



¡ POSGRADOS !

MAESTRÍA EN
**RECURSOS NATURALES
RENOVABLES CON MENCIÓN EN
REMEDIACIÓN Y RESTAURACIÓN**

RPC-SO-17-NO.363-2020

OPCIÓN DE TITULACIÓN:

PROYECTO DE TITULACIÓN CON
COMPONENTES DE INVESTIGACIÓN
APLICADA Y/O DE DESARROLLO

TEMA:

RELACIÓN ENTRE LA DISTANCIA DE
CENTROS URBANOS Y LA CANTIDAD DE
MICRO PLÁSTICOS PROVENIENTES DE LOS
CUERPOS DE ABEJAS (APIS MELLIFERA) DE
LAS COLMENAS DE APICULTORES DE LA
ZONA PERIURBANAS DEL CANTÓN
GUALACEO

AUTORA:

VALERIA PATRICIA ORELLANA ULLOA

DIRECTOR:

PABLO WILSON ARÉVALO MOSCOSO

CUENCA – ECUADOR
2023

Autora:



Valeria Patricia Orellana Ulloa

Ingeniera Ambiental.

Candidata A Magíster en Recursos Naturales Renovables con Mención en Remediación y Restauración por la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Cuenca.

vorellana@est.ups.edu.ec

Dirigido por:



Pablo Wilson Arévalo Moscoso

Ingeniero Químico.

Doctor en Ciencias Químicas.

parevalo@ups.edu.ec

Todos los derechos reservados.

Queda prohibida, salvo excepción prevista en la Ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra para fines comerciales, sin contar con autorización de los titulares de propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual. Se permite la libre difusión de este texto con fines académicos investigativos por cualquier medio, con la debida notificación a los autores.

DERECHOS RESERVADOS

2023 © Universidad Politécnica Salesiana.

CUENCA – ECUADOR – SUDAMÉRICA

VALERIA PATRICIA ORELLANA ULLOA

Relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de micro plásticos provenientes de los cuerpos de abejas (*Apis mellifera*) de las colmenas de apicultores de la zona periurbanas del cantón Gualaceo

DEDICATORIA

Es muy gratificante dedicar mi trabajo de titulación a Dios por permitirme vivir en su gracia y culminar este periodo de crecimiento profesional, de superación personal, por alimentar mis fuerzas y sabiduría y alentarme ante circunstancias difíciles de la vida. A mis padres por el inquebrantable e incondicional apoyo brindado desde mis inicios en este mundo. A mi esposo por su estímulo y apoyo a continuar con mis estudios. A mis hijos que son y serán lo más importante en mi vida, mi razón de ser y fuente de inspiración para ser mejor cada día.

AGRADECIMIENTO

Expreso con mi corazón colmado de eterna gratitud a Dios por toda su bondad y bendiciones que me ha regalado.

A mi familia en especial a mis hijos por comprenderme, ser pacientes y brindar con sacrificio su tiempo para dedicarme a mis estudios. A ellos mi infinito amor y gratitud.

De la misma forma mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cuenca, al Departamento de Posgrados por su acogida, preparación y por todos los conocimientos compartidos en favor de mi formación profesional y personal; siempre impartiendo convicción de servir a la comunidad y al ambiente. Así también mi reconocimiento y gratitud a los Docentes de la Maestría en Recursos Naturales Renovables por sus valiosos aportes, conocimientos y sus experticias en este nivel de estudio.

