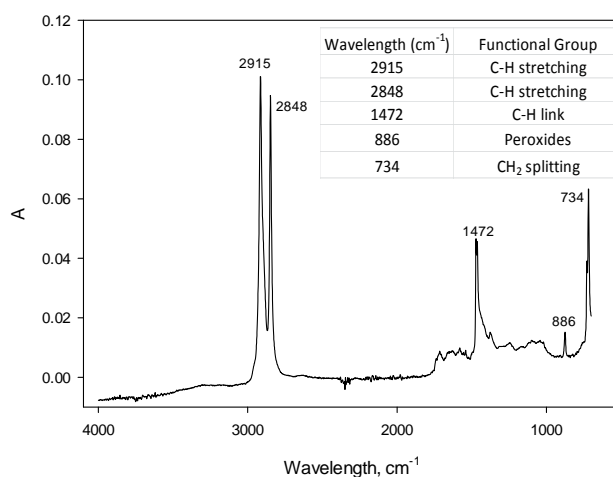


Figure 1a

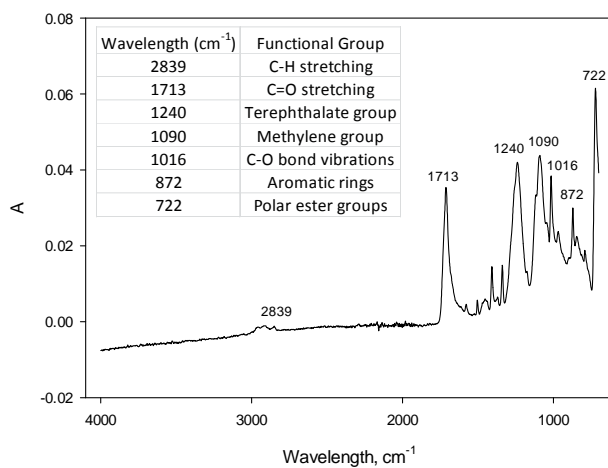


Figure 1b

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

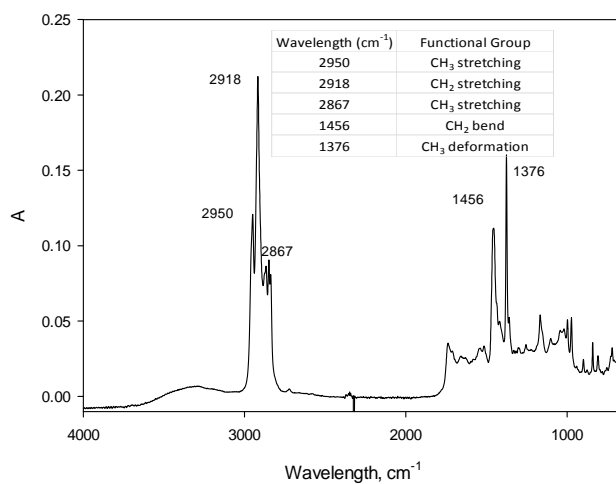


Figure 1c

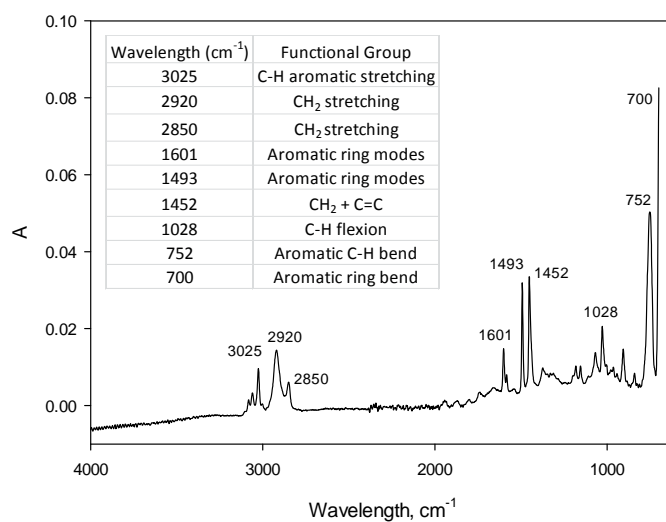


Figure 1d

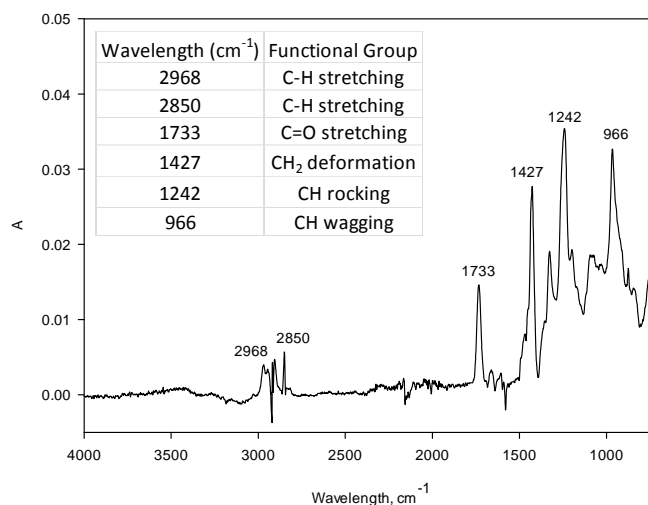


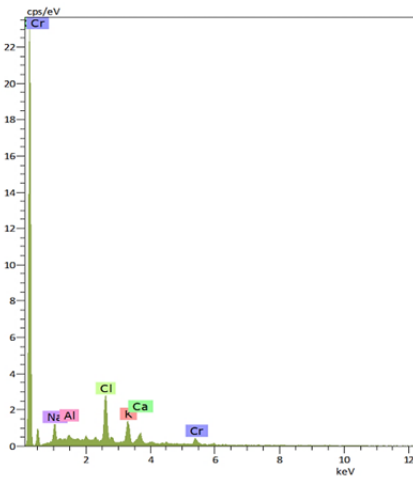
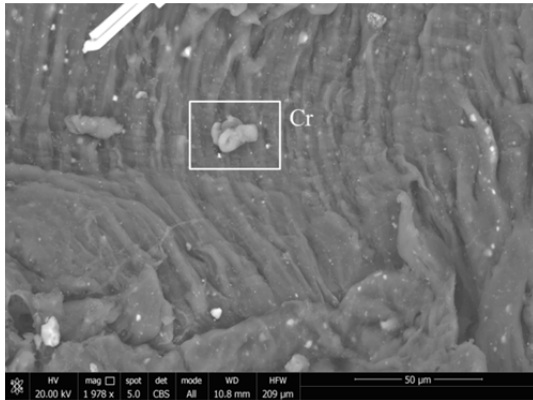
Figure 1e

Figure 1. Infrared spectra with identification of absorption peaks and functional groups. A) PE, B) PET, C) PP, D) PS and E) PVC.

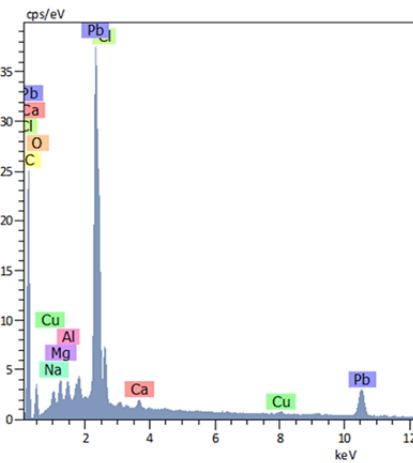
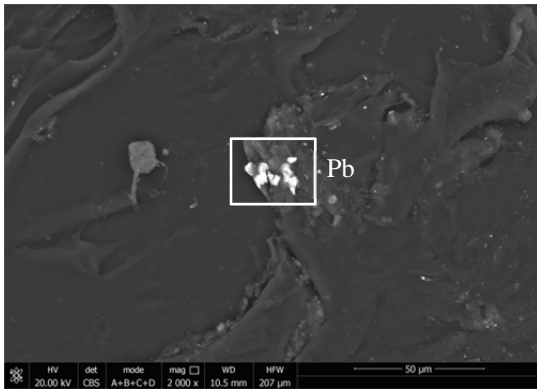
SEM images of microplastic particles after adsorption tests are shown in Figure 2. PE surface was slightly smoother than that of PP and PVC, and some pores can be observed on the surface of PP and PVC (Fig. 2c and 2e). PE, PP and PVC surfaces revealed characteristic cracks and irregularities consistent with environmental exposure. Particularly, the cracks on microplastic surfaces could result in a high surface area and thus, an increase in the adsorption of metals on their surfaces, according to the results obtained by other authors (Brennecke et al., 2016; Li et al., 2019; Wardrop et al., 2016). However, our results revealed that PVC had one of the smallest specific surface areas. The PS surface (Figure 2d) was completely plain and did not show any cracking or fracture. This is due to PS microplastic came from an egg box not exposed to the action of meteorological agents. In contrast, its specific surface area was the highest. PET surface (Fig. 2b) was very similar that of PS, a little rougher.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

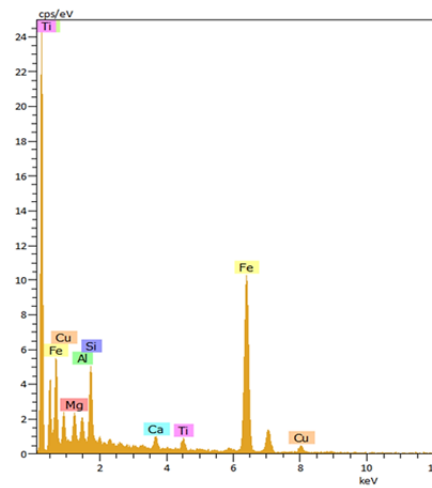
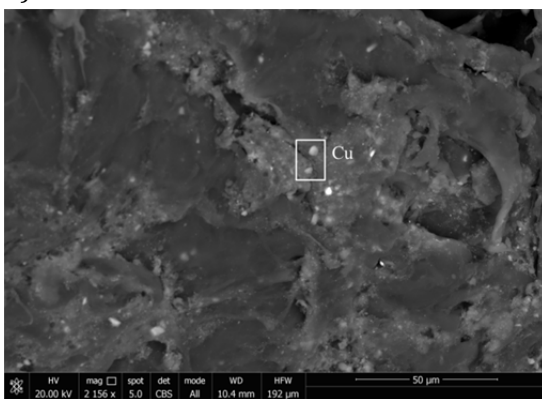
A) PE



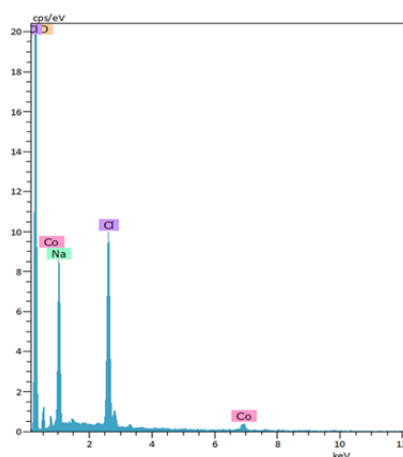
B) PET



C) PP



D) PS



E) PVC

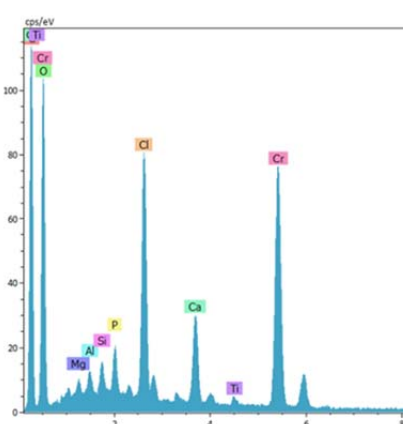
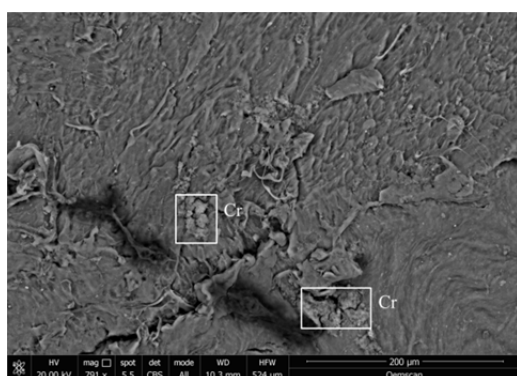


Figure 2. Morphology of the polymers and presence of the adsorbed trace metals on the surface. A) PE; B) PET; C) PP; D) PS and E) PVC.

Further analysis with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) provided the elemental composition of the microplastics and the presence of metals adsorbed to microplastics: chromium in PE and PVC samples, lead in PET sample, copper in PP sample and cobalt in PS sample (Fig. 2). The metals that appear are those selected for the isothermal tests. In particular, EDS revealed microplastics exhibited modest amounts of titanium and iron (Fig. 2c and 2e) in PP and PVC, which are usually in TiO_2 and iron oxide form, inorganic pigments commonly used in the manufacture of plastics (Dengxin et al., 2008; Hahladakis et al., 2018; Soto et al., 2018). This is consistent with the color of the plastics used, as PP and PVC were red and dark blue respectively. TiO_2 could act as an enhancer for metal adsorption, favoring the formation of negatively charged surface complexes, which have a greater affinity for the cations (Bayo et al., 2017; Mohan and Pittman, 2007).

Also, some small amounts of calcium, aluminium, magnesium or silicon were observed in almost all samples. Some plastics, especially those used in sectors such as transportation, automotive or construction, incorporate aluminium trihydroxide and magnesium dihydroxide as flame retardants (Wabeeke, 2001). Others plastics as PVC not need a flame retardant since it is inherently retardant through chlorine. Likewise, silicates and calcium carbonate are used as fillers to increase performance and improved sustainability of the finished plastics (Hansen et al., 2014). These additives, especially flame retardants, may promote or hinder the migration of contaminants towards the plastic, depending on the size of the molecules and the molecular weight of the pollutants (Hahladakis et al., 2018; Hansen et al., 2014).

3.2. Preliminary tests for studying adsorption behavior of metals onto microplastics

Figure 3 shows the sorption kinetics of metals onto the PE (Fig. 3a), PET (Fig. 3b), PP (Fig. 3c), PS (Fig. 3d) and PVC (Fig. 3e) microparticles. In general, uptakes of metals by the five kinds of polymers increased with time until the achievement of equilibrium after approximately 120 h (5 days). These results revealed that, in most cases, interactions between metals and the polymers were relatively fast. Brennecke et al., (2016) found that the equilibrium concentrations of PS were achieved after 6 days for Cu and 9 days for Zn. Holmes et al., (2012) demonstrated that reaction equilibrium was reached in less than 100 h. Another study highlighted that the metal adsorption kinetics could be slower for polyethylene needing 8 weeks for adsorption of different metals (Ashton et al., 2010). Also, another test conducted during one year in the marine environment showed a very progressive increase of the metals on PVC and PET (Rochman et al., 2014, 2013). On the other hand, it was observed that, in some cases, after maximum adsorption, metals started to be slowly desorbed. This desorption behavior is in agreement with previous studies on the adsorption behavior of individual contaminants on different types of microplastics (Bakir et al., 2014; Llorca et al., 2018).

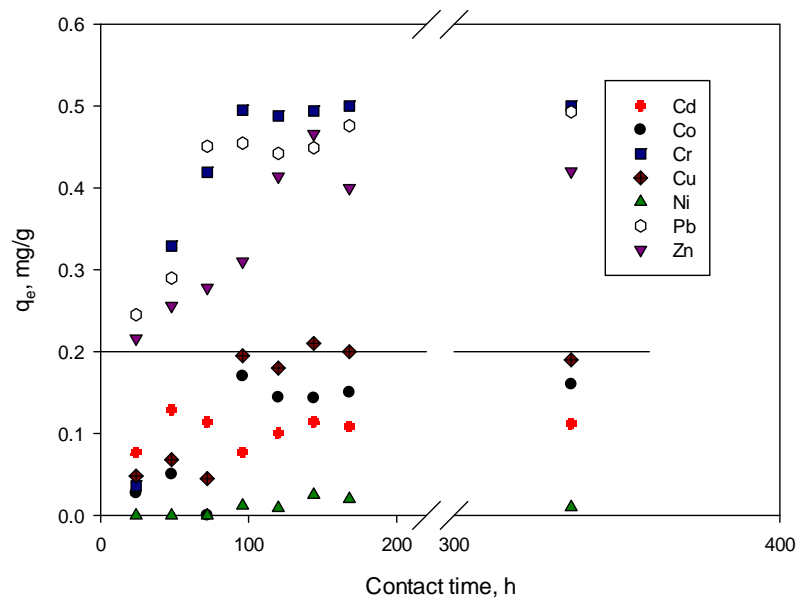


Figure 3a

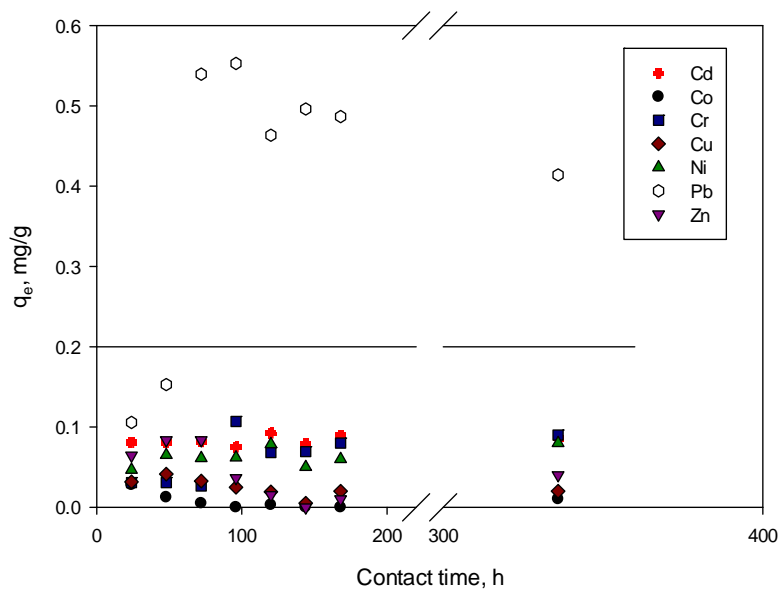


Figure 3b

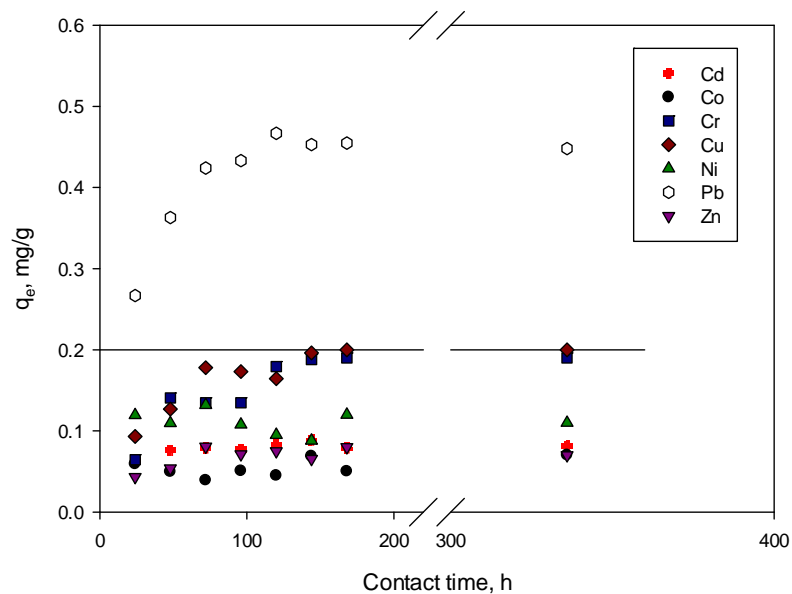


Figure 3c

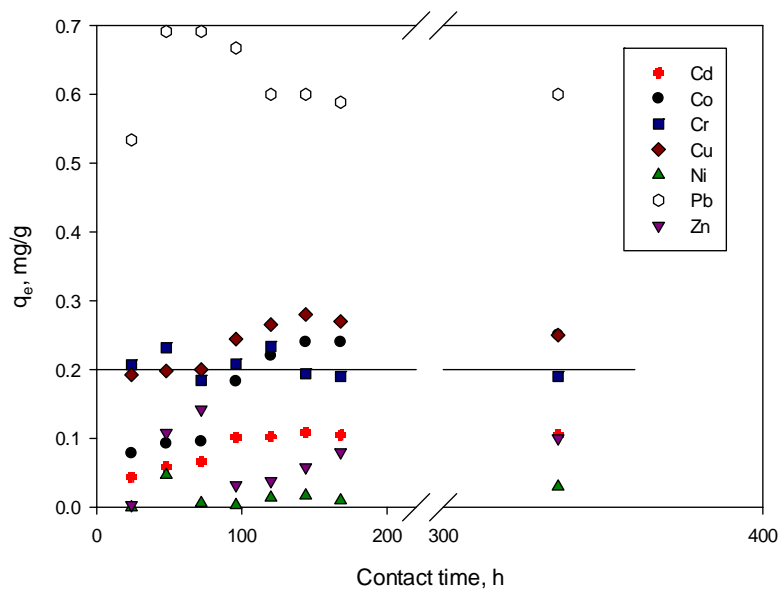


Figure 3d

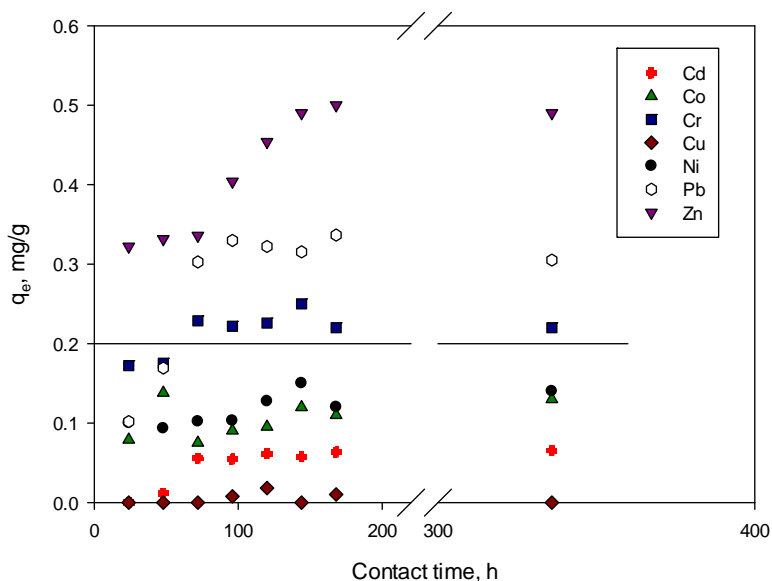


Figure 3e

Figure 3: Metal uptake capacities in function of time for the different polymers. a) PE; b) PET; c) PP; d) PS and e) PVC.

The results of the kinetic tests showed that, generally, PVC (Fig. 3e) and specially PE (Fig. 3a) exhibited a higher sorption affinity for metals than PET, PP and PS, being the adsorption order PE > PVC > PS > PP > PET. In the case of PE, a Cr adsorption capacity of 0.5 mg g⁻¹ was obtained. Similarly, it was found a zinc adsorption capacity of approximately 0.5 mg g⁻¹ in adsorption test performed with PVC. Lead was the best adsorbed metal in PP and PS. PET only showed adsorption capacity with Pb. The metals with lowest absorption rates were Co and Ni. Holmes, (2013) also suggested that Cr, together with Pb, were the metals with the highest affinity for plastics. On the opposite, others such as Ni or Co seem to have a lower affinity. Other authors (Rochman et al., 2014) found that Pb, Zn and Co are the metals that are adsorbed in greater quantity and that the most related polymers are PE, PET and PP.

PE came from a recycled pellet that had been exposed to environmental factors. This could be a reason for its high adsorption capacity, according to other authors (Holmes, 2013). In addition to the different composition that was already commented on in the IR analysis, polymers with high pore volume and rough surfaces are capable to have a higher adsorption capacity. Wang and Wang, (2018) stated that one of the most influential factors, in addition to composition, is the contact surface of the microplastic. In our study, the rubber-like character of PE could be major factors for the higher uptake of

chemicals on PE than that on other polymers. The same happened to PVC, although its specific surface area was lower than that of PP and PS (Table 1). In contrast to, PP and PS had the highest specific surfaces, but their adsorption capacities were moderate compared to PE and PVC. In the case of PET in particular, it showed little or no metal adsorption capacity, although its surface was rougher than that of PS. This behavior may arise from PET fillers that protect this particular plastic against ageing and organism colonization (Kedzierski et al., 2019). It is also important to indicate that the polymer characteristics influencing the adsorption properties are several and results cannot associate with a single factor.

Adsorption capacities may also be influenced by the presence of additives in plastics, as it is estimated that there are up to 600 substances that can be added to polymers to improve their properties (Hahladakis et al., 2018). Our results revealed that PP and PVC contained titanium, an additive that can enhance the adsorption of pollutants (Bayo et al., 2017; Mohan and Pittman, 2007), although the adsorption properties of PVC are higher than those of PP. According to results and as was indicated before, it is evident that there is no single characteristic that influences adsorption, but the combination of all of them determines how the microplastic interacts with the contaminant.

3.3. Adsorption equilibrium in Milli-Q water

The isotherms with concentrations of metals onto plastic surface versus concentrations of metals in the aqueous phase are graphically represented in Figure 4. Only the adsorption isotherms of the selected metals were presented. Selected metals were those that presented an adsorption uptake higher than 0.2 mg g^{-1} in preliminary tests performed at an initial concentration of 1 mg L^{-1} . Adsorption parameters were estimated using non-linear forms of two widely used isotherm models, Langmuir and Freundlich.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

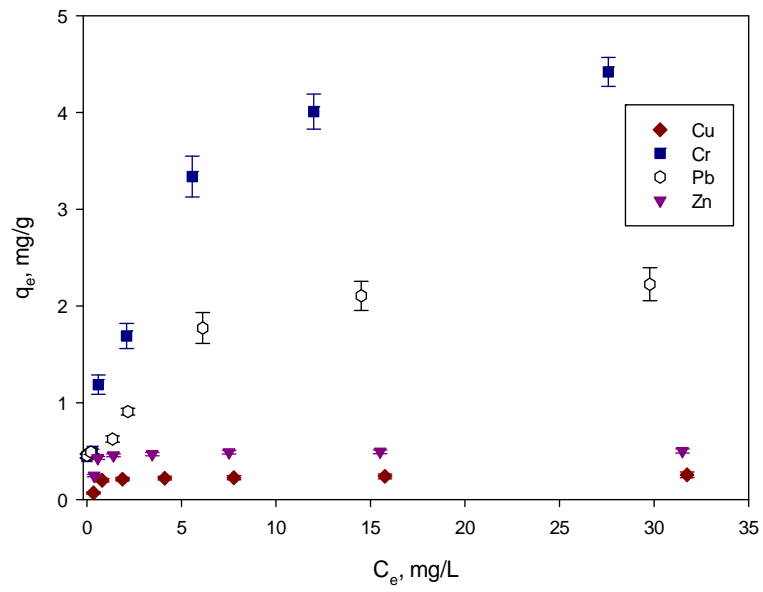


Figure 4a

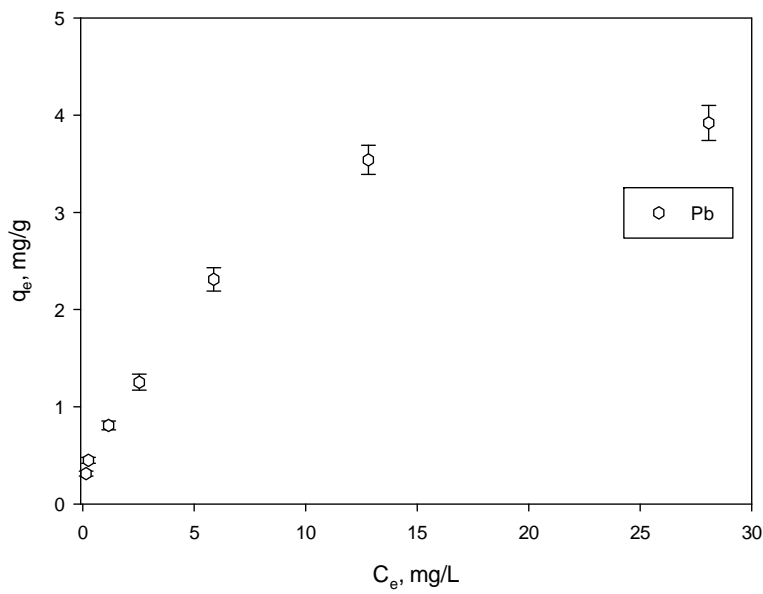


Figure 4b

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

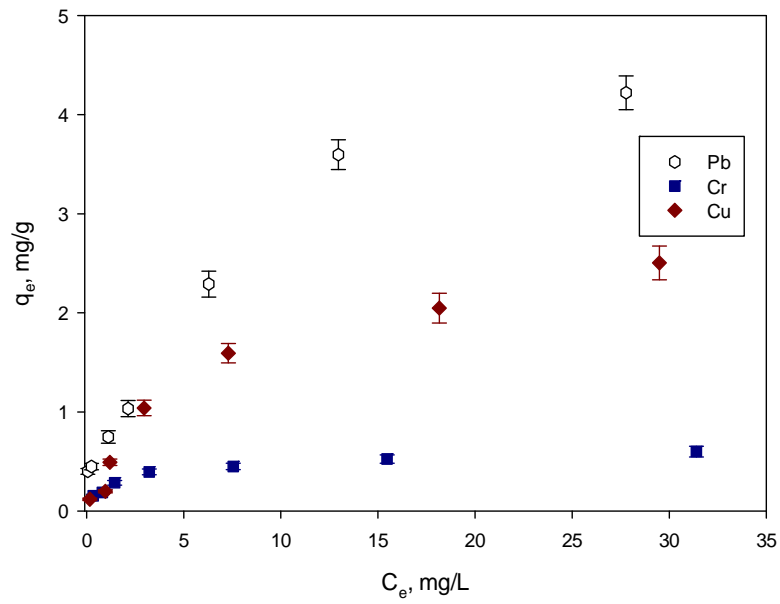


Figure 4c

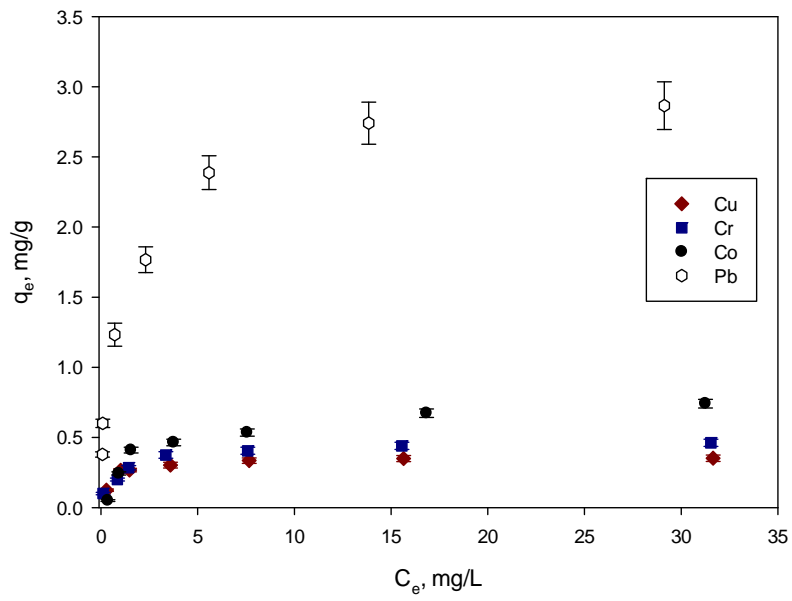


Figure 4d

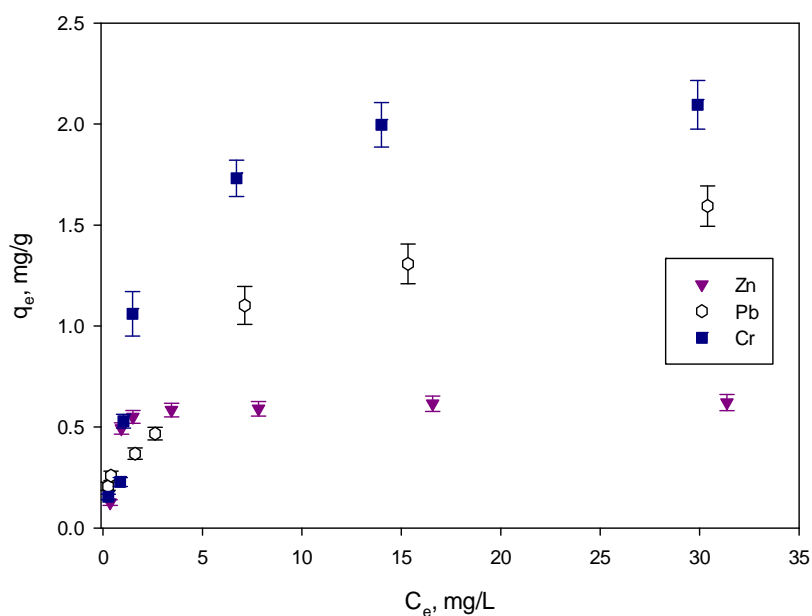


Figure 4e

Figure 4: Metal adsorption equilibrium in Milli-Q water for the different polymers. a) PE; b) PET, c) PP; d) PS and e) PVC.

Results of fitting of experimental data to these two models are provided in Table 2. Better correlation coefficients were found for the Langmuir model indicating that it is more suitable to describe the adsorption of metals in microplastics. The same can be deduced from the p-value, whose results described that Langmuir's model fit better than Freundlich's model. These results also correspond to other studies of adsorption in microplastics that have used both models (Holmes, 2013; Holmes et al., 2012; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018). The estimated q_m values of Langmuir model varied from 0.259 mg g⁻¹ of copper adsorption onto PE to 5.553 mg g⁻¹ of lead adsorption onto PP. The lowest values of q_m , in general, were obtained for PS, whereas PE and PP exhibited the highest values. In general, Pb presented the highest values of q_m . This results were in accordance with Holmes, (2013), who obtained higher q_m values for Cr and Pb, and for "non-virgin" microplastics, which have more impurities. The values of parameter b in the Langmuir model (Table 2) show that there was a good affinity between the polymers and the selected metals. In general, Zn and Cu showed a highest affinity for the polymers.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table 2: Isotherm constants for the adsorption of metals by the different polymers.

		LANGMUIR					FREUNDLICH				
		q_m	b	r^2	$\sum (q_{exp} - q_{cal})^2$	p -value	k_F	n	r^2	$\sum (q_{exp} - q_{cal})^2$	p -value
PE	Cr	4.70	0.502	0.998	7.465E-01	0.000	1.51	2.85	0.931	1.15E-00	0.002
	Cu	0.259	1.39	0.999	4.983E-03	0.000	0.165	6.91	0.638	8.349E-03	0.04
	Pb	2.36	0.515	0.985	5.080E-01	0.000	0.802	3.07	0.871	4.710E-01	0.003
	Zn	0.505	4.21	1.00	9.858E-03	0.000	0.395	11.5	0.557	2.094E-02	0.06
PET	Pb	4.93	0.160	0.984	4.205E-01	0.000	0.834	1.98	0.986	6.956E-01	0.000
PP	Cr	0.624	0.515	0.996	7.278E-03	0.000	0.249	3.72	0.956	7.559E-03	0.002
	Cu	2.95	0.156	0.986	7.377E-02	0.0006	0.520	2.11	0.959	2.161E-01	0.0005
	Pb	5.55	0.123	0.981	2.884E-01	0.0003	0.915	2.09	0.969	4.631E-01	0.0004

Table 2 (Continuation): Isotherm constants for the adsorption of metals by the different polymers.

		LANGMUIR					FREUNDLICH				
		q_m	b	r^2	$\sum (q_{exp} - q_{cal})^2$	p - value	k_F	n	r^2	$\sum (q_{exp} - q_{cal})^2$	p - value
PS	Co	0.813	0.310	0.987	2.795E-02	0.000	0.275	3.26	0.888	3.866E-02	0.01
	Cr	0.473	1.06	0.999	3.484E-03	0.000	0.217	3.62	0.919	1.887E-02	0.0006
	Cu	0.358	2.01	1.00	7.972E-04	0.000	0.233	6.93	0.779	8.381E-03	0.01
	Pb	2.94	1.07	0.999	2.562E-01	0.000	1.33	3.92	0.945	3.374E-01	0.0003
PVC	Cr	2.44	0.244	0.964	2.713E-01	0.0001	0.665	2.68	0.859	5.901E-01	0.004
	Pb	1.90	0.163	0.970	5.723E-02	0.0001	0.360	2.21	0.966	7.967E-02	0.0001
	Zn	0.634	1.76	0.999	3.403E-02	0.000	0.416	6.82	0.538	8.523E-02	0.07

On the other hand, Freundlich model fit worse than Langmuir model in general, as can be deduced from the values of the correlation coefficient (r) and the p -value. This corresponds to the results obtained for other authors (Holmes et al., 2012; Liu et al., 2018), which implies that it is a preferably chemical adsorption. The K_F values obtained for the Freundlich model (Table 2) were positive but generally lower than the q_m values obtained for Langmuir, indicating lower adsorption intensity. The K_F values were higher for PE, which came from recycled pellets, and for PVC, whose morphology was rougher than in the other microplastics. On the other hand, the values of n from Freundlich modeling are higher than 1, which indicates that the adsorption is favorable for all selected metals. This means that their adsorption will be enhanced with the increase of concentrations of metals in the solution (Guo et al., 2018; Hameed and Rahman, 2008; Wu et al., 2019).

3.4. Adsorption in natural waters

The main characteristics of the natural waters analyzed in this work were determined and presented in Table 3. Chlorine and sodium were the fundamental constituents of seawater, which represented more than 80 percent of the major ions in solution. After chlorine and sodium, magnesium was the most abundant element in seawater (1232 mg L⁻¹). Sulfur was found in seawater as sulfate ion (2032 mg L⁻¹). Calcium and potassium are also abundant, but to a lesser extent than those already mentioned (367.7 mg L⁻¹ and 334.5 mg L⁻¹, respectively). Seawater also contained a small amount of chromium and copper, two of the studied metals.

Urban wastewater had a higher concentration of phosphate (16.8 mg L⁻¹), nitrate (1.42 mg L⁻¹) and strontium (0.24 mg L⁻¹) than seawater. In addition, COD was 422.8 mg L⁻¹ and BOD was 204.2 mg L⁻¹, which indicated a significant content of organic matter. The concentration of the studied metals was less than 0.01 mg/L. Irrigation water had a scarce content of compounds in dissolution, highlighting Sr as one of the most abundant. Regards to the studied metals, chromium and zinc were present in low concentrations. The values of pH were very similar among the three waters, although conductivity was lower in irrigation water than in seawater or urban wastewater, which indicates less presence of dissolved cations and anions.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table 3: *Main characteristics of the natural waters analyzed in this work.*

Parameter	Seawater		Urban wastewater		Irrigation water	
pH	7.72		7.81		6.56	
Conductivity, $\mu\text{S}/\text{cm}$	52900		663		515	
COD, mg/L	3.70		422		370	
BOD, mg/L	48.0		204		183	
TDS, mg/L	33800		424		330	
Constituent content, mg/L	Chloride	16091	Chloride	305	Sodium	5.52
	Sodium	9164	Sodium	135	Strontium	4.74
	Sulfate	2032	Sulfate	86.1	Chloride	4.06
	Magnesium	1232	Amonium	65.8	Sulfate	3.27
	Calcium	367	Calcium	43.4	Calcium	2.95
	Potassium	334	Magnesium	23.1	Magnesium	2.74
	Bicarbonate	145	Potassium	18.9	Barium	0.29
	Bromide	51.8	Phosphate	16.8	Chromium	0.12
	Copper	0.20	Nitrate	1.42	Zinc	0.10
	Chromium	0.15	Strontium	0.24	Rubidium	0.05
Strontium	0.07	Barium	0.08	Copper	0.04	

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table 4 shows adsorption capacities of metals on microplastics in the four different water environments. In the case of PE and PVC, Cr showed a greater affinity for plastic in natural water than Pb. On the other hand, Pb was adsorbed in greater quantities in PET, PP and PS. As in Milli-Q water, PE and PVC showed the highest adsorption capacity in natural waters. According to results, it can be observed an enhancement of metal adsorption in waters with high chemical oxygen demand (COD) and biological oxygen demands (BOD) as urban wastewater and irrigation water. For example, copper adsorption was increased from 1.592 mg g⁻¹ to 6.241 mg g⁻¹ when adsorption was performed in urban wastewater instead of Milli-Q water. This can be due to the presence of dissolved organic matter.

In the presence of organic matter, some metals increase their adsorption on the solid phase (in this case, the polymers). The presence of organic matter sometimes promotes the binding of metals with the solid phase. The same has been demonstrated by other authors who studied adsorption phenomena in soils, in the presence of metals and organic matter (Refaey et al., 2014; Saeedi et al., 2018). Similar results were found by Wijesekara et al., (2018) in their study about element dynamics of biosolids-derived microbeads. They reported that the influence of organic matters on the metal adsorption may involve several processes. Firstly, metal pollutants can interact with organic matter via hydrophobic interaction or complexation. Secondly, organic matter can compete with metals for the adsorption sites on the polymer. Additionally, organic matter can be adsorbed to the polymer first and then interact with the metal. Also, Richard et al., (2019) found that metal accumulation on plastic positively correlated with amount of biofilm generated from colonization by fouling organisms. Perhaps, when urban wastewater was analyzed, polymers accumulated colonizing organisms capable of biofilm formation, and biofilms acted as biosorbents for metal removal.

However, this effect was not observed for cobalt adsorption onto PS. Cobalt showed much lower adsorption than other metals in all the selected waters. Authors think that high heterogeneity of polymer samples and concentration of other cations in these wastewaters can interfere in cobalt adsorption in benefit of adsorption of other cations.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table 4: Adsorption capacity in the distilled water and natural waters at two different initial concentrations (C_i).

Polymer	Type of water	Adsorption capacity (mg/g)	
		$C_i = 4 \text{ mg/L}$	$C_i = 8 \text{ mg/L}$
PE Cr	Distilled water	1.69	3.34
	Seawater	1.59	2.56
	Urban	3.94	7.90
	Irrigation	3.43	6.67
PE Pb	Distilled water	0.910	1.77
	Seawater	2.57	3.28
	Urban	3.85	7.63
	Irrigation	2.63	5.69
PET Pb	Distilled water	1.25	2.31
	Seawater	2.38	3.73
	Urban	3.70	7.52
	Irrigation	2.41	5.26
PP Cu	Distilled water	1.04	1.59
	Seawater	1.61	2.87
	Urban	1.32	6.24
	Irrigation	0.990	0.995
PP Pb	Distilled water	1.03	2.29
	Seawater	2.37	3.15
	Urban	3.85	7.66
	Irrigation	2.15	5.17
PS Co	Distilled water	0.464	0.535
	Seawater	0.270	0.400
	Urban	0.154	0.239
	Irrigation	0.0600	0.395
PS Pb	Distilled water	1.77	2.39
	Seawater	2.39	3.29
	Urban	3.71	7.40
	Irrigation	3.21	5.64

Table 4 (Continuation): Adsorption capacity in the distilled water and natural waters at two different initial concentrations (C_i).

Polymer	Type of water	Adsorption capacity (mg/g)	
		$C_i = 4 \text{ mg/L}$	$C_i = 8 \text{ mg/L}$
PVC Cr	Distilled water	1.06	1.73
	Seawater	1.93	6.14
	Urban wastewater	3.75	7.68
	Irrigation water	3.50	7.64
PVC Pb	Distilled water	0.467	1.10
	Seawater	2.84	3.45
	Urban wastewater	3.85	7.60
	Irrigation water	2.30	5.08

On the other hand, it has been proven that pH values significantly influence the adsorption behavior of some metals, such as chromium and lead. The precipitation of these metals is very likely to occur in environments with high pH (above 7), in which there are also carbonate, sulphur or phosphate with which it can react (Gunatilake, 2015; Karimi, 2017). Other authors demonstrated that chromium present in wastewater precipitates to a pH value close to 8 (Chen et al., 2009; Guo et al., 2005). In this study, results showed that chromium and lead was specially precipitated when urban wastewater and irrigation water were used as aqueous medium for adsorption tests. Moreover, lead is not very soluble in seawater (approx. 2 mg L^{-1}) (Angel et al., 2016), so one part was probably precipitated, whereas another was adsorbed by the microplastic.

The combined effects of salinity and solution chemistry in seawater sometimes increased the adsorption of metals onto polymers and sometimes decreased the adsorption. Especially chromium and copper adsorption onto PVC and PP, respectively, was enhanced. This enhancement may be due to combination of cations into new molecules that are better adsorbed in polymers surface. On the contrary, chromium and cobalt adsorption onto PE and PS, respectively, was decreased. It could be due to competition between cations for adsorption sites of materials. Other authors that analyzed the relationship between salinity and adsorption capacity, did not find a clear relationship between both parameters (Bakir et al., 2014; Hering et al., 2017; Holmes, 2013). It seems that depends on the type of pollutant and other substances present in seawater.

Adsorption in natural water is also influenced by the electrostatic forces of the polymers. Since all polymers have a PZC lower than the pH of the natural water used, their

charge is negative. This implies that, in general, there is a greater electrostatic attraction between polymers and metals, which are in the form of cations (Ashton et al., 2010; Li et al., 2018).

4. CONCLUSIONS

The primary purpose of this study was to show that microplastics can act as carriers for metal in different water environments, the main novelty of this study being the use of irrigation water. From the results here presented it is clear that microplastics, especially PE, PP, PS and PVC have high affinity to metals rapidly adsorbing these elements. These polymers accumulated specially Cr, Cu, Co and Pb, to a greater extent reaching equilibrium in 5 days. Specific surface, porosity and morphology are characteristics of the plastics that influence the adsorption. PP and PS had the highest specific surface, but their adsorption properties were moderate in comparison to that of PVC and PE.

Langmuir isotherms well described the equilibrium and chemical interactions between metals and the polymers studied. Lead, chromium and copper were the metals adsorbed in most quantity. In wastewater and irrigation water, the presence of organic matter increased the adsorption of lead and chromium on the plastic. On the other hand, the pH of these waters altered the adsorption of metals, as precipitation phenomena normally occur at pH values higher than seven. Also, the presence of carbonates, sulphates or phosphates can induce the reaction of metals with them and consequently, precipitation occurs. Therefore, an adsorption-precipitation phenomenon occurred in the irrigation water and wastewater, especially for lead and chromium.

Respect to seawater, the combined effects of salinity and solution chemistry sometimes increased the adsorption of metals and sometimes decreased it. Cu and Cr showed a good adsorption in this medium on PP and PVC, whereas Cr and Co adsorption on PE and PS was decreased. It is difficult to assure the parameters that influence, since it can be the salinity or the combination of dissolved substances. Future works will be focused on to deepen the study of the solid-liquid interactions that can affect the phenomena of contaminant adsorption.

FUNDING

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

Abdel Ghani, S.A., 2015. Trace metals in seawater, sediments and some fish species from Marsa Matrouh Beaches in north-western Mediterranean coast, Egypt. *Egypt. J. Aquat. Res.* 41, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.02.006>

Anderson, J.C., Park, B.J., Palace, V.P., 2016. Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems. *Environ. Pollut.* 218, 269–280. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.074>

Angel, B.M., Apte, S.C., Batley, G.E., Raven, M.D., 2016. Lead solubility in seawater: An experimental study. *Environ. Chem.* 13, 489–495. <https://doi.org/10.1071/EN15150>

Ashton, K., Holmes, L., Turner, A., 2010. Association of metals with plastic production pellets in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 2050–2055. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.014>

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2014. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 140, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.01.004>

Bayo, J., Martínez, A., Guillén, M., Olmos, S., Roca, M.-J., Alcolea, A., 2017. Microbeads in Commercial Facial Cleansers: Threatening the Environment. *CLEAN - Soil, Air, Water* 45, 1600683. <https://doi.org/10.1002/clen.201600683>

Botterell, Z.L.R., Beaumont, N., Dorrington, T., Steinke, M., Thompson, R.C., Lindeque, P.K., 2019. Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. *Environ. Pollut.* 245, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.065>

Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., Canning-Clode, J., 2016. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 178, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>

Carbery, M., O'Connor, W., Thavamani, P., 2018. Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environ Int.* 2018, 400-409.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Chen, Q., Luo, Z., Hills, C., Xue, G., Tyrer, M., 2009. Precipitation of heavy metals from wastewater using simulated flue gas: Sequent additions of fly ash, lime and carbon dioxide. *Water Res.* 43, 2605–2614. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.007>

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

Dengxin, L., Guolong, G., Fanling, M., Chong, J., 2008. Preparation of nano-iron oxide red pigment powders by use of cyanided tailings. *J Hazard Mater.* 155, 369-377.

de Sá, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T.L., Futter, M.N., 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? *Sci. Total Environ.* 645, 1029–1039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.207>

Dobaradaran, S., Schmidt, T.C., Nabipour, I., Khajehmadi, N., Tajbakhsh, S., Saeedi, R., Javad Mohammadi, M., Keshtkar, M., Khorsand, M., Faraji Ghasemi, F., 2018. Characterization of plastic debris and association of metals with microplastics in coastline sediment along the Persian Gulf. *Waste Manag.* 78, 649–658. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.037>

Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ. Sci. Eur.* 28, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

Egbeocha, C.O., Malek, S., Emenike, C.U., Milow, P., 2018. Feasting on microplastics: Ingestion by and effects on marine organisms. *Aquat. Biol.* 27, 93–106. <https://doi.org/10.3354/ab00701>

Endo, S., Koelmans, A.A., 2016. Sorption of Hydrophobic Organic Compounds to Plastics in the Marine Environment: Equilibrium., in: Takada, H., Karapanagioti, H. (Eds.), *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. Springer US, pp. 75–100. <https://doi.org/10.1007/698>.

Fahrenfeld, N.L., Arbuckle-Keil, G., Beni, N.N., Shannon, L., Bartelt-Hunt, L., 2019. Source tracking microplastics in the freshwater environment. *TrAC* 112, 248-254.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Figuerola, D., Moreno, A., Hormaza, A., 2015. Equilibrio, termodinámica y modelos cinéticos en la adsorción de Rojo 40 sobre tuza de maíz. *Rev. Ing. Univ. Medellín* 14, 105–120.

Gallo, F., Fossi, C., Weber, R., Santillo, D., Sousa, J., Ingram, I., Nadal, A., Romano, D., 2018. Marine litter plastics and microplastics and their toxic chemicals components: the need for urgent preventive measures. *Environ. Sci. Eur.* 30. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0139-z>.

Geyer, R., Jambeck, J., Law, K., 2017. Production, Use, And Fate Of All Plastics Ever Made. *Sci. Adv.* 3, 25–29.

Godoy, V., Martín-Lara, M.A., Calero, M., Blázquez, G., 2019. Physical-chemical characterization of microplastics present in some exfoliating products from Spain. *Mar. Pollut. Bull.* 139, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.026>

Gunatilake, S.K., 2015. Methods of Removing HeavyMetals from Industrial Wastewater. *J. Multidiscip. Eng. Sci. Stud. Ind. Wastewater* 1, 13–18.

Guo, X., Pang, J., Chen, S., Jia, H., 2018. Sorption properties of tylosin on four different microplastics. *Chemosphere* 209, 240–245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.100>

Guo, Z.-R., Zhang, G., Fang, J., Dou, X., 2005. Enhanced chromium recovery from tanning wastewater *. *J. Clean. Prod.* 14, 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.01.005>

Hahladakis, J.N., Velis, C.A., Weber, R., Iacovidou, E., Purnell, P., 2018. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J. Hazard. Mater.* 344, 179–199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>

Hameed, B.H., Rahman, A.A., 2008. Removal of phenol from aqueous solutions by adsorption onto activated carbon prepared from biomass material. *J. Hazard. Mater.* 160, 576–581. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.028>

Hansen, E., Nilsson, N., Ravnholt Vium, K.S., 2014. Hazardous substances in plastics. The Danish Environmental Protection Agency. <https://doi.org/10.6027/TN2017-505>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Harikrishnan, N., Ravisankar, R., Chandrasekaran, A., Suresh Gandhi, M., Kanagasabapathy, K. V., Prasad, M.V.R., Satapathy, K.K., 2017. Assessment of Heavy Metal Contamination in Marine Sediments of East Coast of Tamil Nadu Affected by Different Pollution Sources. *Mar. Pollut. Bull.* 121, 418–424. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.047>

Hering, S., Piechotta, C., Paul, A., Goedecke, C., Stollin, U.M., Richter, J., Braun, U., 2017. A First Pilot Study on the Sorption of Environmental Pollutants on Various Microplastic Materials. *J. Environ. Anal. Chem.* 04, 1–8. <https://doi.org/10.4172/2380-2391.1000191>

Hodson, M.E., Duffus-Hodson, C.A., Clark, A., Prendergast-Miller, M.T., Thorpe, K.L., 2017. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environ Sci Tech* 51, 4714–4721.

Holmes, L., 2013. Interactions of Trace Metals with Plastic Production Pellets in the Marine Environment 199 pp. University of Plymouth. Research Thesis. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.014>

Holmes, L.A., Turner, A., Thompson, R.C., 2012. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environ. Pollut.* 160, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.052>

ISO 5815-2:2003. Water quality. Determination of biochemical oxygen demand after n days (DBOn). Part 2: Method for undiluted samples.

Jiao, Y., Han, D., Lu, Y., Rong, Y., Fang, L., Liu, Y., Han, R., 2017. Characterization of pine-sawdust pyrolytic char activated by phosphoric acid through microwave irradiation and adsorption property toward CDNB in batch mode. *Desalin. Water Treat.* 77, 247–255. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.20780>

Karimi, H., 2017. Effect of pH and Initial pb(II) Concentration on The Lead Removal Efficiency from Industrial Wastewater Using Ca(OH)₂. *Int. J. Water Wastewater Treat.* 3. <https://doi.org/10.16966/2381-5299.139>

Kedzierski, M., Villain, J., Falcou-Préfol, M., Kerros, M.E., Henry, M., Pedrotti, M.L., Bruzaud, S., 2019. Microplastics in Mediterranean Sea: A protocol to robustly assess contamination characteristics. *PLoS One* 14, e0212088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212088>

Kosmulski, M., 2009. Surface charging and points of zero charge. CRC Press.

León-Bermúdez, A.Y., Salazar, R., 2008. Synthesis and characterization of the polystyrene - Asphaltene graft copolymer by FT-IR spectroscopy. *CTyF - Ciencia, Tecnol. y Futur.* 3, 157-167.

Li, J., Zhang, K., Zhang, H., 2018. Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ. Pollut.* 237, 460-467. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.050>

Li, X., Mei, Q., Chen, L., Zhang, H., Dong, B., Dai, X., He, C. and Zhou, J. (2019) Enhancement in adsorption potential of microplastics in sewage sludge for metal pollutants after the wastewater treatment process. *Water Research*, 157, 228-237.

Liu, X., Zheng, M., Wang, L., Ke, R., Lou, Y., Zhang, X., Dong, X., Zhang, Y., 2018. Sorption behaviors of tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate and hexabromocyclododecanes on polypropylene microplastics. *Mar. Pollut. Bull.* 135, 581-586. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.061>

Llorca, M., Schirinzi, G., Martínez, M., Barceló, D., Farré, M., 2018. Adsorption of perfluoroalkyl substances on microplastics under environmental conditions. *Environ. Pollut.* 235, 680-691. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.075>

Martín-Lara, M.A., Godoy, V., Moreno, J.A., Calero, M., Soto, J.M., 2018. Characterization and Analysis of Commercial Polyethylene Bags as a Prior Step to their Mechanical Recycling: A case Study in Granada, Spain. *Adv. Environ. Waste Manag. Recycl.* 1, 1-7. <https://doi.org/10.33140/aewmr.01.01.06>

Mohan, D., Pittman, C.U., 2007. Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents--A critical review. *J. Hazard. Mater.* 142, 1-53. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.006>

Mrosovsky, N., Ryan, G.D., James, M.C., 2009. Leatherback turtles: The menace of plastic. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 287-289. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.10.018>

Murphy, F., Ewins, C., Carbonnier, F., Quinn, B., 2016. Wastewater treatment works (WwTW) as a source of microplastics in the aquatic environment. *Environ Sci Tech* 50, 5800-5808.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Nakashima, E., Isobe, A., Kako, S.I., Itai, T., Takahashi, S., 2012. Quantification of toxic metals derived from macroplastic litter on Ookushi Beach, Japan. *Environ Sci Tech* 46, 10099-10105.

Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Pollut. Bull.* 99, 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>

Nelms, S.E., Barnett, J., Brownlow, A., Davison, N.J., Deaville, R., Galloway, T.S., Lindeque, P.K., Santillo, D., Godley, B.J., 2019. Microplastics in marine mammals stranded around the British coast: ubiquitous but transitory? *Sci. Rep.* 9, 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37428-3>

Pereira, A.P. dos S., Prado da Silva, M.H., Pereira Lima, É., Paula, A. dos S., Tommasini, F.J., 2017. Processing and Characterization of PET Composites Reinforced With Geopolymer Concrete Waste. *Mater. Res.* 20, 411-420. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2017-0734>

PlasticsEurope, 2018. *Plastics-the Facts 2017* An analysis of European plastics production, demand and waste data. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.015>

Ramesh, S., Leen, K.H., Kumutha, K., Arof, A.K., 2007. FTIR studies of PVC/PMMA blend based polymer electrolytes. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 66, 1237-1242. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.06.012>

Refaey, Y., Jansen, B., El-Shater, A.-H., El-Haddad, A.-A., Kalbitz, K., 2014. The Role of Dissolved Organic Matter in Adsorbing Heavy Metals in Clay-Rich Soils. *Vadose Zo. J.* 13, 0. <https://doi.org/10.2136/vzj2014.01.0009>

Richard, H., Carpenter, E.J., Komada, T., Palmer, P.T., Rochman, C.M., 2019. Biofilm facilitates metal accumulation onto microplastics in estuarine waters. *Sci. Total Environ.* 683, 600-608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.331>

Rochman, C.M., Hentschel, B.T., The, S.J., 2014. Long-term sorption of metals is similar among plastic types: Implications for plastic debris in aquatic environments. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085433>

Rochman, C.M., Hoh, E., Kurobe, T., Teh, S.J., 2013. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Sci. Rep.* 3, 1-7. <https://doi.org/10.1038/srep03263>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Saeedi, M., Li, L.Y., Grace, J.R., 2018. Effect of organic matter and selected heavy metals on sorption of acenaphthene, fluorene and fluoranthene onto various clays and clay minerals. *Environ. Earth Sci.* 77, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7489-0>

Sleight, V.A., Bakir, A., Thompson, R.C., Henry, T.B., 2017. Assessment of microplastic-sorbed contaminant bioavailability through analysis of biomarker gene expression in larval zebrafish. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.055>

Soto, J.M., Blázquez, G., Calero, M., Quesada, L., Godoy, V., Martín-Lara, M.Á., 2018. A real case study of mechanical recycling as an alternative for managing of polyethylene plastic film presented in mixed municipal solid waste. *J. Clean. Prod.* 203, 777–787. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.08.302>

Sundt, P., Schulze, P.-E., Syversen, F., 2014. Sources of microplastic- pollution to the marine environment Project report.pdf. <https://doi.org/M-321|2015>

UNEP, 2016. Marine plastic debris & microplastics. Global lessons and research to inspire action and guide policy change.

USEPA, 1993. Method 410.4, Revision 2.0: The Determination of Chemical Oxygen Demand by Semi- Automated Colorimetry. United States Environ. Prot. Agency 1–12.

Wabeeke, L. 2001. Flame retardant plastics: a general review. *Gummi Fasern Kunststoffe* 7, 460-465.

Wang, J.Y., Yu, P., Xu, L.Q., Wang, J., Liu, R.H., Tang, A.K., 2012. Study on the Pollution Characteristics of Heavy Metals in Seawater of Jinzhou Bay. *Procedia Environ. Sci.* 13, 1507–1516. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.01.143>

Wang, W., Wang, J., 2018. Comparative evaluation of sorption kinetics and isotherms of pyrene onto microplastics. *Chemosphere* 193, 567–573. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.078>

Wang, Z., Chen, M., Zhang, L., Wang, K., Yu, X., Zheng, Z., Zheng, R., 2018. Sorption behaviors of phenanthrene on the microplastics identified in a mariculture farm in Xiangshan Bay, southeastern China. *Sci. Total Environ.* 628–629, 1617–1626. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.146>

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Wardrop, P., Shimeta, J., Nugegoda, D., Morrison, P.D., Miranda, A., Tang, M., Clarke, B.O., 2016. Chemical Pollutants Sorbed to Ingested Microbeads from Personal Care Products Accumulate in Fish. *Environ. Sci. Technol.* 50, 4037–4044. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b06280>

Wijesekara, H., Bolan, N.S., Bradney, L., Obadamudalige, N., Seshadri, B., Kunhikrishnan, A., Dharmarajan, R., Ok, Y.S., Rinklebe, J., Kirkham, M.B., Vithanage, M., 2018. Trace element dynamics of biosolids-derived microbeads. *Chemosphere* 199, 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.166>

Wu, P., Cai, Z., Jin, H., Tang, Y., 2019. Adsorption mechanisms of five bisphenol analogues on PVC microplastics. *Sci. Total Environ.* 650, 671–678. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.049>

Zhao, B., Wang, X., Jin, H., Feng, H., Shen, G., Cao, Y., Yu, C., Lu, Z., Zhang, Q., 2018. Spatiotemporal variation and potential risks of seven heavy metals in seawater, sediment, and seafood in Xiangshan Bay, China (2011–2016). *Chemosphere* 212, 1163–1171. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.020>

**THE RELEVANCE OF INTERACTION OF CHEMICALS/POLLUTANTS AND
MICROPLASTIC SAMPLES AS ROUTE FOR TRANSPORTING CONTAMINANTS**

V. Godoy, M.A. Martín-Lara*, M. Calero, G. Blázquez.

Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain. Email address: vgcalero@ugr.es; marianml@ugr.es; mcaleroh@ugr.es; gblazque@ugr.es;

Abstract

Microplastics have been converted a very important issue during current time. In addition, their capacity to adsorb other pollutants implies an additional problem. In this work, the potential of five types of microplastics derived from plastic waste, that include polyethylene, polyethylene terephthalate, polypropylene, polystyrene and polyvinyl chloride, to act as transporters of amoxicillin, atrazine, diuron, paracetamol, phenol and vancomycin was studied. Results suggested that microplastics, especially polyethylene, polyethylene terephthalate, polystyrene and polyvinyl chloride, revealed an essential protagonist as carriers of amoxicillin and phenol. The kinetic study showed that the sorption processes (from water to plastic) was slow and needs more than 28 days (amoxicillin) or about 21 days (phenol) to reach equilibrium. The modelling of equilibrium showed a better fit of the Langmuir model. The maximum Langmuir sorption capacities reached values between 4.03 and 8.80 mg/g for amoxicillin and between 1.25 and 2.80 mg/g for phenol. With respect to release tests, the liberation of the loaded pollutants was minor at the lower tested temperature ($T = 25^{\circ}\text{C}$) and lower tested pH ($\text{pH} = 2$). Percentage of chemicals released increased between 1.3 and 7.9 times as the temperature increased until 40°C . Similarly, the results revealed that release was greatly pH dependent. In these experiments, a singular behaviour was observed for amoxicillin at 25°C , a combined effect of adsorption-release seems happen.

Keywords: *Microplastics; Adsorption; Release; Amoxicillin; Phenol.*

1. INTRODUCTION

The "microplastics" (MPs) are defined as small plastic particles, with regular or irregular shape, specifically those smaller than or equal to 5 mm in diameter, which are

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

present in the oceans, seas and rivers of the entire planet, mainly, in addition to being deposited and accumulated in sand, river basins and all kinds of landfills (Arthur et al. 2009; Cole et al. 2011; Frias and Nash, 2019; GESAMP, 2016). They are formed by the breakdown of larger plastic particles (secondary origin) or are intentionally manufactured for use in cosmetic products, detergents or clothing (primary origin).

In the last years, concern for microplastics pollution problem worldwide has resulted in a great increase of microplastics literature. To help address the problem of plastics, in early 2018 the European Union (EU) proposed the European Strategy for Plastics in a Circular Economy. The strategy aims to "transform the way products are designed, produced, used and recycled in the EU". However, at present, microplastics are found in a high amount of foods or drinks. For example, In Spain, Iñiguez et al. (2017) identified traces of plastics in the table salt that reaches consumers and a report from the Organization of Consumers and Users (OCU, 2018) found a remarkable presence of microplastics in 69 of the 102 foods analyzed in the study (all of them present in a varied diet in Spain).

The adsorption capacity of microplastics on some chemicals and pollutants present in the environment is well established in literature. Microplastic adsorption studies exist on a wide range of chemicals including all types of persistent organic pollutants, bioaccumulative substances, pharmaceuticals, pesticides and herbicides or metals. (Antunes et al. 2013; Brennecke et al., 2016; Mato et al. 2001; Rios et al. 2007; Teuten et al. 2007).

Recently, Camacho et al. (2019) published a detailed work monitoring 81 different chemical compounds that PE and PP pellets and fragments can adsorb in the sea. The most important conclusion is the evidence of a spatial variation in the adsorption of contaminants, depending on the type of anthropogenic activity that happens at each sampling site. For example, they found higher amounts of polychlorinated biphenyls and diphenyl-dichloro-ethane (DDT) in industrialized areas, ultraviolet filters (UV-filters) in tourist beaches, or higher presence of flame retardants in urbanized locations. Another widely studied factor is the tendency of some polymers to adsorb more contaminants than others. For example, Llorca et al., (2018) found a greater tendency for polystyrene compounds to adsorb perfluoroalkyl substances than high-density polyethylene (HDPE). In contrast to, Wang and Wang (2018) found a higher capacity of polyethylene versus PS and PVC to adsorb pyrene. The adsorption of some flame retardants (Tris-(2,3-

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

dibromopropyl) isocyanurate (TBC) and Hexabromocyclododecans (HBCDs)) on polypropylene was tested by Liu et al., (2018). The adsorption capacity of these substances depends on many factors, including the characteristics of the polymer (particle size, specific surface area, etc.) and chemical interfaces, such as hydrophobic interactions, van der Waals bonds or intraparticle diffusion.

There are also some studies that have proven the adsorption capacity of microplastics on pharmaceuticals. For example, Wu et al, (2016) showed that PE is capable of adsorbing some of these substances, such as carbamazepine (CBZ), 4-methylbenzylidene camphor (4MBC), triclosan (TCS), and 17 α -ethinyl estradiol (EE2). This adsorption occurred specially with the most hydrophobic compounds. Li et al. (2018) found a high sorption potential of polyamide (PA) for antibiotics (amoxicillin, ciprofloxacin, sulfadiazine, tetracycline and trimethoprim). Also, Guo et al. (2018) investigated the capacity of PE, PP, PS and PVC to adsorb tylosin (TYL) and found maximum sorption capacities of 1.67 mg/g (PE) and 3.33 mg/g (PP, PS and PVC). However, there is a greater tendency for polyethylene to adsorb tylosin in a process also dominated by hydrophobic interactions.

Regards to other substances, Wu et al. (2019) analyzed kinetics and isotherms for bisphenols sorption onto PVC microplastics to study its role as carrier of these contaminants. The maximum sorption capacities were between 0.15 (bisphenol S) and 0.24 mg/g (bisphenol AF). The adsorption mechanisms of bisphenols were explicated with respect to hydrophobic interactions, electrostatic forces, and non-covalent bonds. Gong et al. (2019) analyzed the sorption of fipronil on PE, PP, PS, PVC, polylactic acid (PLA) and polybutylene succinate (PBS) microplastics. The results suggested that microplastics, especially PLA and PBS, could act as carriers to transport fipronil. Finally, some other studies were focused on demonstrated the metals sorption capacity of different types of microplastics (Brennecke et al. 2016; Holmes et al. 2012; Wang et al. 2018).

With regards to desorption of adsorbed pollutants, these studies are less frequent and need further research. Hartmann et al., (2017) explored desorption of some hydrophobic organic chemicals focusing on the parameters with remarkably impact in the process. The authors consider that the weathering or pristine of microplastics should be considered in the desorption processes, as well as the crystallinity of the polymer. Lee et al., (2018) also provided an interesting study about desorption of hydrophobic organic chemicals from PE and PP microplastics. The authors fitted experimental desorption data

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

with a model that assumed ideal geometries, however, the experimental results were different to those of the model due to the heterogeneity of the particle size distribution. Razanajatovo et al., (2018) evaluated the sulfamethoxazole, propranolol and sertraline desorption of from PE microplastics. The desorption results showed that any of the sulfamethoxazole was desorbed and only 8% and 4% of propranolol and sertraline, respectively, were release within 48h from the PE fragments. Also, Bakir et al., (2014) analyzed desorption rates of persistent organic pollutants (POPs) in seawater and under simulated gut conditions. This study is a good representative of the influence of pH on desorption processes. They found desorption rates were faster with gut surfactant and under temperature conditions simulating warm blooded organisms.

Recently, other authors as Ho et al., (2019) studied sorption and desorption processes of multiple organic contaminants from ultraviolet filters by PE and PS. They included interesting approach about sorption and desorption behaviors in multi-solute systems. Also, Wang et al., (2019) studied the desorption characteristics of cadmium from MPs and found that Cd was easily desorbed, with desorption rates higher than 90%. These high desorption rates show, according to the authors, that the bonding forces between the Cd and the microplastics are weak and that chemical adsorption should not be the main mechanism. In contrast to this study, Hodson et al., (2017) found that desorption rates of Zn from HDPE plastic bags were quite low.

Also, Fang et al., (2019) analyzed the sorption and desorption of three triazole fungicides on PS. They found the higher the sorption capacity, the lower the desorption rate. But, in any case, as PS was capable to adsorb and desorb triazole fungicides, it can become a source and sink of these pollutants on water environment. In any case, the interactions between microplastics and the wide diversity of contaminants that may be present in different watercourses are complex and depend on many factors. The pH and temperature are often influential factors, which variations can cause the same pollutant to behave differently.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Table 1. Main characteristics and properties of the contaminants studied in this work.

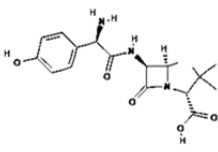
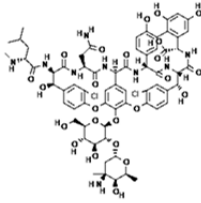
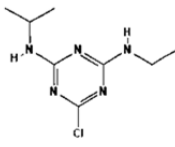
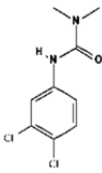
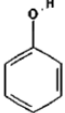
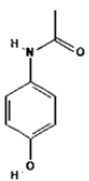
Contaminant	Characteristics	Properties
Amoxicillin 	Molecular formula: $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ Solubility: 3430 mg/L (at 25°C) Log Kow = 0.87 pH about 6.0 (aq sol) pKa1 = 3.2; pKa2 = 11.7	Pharmaceuticals, especially anti-inflammatory drugs and antibiotics, are ones of the most common products often detected in sewage treatment plant effluents, surface water, and drinking water, so more concern is being created as an imperative aquatic environmental contamination, originating from pharmaceutical industries and human use (Boxall et al., 2019). Its effect against pathogenic microorganisms in animals and humans, as well as its use for the preservation of food, has increased its production and consumption, increasing its presence in aqueous media. There is evidence of the implication of antibiotics in the defense mechanisms of living organisms. Atrazine is one of the twelve most widely used toxic substances in the world, while diuron, already banned, is highly persistent, bioaccumulable and responsible for land contamination today (Gil et al., 2012; Villaverde et al., 2018). They are organonitrogenated pesticides authorized for phytosanitary use. Its presence in the aqueous environment is becoming, being a clear source of contamination of difficult control at present.
Vancomycin 	Molecular formula: $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$ Solubility: 225 mg/L (at 25°C) Log Kow = -3.1 pH about 5.0 (aq sol) pKa1 = 2.6; pKa2 = 7.2; pKa3 = 8.6; pKa4 = 9.6; pKa5 = 10.5; pKa6 = 11.7	
Atrazine 	Molecular formula: $C_8H_{14}ClN_5$ Solubility: 33 mg/L (at 25°C) Log Kow = 2.61 pH about 6.1 (aq sol) pKa = 1.6	
Diuron 	Molecular formula: $C_9H_{10}Cl_2N_2O$ Solubility: 42 mg/L (at 25°C) Log Kow = 2.68 pH about 6.5 (aq sol) pKa = No dissociation	

Table 1 (Continuation). Main characteristics and properties of the contaminants studied in this work.

Contaminant	Characteristics	Properties
Phenol 	Molecular formula: C ₆ H ₆ O Solubility: 82800 mg/L (at 25 °C) Log Kow = 1.46 pH about 6.0 (aq sol) pKa = 9.99	Present in surface waters, as a result of environmental pollution (pharmaceutical industries and human consumption) and the natural processes of decomposition of organic matter. It is a harmful substance for aquatic organisms, causing adverse effects of different magnitude depending on the concentration to which they are exposed. This substance is classified as Volatile Organic Compound (VOC) and can potentially contribute to the formation of tropospheric ozone, harmful to crops, wildlife and humans.
Paracetamol 	Molecular formula: C ₈ H ₉ NO ₂ Solubility: 14000 mg/L (at 25 °C) Log Kow = 0.46 pH about 5.5-6.5 (aq sol) pKa = 9.38	It is drugs of great world consumption and considered as those of greater self-medication. Therefore, its presence in the environment comes mainly from human consumption and is detected in wastewater, surface water and drinking water (Al-Kaf et al., 2017). It is important to know the metabolic pathways of each of the compounds, to determine or rule out the origin of their toxicity.

The present study aims to increase knowledge about the complex issue of interaction of chemicals/pollutants and microplastics. It is based on the role of microplastics derived from post-consumer plastic waste, such as polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), polypropylene (PP), polystyrene (PS) and polyvinyl chloride (PVC), as carriers of amoxicillin (AMX), atrazine (ATZ), diuron (DIR), paracetamol (PAC), phenol (PHN) and vancomycin (VAC). Two antibiotics (amoxicillin and

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

vancomycin) and an analgesic (paracetamol) that are widely consumed and used, two pesticides (atrazine and diuron) that rank among the most toxic substances in the world, and phenol, which is present in many cleaning and hygiene products and also used by the plastics industry, were chosen. Their chemical properties and the characteristics for which they were chosen in this study are presented in Table 1.

First, the sorption kinetics and isotherms were analyzed. Then, the effect of pH and temperature on the release of the loaded pollutants was studied. Specially, the release of the adsorbed pollutants to water environments and organisms is yet poorly understood. In our opinion, more works about the effect of the factors influencing desorption are needed since results could have a relevant importance in the prevention of harms linked to microplastics due to the great potential of them to transport other pollutants to organisms. In addition, most studies relied on pristine or artificially aged plastics rather than post-consumer plastic samples for studies on chemical sorption by plastics (Fred-Ahmadu et al., 2020). Our experimental work advances this field by showing that microplastics from plastic waste can adsorb and then desorb pollutants and therefore, transfer them to organisms.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Five polymers named as “commodities” by the Plastic Industries Society (SPI) were chosen, as they are the most frequent in daily use objects, and are identified with a number within a triangle at the bottom of the container. These polymers were: polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), polypropylene (PP), polystyrene (PS) and polyvinyl chloride (PVC). The PE came from recycled pellets, made from post-consumer plastic waste from the Solid Waste Treatment Plant in Granada (Spain), while the PP came from commercial box waste from the same treatment plant. On the other hand, PET and PS came from used food containers (a bottle and an egg cup, respectively), before being placed in the recycling container, while PVC came from an inoperative irrigation pipe, which was exposed to the action of the weather. All of them were crushed in a mill and sieved with a sieve mesh size <5 mm. The shapes and thicknesses obtained were diverse, to simulate the conditions in which they are usually found in a natural environment.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

The characteristic length of the plastic fragments has been determined using the equivalent circular area in the programme ImageJ. Figure 1 showed, as an example, the determination of characteristic length of polyethylene, using image analysis. Table 2 included the characteristic length as well the density of each polymer. Some other characteristics of the five microplastics were determined in our previous work (Godoy et al. 2019).

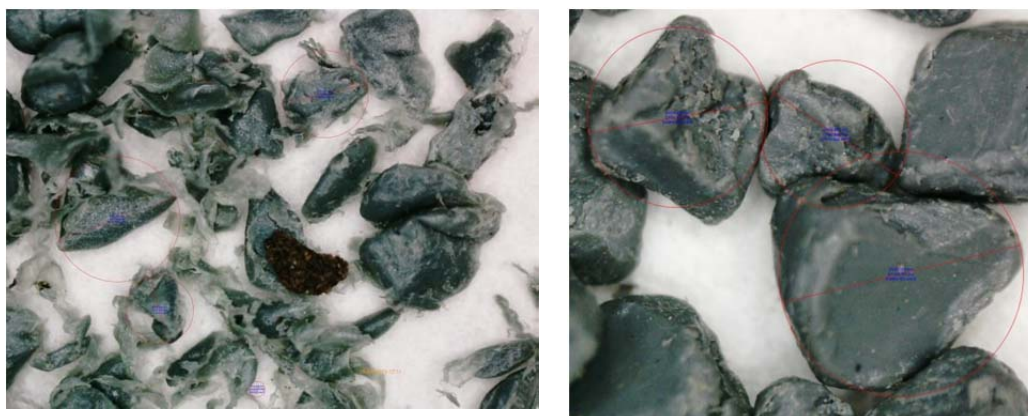


Figure 1. Determination of characteristic length using image analysis

Table 2. Characteristic properties of each polymer.

Polymer	Average particle size (mm)	Density (g/cm³)	Surface area to volume ratio (m⁻¹)
PE	3.5±0.3	0.9±0.02	1.3·10 ⁶ ±6.6·10 ⁴
PET	2.7±0.2	1.4±0.05	4.8·10 ⁵ ±3.3·10 ⁴
PS	3.1±0.3	1.1±0.08	2.9·10 ⁶ ±1.1·10 ⁵
PP	3.4±0.3	0.9±0.04	2.9·10 ⁶ ±2.3·10 ⁵
PVC	4.3±0.5	1.4±0.1	8.3·10 ⁵ ±4.9·10 ⁴

Six contaminants were chosen: amoxicillin (AMX), atrazine (ATZ), diuron (DIR), paracetamol, (PAC) phenol (PHN) and vancomycin (VAC) and they were purchased to Sigma-Aldrich Corporation. Table 1 showed the contaminants, their main characteristics and the properties for which they were chosen for this work. Finally, all the tests were carried out using Milli-Q water, which has a pH of 6.98. This pH value was not altered during all the tests carried out in sections 2.2.1, 2.2.2 and 2.2.3, in order to not influence the behavior of the contaminant with the polymer. The pH was only changed in the release tests, described in section 2.2.4.

2.2. Methods

2.2.1. Preliminary tests to determine the removal of pollutants from water towards MPs

First, tests were conducted to determine the sorption capacity of each polymer with all the selected contaminants. All the adsorption tests carried out follow the methodology adapted from Godoy et al, (2019). For this, seven solutions of 1 mg/L were prepared from each contaminant (AMX, ATZ, DIR, PAC, PHN and VAC) using 100 mL volumetric flasks. 0.1 g of PE, PET, PP, PVC and PS was added to 100 mL of each solution. These solutions were placed in a rotatory shaker model R4-H DE Rotator HD from OVAN® at 5 rpm for 28 days.

For the selection of concentration of pollutants, previous trials were made with different lower concentrations, obtaining a similar behavior. However, since the quantities of contaminant retained by the microplastics are not very high, in some cases, such as the tests performed for the kinetic study or in the desorption tests working with a higher concentration was considered in order to study with greater precision the behavior of microplastics. In addition, this methodology was already designed and tested in a previous publication by the authors (Godoy et al., 2019). Also, comparable concentrations can be found in works of Godoy et al., (2019), Li et al., (2018), Lu et al., (2020), Wang et al., (2019, 2020) and Zhang et al., (2020).

For the selection of dosage of microplastics, researchers also reviewed recent literature (Li et al., 2018; Lu et al., 2020; Wang et al., 2019, 2020; Zhang et al. 2020). With regard to the duration of the test, preliminary laboratory tests were carried out and the time required was finally set when it was determined that equilibrium had been reached and the concentration in the solution was no longer modified. Agitation is considered an essential factor since, in a natural aquatic environment, microplastics are rarely static. Solutions containing microplastics without contaminant and microplastics-free blanks were subjected to the same procedure and used as control. Each experiment was carried out at least twice to check reproducibility of the results. The concentration of contaminant present in the water in each sample was measured using a HPLC equipment of WATERS model 2795 with detector PDA WATERS 2998. The percentage of contaminant adsorbed was calculated by the equation (1):

$$R = \frac{(C_i - C_e)}{C_i} \cdot 100 \quad (1)$$

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Where **R** is the sorption percentage of each contaminant by the adsorbent (%); **C_i** is the initial concentration of the contaminant (mg/L) in the aqueous phase; **C_e** is the equilibrium concentration of each contaminant (mg/L) in the aqueous phase.

2.2.2 Kinetics tests

The kinetic tests were carried out with phenol and amoxicillin since they were the contaminants that presented the greatest affinity for polymers. The kinetic tests were carried out following the same procedure described in the previous tests. 100 mL of 1 mg/L solution for each contaminant was put in contact with 0.1 g of polymer. These solutions were placed in the rotatory shaker at 5 rpm for 28 days. A sample was taken at each time considered (3, 7, 14, 21 and 28 days). 1 ml was taken from each sample, which was necessary for analysis in the HPLC equipment. Since only 5 samples were taken in a period of 28 days, this was not a sufficient volume to detect any alteration in the parameters of the solution.

A solution containing microplastics without contaminant were subjected to the same procedure and used as blank. The experiments were performed in duplicate and the concentration of contaminant present in the water was measured. The sorption capacity for each polymer was determined using the equation 2:

$$q_t = \frac{(C_i - C_e)}{m} \cdot V \quad (2)$$

Where **q_t** is the contaminant concentration sorbed on microplastic at each time value (mg/g); **m** is the mass of microplastic, and **V** is the sample volume (L).

Pseudo-first order, pseudo-second order, pseudo-n order and Elovich models were used to fit the results obtained. Table 3 showed the equation corresponding to each model and its characteristic parameters.

Table 3. Summary of the kinetic models used in this work to fit sorption experimental data

Model	Parameters	Reference
Experimental data qt and t	qt: concentration sorbed on microplastic at any time (mg/g) t: time (day)	
Pseudo-first order $q_t = q_e - q_e \cdot \exp(-k_1 \cdot t)$	qe: concentration sorbed on microplastic at equilibrium (mg/g) k1: constant of pseudo-first order (1/day)	Lagergren (1898)
Pseudo-second order $q_t = \frac{t}{\frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{t}{q_e}}$	qe: concentration sorbed on microplastic at equilibrium (mg/g) k2: constant of pseudo-second order (mg/g·day)	Ho and Mckay (2000)
Pseudo-n order $q_t = q_e - [q_e^{1-n} - (1-n) K_n t]^{1/n}$	qe: concentration sorbed on microplastic at equilibrium (mg/g) Kn: constant of pseudo-order ((dia· ¹) (mg/g) ¹⁻ⁿ) n: reaction order	Özer (2007)
Elovich $q_t = \frac{1}{\alpha} \ln(1 + a \cdot \alpha \cdot t)$	α: initial contaminant sorption rate (mg/(g min)) a: desorption constant (g/mg)	Han et al. (2006)

2.2.3 Equilibrium tests

For sorption equilibrium tests (isotherms) Milli-Q water solutions were prepared for each contaminant (phenol and amoxicillin) and polymer using seven different concentrations: 1, 2, 4, 8 and 16 mg/L, in 100 mL volumetric flasks. Although these concentrations were very high in comparison with concentrations typically found in natural waters, they were chosen to determine the maximum amount of contaminant that microplastics are capable to adsorb at a constant temperature. Other authors also used high concentrations of pollutants to test sorption capabilities against microplastics (Kim et al., 2017; Li et al., 2018). The concentration was changed until all the sites were occupied and further increase in concentration does not cause any difference in sorption process.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

The quantity of 0.1 g of microplastics was added to each solution and placed in the rotary shaker at 5 rpm for a time sufficient to reach equilibrium (when pollutant concentrations in the aqueous solution do not change with time). A sample was taken at day 28 of the trial and the amount of contaminant present in solution was determined. Nevertheless, the solution was kept stirring for a further time and the sampling and measurement was repeated, to check the equilibrium was reached. The concentration of contaminant present in the water of each sample was measured by gas chromatography mass spectrometry. Langmuir and Freundlich models were used to represent the isotherms obtained. Table 4 showed the equation corresponding to each model and its characteristic parameters.

Table 4. Summary of the isotherm models used in this work to fit sorption equilibrium experimental data

Model	Parameters	Reference
Langmuir $q_e = \frac{bq_m C_e}{1 + bC_e}$	<p>q_e: equilibrium adsorption capacity (mg/g)</p> <p>C_e: equilibrium concentration in aqueous phase (mg/L)</p> <p>q_m: maximum adsorption capacity of the adsorbent (mg/g)</p> <p>b: Langmuir constant associated with the adsorption rate (L/mg)</p>	Langmuir (1918)
Freundlich $q_e = K_f C_e^{1/n}$	<p>k_F: Freundlich constant related to adsorption capacity (mg^{(n-1)/n} · L^{1/n} · g⁻¹)</p> <p>n: surface heterogeneity factor (L/mg)</p>	Freundlich (1907)

2.2.4 Release tests

To obtain the loaded-microplastics for the release tests, first adsorption of pollutants (following methodology described in section 2.2.1 but with an initial pollutant concentration of 16 mg/L) was performed. This concentration was selected in order to reach the maximum adsorption capacity of microplastics. Once the adsorption tests were completed, the suspensions were filtered using cellulose filters to separate the aqueous solution from the loaded-microplastics. After filtration, the microplastics were washed with Milli-Q water to remove possible remains of the solution. The amount of washing water and the contact time that were used were low (about 10 – 20 mL in almost 5 seconds). Then the microplastics were dried in an oven at 30°C to avoid degradation of the

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

organic pollutants. The amount of pollutants on microplastics (expressed in mg/g) was determined using the equation 2.