Expreso mi particular agradecimiento infinito a los apicultores que con su buena voluntad y colaboración; participaron de este trabajo al permitirme acceder y monitorear sus colmenares.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	8
Abstract	10
1 Introducción	12
2 Determinación del Problema.....	14
3 Marco teórico referencial.....	17
3.1 Estado del Arte.....	17
3.1.1 Revisión a Escala Internacional	17
3.1.2 Revisión a Escala nacional	23
3.2 Marco Conceptual.....	25
3.2.1 Abeja melífera	25
3.2.2 Residuos plásticos.....	25
3.2.3 Micro residuos o Microplástico	25
3.2.4 Fibras sintéticas	25
3.2.5 Fragmento Sintéticos.....	25
3.2.6 Proceso de digestión	26
3.2.7 Rojo de Nilo	26
3.2.8 Espectroscopía FTIR.....	26
3.2.9 Bioindicadores	26
3.2.10 Biomonitoreo.....	26
3.2.11 Contaminantes Emergentes	27
3.2.12 Contaminantes xenobióticos	27
3.3 Bases Teóricas.....	27
3.3.1 Abeja melífera	27
3.3.2 Plástico.....	33
3.3.3 Residuos plásticos.....	37
3.3.4 Microplásticos.....	41
3.3.5 Biodegradación de microplásticos con microorganismos.....	59
4 Materiales y metodología.....	61
4.1 Área de Estudios	61
4.2 Diseño de la Investigación	62
4.2.1 Enfoque de la Investigación.....	62

4.2.2	Nivel de investigación.....	63
4.2.3	Tipo de investigación.....	63
4.2.4	Hipótesis de la investigación	64
4.2.5	Sistema de variables	64
4.2.6	Operacionalización de variables.....	64
4.2.7	Población, muestra y muestreo.....	65
4.3	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	66
4.4	Técnicas de procesamiento y análisis de datos	66
4.5	Materiales, Reactivos y Equipos	67
4.6	Protocolos aplicados para la investigación.....	68
4.6.1	Toma y recogida de muestras	69
4.6.2	Colmenares Muestreados	70
4.6.3	Extracción de micro plástico de la matriz ambiental en estudio	70
4.6.4	Técnica de tinción.....	72
4.6.5	Caracterización por observación de Microplásticos	72
4.6.6	Análisis por espectroscopia FTIR de microplásticos (MPs)	73
4.6.7	Análisis estadístico.....	74
5	Resultados y discusión.....	75
5.1	Resultados.....	75
5.1.1	Caracterización visual de MPs por su forma	75
5.1.2	Caracterización de los microplásticos por su composición en el espectrómetro FTIR	76
5.1.3	Abundancia de microplásticos en las muestras	82
5.1.4	Prueba de Normalidad.....	88
5.1.5	Pruebas no paramétricas.....	90
5.1.1	Prueba de correlación entre dos variables (Cantidad de MPs/Distancia al centro urbano del cantón Gualaceo).....	92
5.2	Discusión	94
6	Conclusiones.....	97
7	Referencias	100

RELACIÓN ENTRE LA
DISTANCIA DE CENTROS
URBANOS Y LA CANTIDAD
DE MICRO PLÁSTICOS
PROVENIENTES DE LOS
CUERPOS DE ABEJAS (*Apis
mellifera*) DE LAS
COLMENAS DE
APICULTORES DE LA ZONA
PERIURBANAS DEL
CANTÓN GUALACEO, EN
EL AÑO 2022

AUTOR:

VALERIA PATRICIA ORELLANA ULLOA

RESUMEN

El plástico, producto industrializado, que ha incursionado desde su creación hasta la actualidad en la vida humana, es un producto que ha ido en incremento exponencial por su amplio uso; provocando la acumulación de sus residuos a todo nivel; tornando inmanejable su adecuada disposición y transformándolos en causa de problemas ambientales graves sea, por los grandes volúmenes generados, por la gestión deficiente del manejo y tratamiento, por su persistente acumulación en el ambiente y su consecuente fragmentación. Más alarmante resulta la presencia de los micro plásticos, partículas de tamaño inferior a 5mm, que por su complejidad y difícil manejo se han esparcido, encontrándose en diversos recursos naturales e incluso en los organismos vivos. Como en el caso de las abejas que, por su interacción con el ambiente, son consideradas transportadora de MPs y contaminantes que se adhieren a su cuerpo durante el pecoreo.

La investigación desarrollada busca evidenciar la presencia de MPs en las abejas (*Apis mellifera*) utilizándolas como bioindicador de MPs; y, demostrar si existe relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de MPs presentes en abejas de los colmenares seleccionados. Estudio que un enfoque cuantitativo, de nivel descriptivo – correlacional que, por observación mediante microscopía de fluorescencia y Espectroscopia FTIR, aplicados a un total de 54 muestras, pertenecientes a 9 colmenares participantes de la zona interés. Se complementa con análisis estadístico, que permite revelar; que Gualaceo no está libre de la presencia de MPs, encontrándose fibras y fragmentos sintéticos en los cuerpos de las abejas, y así también que la cantidad de MPs en las colmenas es inversamente proporcional a la distancia del centro urbano.

Para contribuir y ampliar los conocimientos de esta investigación; otros estudios podrían verificar si los MPs se encuentran integrados a los productos apícolas y / o su consecuente afectación en los seres vivos; evidencia alarmante que planteará de manera urgente un cambio actitudinal tanto a nivel de personas, como en las entidades públicas y privadas, para sumarse a la construcción y aplicación efectiva de políticas ambientales y soluciones de ingeniería.

Palabras clave:

Abeja, Bioindicador, micro plásticos, aire, Fluorescencia, Espectroscopia FITR.

ABSTRACT

Plastic, an industrialized product, which has entered human life from its creation to the present, is a product that has increased exponentially due to its wide use; causing the accumulation of their waste at all levels; making their proper disposal unmanageable and transforming them into a cause of serious environmental problems, be it due to the large volumes generated, poor handling and treatment management, their persistent accumulation in the environment and their consequent fragmentation. More alarming is the presence of micro plastics, particles smaller than 5mm, which due to their complexity and difficult handling have spread, being found in various natural resources and even in living organisms. As in the case of bees that, due to their interaction with the environment, are considered transporters of PMs and contaminants that adhere to their bodies during foraging.

The research carried out seeks to demonstrate the presence of MPs in bees (*Apis mellifera*) using them as a bioindicator of MPs; and, to demonstrate if there is a relationship between the distance from urban centers and the number of MPs present in bees from the selected apiaries. Study that a quantitative approach, descriptive level - correlational that, by observation through fluorescence microscopy and FTIR Spectroscopy, applied to a total of 54 samples, belonging to 9 participating apiaries in the area of interest. It is complemented with statistical analysis, which allows to reveal; that Gualaceo is not free of the presence of MPs, fibers and synthetic fragments being found in the bodies of the bees, and also that the amount of MPs in the hives is inversely proportional to the distance from the urban center.

To contribute and expand the knowledge of this research; other studies could verify if the PMs are integrated into bee products and/or their consequent affectation in living beings; alarming evidence that will urgently raise an attitude change both at the personal level, as well as in public and private entities, to join the construction and effective application of environmental policies and engineering solutions.

Keywords:

Bee, Bioindicator, micro plastics, air, Fluorescence, FITR Spectroscopy.

1 INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción de plásticos cada vez va en aumento y sus desechos son eliminados sin el cuidado necesario, tornando muy difícil prevenir la contaminación y afectación a los recursos naturales (Drzyzga & Prieto, 2019); plásticos que por diferentes mecanismos, entre otros por el de fragmentación terminan contaminando gravemente los diferentes ecosistemas. Esta problemática es uno de los mayores retos que hoy en día enfrenta la humanidad a tal punto que inspira a la ciencia ficción involucrarlos en la imaginación de diversas formas de catástrofes ecológicas y extinción de los seres vivos.

Los desechos plásticos regados y dispersos en el ambiente por fenómenos naturales se fragmentan y pulverizan; contaminando no solo el suelo, agua y aire, sino que terminan integrándose en los organismos vivos. Estos denominados micro plásticos -fragmentos menores a 5 mm- (Dehaut et al., 2016) se incorporan a los organismos vivos por diversos mecanismos como la ingesta, respiración y adhesión electrostática (Bucci et al., 2020; Edo et al., 2021; K. Wang et al., 2021).

Se conoce que, diseminados como están estos MPs en el ambiente y dado que pueden fácilmente ingresar en el organismo vivo, están representando incluso un problema de salud pública. En este sentido, algunas investigaciones han encontrado rastros de micro plásticos en la sangre humana, e incluso en productos de uso diario como fertilizantes, productos de limpieza de uso común, de higiene personal y alimentos. (da Costa et al., 2017; Diaz-Basantes et al., 2020; Leslie et al., 2022; Prata et al., 2019).