In the release tests the effect of pH and temperature of the solution was studied. For this, the microplastic containing the adsorbed contaminant was placed in 100 mL of Milli-Q water, maintaining the same plastic-water ratio used for the sorption tests. The pH of the solution was set at the desired value before adding the microplastic. The temperature was kept constant using a thermostatic bath. Three pH values (2, 4 and 6) and two temperatures (20 and 40°C) were tested to use experimental conditions representing different aqueous environments and digestive tracts of organisms. For example, pH of most of natural environments is near of 6; however, in the stomach of mammals a pH value between 2 or 3 is reached (Abad et al., 2018)

The solutions were placed in the rotatory shaker at 5 rpm for 5 days. A sample was taken at each time considered (1, 3 and 5 days). The experiments were performed in duplicate and the concentration of contaminant present in the water of each sample was measured by gas chromatography mass spectrometry. The percentage of contaminant desorbed was calculated by the equation 3:

$$\% \text{ Desorbed} = \frac{C_f}{q_m m} \cdot V \quad (3)$$

Where C_f is the final contaminant concentration in the solution, mg/L; q_m is the contaminant concentration sorbed on microplastic (mg/g); m is the mass of microplastic, and V is the sample volume (L).

2.2.5. Analytical method, quality assurance and quality control

All analytical analyses have been carried out at the Center of Scientific Instrumentation of the University of Granada. This center has enough measures to ensure the quality of the analysis: trained and skilled staff, training procedures, equipment suitably maintained and calibrated, validated methods and requirements for reagents and standards.

All the contaminants selected were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) of WATERS model 2795 equipped with a UV detector PDA WATERS 2998. In this method, NovaPAk C8 Waters (150 mm, 4.6 mm and 4 μ m) column was used. The mobile phase used was methanol: 0.2% water of H₃PO₄, at flow rate of 1

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

mL/min. The column temperature was maintained constant at 35°C and the injection volume was 20 µL. The wavelength varied for each contaminant (254 nm, 230 nm, 220 nm, 335 nm, 274 nm and 245 nm for DIR, AMX, ATZ, VAC, PHN and PAC, respectively) and detection limit ranged from 0.05 to 0.1 mg/L. For each contaminant standard curve with at least six points were used for quantitative analysis, and the r^2 of standard curves were greater than 0.990.

In each batch of samples, one blank for each type of polymer was included. In summary, 5 solutions containing microplastics (0.1 g of PE, PET, PP, PS and PVC in 100 ml of Milli-Q water) without contaminant were subjected to the same procedure as the samples and used as control. Also, some microplastic-free blanks were included in order to check for possible variations in dissolution over time. These blanks were composed only by the solution of contaminant in Milli-Q water.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Preliminary tests to determine the sorption of pollutants onto MPs. Effect of characteristics of pollutants and plastic materials

Figure 2 showed the percentage of contaminant adsorbed by each of the polymers tested. The results indicated that phenol and amoxicillin were the contaminants that had greater affinity for polymers, since they were retained in greater amounts by all microplastics. However, the results found for phenol were especially high for PET and PS, which reached values of sorption percentage higher than 80%. In the case of amoxicillin, the highest retention values were found in PE with 37.5% and PP with 28.7%. Also, PE, PET and PVC showed capacity to retain paracetamol in percentages of 4.1, 15.3 and 14.3%, respectively. The remaining contaminants showed little or no affinity for the polymers tested.

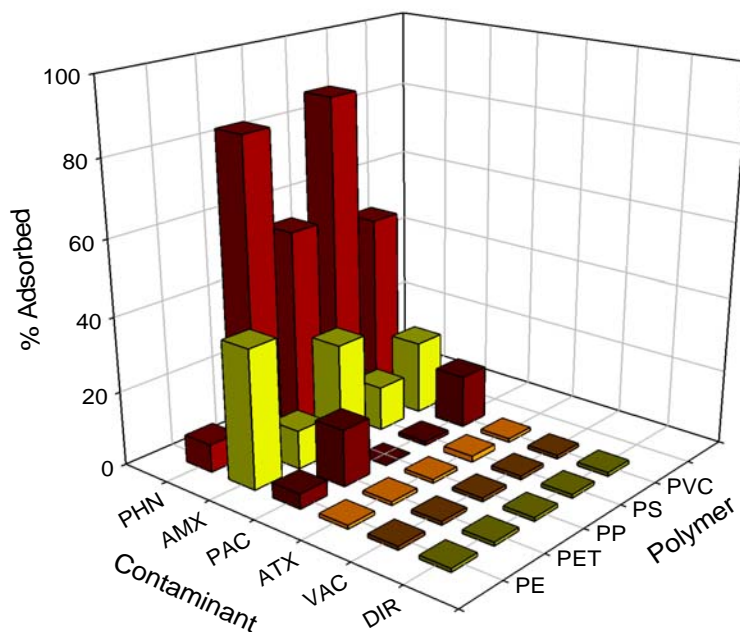


Figure 2. Percentage of contaminant adsorbed by each of the polymers used. Since the trials were conducted in duplicate, the percentage values are average values.

It is well known and studied that the sorption of a contaminant in a microplastic depends on the characteristics of the contaminant (hydrophobicity, octanol-water partition coefficients, ionic form etc.) and the characteristics of plastic materials (type, colors, size, composition, surface area, pH_{pzc} , crystallinity degree, etc.) (Guo and Wang, 2019; Wang et al. 2018). For example, it is expected that polar compounds have a higher affinity for polar microplastics due to polar-polar interaction (Li et al. 2018). One of the factors that affect the sorption of a contaminant is hydrophobicity. There are significant correlations between contaminant hydrophobicity and their sorption capacity in microplastics. Hydrophobic contaminants (higher log Kow values) have higher affinity for hydrophobic surface of microplastics. The log Kow values of the contaminants investigated in this work decreased in the order of $DIR > ATZ > PHN > AMOX > PAC > VAC$. These results could justify the higher affinity of PHN or AMOX, but do not justify the behaviour of DI or ATZ, so other factors must be involved in the process.

Other parameters that influence are the surface charge of plastics and the ionic form of the contaminant. The pH_{pzc} is the pH at which the surface of adsorbent is globally neutral. It is a fundamental parameter of a material surface. Below zero point of charge,

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

the surface is positively charged; beyond this value, it is negatively charged. This parameter was studied by Godoy et al., (2019) for all the polymers used in the present trials. The values decreased in the order PVC (6.4) >PET >PP >PS >PE (3.2). In these tests, the pH of the Milli-Q water was 6.98, which is higher than the pH_{pzc} of any of the plastics used. Therefore, during the sorption tests all the microplastic carried a net negative charge. Thus, the sorption of cations on microplastic enhance due to electrostatic attraction. Regarding contaminants, in a specific pH conditions, contaminants will exhibit different speciation of the cation, zwitterion or anion (Li et al. 2018). Contaminants are ionisable compounds and the ionization constant (pKa) is different for each of them (Table 2). When the pH of the medium is lower than pKa, the ionized form is dominant; the contaminants tend to be charged more negatively and it favours the occurrence of electrostatic repulsion with the microplastic surface negatively charged. This could justify the low sorption that occurs in the case of ATZ or DIR.

On the other hand, surface area to volume ratio, shape and size are crucial factors that affect the sorption behaviour of the polymers. In our previous work (Godoy et al., 2019) the main physical-chemical characteristics of PE, PET, PP, PS and PVC were studied and represented in a table. Also, in Table 1 of the present work we found important differences between density or particle size of studied microplastics. For example, PP and PS showed the highest surface area and surface area to volume ratio. Specifically, surface area decreased in the order PS >PP >PE >PVC >PET. This can support the great adsorption on PS and PP, but is not enough to explain the high adsorption of phenol on PET. Also, PET showed the lowest particle size and surface area to volume ratio. PE also presented a good surface area to volume ratio and a moderate specific surface. Numerous authors have found a positive relationship between specific surface and sorption (Bakir et al., 2014; Napper et al., 2015; Rochman et al., 2014).

It has also been found that rubbery plastics such as PE have greater sorption capacity than glassier plastics such as PS, PET and PVC (Li et al. 2018; Wang et al. 2018). Also, crystallinity can be an important factor. Guo et al, (2012) suggested that polymers with lower degree of crystallinity can better adsorb hydrophobic contaminants. The crystallinity of the polymers used in this study decreases in the order PE >PP >PET >PS >PVC (Demirell et al., 2011; Li et al., 2018). This characteristic could explain the high adsorption of phenol on PET, PS and PVC. This fact is even more reinforced because PET and PS can form van der Waals and π - π bonds due to the presence of an aromatic ring in

their structure (Hüffer and Hofmann, 2016), against polymers that do not have it like PE or PP.

As a final point, the effect of the density differences of the studied polymers is other important element to contemplate. PE and PS floated at the surface while PET, PP and PVC sank. The dynamics of the solid–liquid suspensions behaviours depend on both liquid–particle and particle–particle interactions (Xie and Luo, 2018). Consequently, density differences of the studied polymers can influence the contact between microplastics and fluid phase and the adsorption of chemicals onto them (Shah et al., 2015)

As conclusion, the sorption extent was affected by properties of both plastics and chemicals. However, the great number of factors influencing sorption make difficult to predict sorption of pollutants on microplastics and specific experimental tests should be performed to study each pollutant-polymer system. In general, numerous authors agree that removal variations associated with differences in microplastic surface charge, solution pH or ionic strength were explained by corresponding changes in electrostatic, hydrophobic, and van der Waals interactions (Bakir et al. 2012; Li et al. 2018; Nam et al. 2014; Wang et al. 2018; Xu et al. 2018).

3.2. Kinetics tests

Taking into account the results obtained in the preliminary sorption tests, the kinetic study was carried out with those contaminants that showed a greater sorption capacity, that is, AMX and PHN. Figure 3 showed the sorption capacity versus contact time for both contaminants.

For amoxicillin, the sorption capacity increases with increasing contact time, not reaching equilibrium with any of the polymers tested. PS and PET show the lowest sorption capacities with values ranging from 0.08 mg/g at 3 days of contact time to approximately 0.65 mg/g at 28 days. Likewise, PE shows the highest sorption capacity values ranging from 0.14 mg/g at 3 days of contact time to 0.88 mg/g at 28 days. For phenol, the sorption capacities were greater than those found for amoxicillin. In addition, in this case the equilibrium was reached for all polymers at 21 days of contact time. The sorption capacity values obtained were 0.78, 0.94, 0.95 and 0.95 mg/g for PP, PS, PVC and PET respectively.

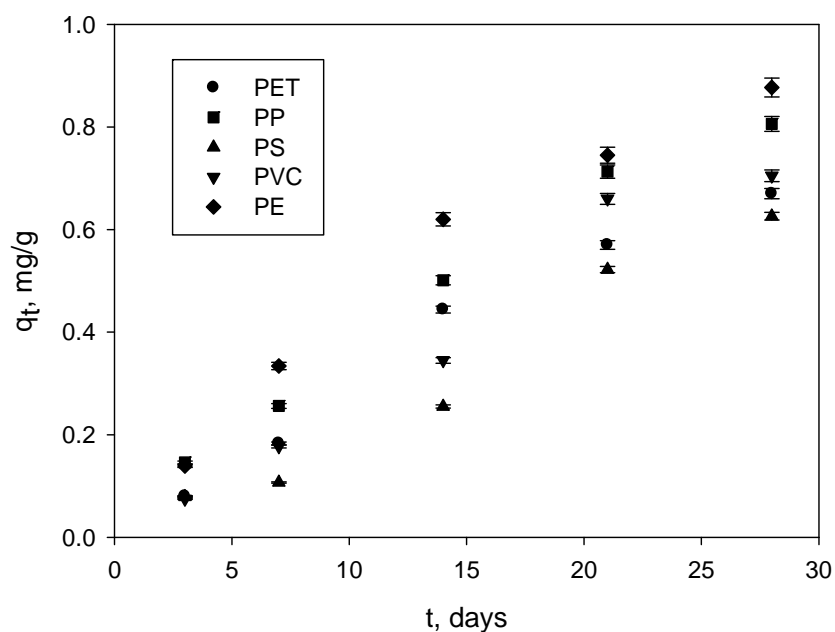


Figure 3a. Amoxicillin sorption onto the different studied polymers in function of time. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

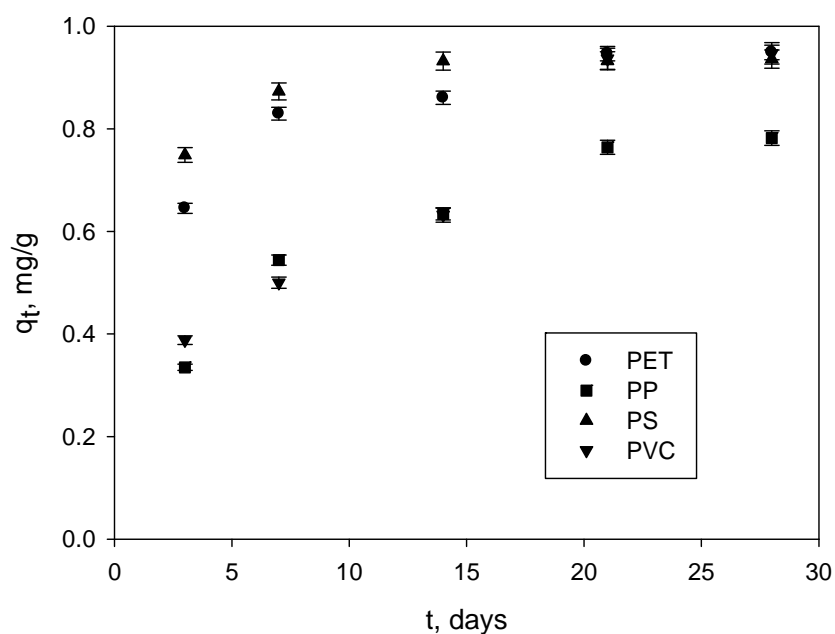


Figure 3b. Phenol sorption onto the different studied polymers in function of time. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

These results were fitted to the kinetic models indicated above. Table 5 showed the parameters obtained for each system (chemical/polymer) and all the models. In general, the pseudo-second order model is the one that best reproduces the kinetics of the process

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

for the two contaminants. Generally, the physical process may be the rate-limiting step of adsorption if pseudo-first-order kinetics can well explain the adsorption data while the chemisorption may be the main adsorption mechanism if pseudo-second-order model well fits the adsorption data (Wu et al. 2019). Pseudo-second order model could well explain adsorption of AMX and PHN on studied microplastics, suggesting that chemical adsorption mainly contributed to adsorption behaviors of target chemicals on microplastics. However, reasonable fits were also found for the other models. In addition, for amoxicillin, the calculated q_e values of pseudo-second order model were higher than the experimental ones. This may be because, as indicated above, the equilibrium has not been reached in any case. For phenol, the values of q_e calculated were similar to those obtained experimentally.

These results were similar to those obtained by other researchers for different pollutant-polymer systems. Xu et al. (2018) studied the sorption kinetics of sulfamethoxazole with polyethylene and indicated that the sorption kinetic was better fitted by pseudo-second order model indicating that the sorption onto surface sites, mass transfer and intraparticle diffusion were involved in the sorption process. Wang and Wang (2018) also indicated that pseudo-second order model fitted the sorption kinetic of pyrene onto PE, PS and PVC microplastics.

Table 5. Kinetics parameters for each system chemical/polymer.

Amoxicillin						
<i>Model</i>	<i>Parameters</i>	<i>PET</i>	<i>PP</i>	<i>PS</i>	<i>PVC</i>	<i>PE</i>
Pseudo-first order	k_1	0.0274	0.0335	--	0.0308	0.0504
	q_e	1.278	1.350	..	1.199	1.161
	r^2	0.985	0.993	..	0.944	0.995
	$\sum(q_{\text{texp}}-q_{\text{tcal}})^2$	0.0037	0.0021	..	0.0177	0.0019
Pseudo-second order	k_2	0.0050	0.0119	0.0017	0.0043	0.0156
	q_e	2.482	2.013	3.599	2.647	1.911
	r^2	0.992	0.997	0.981	0.978	0.997
	$\sum(q_{\text{texp}}-q_{\text{tcal}})^2$	0.0093	0.0028	0.025	0.0289	0.0035
Pseudo-n order	K_n	0.0021	0.0029	0.00038	0.00022	0.00084
	q_e	2.914	2.871	3.891	9.503	3.618
	n	2.6	2.6	3.1	2.2	3.2
	r^2	0.984	0.992	0.937	0.962	0.986
	$\sum(q_{\text{texp}}-q_{\text{tcal}})^2$	0.0040	0.0025	0.015	0.012	0.0052
Elovich	a	0.035	0.047	0.064
	α	1.004	1.065	1.427
	r^2	0.983	0.992	0.991
	$\sum(q_{\text{texp}}-q_{\text{tcal}})^2$	0.0042	0.0026	0.0003

Table 5 (Continuation). Kinetics parameters for each system chemical/polymer.

Phenol					
Model	Parameters	PET	PP	PS	PVC
Pseudo-first order	k_1	0.0387	0.172	0.536	0.103
	q_e	0.916	0.765	0.926	0.988
	r^2	0.909	0.928	0.952	0.865
	$\sum(q_{\text{texp}} - q_{\text{tcal}})^2$	0.0056	0.0056	0.0012	0.0348
Pseudo-second order	k_2	0.0564	0.194	1.429	0.0852
	q_e	1.009	0.937	0.964	1.251
	r^2	0.965	0.982	0.961	0.893
	$\sum(q_{\text{texp}} - q_{\text{tcal}})^2$	0.0021	0.0024	0.00099	0.0273
Pseudo-n order	K_n	0.634	0.131	0.828	0.0563
	q_e	1.020	1.147	0.946	1.426
	n	2.2	3.1	1.5	2.5
	r^2	0.968	0.984	0.995	0.900
	$\sum(q_{\text{texp}} - q_{\text{tcal}})^2$	0.0019	0.0021	0.00012	0.026
Elovich	a	6.64	0.295	279.5	0.181
	α	7.466	4.577	11.90	2.909
	r^2	0.940	0.980	0.887	0.918
	$\sum(q_{\text{texp}} - q_{\text{tcal}})^2$	0.0037	0.0027	0.00012	0.021

3.3. Equilibrium tests

Figure 4 showed the amoxicillin and phenol isotherms sorption (equilibrium sorption capacity, q_e , versus equilibrium concentration in aqueous phase, C_e) for each of polymers tested.

All polymers had a higher equilibrium sorption capacity for amoxicillin. These results were fitted to the Langmuir and Freundlich models. Table 6 showed the characteristics parameters obtained for each polymer with both models. PET and PS showed great equilibrium sorption capacities with values of 7.18 and 7.70 mg/g for amoxicillin and 2.80 and 2.77 mg/g for phenol, respectively. However, PP had the lower equilibrium sorption capacities of 4.03 mg/g and 1.25 mg/g for amoxicillin and phenol, respectively.

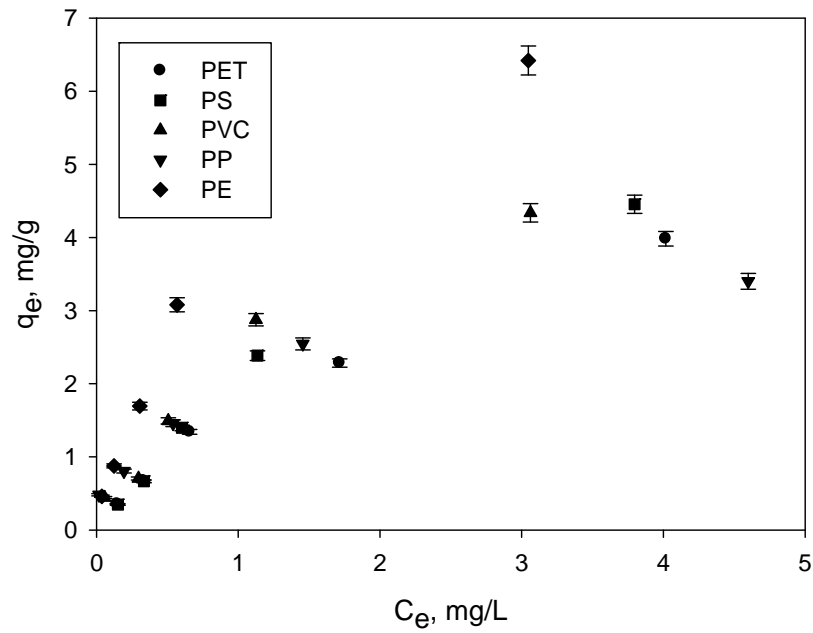


Figure 4a. Experimental isotherm of amoxicillin sorption onto the different studied polymers. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

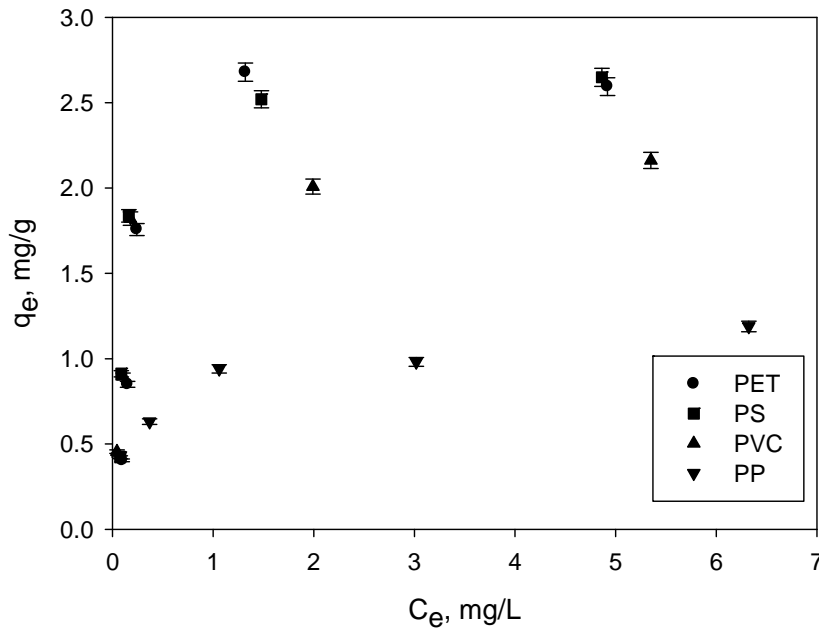


Figure 4b. Experimental isotherm of phenol sorption onto the different studied polymers. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

The experimental data fitted better to the Langmuir model, with correlation coefficients between 0.97 and 0.99. In general, worse results were observed when Freundlich model was used to simulated experimental data, especially in phenol isotherms, with correlation coefficients in the range of 0.67 and 0.97. This indicated that the sorption of both chemical compounds on studied polymers was monolayer type in all the concentrations analyzed. On the other hand, the high values of q_m and K_F revealed an important actuation of polymers as carriers of amoxicillin and phenol. From the Langmuir isotherm, the maximum adsorption capacities (q_m) ranged from 1.249 to 8.798 mg/g for the sorption of PHN and AMX onto PP and PE, respectively. The maximum sorption capacity of Langmuir model was particularly high for amoxicillin sorption onto PE and PS microplastics. However, values of b and n that represent sorption affinity/intensity were especially high for phenol sorption onto PVC particles. The values of n from the Freundlich isotherm were observed to be above unity for all the adsorption and thus indicate favourable adsorption processes (Ofudje et al., 2020).

3.4. Release tests

3.4.1. Influence of pH and temperature on the release of amoxicillin and phenol.

The 0.1 g of microplastics used in release tests contained, at the beginning of the trial, amounts of amoxicillin between 0.40-0.64 mg for PE and PS were present. On the other hand, PET and PS contained amounts of phenol between 0.22-0.26 mg. Desorption studies were carried out at three pH values and two temperatures to investigate conditions representing both the environment and the physiological conditions of a marine organism that could consume a contaminated microplastic. The impacts on release rates of adsorbed contaminants were analyzed. Figure 5 showed the desorption percentages of amoxicillin and phenol at different pH values and for the two temperatures tested.

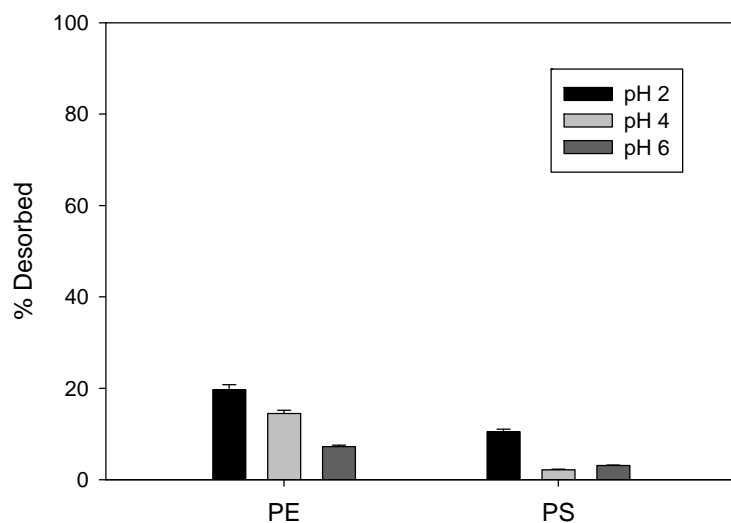


Figure 5a. Percentage of amoxicillin released at three different pH values and at 25°C. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

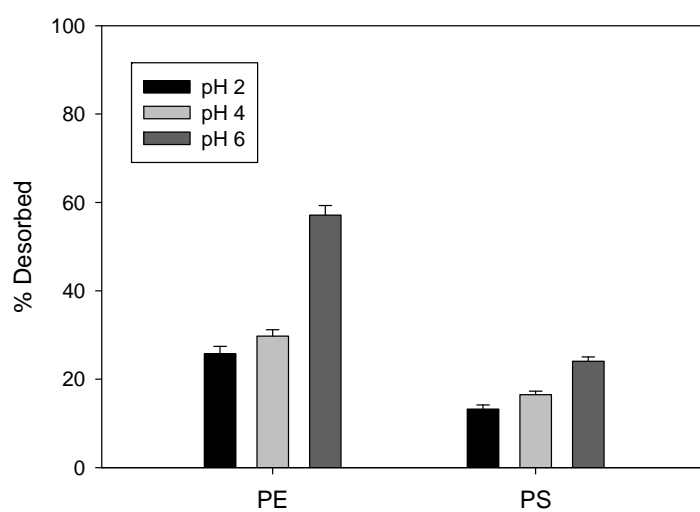


Figure 5b. Percentage of amoxicillin released at three different pH values and at 40°C. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

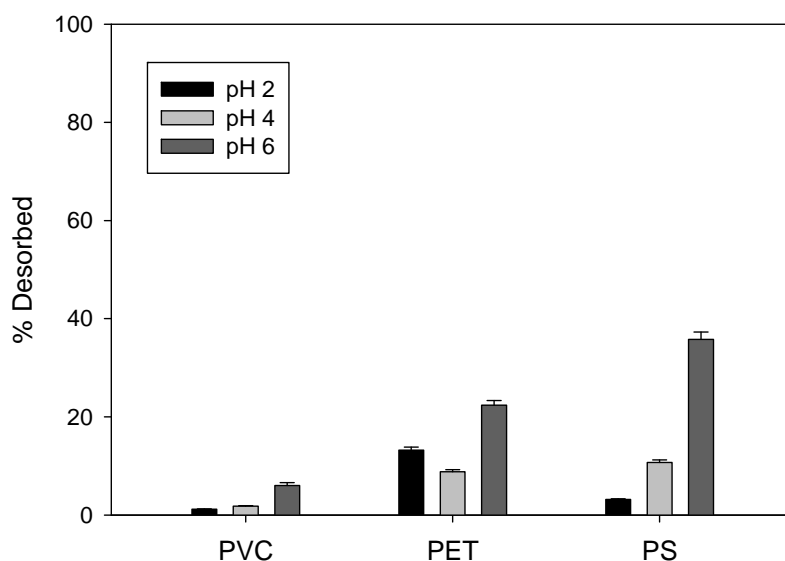


Figure 5c. Percentage of phenol released at three different pH values and at 25°C. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

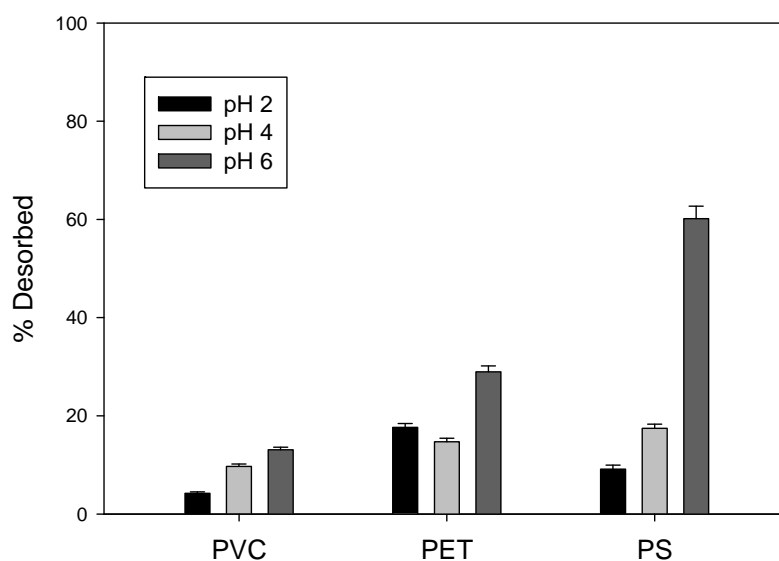


Figure 5d. Percentage of phenol released at three different pH values and at 40°C. The data are average values of two trials, with the standard deviation (error bars).