En la intención de cualificar y cuantificar el impacto ecológico y de la salud en los seres vivos se han diseñado procedimientos científicos en laboratorio, usando bioindicadores que permiten determinar dicho impacto; como es el caso de las abejas (*Apis mellifera*), calificados como excelentes Bioindicadores de la contaminación (Cunningham et al., 2022) que puede existir en los ecosistemas que frecuentan; debido a que su trayectoria de recolección de insumos necesarios para su producción y reproducción es amplia -alrededor de 6 km- y también por la interacción que tiene con los recursos suelo,

agua, aire y flora; que aumentan la posibilidad de que también se contaminen ellas y su propio entorno (Edo et al., 2021)

El presente estudio intenta aprovechar la característica de la abeja melífera como bioindicador y comprobar la presencia y cantidad de micro plásticos provenientes de sus cuerpos, en relación con la distancia de los asentamientos humanos. La zona escogida en donde aún no existe estudios similares; corresponde al cantón Gualaceo, provincia del Azuay, al sur del Ecuador; territorio en el cual es posible que exista presencia de micro plásticos, que están integrados en los organismos vivos, o por transferencia de dichas macropartículas plásticas incluso estén presentes en su colonia y de modo indirecto por el consumo de sus propios productos apícolas pueden estar presente en su propio organismo y el de otras especies.

Entre los resultados que busca esta investigación se espera caracterizar los micro plásticos (por su forma, composición del plástico), establecer la cantidad de micro plásticos presentes en los cuerpos de las abejas y determinar si existe relación con la distancia de los centros urbanos con la cantidad de MPs en las colmenas estudiadas. Para este propósito el estudio combinará una rigurosa investigación bibliográfica, la recolección de muestras de abejas y su posterior tratamiento con procedimiento de observación mediante la instrumentalización usando la técnica de microscopio invertido de Fluorescencia con software NIR, dispositivos fotográficos y el uso de Espectroscopia FTIR.

Es de esperar que este estudio motive otros avances investigativos que amplíen mayores conocimientos, permita difundir y alertar a la sociedad sobre el creciente peligro que significa la presencia de los MPs en los ecosistemas, provoque una mayor concienciación ciudadana, e incentive a generar políticas públicas amigables ambientalmente encaminadas a reducir impactos negativos mayores.

2 DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

En los últimos años el plástico se ha vuelto un elemento de consumo masivo e “indispensable”, que ha aumentado consecuentemente su producción e integración en casi todos los bienes e insumos usados cotidianamente en los hogares a nivel mundial, atraídos por su gran variedad, características y propiedades físicas; que han hecho de este material un producto persistente, progresivo y de acumulación en el ambiente, circunstancias éstas que ha dado origen a la llamada “Era del Plástico” cuya producción, en los últimos 65 años ha aumentado casi 200 veces (Castañeta et al., 2020); generándose un excedente inmanejable de plásticos y sus residuos, sumado a los consecuentes efectos negativos la presencia en el entorno, alteración de los ecosistemas y la afectación en la salubridad en general.

De toda la producción de plásticos, el 50% son desechables, lo que incide exponencialmente en la cantidad de residuos a nivel global, con la consiguiente preocupación ambiental por su acumulación en los hábitat y ecosistemas del planeta; problemática que se torna aún más grave por la acción de mecanismos de fragmentación y transformación en micro plásticos (partículas plásticas diminutas < 5mm), contaminación y afectación a la biota que está ampliamente evidenciada, especialmente en las especies marinas, en las cuales ha generado una serie de efectos negativos como disminución del consumo de alimentos naturales, menor respuesta inmunitaria, pérdida de peso, tasa de crecimiento baja, nivel de fecundidad baja, agotamiento energético, además de provocar trastornos endocrinos y morbilidad por acumular contaminantes xenobióticos que se encuentran en los MPs (A. L. Lusher et al., 2017). De modo similar los ecosistemas terrestres también han sido afectados gravemente por la presencia de MPs, que ingresan de 4 a 23 veces más que en el mar (Sridharan et al., 2021).

La translocación de MPs es un mecanismo complejo provocado por los diversos procesos como la advección, dispersión, adsorción, difusión, sedimentación, degradación y agregación, traslado por el viento, agua y aire; ocasionando que los MPs

se transportan desde los niveles más superficiales hasta los más profundos en el suelo, agua y otros recursos naturales; convirtiéndose en una problemática ambiental que atenta a la existencia misma del planeta. Actualmente el desarrollo de estudios sobre los MPs en el entorno terrestre y sus impactos, está tomando impulso ya que es vital conocer sus fuentes potenciales, su composición, el ciclo de vida, la translocación y desintegración; su mayor comprensión permitirá formular soluciones de reducción, mitigación y medidas correctivas que batallen a los MPs (Sridharan et al., 2021).

Los MPs en la atmósfera, es un campo poco explorado y limitado aun, su escaso discernimiento de las fuentes y el destino de estos contaminantes se torna difícil por sus múltiples orígenes, sus bajas concentraciones, dificultad de muestreo, y por qué su dispersión, transporte y los factores que inciden en su transformación química y mecánica son complejas. En ausencia de precipitación, los MPs podrían viajar distancias muy grandes y la tasa de deposición alcanzaría valores de cientos de MPs por m² por día. Otra fuente de ingreso de microplástico al aire a más de la desintegración de productos plásticos de mayor tamaño se produce por las emisiones industriales. En gran medida las zonas urbanas, suburbanas contribuyen cantidades importantes de fibra sintética (Edo et al., 2021) y fragmentos de espuma (Castañeta et al., 2020) a la tropósfera.

En los centros urbanos y su periferia al parecer la presencia de micro plásticos va en aumento (Dowarah et al., 2020; Edo et al., 2021), debido al consumo indiscriminado y cotidiano de materiales plásticos, a la falta de políticas públicas amigables y responsables con el ambiente y al manejo o tratamiento no adecuado de plásticos y sus residuos; problemática que sin ser reciente, aún no logra trascender en la sociedad y sus organizaciones; debido a que su discusión es reciente en los círculos científicos que lo investigan.

En este ámbito, para comprender de mejor manera la problemática se ha utilizado Bioindicadores, entre ellos la abeja (*Apis mellifera*); insecto que juega un rol fundamental en la manutención de diversos ecosistemas. En esta interacción la abeja melífera sufre afectación por los estragos causados por la contaminación de sus hábitats naturales, que ha llegado incluso al decrecimiento masivo de su población (Goretti et al.,

2020). Esta afectación es provocada especialmente por la presencia de micro plásticos; los cuales, a través de su alimentación, terminan incorporados a sus tejidos internos – intestino medio, tráquea y hemolinfa, provocando una alteración a su microbiota natural e impactando indirectamente su protección ante factores ambientales negativos, microbios bacterianos y virales patógenos, provocando enfermedades e incluso su muerte. (Deng et al., 2021; K. Wang et al., 2021).

Las características mencionadas anteriormente permiten además de cualificar a la abeja como excelentes Bioindicadores de contaminación aprovechando que es una especie que transita por grandes distancias, explora lugares recónditos y su cuerpo reúne mucha información del entorno, así como también transfiere contaminantes incluso a su producción apícola (Deng et al., 2021; Diaz-Basantes et al., 2020; Edo et al., 2021). Acogiendo estas características se plantea la siguiente pregunta de investigación: Existe relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de micro plásticos provenientes de los cuerpos de las abejas (*Apis mellifera*) de las colmenas de apicultores de la zona periurbana del cantón Gualaceo en el año 2022.

3 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1 ESTADO DEL ARTE

Para el presente estudio investigativo, se aborda y revisa estudios a nivel internacional y nacional relacionados sobre el área de la investigación en desarrollo; tal es la presencia de micro plásticos (MPs) en los cuerpos de las abejas (*Apis mellifera*) y en otros entornos vinculados a este análisis.