According to experimental results, in general, the release of the adsorbed chemicals into water was minor at the lower tested temperature ($T = 25^{\circ}\text{C}$) and lower tested pH ($\text{pH} = 2$). At lower temperature and pH, chemicals mainly remained adsorbed to the polymers. Percentage of chemicals desorbed increased between 1.3 and 7.9 times as the temperature increased until 40°C . Similarly, the results revealed that the release of chemicals was

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

greatly pH dependent. Increases on pH of solution increased the release of chemicals between 1.7 and 11.2 times with exception of amoxicillin desorption at 25°C that decreased with the increase of pH of solution. For example, percentage of phenol desorbed from PS increased from 3.2% to 35.8% when pH increased from 2 to 6 at 25°C. Similar results were obtained for other researchers in different systems. Rani and Sud (2015) studied effect of temperature on desorption of trizophos pesticide from soil. They found that at temperature below 20°C, the pesticide remained adsorbed. Özkaya (2006) analyzed phenol desorption from activated carbon performed with NaOH solution. This author found that when a higher concentration of NaOH was probed, a better desorption of phenol from activated carbon was reached. Bakir et al. (2014) informed that desorption of persistent organic pollutants from PE and PVC was further enhanced at higher temperature with an enhancement rate up to 14 in some cases.

A singular behavior was observed for amoxicillin at 25°C, a combined effect of sorption-desorption seemed to happen. According to Elmolla and Chaudhuri (2010) at pH near to 6, amoxicillin presented a positive charge due to NH_3^+ group which increased the amoxicillin sorption by polymers that were charged negatively at this pH value. According to characterization tests, PE and PS showed a point of zero charge of 3.2 and 3.3, respectively (Godoy et al. 2019). At lower pH values than pH_{PZC} the surface charge of the polymers was positive and amoxicillin sorption was not satisfactory (Martín-Lara et al. 2009). The bind of positively charged amoxicillin through electrostatic attraction on the surface of polymers was more improbable. However, above pH_{PZC} , the surface charge of the polymers became negative and, although an initial desorption of amoxicillin was perhaps produced, the later sorption through electrostatic attraction of amoxicillin was again favored. This circumstance was not observed at 40°C, it can be due to that, at high temperature, desorption was the predominant element.

As conclusion, due to a great desorption of these chemicals was get at moderate temperature (40°C) and pH values near to neutrality conditions (pH 6), the consumption of microplastic in organisms should be controlled strictly to avoid health problems. However, the contribution of each factor (pH and temperature) cannot be concluded from this study due to a combined effect and simultaneous sorption-desorption development.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

3.4.2. Influence of contact time on the release of amoxicillin and phenol.

Figures 6 and 7 plotted concentrations amoxicillin and phenol in aqueous solution due to their release during desorption in function of time and a two pH values and two temperatures. For phenol, an increase of contaminant release was observed with time especially between 24 and 72 hours. Also, as indicated above, the release of the contaminant was favored by the increase in pH and temperature. However, at 25°C the release of amoxicillin decreased with time, probably due to later sorption of released amoxicillin. This effect was not observed at 40°C perhaps because at high temperature desorption was the most important event as it was said before.

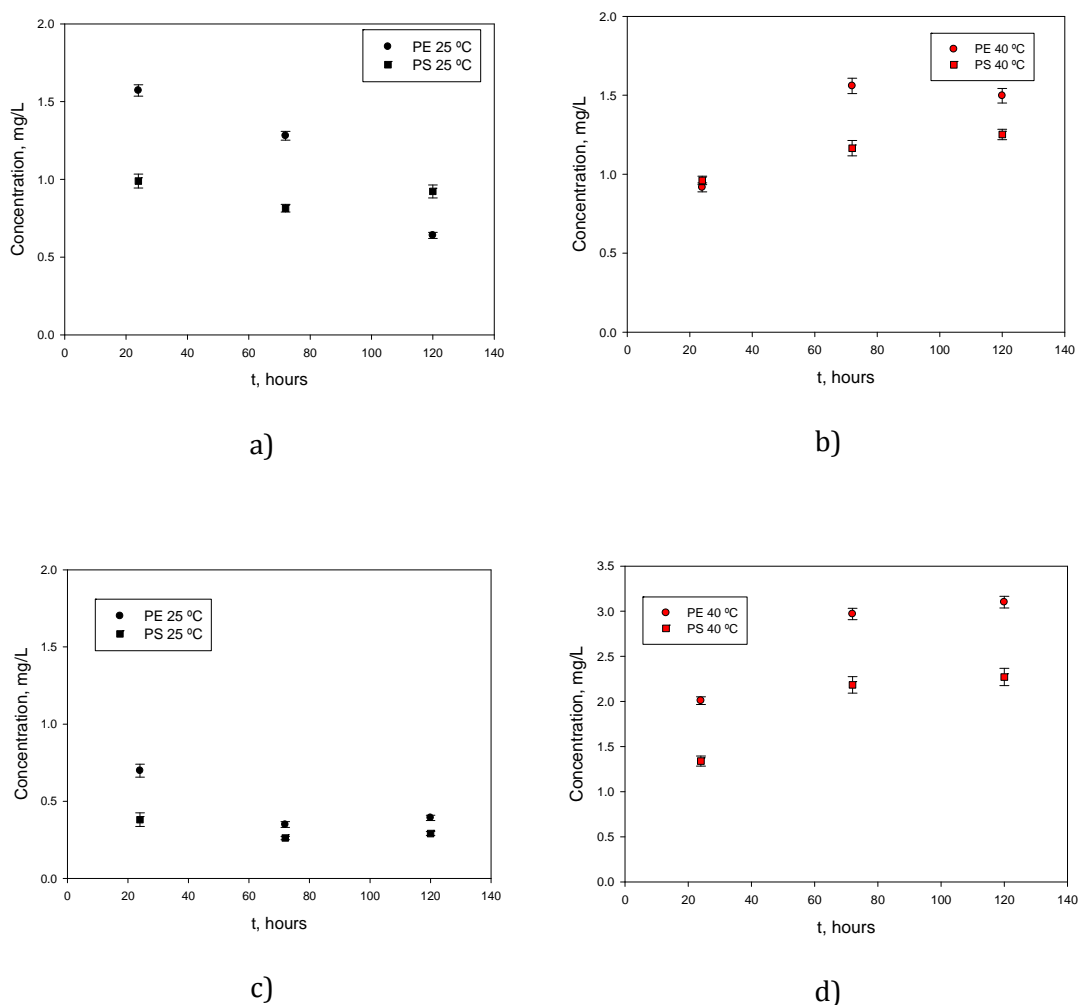


Figure 6: Desorption kinetic of amoxicillin: a) pH 2, 25°C; b) pH 2, 40°C; c) pH 6, 25°C; d) pH 6, 40°C.

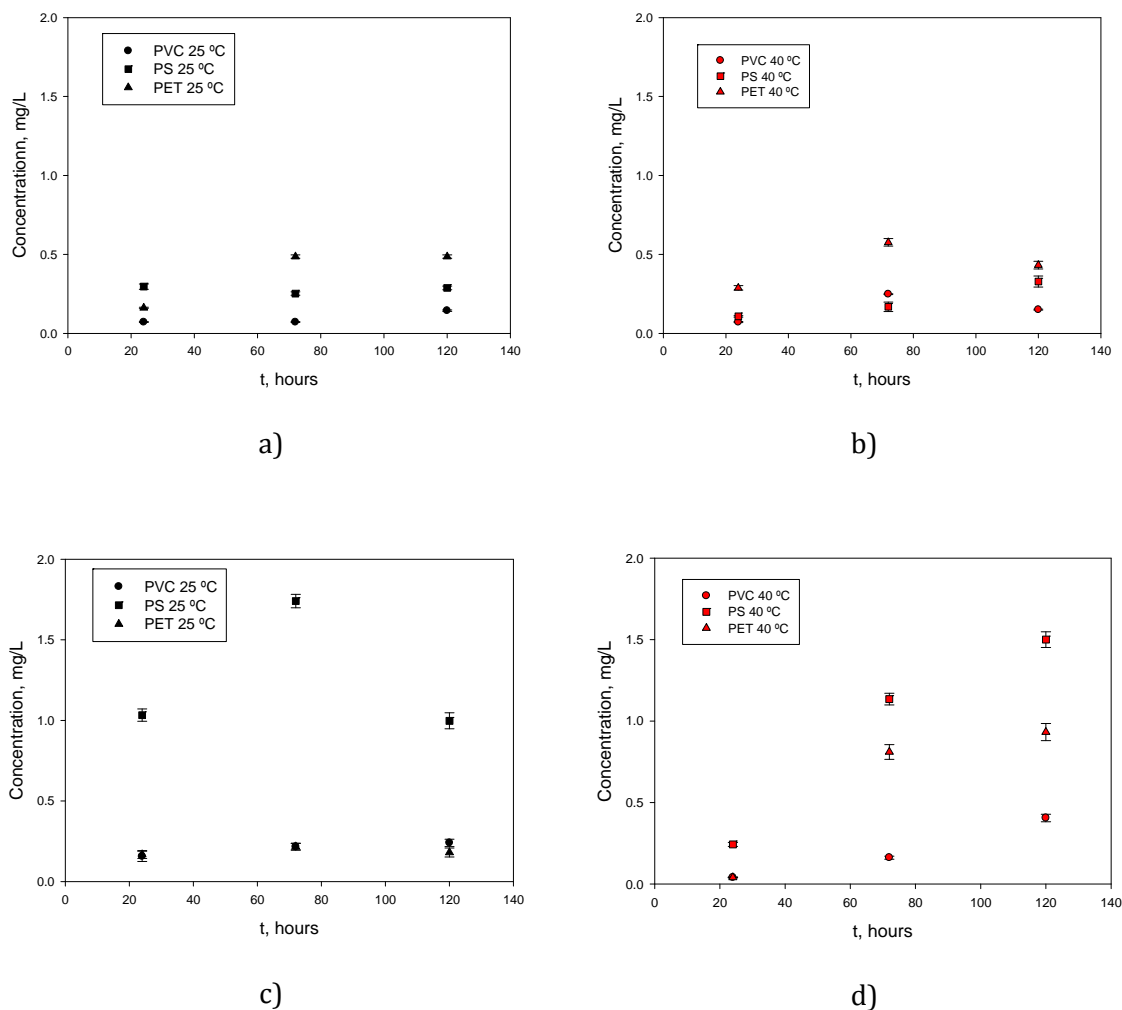


Figure 7: Desorption kinetic of phenol: a) pH 2, 25°C; b) pH 2, 40°C; c) pH 6, 25°C; d) pH 6, 40°C.

4. CONCLUSIONS

The present study aims to increase knowledge about the complex issue of interaction of chemicals/pollutants and microplastics. It is based on the role of PE, PET, PP, PS and PVC microplastics, as carrier of AMX, ATZ, DIR, PAC, PHN and VAC. The sorption capacity of microplastics was much higher for AMX and PHN pollutants. PET and PS were the polymers that best adsorbed phenol, while PE was the polymer that adsorbed amoxicillin in greater amount than others polymers. However, the characteristics of polymers and pharmaceuticals that can influence sorption are many and very complex.

Results from kinetics and equilibrium experiments indicated that the sorption kinetics fit well with the pseudo-second order model and that Langmuir isotherm model

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

was the most suitable to describe the equilibrium. In addition, the sorption capacity was different for the diverse microplastic polymers. Additionally, desorption was mostly dominated by temperature and pH, showing an upward trend with increasing temperature and increasing pH. Amoxicillin release at 25°C presented a particular behavior in function of pH mainly due to combination of positive electrostatic interactions between polymers and pollutant and desorption. Due to the complexity of microplastic-pollutant interactions and environmental conditions, future studies will be conducted on each polymer-pollutant system individually.

REFERENCES

Abad, P., Arroyo-Manzanares, N., Rivas-Montoya, E., Ochando-Pulido, J.M., Guillamon, E., García-Campaña, A.M., Martínez-Férez, A., 2018. Effects of different vehiculization strategies for the allium derivative propyl propane thiosulfonate during dynamic simulation of the pig gastrointestinal tract. *Can. J. Anim. Sci.* 99(2), 244-253. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0063>

Al-kaf, A., Naji, K.M., Abdullah, Q.Y.M., Edrees, W., 2017. Occurrence of paracetamol in aquatic environments and transformation by microorganisms: A review. *Chron. Pharm. Sci.* 1(6), 341-355.

Antunes, J.C., Frias, J.G.L., Micaelo, A.C., Sobral, P., 2013. Resin pellets from beaches of the Portuguese coast and adsorbed persistent organic pollutants. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 130, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.06.016>.

Arthur, C., Baker, J., Bamford H., 2009. Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris. NOAA marine debris program. Technical memorandum NOS-OR&R-30.

<https://marinedebris.noaa.gov/proceedings-second-research-workshop-microplastic-marine-debris>.

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2012. Competitive sorption of persistent organic pollutants onto microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 2782-2789. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.09.010>.

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2014. Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environ. Pollut.* 185, 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.007>.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Boxall, A., 2019. Identifying hotspots of resistance selection from antibiotic exposure in urban environments around the world. SETAC Europe 29th Annual Meeting, Helsinki, Finland.

Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., Canning-Clode, J., 2016. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 178, 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>.

Camacho, M., Herrera, A., Gómez, M., Acosta-Dacal, A., Martínez, I., Henríquez-Hernández, L.A., Luzardo, O.P., 2019. Organic pollutants in marine plastic debris from Canary Islands beaches. *Sci. Total Environ.* 662, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.422>.

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588-2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>.

Demirell, B., Yaras, A., Elçiçek, H., 2011. Crystallization behavior of PET materials. *BAÜ Fen Bil. Enst. Dergisi Cilt* 13(1), 26-35.

Elmolla, E.S., Chaudhuri, M., 2010. Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *J. Hazard. Mater.* 173, 445-449. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>.

Fang, S., Yu, W., Li, C., Liu, Y., Qiu, J., Kong, F., 2019. Adsorption behavior of three triazole fungicides on polystyrene microplastics. *Sci. Total Environ.* 691, 119-1126. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.176>

Fred-Ahmadu, O.H., Bhagwat, G., Oluyoye, I., Benson, N.U., Ayejuyo, O.O., Palanisami, T., 2020. Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. *Sci. Total Environ.* 706, 135978. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135978>

Freundlich, H. 1907. Über die adsorption in lösungen. *Physik. Chem.* 57, 385-470.

Frias, S.L., Nash, R., 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Mar. Pollut. Bull.* 138, 145-147. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022>.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

GESAMP, 2016. Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment (part 2). <http://www.gesamp.org/publications/microplastics-in-the-marine-environment-part-2>.

Gil, M.J., Soto, A.M., Usma, J.I., Gutiérrez, O.M., 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + limpia* 7(2), 52-73.

Godoy, V., Blázquez, G., Calero, M., Quesada, L., Martín-Lara, M.A., 2019. The potential of microplastics as carriers of metals. *Environ. Pollut.* 255, 113363.

Gong, W., Jiang, M., Han, P., Liang, G., Zhang, T., Liu, G., 2019. Comparative analysis on the sorption kinetics and isotherms of fipronil on nondegradable and biodegradable microplastics. *Environ. Pollut.* 254 Part A, 112927. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.095>.

Guo, X.Y., Wang, X.L., Zhou, X.Z., Kong, X.Z., Tao, S., Xing, B.S., 2012. Sorption of four hydrophobic organic compounds by three chemically distinct polymers: role of chemical and physical composition. *Environ. Sci. Technol.* 46 (13), 7252-7259. <https://doi.org/10.1021/es301386z>.

Guo, X., Pang, J., Chen, S., Jia, H., 2018. Sorption properties of tylosin on four different microplastics. *Chemosphere* 209, 240-245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.100>.

Guo, X., Wang, J., 2019. The chemical behaviors of microplastics in marine environment: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 142, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019>.

Han R., Zou, W., Zhang, Z., Shi, J., Yang, J., 2006. Removal of copper (II) and lead (II) from aqueous solution by manganese oxide coated sand: I. Characterization and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 137, 384-395. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.02.021>.

Ho, W.-K., Leung, K.S.-Y., 2019. Sorption and desorption of organic UV filters onto microplastics in single and multi-solute systems. *Environ. Pollut.* 254, 113066. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113066>

Ho, Y.S., McKay, G., 2000. The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat, *Water Res.* 34, 735-742. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00232-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00232-8).

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Hodson, M., Duffus-Hodson, C., Clark, A., Prendergast-Miller, M., Thorpe, K., 2017. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environ. Sci and Technol.* 51, 8, 4714-4721. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00635>.

Holmes, L.A., Turner, A., Thompson, R.C., 2012. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environ. Pollut.* 160, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.052>.

Hüffer, T., Hofmann, T., 2016. Sorption of non-polar organic compounds by micro-sized plastic particles in aqueous solution. *Environ. Pollut.* 214, 194-201. doi: 10.1016/j.envpol.2016.04.018.

Iñiguez, M.E., Conesa, J.A., Fullana, A., 2017. Microplastics in Spanish Table Salt. *Sci. Rep.* 7(1), 8620. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09128-x>.

Kim, D., Chae, Y., An, Y.-J., 2017. Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.* 51, 12852-12858. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03732>.

Langmuir, I., 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361-1403.

Lagergren, S., 1898. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Svenske Vet. Ak. Handl.* 24, 1-39.

Li, J., Zhang, K., Zhang, H., 2018. Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ. Pollut.* 237, 460-467. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.050>.

Liu, X., Zheng, M., Wang, L., Ke, R., Lou, Y., Zhang, X., Dong, X., Zhang, Y., 2018. Sorption behaviors of tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate and hexabromocyclododecanes on polypropylene microplastics. *Mar. Pollut. Bull.* 135, 581-586. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.061>.

Llorca, M., Schirinzi, G., Martínez, M., Barceló, D., Farré, M., 2018. Adsorption of perfluoroalkyl substances on microplastics under environmental conditions. *Environ. Pollut.* 235, 680-691. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.075>.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Lu, J., Wu, J., Wu, J., Zhang, C., Luo, Y., 2020. Adsorption and desorption of steroid hormones by microplastics in seawater. *Bull Environ Contam Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02784-2>.

Martín-Lara, M.A., Hernáinz, F., Calero, M., Blázquez, G., Tenorio, G., 2009. Surface chemistry evaluation of some solid wastes from olive-oil industry used for lead removal from aqueous solutions. *Biochem. Eng. J.* 44, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.11.012>.

Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C., Kaminuma, T., 2001. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environ. Sci. Technol.* 35, 318-324. <https://doi.org/10.1021/es0010498>.

Nam, S.W., Choi, D.J., Kim, S.K., Her, N., Zoh, K.D., 2014. Adsorption characteristics of selected hydrophilic and hydrophobic micropollutants in water using activated carbon. *J. Hazard. Mater.* 270, 144-152. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.01.037>.

Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Poll. Bull.* 99, 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>

OCU, 2018. <https://www.ocu.org/organizacion/prensa/notas-de-prensa/2018/microplasticos-050618>.

Ofudje, E.A., Adeogun, I.A., Idowu, M.A., Kareem, S.O., Ndukwe, N.A., 2020. Simultaneous removals of cadmium(II) ions and reactive yellow 4 dye from aqueous solution by bone meal-derived apatite: kinetics, equilibrium and thermodynamic evaluations. *J. Anal. Sci. Technol.* 11, 7. <https://doi.org/10.1186/s40543-020-0206-0>

Özer, A., 2007. Removal of Pb(II) ions from aqueous solutions by sulphuric acid-treated wheat bran. *J. Hazard. Mater.* 41, 753–761. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.040>.

Özkaya, B., 2006. Adsorption and desorption of phenol on activated carbon and a comparison of isotherm models. *J. Hazard. Mater.* 129, 158-163. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.08.025>.

Rani, S., Sud, D., 2015. Effect of temperature on adsorption-desorption behavior of triazophos in Indian soils. *Plant Soil Environ.* 61, 36-42. <https://doi.org/10.17221/704/2014-PSE>.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Rios, L.M., Moore, C., Jones, P.R., 2007. Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 1230-1237. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.03.02>.

Rochman, C.M., Hentschel, B.T., The, S.J., 2014. Long-term sorption of metal is similar among plastic types: Implications for plastic debris in aquatic environments. *PLOS One* 9, e85433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085433>

Shah, R.E., Shah, R.S., Sajjadi, B., Raman, A., Aziz, A., Ibrahim, S., 2015. Solid-liquid mixing analysis in stirred vessels. *Rev. Chem. Eng.* 31, 119-147. <https://doi.org/10.1515/revce-2014-0028>

Teuten, E.L., Rowland, S.J., Galloway, T.S., Thompson, R.C., 2007. Potential for plastics to transport hydrophobic contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7759-7764. <https://doi.org/10.1021/es071737s>.

Villaverde, J., Rubio-Bellido, M., Lara-Moreno, A., Merchan, F., Morillo, E., 2018. Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. *Chemosphere* 193, 118-125. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.172>

Wang, W., Wang, J., 2018. Comparative evaluation of sorption kinetics and isotherms of pyrene onto microplastics. *Chemosphere* 193, 567-573. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.078>.

Wang, F., Wong, C.S., Chen, D., Lu, X., Wang, F., Zeng, E.Y., 2018. Interaction of toxic chemicals with microplastics: A critical review. *Water Res.* 139, 208-219. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.003>.

Wang, F., Yang, W., Cheng, P., Zhang, S., Zhang, S., Jiao, W., Sun, Y. 2019. Adsorption characteristics of cadmium onto microplastics from aqueous solutions. *Chemosphere* 235, 1073-1080. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.196>

Wang Q., Zhang, Y., Wangjin, X., Wang, Y., Meng, G., Chen, Y., 2020. The adsorption behavior of metals in aqueous solution by microplastics effected by UV radiation. *Journal of Environmental Sciences* 87, 272-280. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.07.006>

Wu, C., Zhang, K., Huang, X., Liu, J., 2016. Sorption of pharmaceuticals and personal care products to polyethylene debris. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 8819-8826. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6121-7>.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Wu, P., Cai, Z., Jin, H., Tang, Y., 2019. Adsorption mechanisms of five bisphenol analogues on PVC microplastics. *Sci. Total Environ.* 650, 671-678. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.049>.

Xie, L., Luo, Z.-H., 2018. Modeling and simulation of the influences of particle-particle interactions on dense solid-liquid suspensions in stirred vessels. *Chem. Eng. Sci.* 176, 439-453. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.11.017>

Xu, B., Liu, F., Brookes, P.C., Xu, J., 2018. The sorption kinetics and isotherms of sulfamethoxazole with polyethylene, *Mar. Pollut. Bull.* 131, 191-196. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.027>.

Zhang, W., Zhang, L., Hua, T., Li, Y., Zhou, X., Wang, W., You, Z., Wang, H., Lif, M., 2020. The mechanism for adsorption of Cr (VI) ions by PE microplastics in ternary system of natural water environment. *Environmental Pollution* 257, 113440. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113440>

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

- V. Godoy: Methodology; Software; Validation; Formal analysis; Investigation.
- M.A. Martín-Lara: Conceptualization; Methodology; Writing - original draft; Writing - review & editing; Supervision; Project administration.
- M. Calero: Conceptualization; Resources; Writing - original draft; Supervision; Project administration.
- G. Blázquez: Methodology; Software; Validation; Formal analysis; Project administration.

FUNDING

The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

**MICROPLASTICS AS VECTORS OF CHROMIUM AND LEAD DURING DYNAMIC
SIMULATION OF THE HUMAN GASTROINTESTINAL TRACT**

**Authors: V. Godoy ^{1*}, A. Martínez-Férez ¹, M.A. Martín-Lara ¹, J.A. Vellido-Pérez ¹, M.
Calero ¹ and G. Blázquez ¹**

¹Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18071 Granada, Spain;
vgcalero@ugr.es (V.G.), amferez@ugr.es (A.M.-F.), marianml@ugr.es (M.Á.M.-L.),
javellido@ugr.es (J.A.V.-P.), mcaleroh@ugr.es (M.C.), gblazque@ugr.es (G.B.)

Abstract

The human body is exposed to the ingestion of microplastics that are often contaminated with other substances, which can be released into our body. In this work, a dynamic in-vitro simulator of the gastrointestinal tract based on a membrane reactor has been used for the first time to study the release, bioaccessibility, and bioavailability of chromium (Cr) and lead (Pb) from polyethylene and polypropylene microplastics previously contaminated in the laboratory. The results showed that 23.11% of the initial Cr and 23.17% of the initial Pb present in microplastics were able to cross the tubular membrane, simulating the intestinal absorption phase. The pH evolution during the gastric phase and the duodenal phase, the interaction mechanisms with physiological fluids, and the properties of the polymers, such as specific surface, porosity, and/or surface degradation, affected the kinetics of release from the microplastics and the behavior of both heavy metals. Cr was released very early in the gastric phase, but also began simultaneously to precipitate quite fast, while Pb was released slower and in less quantity than Cr, and did not precipitate until the beginning of the duodenal phase. This study shows, for the first time, how useful the dynamic gastrointestinal simulator is to study the behavior of microplastics and some problematic heavy metals along the human gastrointestinal tract, and can serve as a reference for future studies focused on the effects of these substances in the human body.

Keywords: *gastrointestinal dynamic simulator; microplastic pollution; human health; intestinal absorption; heavy metals*

1. INTRODUCTION

Concern for microplastics and their environmental impact has been growing in recent years. These particles can be manufactured with a purpose (i.e., exfoliating particles in cosmetics) or can result from the breakdown of larger plastics [1]. There are numerous sources of microplastic emissions into aquatic environments and the atmosphere—most notably, tire wear and washing of synthetic textile garments [2,3]. Currently, microplastics are present in all aquatic environments, including oceans, seas, rivers, and lakes of the entire planet, in addition to being deposited and accumulated in the sand of beaches, estuaries, river basins, and all kinds of landfills [4,5]. These particles also pollute the atmosphere and the air people breathe, and their presence has even been detected in the ice and snow of several highland environments, indicating the great geographical dispersion of microplastics [6–8].

One of the main problems related to microplastics is their capacity to carry chemical pollutants and additives [9]. Furthermore, these substances can be released into the gastrointestinal tracts of organisms when microplastics are ingested [10]. Some of the most common pollutants in microplastics are metals and heavy metals, such as chromium, iron, lead, or titanium [11–13]. These metals can be indirectly adsorbed onto the microplastics in aquatic environments or directly added to plastics as metal additives to enhance their properties during the manufacturing process. For example, Godoy et al. [14] examined the adsorption behavior of five types of microplastics on cadmium, cobaltum, chromium, copper, nickel, lead, and zinc in different aquatic systems. The results revealed that Cr and Pb were the most adsorbed metals by microplastics in a relatively short period of time. Holmes [13] also found that polyethylene (PE) pellets could adsorb considerable amounts of Cr and Pb. This author demonstrated, through the simulation of an avian gizzard, that some metals, such as Mn, Zn, Fe, or Pb, adhered to the surfaces of the pellets, could be released, and could become bioaccessible to the birds' gastrointestinal tracts as well.

In addition, evidence of microplastics has also been found in various foods and beverages that people ingest, such as mollusks, bivalves and fish, salt, beer, honey, and bottled water [15–18]. Schwabl et al. [19] demonstrated the presence of microplastics in human stool, at least 20 particles per 10 grams of sample in adults, indicating a significant intake of these microparticles. Other authors have estimated the annual human intake of microplastics to be more than 40,000 particles [17]. When metal-contaminated

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

microplastics enter the human body through food or drink, the release of these metals into the digestive tract may occur. Liao and Yang [20] found that Cr (III) and Cr (VI) present in microplastics were released into the simulated human gastrointestinal tract, mainly in the gastric phase, influenced by the action of gastric juices. However, the effects of microplastics on the human body are not yet very clear. There is a great lack of knowledge about the role played by the contaminants they carry and the additives added to the human body. With regard to metals, some of them, such as Zn, Pb, Cr, Co, or Ti, are added to plastics as pigments, stabilizers, or for resistance to degradation [21]. Their toxicity in humans depends on many factors, including dose and level of exposure, age, sex, or genetics. However, it has been demonstrated that high concentrations of metals can cause cell and tissue damage as well as estrogenic reactions [22,23].

Gastrointestinal simulators are relatively recent, but can accurately predict the pharmacokinetics of drugs, and could thus serve as a research and development (R&D) tool to study the in-vitro transit of these metal-contaminated microplastics through the digestive tube. There are important differences between static and dynamic simulators. Digestion is a dynamic process, and physico-chemical conditions, such as pH, digestive enzyme concentrations, etc., occurring in the different compartments change with time. Static gastrointestinal simulators often use a single set of initial conditions for each part of the digestion and do not take into account the evolution of parameters with time [24,25]. To improve these conditions, several dynamic multi-compartmental simulators have been developed during the past decades.