3.1.1 REVISIÓN A ESCALA INTERNACIONAL

La exhaustiva investigación realizada por Naggar et al., (2021), publicada por la revista Toxic en el 2021, con el nombre Are Honey Bees at Risk from Microplastics?, recopila varios estudios concernientes a la proliferación de MPs en abejas en todo el mundo, con la finalidad de investigar si los MPs pueden tener consecuencias perjudiciales a la salud y bienestar de estos seres tan importantes del planeta. Dentro de la revisión, en el año 2013 observaron por primera vez micro plásticos en la miel, provocando preocupación en la comunidad científica, sociedad y algunos medios de comunicación. Esta atención planteó el debate sobre si las partículas de micro plásticos son en realidad dañinos para las abejas, y clarificó la necesidad de realizar más estudios e investigación sobre si los micro plásticos son o no; un riesgo para estos insectos. Queda aún por identificar si es que la presencia de micro plásticos depende solo a las deficientes prácticas de la apicultura o intervienen otros elementos.

En una investigación realizada en Frankfurt la mayoría de residuos de MPs fueron fibras en muestras de miel, se deduce que estos fueron contaminados por la ropa de los apicultores; además que la mayoría de este contaminante micrométrico encontrado en la miel y en las abejas fueron fragmentos irregulares y fibras, no está claro si esos tamaños y formas fueron o no condicionados por diversas particularidades medioambientales. Se presume que estas formas irregulares de materiales son ampliamente esparcidas en el ambiente, pero no son consideradas con la atención necesaria, aun sabiendo que pueden llegar a ser más tóxicas para las abejas que muchas partículas esféricas, como lo demuestran estudios previos con otros invertebrados como

insectos acuáticos. Sin embargo, como resultado, se comprobó que detectar MPs directamente en muestras de néctar puede ayudar a determinar de dónde vienen las muestras recolectadas en miel. Estos descubrimientos sugieren que los MPs están esparcidos ampliamente en el ecosistema, no obstante los posibles efectos negativos en las abejas (*Apis mellifera*) o en otras especies; todavía debe ser investigado (Naggar et al., 2021).

En el estudio de Edo et al., (2021), denominado “Honeybees as active samplers for microplastics”, publicado en la revista Science of The Total Environment, Vol. 767, 1 Mayo 2021; su objetivo fue demostrar por primera vez la presencia de micro plásticos en abejas recolectadas de 19 granjas apícolas ubicadas en diferentes lugares del centro de Copenhague, zonas suburbanas y rurales de Dinamarca. A inicios de la primavera en colmenas seleccionadas se capturaron alrededor de 50 abejas en el interior de la colmena, e inmediatamente se procedió a conservar las muestras. En laboratorio se descongela, se lava la muestra para luego tamizar con filtración al vacío, y después del proceso de digestión se procede a secar los filtros y se colocan en caja Petri de vidrio sellándolos hasta análisis en Micro FTIR. Como resultado se tuvo que el 52% de los materiales poliméricos fueron fragmentos con promedio de $234 \pm 156 \mu\text{m}$ de diámetro equivalente y el 38% fueron fibras de diámetro equivalente promedio de $64 \pm 39 \mu\text{m}$. Asimismo, se identificaron trece tipos de MPs siendo el más abundante el poliéster, seguido por el polietileno (PE) y el cloruro de polivinilo (PVC). En las granjas urbanas se encontró índices altos de MPs, como también en las zonas suburbanas y rurales.

El estudio llamado, Microplastic Polystyrene Ingestion Promotes the Susceptibility of Honeybee to Viral Infection por Deng et al., (2021), investiga la susceptibilidad de las abejas a la infección vírica por ingesta de MP de poliestireno (PS), escogiendo aleatoriamente colmenas de diferentes apiarios de seis provincias de China, en diferentes periodos en los cuales se recolectaron individuos que fueron capturadas por colmena, y solo una parte de muestra recolectada por colmenar se utilizó, a las que se sometió a un proceso de digestión mezclado con HNO₃ concentrado y H₂O₂; seguido de filtración con membrana de Politetrafluoroetileno (PTFE). En el análisis de los tipos de MPs y sus características (color, tamaño y cantidad de polímeros plásticos) se usaron

técnicas de microscopia, y en la identificación de la composición, se aplicó espectroscopía μ -Raman. En la primera parte de la investigación se identificaron múltiples MPs en cuatro muestras y en las dos restantes se encontró grafito y fibras. El porcentaje equivalente tanto para los MPs identificados como para los no identificados fue de 38,89% cada uno, seguido del 11,11% para fibra como para grafito; teniendo así en el 66,7% de muestras se detectaron materiales poliméricos en una relación de 1 a 2 por cada 0,5g de muestras. En total se observó policarbonato y PET (tereftalato de polietileno), una mezcla de PE (Polietileno) y PS (poliestireno). En cuanto al color, primó el transparente seguido del negro y gris. Evidenciándose que, al interactuar las abejas con el ambiente, pueden transportar en su cuerpo MPs y de manera indirecta a su colmena, pudiendo estos contaminantes acumularse en los productos apícolas.