Molly et al. [26] designed the first dynamic gastrointestinal simulator with the aim of emulating the different conditions of the digestive system of the human body and its interaction with the intestinal flora. This simulator (called SHIME) consisted of a multi-compartmental system made up of five serial stirred reactors simulating the duodenum/jejunum, ileum, cecum, and ascending colon, transverse colon, and descending colon. It also presented a sixth reactor to simulate the stomach. In addition, Minekus et al. [27] developed a multicompartmental in-vitro model that accurately reproduces the evolution of meal transit, pH, and bile salt concentrations along the different gastrointestinal parts. Since the development of these two first dynamic gastrointestinal simulators, others have evolved over the years with the aim of studying infant digestion, simulating the microbial conditions in intestines, or testing the effects of several molecules, bacteria, or acids on the digestive tract of humans [28–32].

The aim of this work is to analyze the behavior of two very common types of microplastics (polyethylene and polypropylene) contaminated with metals (chromium and lead) along the digestive tract by means of in-vitro experiments using a membrane bioreactor system mimicking the human gastrointestinal tract conditions. This type of computer-controlled dynamic model is able to reproduce the physiological conditions of the human gastrointestinal tract and is normally used to study the effects of the active components of drugs and their resistance along the different phases of digestion. Nevertheless, the present work aims to demonstrate that it is also possible to study the bioaccessibility of the metal released from the microplastics in the human body using the gastrointestinal simulator, and this could serve as complementary and/or previous study to more complex and costly human intervention studies. To the best of the authors' knowledge, this is the first study that uses a dynamic gastrointestinal simulator to analyze the release of pollutants present in microplastics along the dynamic digestion process.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials and Chemical Agents

The choice of microplastics and contaminants was based on a previous study published by the same authors [14]. The results of that study demonstrated that Cr and Pb were the fastest adsorbed metals and in the greatest quantity, and that the microplastics showing the most favorable interactions with Cr and Pb were polyethylene (PE) and polypropylene (PP), respectively. Therefore, in accordance with those results, for the gastrointestinal simulator in this study, the metals chosen were Cr and Pb, while the plastics were PE and PP, which came from recycled pellets and commercial box waste, respectively. The plastic was shredded and sieved using a stainless-steel sieve with a mesh of <5 mm in order to obtain a microplastic size. To prepare the metal solutions, standard solutions of 1000 mg/L were acquired from the Panreac brand for Cr and Pb. The solutions were composed of chromium and lead nitrate in nitric acid (0.5 M).

In order to simulate the presence of real food together with the assayed microplastics during the gastrointestinal simulation, uperized skimmed milk was used. To prepare the Salivary Simulated Fluid (henceforth referred to as SSF) and Gastric Simulated Fluid (henceforth referred to as GSF), corresponding to the gastric phase of digestion, the following reagents were used: Potassium Chloride (KCl, 99.5% purity) from the brand Merck, Sodium Hydrogen Carbonate anhydrous (NaHCO₃, 99.5% purity) from the brand

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Sigma-Aldrich, Potassium Dihydrogen Phosphate anhydrous (KH_2PO_4 , 99% purity), Sodium Chloride (NaCl , 99% purity), Magnesium Chloride hexahydrate ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 98% purity), Hydrochloric Acid (35%), and Calcium Chloride dihydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99% purity), from the brand Panreac. Compositions of the SSF and GSF were adopted from Brodkorb et al. [33].

In order to simulate the conditions of the different phases of human digestion (gastric phase, duodenal phase, and intestinal absorption), different enzymes and salts were necessary, which are naturally secreted by the body. The enzymes and salts used in this study were as follows: Alpha-Amylase from human saliva, Pepsin from porcine gastric mucosa, Lipase from porcine pancreas, Pancreatin from porcine pancreas, Trypsin from bovine pancreas, Bile salts from Sigma-Aldrich, and Lipoid p45 from Lipoid GmbH.

2.2. Methods

2.2.1. Contamination of Microplastics in Laboratory

Solutions of both metals (Cr and Pb) were prepared in Milli-Q water in order to contaminate the microplastics. Then, 100 mL of each mother solution were put into a glass beaker and, subsequently, 0.5 g of PE were added to the Cr solution and 0.5 g of PP to the Pb solution. These solutions were kept stirred in an orbital agitator Comecta Ivymen AG-200 at 160 rpm for 14 days. This time was enough to reach equilibrium in the adsorption. At the end of this period, a sample of each solution was taken and metal concentration in liquid was measured using Inductively Coupled Plasma Mass (ICP-masses), with a mass spectrometer NexION 300D with ionization source by plasma torch and ion filter by quadrupole. Finally, the amount of metal retained by each type of plastic was determined using the following equation:

$$q_e = \frac{C_i - C_e}{m \cdot V} \quad (1)$$

where q_e is the equilibrium adsorption capacity of each metal on the adsorbent (mg g^{-1}); C_i is the initial concentration of the metal (mg L^{-1}) in the aqueous phase; C_e is the equilibrium concentration of each metal (mg L^{-1}) in the aqueous phase; m is the mass of microplastic; and V is the sample volume (L). During the experiment, a solution containing microplastics without contaminants was subjected to the same procedure and used as a blank. Likewise, a previous control test without plastics was carried out with metal solutions to check that there was no metal adsorption by the flasks and there was no

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

precipitation of metals. The blank vials were subjected to the same procedure, and metal concentration in liquid was measured using ICP-masses.

Finally, the microplastics were separated from the solution by filtration with a vacuum pump using Filter-Lab 1240 cellulose filters with a pore size of 16–18 μm . They were left to dry in an oven at a temperature of 40°C for 24 hours. It is not recommended to dry the plastic at higher temperatures, as excessive heat can cause alterations in the polymer. After finishing the tests in the simulator, the microplastics were examined under a Portable Digital Microscope with 4x, with the objective of detecting possible alterations on the surface of the plastic.

2.2.2. Gastrointestinal-Tract-Simulating Membrane Bioreactor (GITSMB) — SimuGIT

The dynamic gastrointestinal simulator system used (SimuGIT) was developed by the Research Group TEP025 of the Department of Chemical Engineering of the University of Granada [31].

The dynamic in-vitro Gastrointestinal-Tract-Simulating Membrane Bioreactor GITSMB (SimuGIT), schematically shown in Figure 1, consists of a continuous stirred-tank reactor (CSTR) connected in series to a continuous plug-flow tubular reactor (PFTR) equipped with a monochannel tubular ceramic microfiltration membrane. The CSTR used to simulate the gastric digestion in the stomach is a benchtop fermenter supplied by Braun Biotech International (model Biostat B). It comprises a conventional autoclavable stirred tank glass vessel equipped with an impeller stirrer (180 W, model Rushton) and a proportional-integral-derivative (PID) unit control system for the temperature, level, foam, dissolved oxygen, and pH. The control system unit includes an RS-422 interface that enables the control of the CSTR with a computer. The CSTR has an external jacket to maintain constant temperature, such that the temperature in the vessel is measured by means of a Pt-100 digital sensor and is accurately controlled ($T_{\text{setpoint}} \pm 0.1^\circ\text{C}$) by the PID loop connected to a thermostatic laboratory bath. The CSTR system also has sampling and reagent addition inlets by means of several peristaltic pumps (Eyela, model MP-3). The pH inside the CSTR is measured by a pH electrode (Hamilton, model Easyferm Plus K8) immersed in the vessel and adjusted by an own-made pH control system based on data acquisition modules, which acts on two different peristaltic pumps that dose the acid and basic solutions (HCl or NaHCO_3).

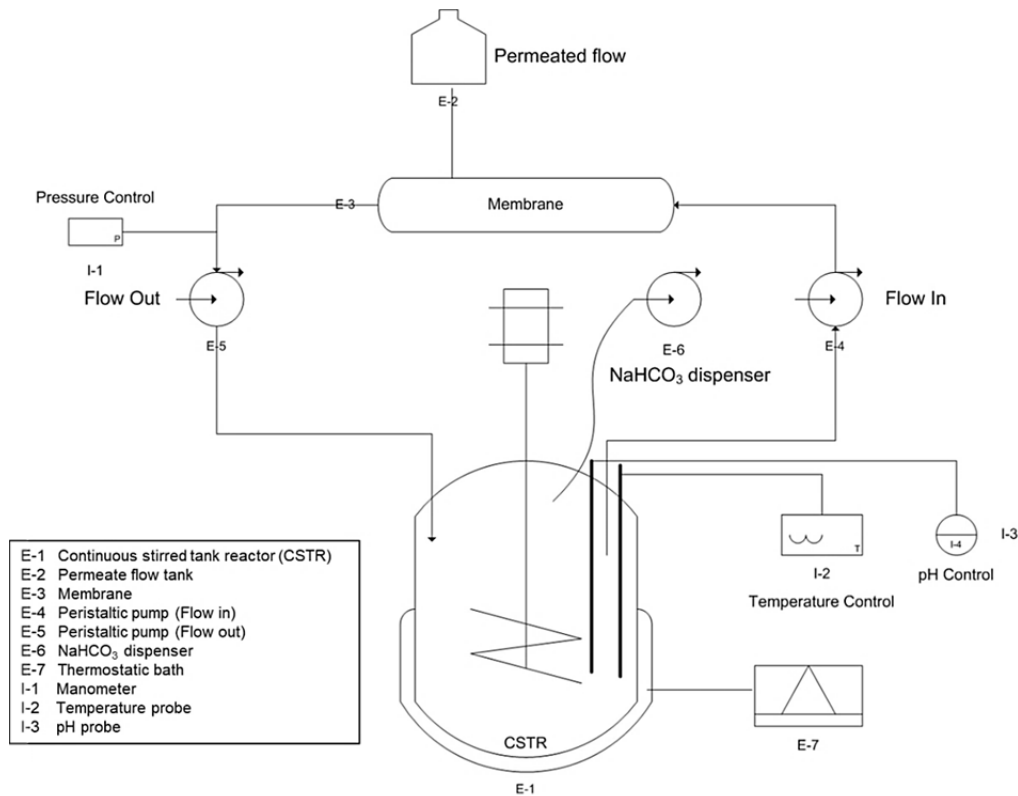


Figure 1. Flow diagram of the dynamic in-vitro Gastrointestinal-Tract-Simulating Membrane Bioreactor (SimuGIT).

The digested solution exiting the CSTR is continuously driven to the PFR. To this end, the PID control system acts on impulsion and return peristaltic pumps (two of the four peristaltic pumps integrated in the benchtop fermented, as previously described), such that by varying the flow rates of these pumps, it is possible to regulate the pressure inside the hydraulic circuits, as well as the product filtration rate. In addition to this own-developed control pressure mechanism, the operating pressure can be adjusted accurately (P setpoint ± 10 mmHg) with a spring-loaded pressure-regulating valve (SS-R4512MM-SP model, Swagelok) and monitored by a digital pressure gauge (Endress + Hauser, model Ceraphant PTC31).

The continuous PFR connected in series to the CSTR serves for the simulation of the conditions in the intestine. It consists of a cylindrical tube made of stainless steel (provided by Prozesstechnik GmbH, Basel, Switzerland) equipped with a monochannel ceramic microfiltration (MF) membrane in tubular configuration provided by Atech Innovations GmbH. The MF membrane used for the experiments is an inorganic one of α -

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Al₂O₃ active surface with a mean pore diameter equal to 0.2 μm and molecular weight cut-off in the range 1.2 kDa (model 20N).

The dimensions of the selected membrane are 1000 mm in length, 6 mm in duct diameter, and 2±0.5 mm in thickness. This type of MF membrane also ensures a series of advantageous characteristics, such as high resistance to temperature (suitable for steam sterilization at 121°C) and pressure (up to 10 bar) during the cleaning protocols, pH stability (0 to 14), possibility of back pulsing, very high abrasion resistance (against aggressive chemical reagents), optimal permeability recovery, as well as high selectivity and performance, and long lifetime service. The PFR is integrated with the CSTR by means of a drive and return system made of chemically resistant polyethylene tubes. Finally, a precision electronic mass balance with USB connectivity (Sartorius, model Quintix 5102, accuracy equal to 1 mg) is coupled to an automatic sampling and data registration system in order to register values of permeate (bioaccessible fraction that crossed the membrane) with time.

2.2.3. GITSMB Conditions

- Gastric Phase

When the trial began, the bath temperature that keeps the reactor jacket warm was set at 37.5±1°C throughout the process, and the reactor stirring speed was set at 50 rpm to simulate the peristaltic movements of the stomach. Next, 800 mL of GSF and 14 mL of SSF were prepared using the reagents mentioned in Section 2.1. The concentrations used of each reagent for each fluid were pre-established in accordance with Brodkorb et al. [33]. Once prepared, the GSF was introduced into the reactor and heated to a temperature of 37.5°C. At this point, the pH dropped to 3, as the empty stomach was simulated before adding the food with the microplastics.

In parallel, 20 g of skimmed milk were weighed and 0.5 g of contaminated plastic were added. Since two different plastics (PE-Cr and PP-Pb) were chosen, two separate tests were carried out. The SSF was then mixed with the food preparation + microplastics; 1 mL alpha-amylase solution (75 U/ml), 0.1 mL CaCl₂·2H₂O of concentration 0.3 M, and 4.9 mL distilled water were added (final salivary fluid to food preparation ratio of 1:1). The mixture was shaken for 2 minutes and the pH was adjusted to 7 (if necessary).

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Once the GSF was hot, the mixture of the food with the SSF was added to the reactor tank, stirred for a few seconds, and an initial sample was taken. Then, a 10 mL solution of pepsin (2000 U) and 50 mg of phospholipid (Lipoid p45) were added, and the pH was adjusted to 3 by controlled dosing of 6 M HCl. From this moment on, a sample was taken every 5 minutes for the next half-hour.

- Duodenum Phase

When the gastric phase ended with the last sample taken, the pH of the GSF was raised to 6.5 by dosing 1 M NaHCO₃ at a rate of 2.05 mL/min and a sample was taken after adjustment. This pH simulates the action of pancreatic juices on the food being digested. Intestinal enzymes were added: 10 mL solution of pancreatic lipase (2000 U/mL), biliary salts (for a final concentration of 5 mM), 10 mL solution of pancreatin (10%), and 1 mL solution of trypsin (50 mg/assay). Digestion in the duodenum takes about 10 minutes after the addition of enzymes, and a sample was taken after that digestion period. The approximate total duration of this phase (including pH rise, addition of enzymes, and digestion) was 30 minutes.

- Intestinal Absorption Phase

To simulate intestinal absorption, fluids from the bioreactor were pumped to flow through the modular filtration system described in Section 2.2.2. A 0.2 µm membrane size was chosen for these trials, based on tests carried out previously [34,35]. The system overpressure limit was set at 50 mmHg, so that the diffusion of metals through the membrane was only due to passive transport. It is important to remind that the ionization characteristics of a compound can have a profound effect on the rate of its transfer by passive diffusion because only the unionized species are capable of passive diffusion across the membrane. Once the circuit was primed and fluids began to flow into the bioreactor, the intestinal absorption phase was considered to have begun and lasted 180 minutes. Samples were taken at 30, 60, 90, 120, 150, and 180 minutes. Two samples were taken each time, one from the fluid filtrated through the membrane (permeate) and another from the retained fluid, which forms part of the colonic residue (retained).

In summary, each simulation test lasted approximately 4 hours: Gastric phase (30 minutes), duodenal phase (30 minutes), and intestinal absorption phase (180 minutes). Each trial was conducted in duplicate. Throughout the trial, the system program generated a data file in which all the events and processes that occurred during the simulation were

recorded. This file was then processed in the computer to obtain information on all the variables.

2.2.4. Analysis of the Samples

All samples collected during the assay were refrigerated and, subsequently, the concentration of metal present in the fluids in each sample was measured using ICP-masses. The concepts of release or bioaccessibility and bioavailability were used in order to measure the amount of Cr and Pb released along the digestive tube that is present in the chymus and the amount absorbed by the membrane, respectively. The release corresponds to the metal fraction (Cr or Pb) delivered by microplastics in the gastrointestinal tract during the gastric and duodenal phases, and was calculated using Equation (2), adapted from Rivas-Montoya et al. [31]. When release and precipitation processes took place simultaneously, the same equation was used to calculate the bioaccessible percentage as the released and non-precipitated fraction in the chymus. On the other hand, bioavailability corresponds to the metal fraction absorbed by diffusion through the membrane during the intestinal absorption phase, and was calculated using Equation (3), adapted from Ariza et al. [36]:

$$\begin{aligned} & \text{Release or bioaccessibility (\%)} \\ &= \frac{\text{Metal amount in chymus}}{\text{Initial metal amount in plastic}} \times 100 \end{aligned} \quad (2)$$

$$\text{Bioavailability (\%)} = \frac{\text{Metal amount in IAS}}{\text{Initial metal amount in plastic}} \times 100 \quad (3)$$

where IAS means intestinal absorption samples. In both equations, the amounts of metal present in the chymus and in the plastic are expressed in milligrams (mg).

3. RESULTS

3.1. Characterization of Microplastics after the In-Vitro Tests

The main properties of the microplastics used (specific surface, porosity, pore size, and null point) were analyzed in a previous study by the same authors [14]. The specific surfaces of PP and PE are the largest of the five types of microplastics analyzed in that study (1.4 and 2.7 m²/g, respectively). This influences the adsorption and desorption capacities due to the competition produced by the ions in the medium to occupy the holes in the plastic structure [37,38]. The pore volume of PE is larger than that of PP (40·10⁻³

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

and $30 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{g}$, respectively), while pore size is inversely proportional to volume, with PP having slightly larger pores than PE, although both have a pore size close to 40 \AA .

The microplastics used were analyzed after the in-vitro tests using a digital microscope in order to detect possible surface degradation or deformation, as well as color changes produced after its passage through the different simulated gastrointestinal conditions (Figure 2). As can be observed, PP microplastics have suffered slight degradation at the edges and have also split a little, being smaller in size. However, the PE microplastics underwent further degradation after the test, which can be detected in a loss of the original color and shape of the microplastic, as well as great degradation of the particle edges (Figure 2B).

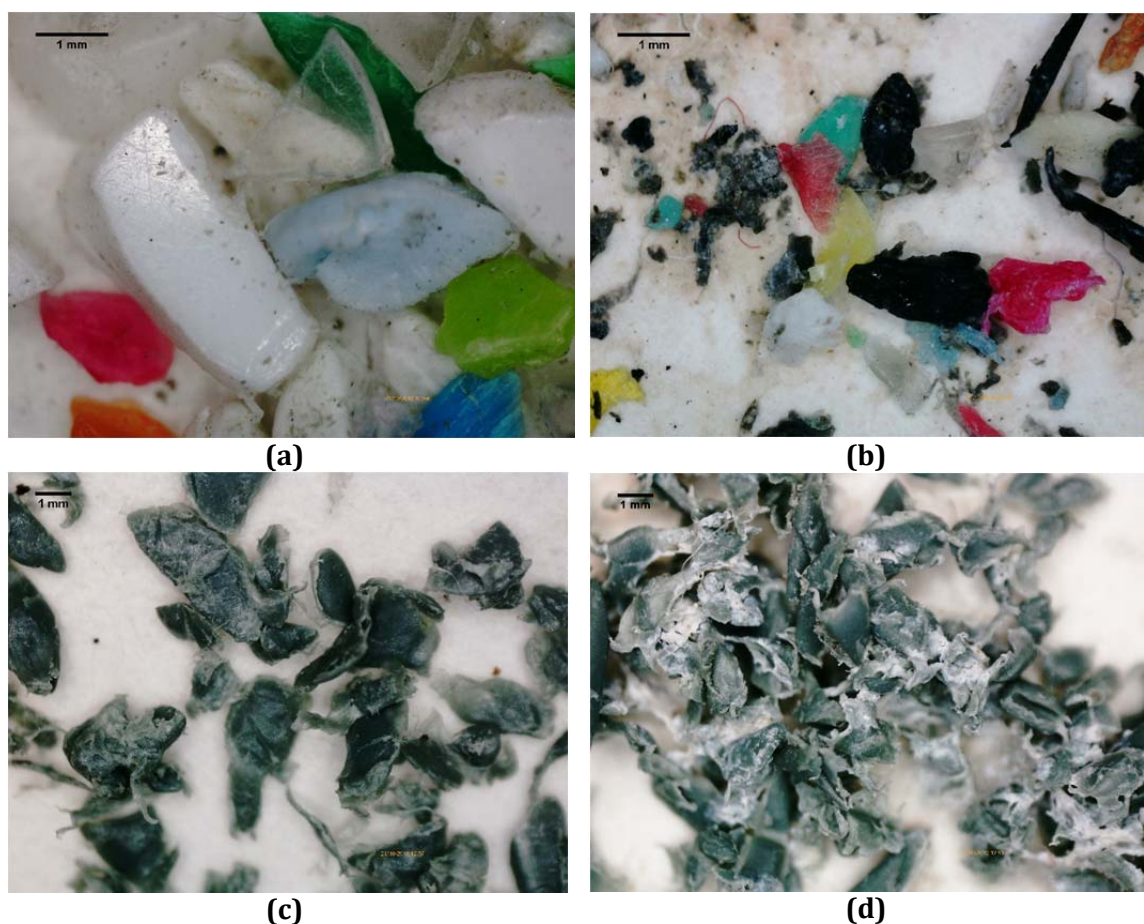


Figure 2. Photographs of the microplastics used in the in-vitro tests. (a) PP before the test; (b) PP after the test; (c) PE before the test; (d) PE after the test.

The PE used came from recycled pellets in which different types of polyethylene are mixed (mainly high density and low density). Both types of polyethylene have different properties (e.g., density, crystallinity, chemical resistance, hardness, etc.) and different

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

behavior in relation to the surrounding environment, which could have caused the degradation of PE to be greater than that of PP. However, the effect of these factors is complex and must be studied in depth in subsequent studies.

This degradation may have led to the release of small fibers or nano-sized PE particles (known as nano-plastics). There are numerous factors that control the degradation of polymers, such as the type of chemical bond in the structure, the pH of the medium, the composition of the polymer, or the uptake of water [39]. According to this author, it is difficult to analyze the degradation of a polymer, since there are several indicators (e.g., loss of molecular weight, loss of mechanical strength, or release of monomers), and not all of these changes occur necessarily with the same kinetics. However, this author states that when polymers suffer erosion, morphological changes occur and a loss of surface material is produced. It is clear that the PE after the in-vitro test in the gastrointestinal simulator has undergone surface changes, so it is probable that a release of nano-fibers or nano-particles of PE into the gastrointestinal tract may have occurred.

For both types of microplastics used (PE and PP), the physical alteration suffered by the microplastics studied may influence the adsorption capacity and diffusivity of Cr and Pb through the structure [40].

3.2. Metal Amount Adsorbed by Microplastics in the Previous Adsorption Tests

Table 1 shows the results obtained for the q_e measured at PE and PP according to the methodology described in Section 2.2.1. As can be observed, PP has a higher adsorption capacity for Pb than PE for Cr, which is reflected in a higher q_e . Since the adsorption test was performed with 0.5 g of microplastics, the amount of metal present in these plastics is half of q_e . In view of the results obtained, there is more metal present in PP than in PE at the time of starting the in-vitro tests.

The adsorption capacity of polymers is influenced by many variables that are not the main objective of this study. Some of these variables are the type of polymer and the type of contaminant with which polymers interact, since properties such as the point of zero charge (pzc) of the polymer, the surface groups, or the degree of degradation should be considered, as well as characteristics of the contaminant, such as polarity, hydrophobicity, or the speciation of the metal in aqueous solution (i.e., hydrated, in ionic

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

form, in molecular form, etc.) [41–44]. In addition, the properties of the medium (especially the pH) should also be taken into account.

Table 1. Maximum calculated amount of metal that microplastics can adsorb (q_e), and amount of metal contained in the plastics at the start of the in-vitro tests.

Plastic and metal	q_e (mg·g ⁻¹)	mg in microplastic
PE - Cr	2.31	1.16
PP - Pb	4.92	2.46

3.3. In-Vitro Simulating Assay PE-Cr

The most noticeable result of the in-vitro simulating assay PE-Cr was that 86.08% of the initial Cr retained in the microplastics was released after two minutes of contact with the GSF fraction (Figure 3A). As a consequence, that Cr became bioaccessible at this point of the stomach simulating phase. This resulted in the release of 0.99 mg Cr into the GSF solution. However, from that moment on, the amount of Cr available in solution during the gastric phase began to decrease noticeably, so that at the end of this phase, only 0.38 mg of Cr remained available in solution, and it is susceptible to reach the intestinal absorption phase. Therefore, the percentage of bioaccessible Cr decreased from 86.08% at minute 2 to 32.76% at minute 27, as can be seen in Figure 3A. These changes took place at a pH of approximately 3 (Figure 4A) and a temperature of 37.5°C, values that remained almost constant throughout the entire gastric phase. This value of pH is related with the action of pepsin and phospholipid on the added uperized milk.

The fast release of Cr into the medium may be due to a chemical preference of metal for acids, already demonstrated by some studies [45]. Deitsch and Rockaway [46] suggested that intestinal surfactants increase the rate of diffusion of solutes present in the polymer. Bakir et al. [37] also performed desorption tests of persistent organic pollutants (POPs) contained in microplastics in seawater and in the presence of intestinal surfactants, establishing that the most favorable and rapid desorption occurred in the second case.

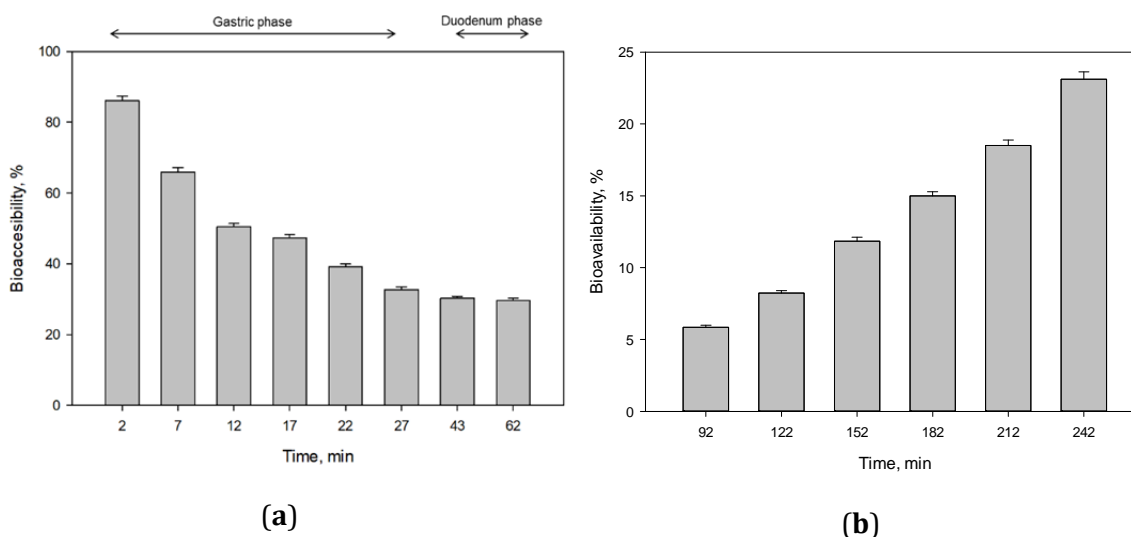


Figure 3. (a) Percentage of Cr available in the Gastric Simulated Fluid (GSF) during the gastric and duodenal phases (bioaccessibility); (b) percentage of Cr absorbed by the membrane during the intestinal absorption phase, with respect to the amount of Cr that was initially adsorbed onto the microplastic (bioavailability).

The rapid release of Cr might also be related to the characteristics of the chosen polymer. The PE used came from recycled pellets in which different types of polyethylene are mixed (mainly high density and low density). Both types of polyethylene have different properties (e.g., density, crystallinity, chemical resistance, hardness, etc.) and different behaviors in relation to the surrounding environment. In addition, PE has a high specific surface and a significant porosity, which enhance the adsorption of pollutants [12]. In addition, the degradation of the PE plastic surface during the assay can cause breakage of bonds and formation of cracks, favoring the diffusivity of the particles and, therefore, their rapid release into the medium [47].

Cr^{3+} in solution can form different complexes or can precipitate depending on the ions present in the medium, the pH, and other factors (Gorny et al., [48]). Most researchers indicate the precipitation of Cr as hydroxide from pH 5–6 (Fendorf, [49]; Rai et al., [50]), although it can also precipitate as oxide, depending on the aqueous medium conditions.

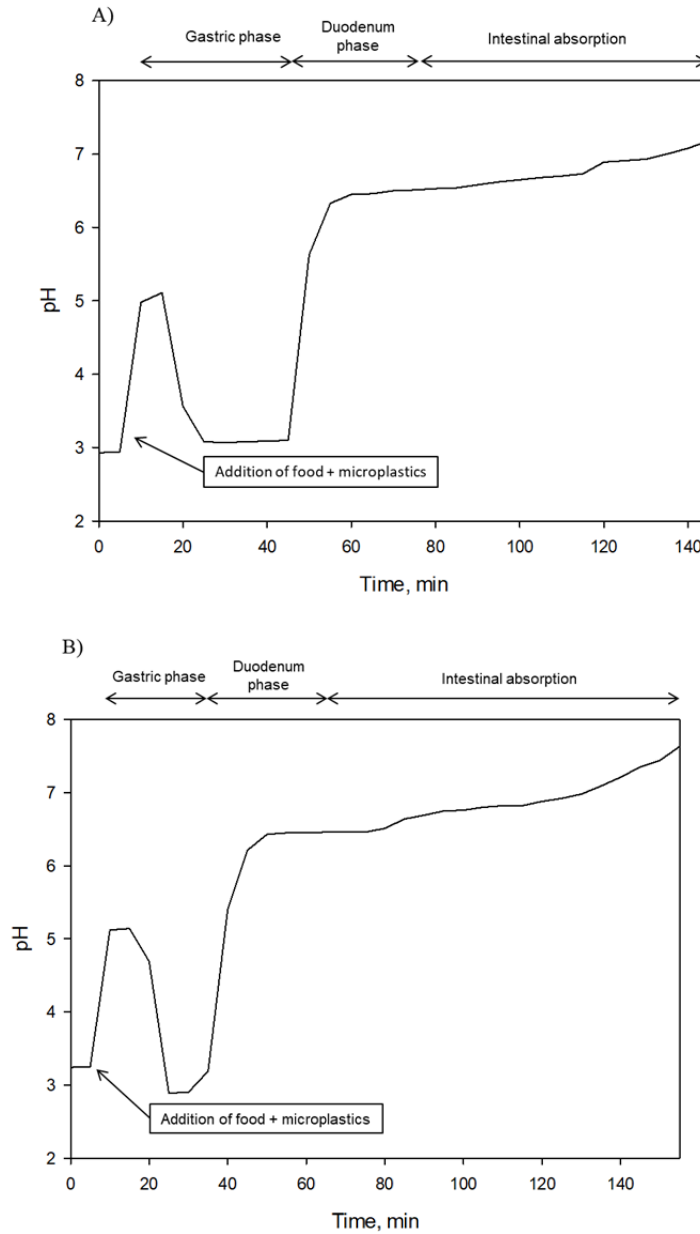
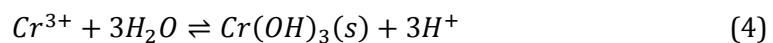


Figure 4. Evolution of pH along the three phases of the simulated digestion in the assays with A) Cr and B) Pb.

Rai et al. [50] studied the solubility of Cr and its different species from hydrolysis reactions, and estimated that at pH values lower than 4, Cr^{3+} precipitation was produced in the form of hydroxide, according to the following reaction:



$$K_s = 9.64 \pm 0.23 \quad (5)$$

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

As described in Section 2.1, numerous chemical compounds have been used in the tests of this study that provide a great diversity of cations and anions with which Cr³⁺ can interact to form various compounds in solution or precipitates (Figure S1, Supplementary Material). In this case, hydrated species and an oxide that precipitates from pH 4 have been formed. Therefore, it can be concluded that, in this test, the precipitation of Cr occurs due to the interaction with the numerous species present in the medium.

According to Figure 3A, Cr started to precipitate after the first two minutes of contact with the GSF. This precipitate was therefore not available in the chyme at the beginning of the intestinal absorption phase. This precipitated Cr became part of the colonic residue (called "retained" in Section 2.2.3), a non-absorbed fluid that would pass into the colon and would eventually be excreted through urine and stool, as some studies have demonstrated [51]. Table 2 shows the amount of Cr precipitated at the end of gastric and duodenal phases, with respect to the maximum amount of Cr released by microplastics (0.99 mg). The highest precipitation occurred during the gastric phase, in which more than 60% of the maximum Cr released was precipitated. By the end of the duodenal phase, 65% of the released Cr had precipitated, which means that this amount became part of the colonic residue. Therefore, 0.34 mg of Cr remained bioavailable at the beginning of the intestinal absorption phase.

Table 2. Amount of Cr precipitated at the end of the gastric and duodenal phases and not available in the intestinal absorption phase.

Phase	Time (min)	Milligrams of Cr precipitated ^{1*}	% of Cr precipitated
End of gastric phase	27	0.62	61.98
End of duodenal phase	62	0.66	65.64

¹ Cr precipitated with respect to the maximum amount released from the microplastic.

When the duodenal phase began, there was an increase in pH up to 6.5 (Figure 4) related to the addition of pancreatic juices. At this stage, the amount of Cr present in solution remained stable, and at the end, there was 29.58% of the initial Cr amount in the intestinal streams (Figure 3A), which was equivalent to 0.34 mg. This amount was available in the liquid when the intestinal absorption phase began, and could therefore be absorbed by the membrane. As the intestinal phase progressed, the amount of Cr permeating the membrane increased. When the intestinal absorption stage ended, 23.11% of the initial amount of Cr had been absorbed by the membrane (Figure 3B), which was equivalent to 0.23 mg.

3.4. In-Vitro Simulating Assay PP-Pb

In this test, Pb was released more slowly and gradually than Cr. The maximum amount released to the gastrointestinal system occurred within 20 minutes of the start of the assay, with 32.41% of the initial Pb released (Figure 5A). This was equivalent to 0.80 mg of Pb available in GSF. As other studies have shown, Pb was released quite well at acid pH, in media such as organic acids or nitric acid [52,53].

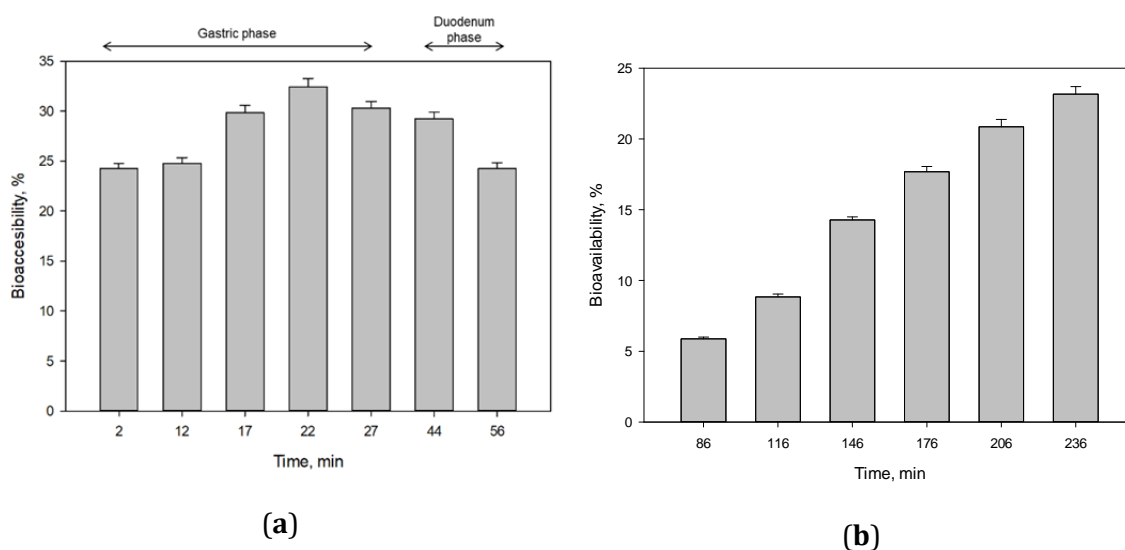


Figure 5. (a) Percentage of Pb available in the GSF during the gastric and duodenal phases (bioaccessibility); (b) percentage of Pb absorbed by the membrane during the intestinal absorption phase, with respect to the amount of Pb that was initially adsorbed onto the microplastic (bioavailability).

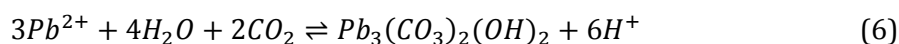
Compared to the results obtained in the PE-Cr test, Pb took longer to break free from microplastics and was also released in much smaller quantities. This could be due to a combination between the structure of PP and the chemical character of Pb that causes a stronger bond than that of Cr atoms with PE. According to Holmes [13], the most favorable interactions between metals and microplastics occur with bivalent cations, such as Pb^{2+} , Cd^{2+} , or Cu^{2+} . Likewise, the previous adsorption study carried out by the same authors [12] demonstrated the existence of titanium oxide in PP microplastics, an inorganic pigment widely used in the manufacture of plastics [54]. This pigment can act by favoring the adsorption and retention of metals by contributing to the formation of negatively charged surfaces, which have more affinity for cations [55].

PP also has a specific surface lower than PE ($1.4 \text{ m}^2/\text{g}$) and a moderate porosity ($30 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3/\text{g}$), which can also be decisive factors for slow release, as a large atom such as

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

Pb can become very embedded in the pores of PP and have a slow diffusivity [56]. The release occurred during the gastric phase, at a pH close to 3 (Figure 4B) and a temperature close to 37.5°C. These values remained constant throughout the gastric phase. As can be observed, the pH and temperature values showed the same behavior as in the test with Cr.

From that moment on, there was a slow and progressive decrease in the amount of Pb available in the liquid. This decrease could be associated with the rise in pH that occurred at the beginning of the duodenal phase as a result of the addition of pancreatic juices (Figure 4B). When the pH increases above 6, Pb²⁺ reacts with the carbonate ions (CO₃²⁻) available in the medium and precipitates in the form of lead hydroxycarbonate, also known as hydrocerusite, according to the following reaction [57]:



Pb precipitation showed a very different behavior from that of Cr. Table 3 shows the amount of Pb precipitated at the end of the gastric and duodenal phases. Of the maximum amount of Pb released by microplastics (0.80 mg), more than 25% precipitated before the intestinal absorption phase (Table 3). In addition, precipitation began at the beginning of the duodenal phase (Figure 5A) when the pH increased to 6.5 (Figure 4B). This means that 0.20 mg of the maximum Pb released became part of the colonic residue, which could later be excreted, according to some studies already conducted on the presence of Pb in the human body [58]. Thus, at the beginning of the intestinal absorption phase, 0.60 mg of Pb was available to be permeated by the membrane.

Table 3. Amount of Pb precipitated at the end of the gastric and duodenal phases and not available in the intestinal absorption phase.

Phase	Time (min)	Milligrams of Pb precipitated ^{1*}	% of Pb precipitated
End of gastric phase	27	0.053	6.61
End of duodenal phase	56	0.20	25.22

¹ Pb precipitated respect to the maximum amount released from the microplastics.

When the intestinal absorption phase began, the 24.24% of the total initial Pb was available in postduodenal fluids that could consequently be absorbed by the membrane (equivalent to 0.60 mg of Pb). The behavior of absorption during that phase was very similar to that of Cr (Figure 5B), although Pb was absorbed in greater quantity by the membrane. Thus, when the intestinal absorption stage ended, 23.17% of the total initial

Pb present in the microplastics had been absorbed by the membrane (Figure 5B), which was equivalent to 0.57 mg. Therefore, comparing both assays conducted, the reactor membrane simulating intestinal absorption absorbed more Pb than Cr, in terms of net amounts (0.23 and 0.57 mg absorbed for Cr and Pb, respectively).

3.5. Evolution of pH, temperature, and pressure along the assays

The evolution of pH, temperature, and pressure was quite similar in both the PE-Cr and PP-Pb assays. As for pH values, after adding the GSF, an empty stomach of a healthy adult was simulated and the pH dropped to values close to 3. Then, after adding the skimmed milk with the microplastics and SSF, the pH increased to values close to 5 (Figure 4). At this point, the pH was lowered by adding HCl 6 M until it reached a value close to 3, simulating GSF action on food, in which it was maintained during the whole gastric phase.

When the duodenal phase began, the pH was raised again by adding NaHCO_3 at a rate of $2.05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ until reaching a value of 6.5, simulating the passage of food with GSF and microplastics through the duodenum. Subsequently, with the addition of lipase and bile salts, the pH began to rise slowly during the intestinal absorption phase, until reaching values close to 7.5, according to scientific literature that establishes a pH of 7.5 in the ileum [59]. The temperature was monitored throughout the duration of the trials, and no significant changes were observed, always remaining constant around 37.5 degrees. This indicates that the dynamic gastrointestinal simulator worked adequately, as the temperature during the whole digestion process is constant and should not vary.

As for the pressure, it was accurately controlled by the PID control system through the action of impulsion and return peristaltic pumps to maintain the pressure at 50 mmHg during the trials. This pressure reliably simulates the real physiological pressure of the intestine inside the human body [60,61]. A very slight pressure similar to the minimum physiological pressure was applied so that the diffusion of metals was carried out only by passive diffusion. The difference in concentration is the only driving force in passive diffusion, and, therefore, bioaccessibility is due solely to the ability of each element to pass through the membrane. On the other hand, the interaction of Cr and Pb during the simulation and the formation of different species by effect of the conditions of the environment limit and affect their diffusion capacity through the membrane and, therefore, their bioaccessibility.

5. CONCLUSIONS

The objective of this research was to study the bioaccessibility of two heavy metals (Cr and Pb) contained in microplastics in the human body by using a dynamic gastrointestinal simulator. This type of dynamic simulator is able to reproduce the physiological conditions of the human gastrointestinal tract and is normally used to study the effects of the active components of drugs and their resistance along the different phases of digestion. However, to the best of the authors' knowledge, this is the first study that used a dynamic gastrointestinal simulator to analyze the release of contaminants present in microplastics inside the human body.

The results obtained showed very different behaviors for both types of polymers and metals. With respect to metals, Cr was released very quickly into the stomach and began to precipitate within a few minutes, while Pb was released more slowly and in a smaller amount than Cr, and started to precipitate when the pH increased to 6.5 in the duodenum. A maximum amount of 0.99 and 0.80 mg of Cr and Pb, respectively, was released into the GSF, which was equivalent to 86.08% and 32.41% of the initial Cr and Pb adsorbed in microplastics, respectively. When the duodenal phase ended, 29.58% and 24.24% of the initial Cr and Pb amounts in microplastics, respectively, reached the intestinal absorption phase. At the end of that phase, more Pb than Cr (0.57 and 0.23 mg, respectively) was absorbed by the reactor membrane simulating intestinal absorption. This represents 23.17% and 23.11% of the initial Pb and Cr amounts adsorbed onto microplastics, respectively. The type of polymer and its properties also influenced these behaviors. Properties such as great specific surface and porosity or the surface wear suffered by the microplastics during the assays could influence the diffusion of Cr and Pb.

It is a reality that humans ingest microplastics or some of their components from various sources on a daily basis. These microplastics are usually contaminated with other substances from the external environment or with their own additives, and, inside of the human body, can produce the release of numerous substances that, even in small concentrations, can cause effects related to the appearance of some chronic illnesses or discomforts. The use of the dynamic gastrointestinal simulator to study the behavior of microplastics and their associated contaminants has proven in this study to be useful and reproducible. For this reason, future studies should focus on this field, and the effects that these substances can cause could be known with greater certainty.

Supplementary Materials: Figure S1: Solubility diagram of Cr³⁺ at 25°C in the presence of compounds forming part of GSF in the in-vitro tests. This species diagram relates the molar fraction of each species as a function of pH. The blue line indicates a chemical complex.

Author Contributions: Conceptualization, A. Martínez-Férez, M.A. Martín-Lara, and M. Calero; Methodology, A. Martínez-Férez, J.A. Vellido-Pérez, and M. Calero; Software, A. Martínez-Férez and J.A. Vellido-Pérez; Validation, A. Martínez-Férez and M. Calero; Formal analysis, V. Godoy and J.A. Vellido-Pérez; Investigation, V. Godoy, M.A. Martín-Lara, and G. Blázquez; Resources, A. Martínez-Férez and G. Blázquez; Data curation, V. Godoy and M. Calero; Writing—original draft, V. Godoy; Writing—review and editing, M.A. Martín-Lara and A. Martínez-Férez; Visualization, V. Godoy and A. Martínez-Férez; Supervision, A. Martínez-Férez, M.A. Martín-Lara, M. Calero, and G. Blázquez; Project administration, A. Martínez-Férez, M.A. Martín-Lara, M. Calero, and G. Blázquez; Funding Acquisition, M. Calero, M.A. Martín-Lara, G. Blázquez and A. Martínez-Férez.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Cole, M.; Lindeque, P.; Halsband, C.; Galloway, T.S. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* **2011**, *62*, 2588–2597, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.
2. De Falco, F.; Gullo, M.P.; Gentile, G.; Di Pace, E.; Cocca, M.; Gelabert, L.; Brouta-Agnésa, M.; Rovira, A.; Escudero, R.; Villalba, R.; et al. Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environ. Pollut.* **2018**, *236*, 916–925, doi: 10.1016/j.envpol.2017.10.057.
3. Sommer, F.; Dietze, V.; Baum, A.; Sauer, J.; Gilge, S.; Maschowski, C.; Gieré, R. Tire Abrasion as a Major Source of Microplastics in the Environment. *Aerosol Air Qual. Res.* **2018**, *18*, 2014–2028, doi:10.4209/aaqr.2018.03.0099.
4. Shahul Hamid, F.; Bhatti, M.S.; Anuar, N.; Anuar, N.; Mohan, P.; Periathamby, A. Worldwide distribution and abundance of microplastic: How dire is the situation? *Waste Manag. Res.* **2018**, *36*, 873–897, doi:10.1177/0734242X18785730.

5. Frias, J.P.G.L.; Nash, R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Mar. Pollut. Bull.* **2019**, *138*, 145–147, doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.11.022.
6. Bergmann, M.; Mützel, S.; Primpke, S.; Tekman, M.B. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. *Sci. Adv.* **2019**, *5*, doi:10.1126/sciadv.aax1157.
7. Allen, S.; Allen, D.; Phoenix, V.R.; Le Roux, G.; Jiménez, P.D.; Simonneau, A.; Binet, S.; Galop, D. Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nat. Geosci.* **2019**, *12*, 339–344, doi:10.1038/s41561-019-0335-5.
8. Dris, R.; Gasperi, J.; Tassin, B. Sources and Fate of Microplastics in Urban Areas: A Focus on Paris Megacity. In *Freshwater Microplastics—The Handbook of Environmental Chemistry*; Wagner, M., Lambert, S., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 2018; p. 69. Available online: <http://www.springer.com/series/698> (accessed on 14th April, 2020).
9. Rochman, C.M.; Hoh, E.; Kurobe, T.; The, S.J. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Sci. Rep.* **2013**, *3*, 3263, doi:10.1038/srep03263.
10. Karbalaei, S.; Hanachi, P.; Walker, T.R.; Cole, M. Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, *25*, 36046–36063, doi:10.1007/s11356-018-3508-7.
11. Ashton, K.; Holmes, L.; Turner, A. Association of metals with plastic production pellets in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **2010**, *60*, 2050–2055, doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.07.014.
12. Brennecke, D.; Duarte, B.; Paiva, F.; Caçador, I.; Canning-Clode, J. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast Shelf Sci.* **2016**, *178*, 189–195, doi: 10.1016/j.ecss.2015.12.003.
13. Holmes, L. *Interactions of Trace Metals with Plastic Production Pellets in the Marine Environment*; University of Plymouth: Plymouth, UK, 2013.
14. Godoy, V.; Blázquez, G.; Calero, M.; Quesada, L.; Martín-Lara, M.A. The potential of microplastics as carriers of metals. *Environ. Pollut.* **2019**, *255*, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113363.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

15. Lusher, A. Microplastics in the Marine Environment: Distribution, Interactions and Effects. In *Marine Anthropogenic Litter*; Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 2015; pp. 245–307.
16. Novotna, K.; Cermakova, L.; Pivokonska, L.; Cajthaml, T.; Pivokonsky, M. Microplastics in drinking water treatment—Current knowledge and research needs. *Sci. Total Environ.* **2019**, *667*, 730–740, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.431.
17. Cox, K.D.; Covernton, G.A.; Davies, H.L.; Dower, J.F.; Juanes, F.; Dudas, S.E. Human Consumption of Microplastics. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*, 7068–7074, doi: 10.1021/acs.est.9b01517.
18. Ma, P.; Wei Wang, M.; Liu, H.; Feng Chen, Y.; Xia, J. Research on ecotoxicology of microplastics on freshwater aquatic organisms. *Environ. Pollut. Bioavailab.* **2019**, *31*, 131–137, doi:10.1080/26395940.2019.1580151.
19. Schwabl, P.; Köppel, S.; Königshofer, P.; Bucsecs, T.; Trauner, M.; Reiberger, T.; Liebmann, B. Detection of Various Microplastics in Human Stool: A Prospective Case Series. *Ann. Intern. Med.* **2019**, *171*, 453, doi:10.7326/M19-0618.
20. Liao, Y.; Yang, J. Science of the Total Environment Microplastic serves as a potential vector for Cr in an in-vitro human digestive model. *Sci. Total Environ.* **2020**, *703*, 134805, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134805.
21. Campanale, C.; Massarelli, C.; Savino, I.; Locaputo, V. A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 1212, doi:10.3390/ijerph17041212.
22. Cima, F. Tin: Environmental Pollution and Health Effects. In *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*; 2011; Elsevier, USA, pp. 351–359, doi:10.1016/B978-0-12-409548-9.11198-4.
23. Darbre, P.D. Metalloestrogens: An emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *J. Appl. Toxicol.* **2006**, *26*, 191–197, doi:10.1002/jat.1135.
24. Dupont, D.; Mackie, A.R. Static and dynamic in vitro digestion models to study proteins stability in the gastrointestinal tract. *Drug Discov. Today Dis. Model.* **2016**, *17–18*, 23–27, doi: 10.1016/j.ddmod.2016.06.002.

25. Thuenemann, E.C. Dynamic Digestion Models: General Introduction. In *The Impact of Food Bio-Actives on Gut Health*; Verhoeckx, K., Ed.; Springer: Cham, Switzerland, 2015; pp. 33–36, doi:10.1007/978-3-319-16104-4.
26. Molly, K.; Woestyne MVande Smet IDE Verstraete, W. Validation of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME) reactor using microorganism-associated activities. *Microb. Ecol. Health Dis.* **1994**, *7*, 191–200, doi:10.3109/08910609409141354.
27. Minekus, M.; Marteau, P.; Havenaar, R. Multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating stomach and small intestine. *Altern. Lab. Anim.* **1995**, *23*, 197–209.
28. Barroso, E.; Cueva, C.; Peláez, C.; Martínez-Cuesta, M.C.; Requena, T. Development of human colonic microbiota in the computer-controlled dynamic SIMulator of the GastroIntestinal tract SIMGI. *LWT Food Sci. Technol.* **2015**, *61*, 283–289, doi: 10.1016/j.lwt.2014.12.014.
29. Ménard, O.; Cattenoz, T.; Guillemin, H.; Souchon, I.; Deglaire, A.; Dupont, D.; Picque, D. Validation of a new in vitro dynamic system to simulate infant digestion. *Food Chem.* **2014**, *145*, 1039–1045, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.036.
30. Mainville, I.; Arcand, Y.; Farnworth, E.R. A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *99*, 287–296, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.020.
31. Rivas-Montoya, E.; Ochando-Pulido, J.M.; López-Romero, J.M.; Martínez-Ferez, A. Application of a novel gastrointestinal tract simulator system based on a membrane bioreactor (SimuGIT) to study the stomach tolerance and effective delivery enhancement of nanoencapsulated macelignan. *Chem. Eng. Sci.* **2016**, *140*, 104–113, doi: 10.1016/j.ces.2015.10.006.
32. Sumeri, I. The Study of Probiotic Bacteria in Human Gastrointestinal Tract Simulator. In *Competence Center of Food and Fermentation Technologies*; TUT Press: Toyohashi, Japan, 2011.
33. Brodkorb, A.; Egger, L.; Alminger, M.; Alvito, P.; Assunção, R.; Ballance, S.; Bohn, T.; Bourlieu-Lacanal, C.; Boutrou, R.; Carrière, F.; et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc.* **2019**, *14*, 991–1014, doi:10.1038/s41596-018-0119-1.

34. Abad, P.; Arroyo-Manzanares, N.; García-Campa, A.M.; Martínez-Ferez, A. Effects of different vehiculization strategies for the allium derivative propyl propane thiosulfonate during dynamic simulation of the pig gastrointestinal tract. *Can. J. Anim. Sci.* **2019**, *99*, 244–253, doi:10.1139/cjas-2018-0063.
35. González, E.; Gómez-Caravaca, A.M.; Giménez, B.; Cebrián, R.; Maqueda, M.; Martínez-Ferez, A.; Segura-Carretero, A.; Robert, P. Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem.* **2018**, *279*, 40–48, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.127.
36. Ariza, M.T.; Rodríguez, P.R.; Cervantes, L.; Soria, C.; Martínez-Ferri, E.; González-Barreiro, C.; Cancho-Grande, B.; Battino, M.; Simal-Gandara, J. Bioaccessibility and potential bioavailability of phenolic compounds from achenes as a new target for strawberry breeding programs. *Food Chem.* **2018**, *248*, 155–165, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.105.
37. Bakir, A.; Rowland, S.J.; Thompson, R.C. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuar. Coast Shelf Sci.* **2014**, *140*, 14–21, doi: 10.1016/j.ecss.2014.01.004.
38. Rochman, C.M.; Hentschel, B.T.; The, S.J. Long-term sorption of metals is similar among plastic types: Implications for plastic debris in aquatic environments. *PLoS ONE* **2014**, *9*, doi: 10.1371/journal.pone.0085433.
39. Göpferich, A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials* **1996**, *17*, 103–114.
40. Holmes, L.A.; Turner, A.; Thompson, R.C. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. *Mar. Chem.* **2014**, *167*, 25–32, doi: 10.1016/j.marchem.2014.06.001.
41. Abu-zurayk, R.A.; Al, R.Z.; Hamadneh, I.; Al-dujaili, A.H. Adsorption of Pb (II), Cr (III) and Cr (VI) from aqueous solution by surfactant-modified diatomaceous earth: Equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling studies. *Int. J. Miner. Process.* **2015**, *140*, 79–87, doi: 10.1016/j.minpro.2015.05.004.
42. Zhang, W.; Zhang, L.; Hua, T.; Li, Y.; Zhou, X. The mechanism for adsorption of Cr (VI) ions by PE microplastics in ternary system of natural water environment. *Environ. Pollut.* **2019**, 113440, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113440.

Anexo I. Publicaciones derivadas de la investigación

43. Alemu, A.; Lemma, B.; Gabbiye, N. Adsorption of chromium (III) from aqueous solution using vesicular basalt rock. *Cogent. Environ. Sci.* **2019**, *5*, doi:10.1080/23311843.2019.1650416.
44. Turner, A.; Holmes, L.A. Adsorption of trace metals by microplastic pellets in fresh water. *Environ. Chem.* **2015**, *12*, 600–610, doi:10.1071/EN14143.
45. Qiang, T.; Fan, G.; Yufeng, G.; Toru, I.; Takeshi, K. Desorption characteristics of Cr (III), Mn (II), and Ni (II) in contaminated soil using citric acid and citric acid-containing wastewater. *Soils Found* **2018**, *58*, 50–64, doi: 10.1016/j.sandf.2017.12.001.
46. Deitsch, J.J.; Rockaway, E.J. Surfactant-Enhanced Desorption of Organic Pollutants from Natural Soil. In *Physicochemical Groundwater Remediation*; Springer: Boston, MA, USA, 2001; Volume 217, pp. 217–243.
47. Hartmann, N.B.; Rist, S.; Bodin, J.; Jensen, L.H.S.; Schmidt, S.N.; Mayer, P.; Meibom, A.; Baun, A. Microplastics as vectors for environmental contaminants: Exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integr. Environ. Assess. Manag.* **2017**, *13*, 488–493, doi:10.1002/ieam.1904.
48. Gorny, J.; Billon, G.; Noiriel, C.; Dumoulin, D.; Lesven, L.; Madé, B. Chromium behavior in aquatic environments: A review. *Environ. Rev.* **2016**, *24*, 503–516, doi:10.1139/er-2016-0012.
49. Fendorf, S.E. Surface reactions of chromium in soils and waters. *Geoderma* **1995**, *67*, 55–71.
50. Rai, D.; Sass, B.M.; Moore, D.A. Chromium (III) hydrolysis constants and solubility of chromium (III) hydroxide. *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 345–349, doi:10.1021/ic00250a002.
51. Alvarado-Gámez, A.; Blanco-Sáenz, R.; Mora-Morales, E. El cromo como elemento esencial en los humanos. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* **2002**, *23*, 55–68.
52. Yang, J.Y.; Yang, X.E.; He, Z.L.; Li, T.Q.; Shentu, J.L.; Stoffella, P.J. Effects of pH, organic acids, and inorganic ions on lead desorption from soils. *Environ. Pollut.* **2006**, *143*, 9–15, doi: 10.1016/j.envpol.2005.11.010.