En el otro componente de la investigación de Deng et al., (2021), se trasladaron abejas recién nacidas de colmenas de los apiarios experimentales, para posteriormente colocarlas en incubación en condiciones óptimas para su supervivencia; luego de la inanición recibieron una solución de sacarosa con PS (poliestireno) en concentraciones y tamaños diferentes para la exposición de partículas plásticas de PS (0.5, 5 y 50 μ m) por 21 días aplicando diariamente la dosificación, además de ello se inyectaban concentraciones de ARN sintético del IAPV con la finalidad de evaluar el impacto físico y biológico del MP en estudio; mediante exámenes histológicos y de ARN-seq, revelaron que PS está presente en el intestino medio, cuya integridad está afectada, y que desde el intestino medio, se habría translocado hacia la tráquea y a la hemolinfa, causando susceptibilidad a infecciones víricas; también se probó que los MPs se bioacumulan en las abejas; hallazgos que alertaron a la comunidad científica para seguir indagando sobre si los MPs de diferentes tamaños pueden transferirse tanto a sus depredadores como a su cadena trófica. Esta afirmación precisa no solo comprobar si la interacción entre los materiales poliméricos sintéticos solo afecta a las abejas o también a otros polinizadores nativos o endémicos, como también a otros animales depredadores de esta especie, e incluso a aquellos que se alimentan de la miel, incluido el ser humano.

En otro estudio con metodología similar al anterior realizado por K. Wang et al., (2021) con el nombre "Gut microbiota protects honey bees (*Apis mellifera* L.) against

polystyrene”, determinó los efectos adversos del MP poliestireno (PS) bajo condiciones de laboratorio, en abejas obreras (*Apis mellifera L*); estudio en el que integró otras sustancias químicas: encontró que el porcentaje acumulativo de abejas muertas por el efecto del micro plástico PS fue de 1.43%, es decir de 0 a 3 abejas por caja, y el porcentaje de muerte más alto fue de 1.6%, 0 a 5 muertes por caja. Luego de 24 horas de exposición, el peso de las abejas disminuyó significativamente en todos los tratamientos. Durante las siguientes exposiciones, el peso varió. El cambio en el peso por abeja fue similar en los grupos de control y en los que tenían la solución con MPs-PS (microplástico de poliestireno), no hubo una diferencia estadística entre estos grupos con respecto al peso. Hubo cambios en la dosis de alimentación, pero no hubo cambios significativos entre ningún grupo. Por lo que con respecto a la mortalidad y al peso, no se puede sugerir que haya toxicidad directa. Sin embargo, al preguntarse si los MPs-PS afectan la microbiota en los intestinos de las abejas, se comprobó que en los grupos que fueron administrados con la solución de interés con relación a los grupos de control, disminuyendo significativamente la microbiota. Más importante aún, se reveló que la microbiota intestinal de los grupos expuestos tuvo una estructura bacteriana distinta de los otros grupos; lo que comprueba que la acumulación de partículas de MPs en los intestinos de las abejas altera de forma negativa su microbiota.