53. Deng, L.; Su, Y.; Su, H.; Wang, X.; Zhu, X. Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *143*, 220–225, doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.09.009.
54. Hahladakis, J.N.; Velis, C.A.; Weber, R.; Iacovidou, E.; Purnell, P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J. Hazard. Mater.* **2018**, *344*, 179–199, doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.10.014.
55. Bayo, J.; Martínez, A.; Guillén, M.; Olmos, S.; Roca, M.-J.; Alcolea, A. Microbeads in Commercial Facial Cleansers: Threatening the Environment. *CLEAN Soil Air Water* **2017**, *45*, 1600683, doi:10.1002/clen.201600683.
56. Teuten, E.L.; Saquing, J.M.; Knappe, D.; Barlaz, M.A.; Jonsson, S.; Björn, A.; Rowland, S.J.; Thompson, R.C.; Galloway, T.S.; Yamashita, R.; et al. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philos. Trans. R. Soc. B: Boil. Sci.* **2009**, *364*, 2027–2045, doi:10.1098/rstb.2008.0284.
57. Escudero, R.; Espinoza, E.; Tavera, F.J. Precipitation of Lead Species in a Pb—H₂O System. *Res. J. Recent. Sci.* **2013**, *2*, 1–8.
58. Poma, P.A. Intoxicación por Plomo en Humanos. In *Anales de la Facultad de Medicina*; UNMSM. Facultad de Medicina: Lima, Peru, 2008; Volume 69, pp. 120–126.
59. Moore, J.H.; Christie, W.W. Chapter 6: Digestion, Absorption and Transport of Fats in Ruminant Animals. In *Fats in Animal Nutrition*; Wiseman, J., Ed.; Butterworths: New York, NY, USA, 1984; pp. 123–149.
60. Kim, Y.; Lee, G.; Park, S.; Kim, B.; Park, J.; Cho, J. Pressure Monitoring System in Gastro-Intestinal Tract. In Proceedings of the International Conference on Robotics and Automation, Barcelona, Spain, 18–22 April 2005; pp. 1333–1338.
61. Hasler, W.I. Small Intestinal Motility. In *Physiology of the Gastro-Intestinal Tract*, 4th ed.; Elsevier: Cambridge, MA, USA, 2006.

© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



SUPPLEMENTARY MATERIAL

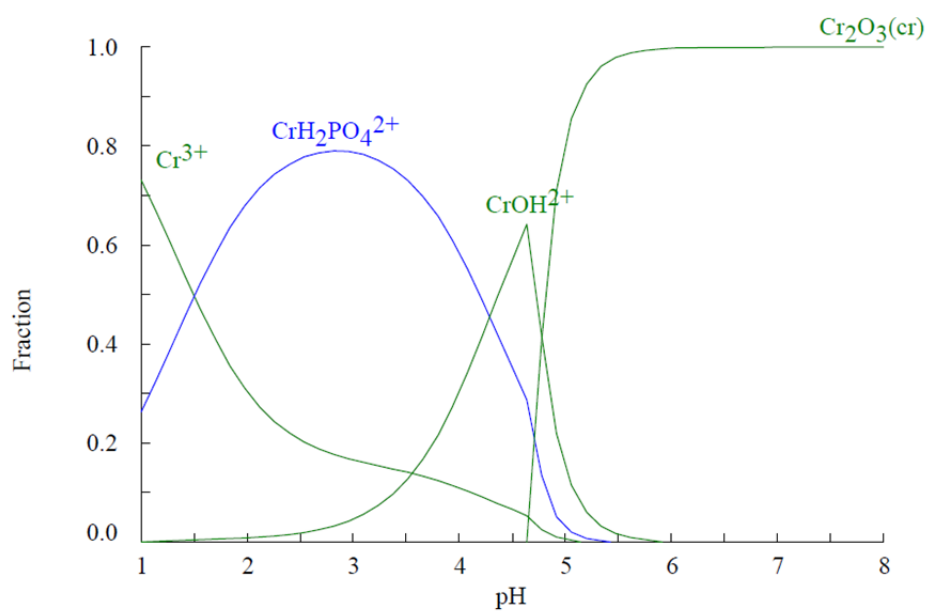


Figure S1. Solubility diagram of Cr^{3+} at 25°C in the presence of compounds forming part of GSF in the in-vitro tests. This species diagram relates the molar fraction of each species as a function of pH. The blue line indicates a chemical complex.

ANEXO II. PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL CON MICROPLÁSTICOS

En el presente Anexo se han recogido los resultados correspondientes a los 10 productos de cuidado personal analizados en el apartado 2.1 pero no incluidos en el artículo científico publicado a raíz de la investigación. Dichos productos no fueron incluidos en el artículo por motivos de longitud del propio artículo y cumplimiento de las normas de la revista, por lo que se presentan a continuación como información adicional. Los ensayos realizados han sido los siguientes (toda la metodología puede consultarse en el apartado 2.1):

- Análisis granulométrico para ver distribución de tamaños.
- Análisis FTIR para identificar el polímero constituyente y la presencia de otras partículas no poliméricas.
- Inspección al SEM y microanálisis para detectar morfologías irregulares y la presencia de aditivos.
- Cálculo del número de partículas por gramo de producto y porcentaje en peso de microplásticos.

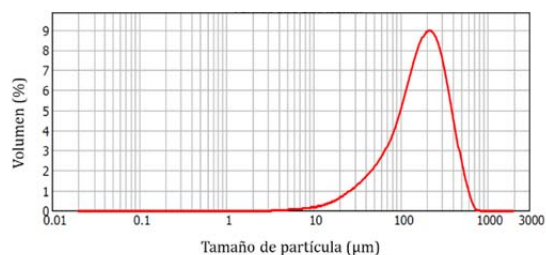
De los 10 productos analizados, 1 no se ha podido incluir en el presente Anexo debido a que, tras el proceso de extracción de microplásticos, la cantidad de residuos oleosos era tal que impedía la correcta manipulación de las partículas y alteraba los resultados obtenidos. Por tanto, se presentan datos para los 9 productos restantes, entre los cuales hay 4 exfoliantes corporales, 3 exfoliantes faciales y 2 exfoliantes de pies. Los productos, al igual que en el artículo publicado, han sido nombrados con letras de la A a la I para evitar el nombramiento de marcas comerciales.

Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

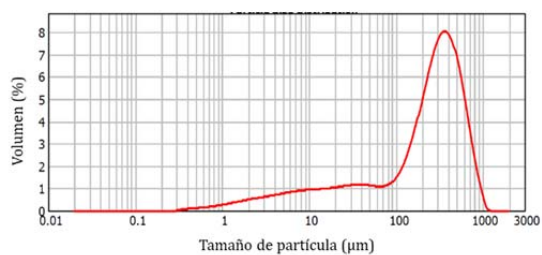
I. Exfoliantes corporales

• Análisis granulométrico

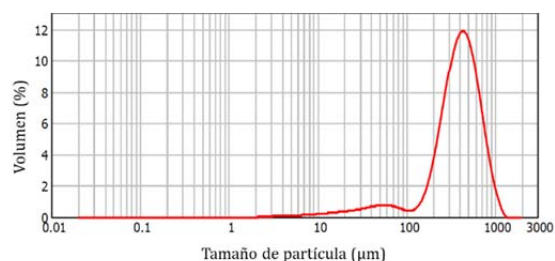
Producto A



Producto B



Producto C



Producto D

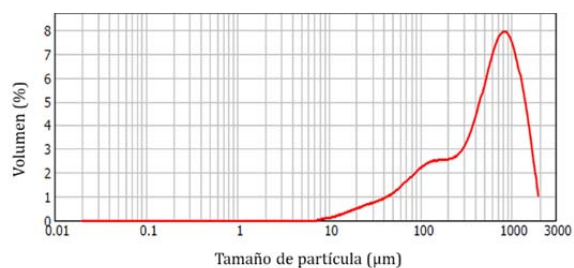
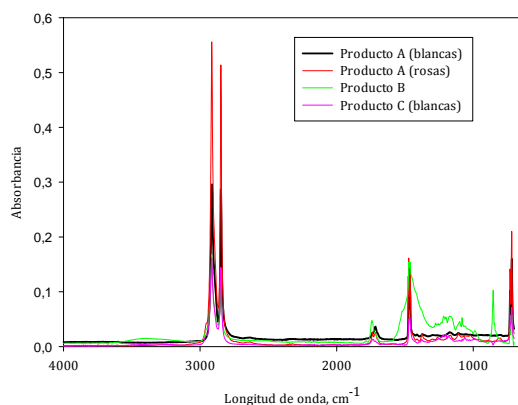


Figura I.1. Granulometría y distribución de tamaños de microplásticos presentes en exfoliantes corporales.

• Análisis FTIR

A) Partículas poliméricas



B) Partículas no poliméricas o mezcla

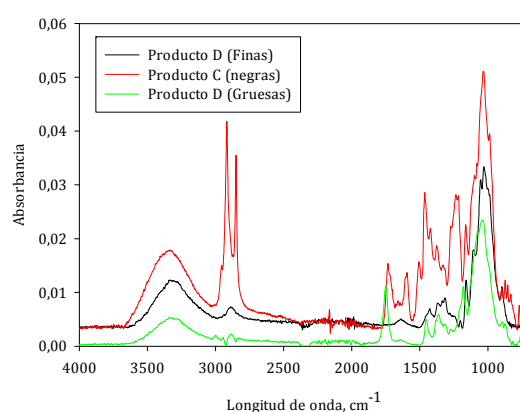
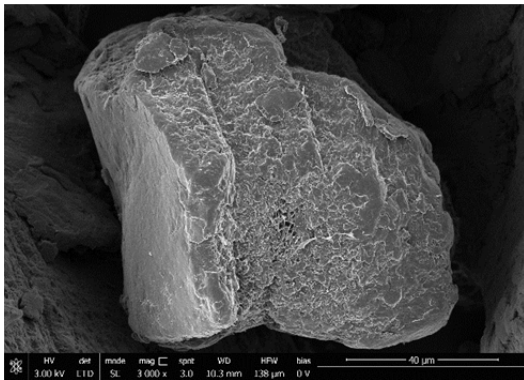


Figura I.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas y no poliméricas presentes en exfoliantes corporales.

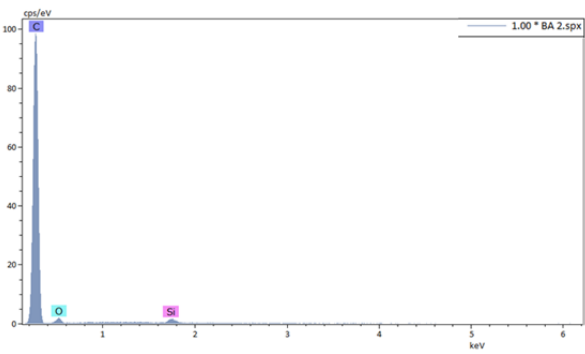
Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

- SEM y Microanálisis

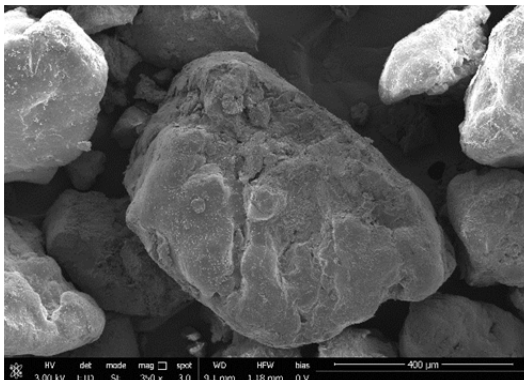
Producto A (SEM)



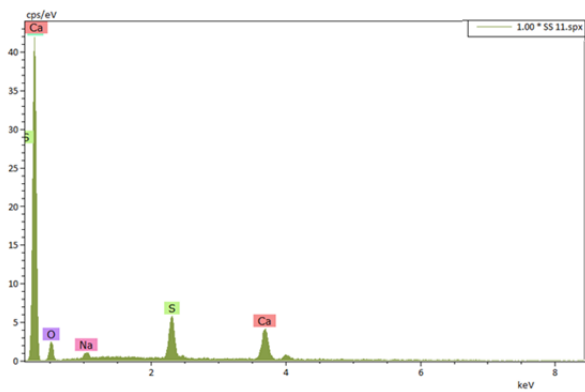
Producto A (Microanálisis)



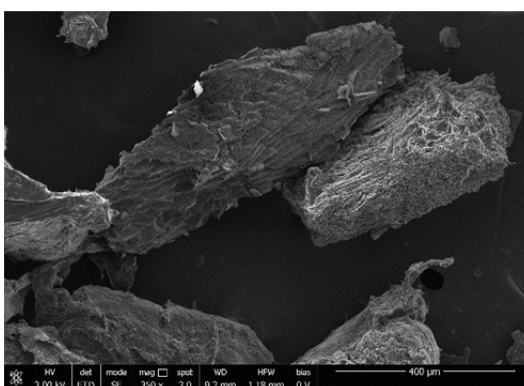
Producto B (SEM)



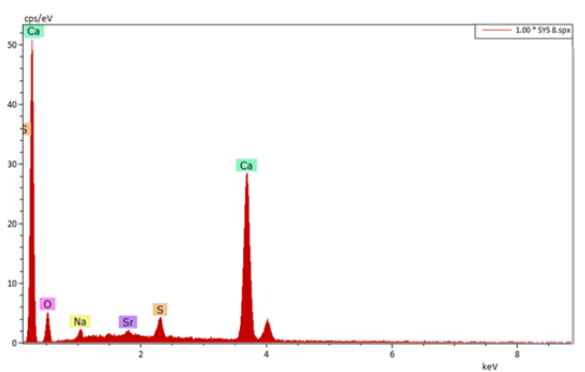
Producto B (Microanálisis)



Producto C (SEM)

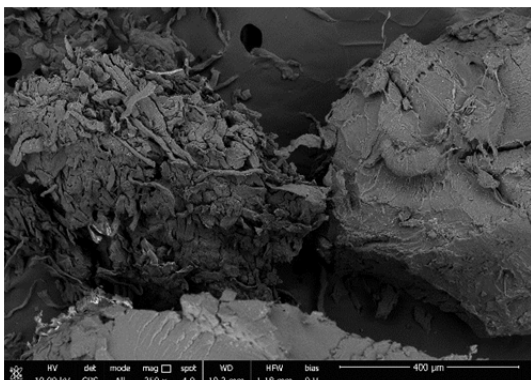


Producto C (Microanálisis)



Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

Producto D (SEM)



Producto D (Microanálisis)

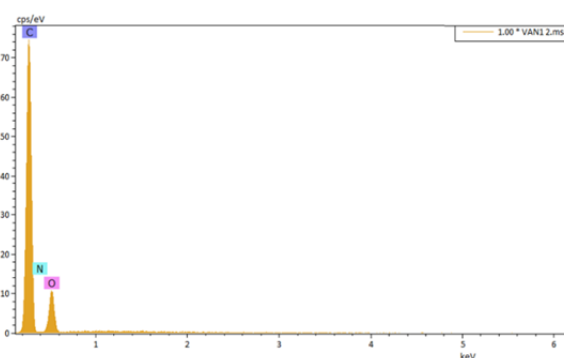


Figura I.3. Imágenes del SEM y microanálisis de los microplásticos presentes en exfoliantes corporales.

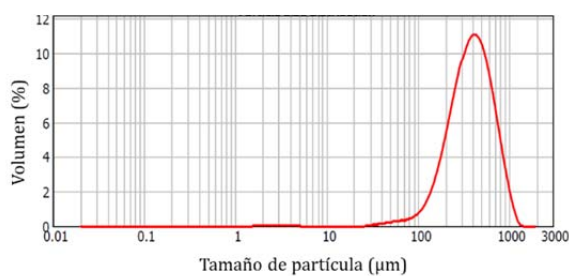
- Cálculo del número de partículas/g y porcentaje de MPs

Producto	Rango de tamaño (μm)	Tamaño medio (μm)	Porcentaje de MPs (%)	Nº partículas/g
A	3,31-831,76	196,79	10,15	12.968,619
B	0,32-1.298,52	281,48	1,74	114,987
C	2,19-1.258,92	419,45	4,12	425,732
D	7,50-2.187,76	617,09	3,31	301,720

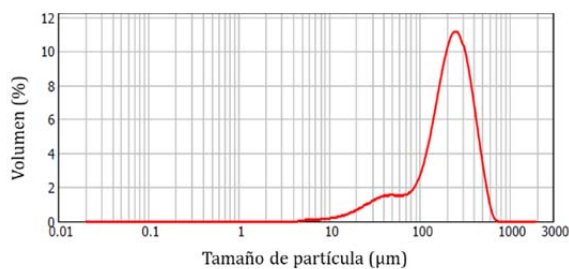
II. Exfoliantes faciales

- Análisis granulométrico

Producto E



Producto F



Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

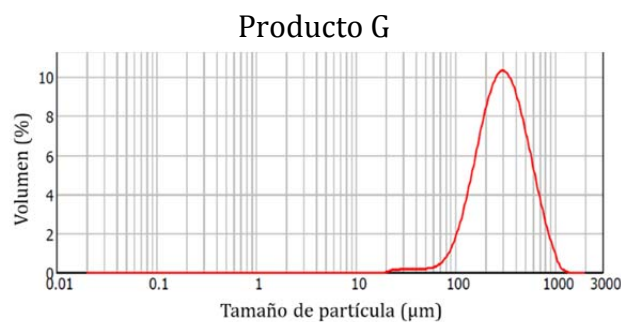


Figura II.1. Granulometría y distribución de tamaños de microplásticos presentes en exfoliantes faciales.

• Análisis FTIR

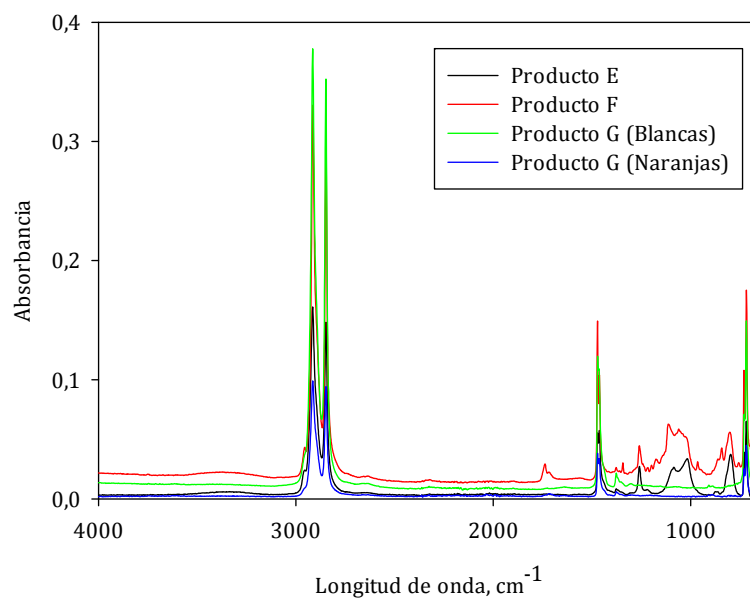
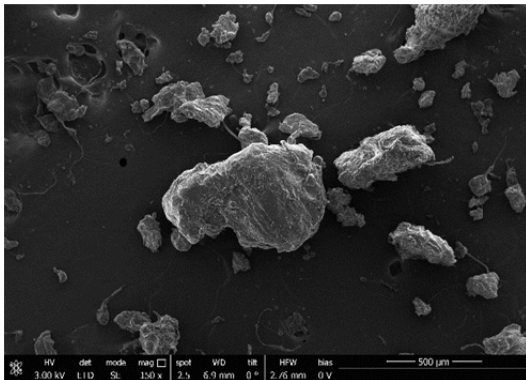


Figura II.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas presentes en exfoliantes faciales.

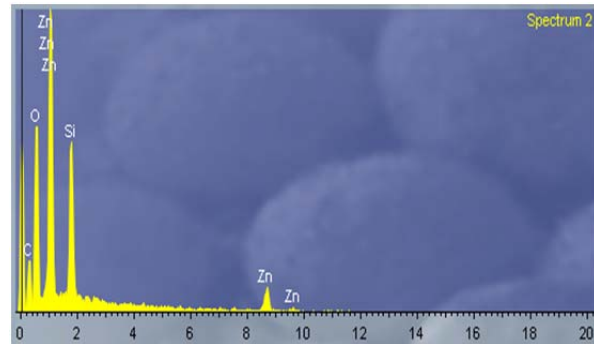
Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

• SEM y Microanálisis

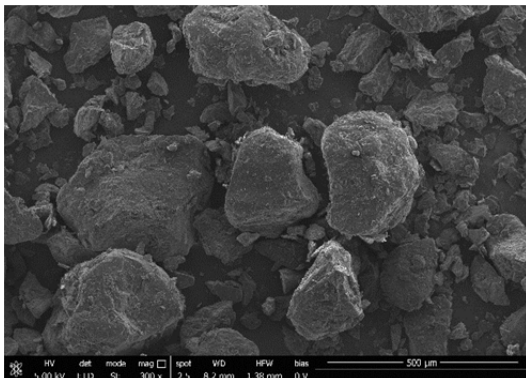
Producto E (SEM)



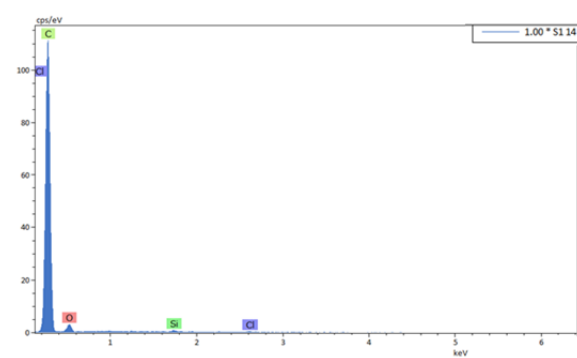
Producto E (Microanálisis)



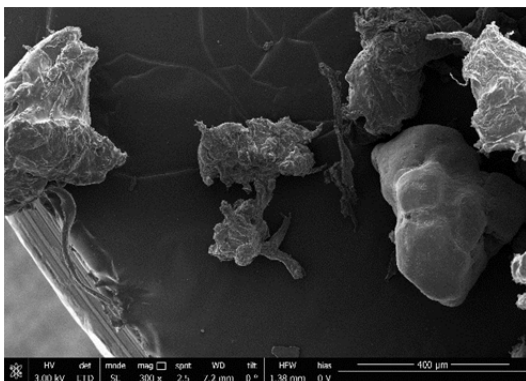
Producto F (SEM)



Producto F (Microanálisis)



Producto G (SEM)



Producto G (Microanálisis)

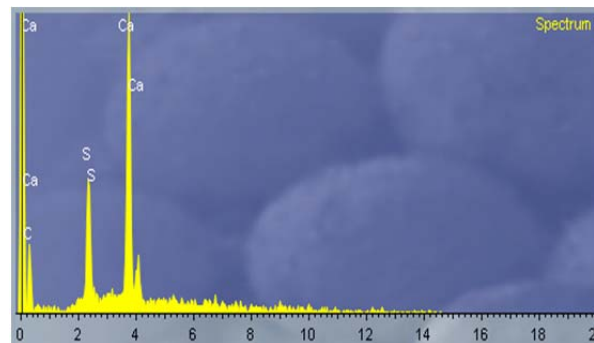


Figura II.3. Imágenes del SEM y microanálisis de los microplásticos presentes en exfoliantes faciales.

Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

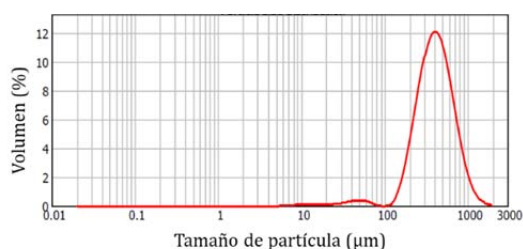
- Cálculo del número de partículas/g y porcentaje de MPs

Producto	Rango de tamaño (μm)	Tamaño medio (μm)	Porcentaje de MPs (%)	N° partículas/g
E	26,30-1.258,92	426,05	1,99	7.373,266
F	4,36-724,44	228,59	1,27	1.678,827
G	22,44-1.261,91	340,91	9,05	2.929,078

III. Exfoliantes de pies

- Análisis granulométrico

Producto H



Producto I

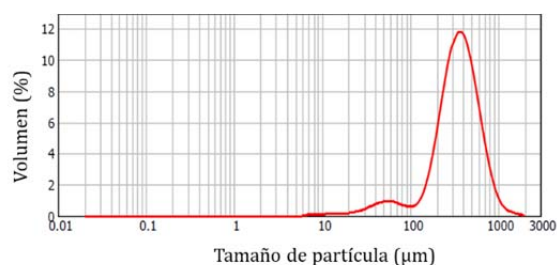
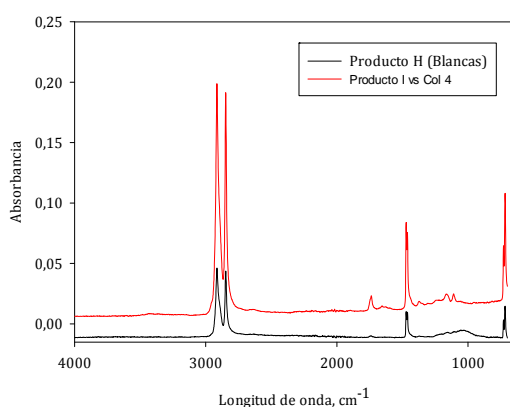


Figura III.1. Granulometría y distribución de tamaños de los microplásticos presentes en exfoliantes de pies.

- Análisis FTIR

A) Partículas poliméricas



B) Partículas no poliméricas o mezcla

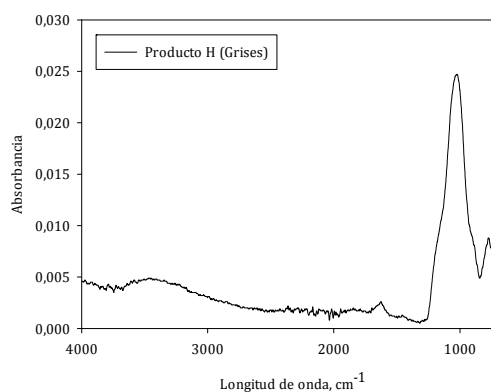
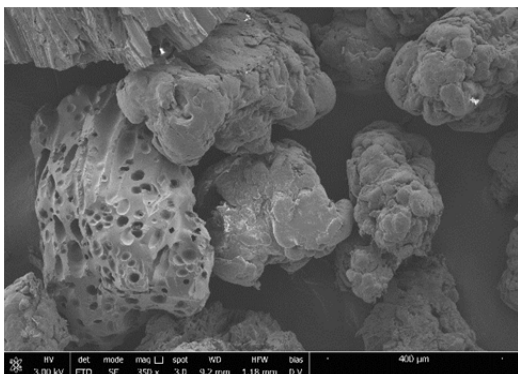


Figura III.2. Espectros infrarrojos de partículas poliméricas y no poliméricas presentes en exfoliantes de pies.

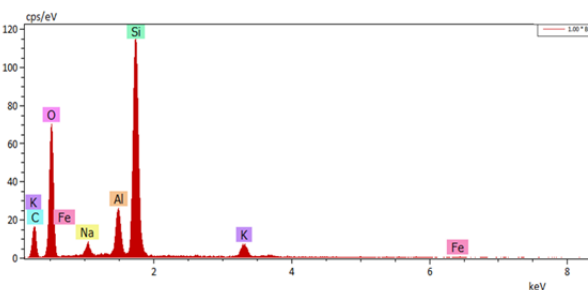
Anexo II. Productos de cuidado personal con microplásticos

- SEM y Microanálisis

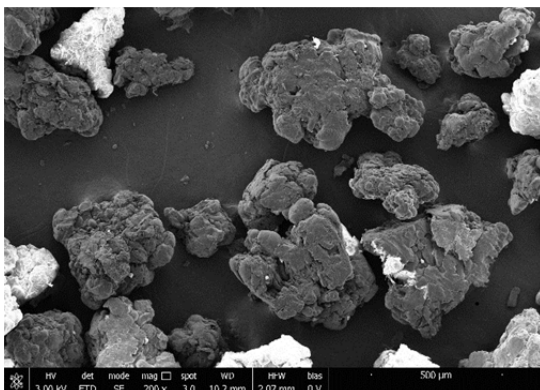
Producto H (SEM)



Producto H (Microanálisis)



Producto I (SEM)



Producto I (Microanálisis)

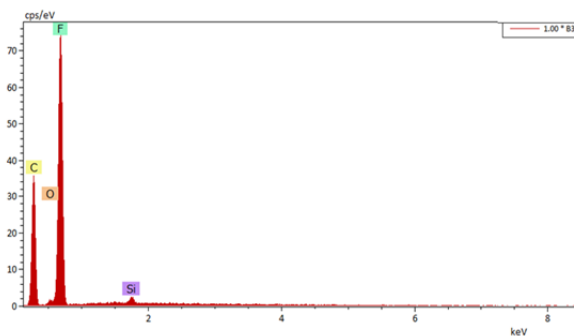


Figura III.3. Imágenes del SEM y microanálisis de microplásticos presentes en exfoliantes de pies.

- Cálculo del número de partículas/g y porcentaje de MPs

Producto	Rango de tamaño (µm)	Tamaño medio (µm)	Porcentaje de MPs (%)	Nº partículas/g
H	5,75-1.905,46	448,08	2,44	553,893
I	6,61-1.905,46	384,29	3,66	560,438