En la investigación reciente por Nalbhone et al. (2021) realizado para la revista Boletín de Contaminación Marina, vol. 172, con el título “Nile Red staining for detecting microplastics in biota: Preliminary evidence”, estudio que está enfocado en analizar las limitaciones del uso de la tinción con Rojo Nilo en la biota, en un ensayo experimental con mejillones marinos contaminados con MPs de polietileno de baja densidad (LDPE). Se identificaron las partículas teñidas mediante imágenes ampliadas obtenidas por la combinación de treinta fotos de los filtros correspondientes a cada muestra. Dentro del estudio se evidencio que los MPs en análisis presentaban coloración amarillenta y fluorescencia pudiendo generar confusión con residuos orgánicos. Además, se recalca que, a menor tamaño de las partículas poliméricas sintéticas, la identificación de las mismas se dificulta; es el caso del MP de LDPE en tamaño es menor a 180 μm que presento dificultad para su detección por fluorescencia. No obstante, la fluorescencia

ayuda a detectar partículas plásticas en organismos vivos independientemente del tamaño de los MPs simplificando el trabajo del operador.

En el experimento de exposición se empleó rojo Nilo en etanol absoluto y con filtro de celulosa regenerada, se filtró para descartar cualquier contaminación. Se recolectaron de la costa de Nigg Bay mejillones azules (*Mytilus edulis*) silvestres y otras de una granja de acuicultura en Islas Shetland, en total se recogieron 360 especímenes. Se dividió en tres lotes cada grupo en estudio (blanco, dosificadas y de control) y se proporciona un hábitat artificial en condiciones adecuadas para su vivencia durante el experimento y libres de posible contaminación de MPs. Se agregó LDPE (policarbonato) en tres dosificaciones a los lotes de exposición. Luego se captura tres individuos por lote y se procedió a la digestión de las muestras con KOH al 10%, seguido del tamizado con filtros de PCTE (policarbonato) se continuó con la tinción de los filtros exponiéndolos con Rojo Nilo, posteriormente se lavaron con agua destilada y nuevamente se filtraron. Finalmente bajo microscopio de disección identificaron y cuantificaron los MPs, mientras que para confirmar los polímeros identificados se usó MicroFTIR; lo que resultó con un índice de coincidencia del 70%; aunque es importante - dice el estudio - tener en cuenta que los procesos de digestión pueden alterar la identificación de MPs teñidos con rojo Nilo (Nalbone et al., 2021).

En el estudio denominado “Occurrence and transport of microplastics sampled within and above the planetary boundary layer”, realizado por González-Pleiter et al., (2021) cuyo objetivo es determinar la composición química, forma y tamaño de MPs en las muestras tomadas en trayectos de vuelo diurnos (por encima de la capa límite planetaria) en horas de la mañana. Los trayectos de vuelo fueron en zonas de Madrid (España) en 3 rutas (zonas rurales como suburbanas) entre 701 a 3496 msnm. El volumen filtrado de aire fue 8780 litros. Se cuantificó e identificó los MPs mediante estereomicroscopio con cámara y software ImageFocus 4 detectando fibras y fragmentos, se usó μ FTIR para analizar la composición de las micropartículas. A continuación, obtuvieron los siguientes resultados: del total de 323 MPs, sobresalieron las fibras con el 84% y 67% de fragmentos. Los rangos de longitud van de 84 a 1709 μ m en las fibras y de 42 a 815 μ m en fragmentos. La composición registrada fue poliéster,

poliamida y acrílicas en las zonas rurales y suburbanas, mientras que en las zonas urbanas de Guadalajara y Madrid encontraron poliuretano, poliestireno, polibutadieno y poliolefinas, también fibras textiles; esto asevera que los MPs están presentes en la atmósfera a 100 m por encima del nivel del suelo e indica que las zonas urbanas podrían ser fuentes de micropartículas de plástico y que podría transferir estos a zonas lejanas (González-Pleiter et al., 2021)

Recientemente en Colombia se realizan estudios para determinar la existencia de micro plásticos en sus costas, priorizando los lugares de interés social, ambiental, ecológico y turístico como los departamentos de Atlántico, Magdalena, Córdoba, Bolívar, La Guajira, Nariño, Valle del Cauca y Choco (Costa Redondo et al., 2022). Es el caso del estudio de Garcés Ordoñez et, al. que menciona Costa Redondo et al., (2022), donde muestra que se encuentra micro plásticos primarios y secundarios en forma de filamentos, gránulos y fragmentos en las regiones costeras caribeña y del Pacífico, siendo las micropartículas de tipo PE, PP, PS, PET y PVC, las que varían entre 0.01 y 8.96 partículas/m³ en el Caribe y 0.01 y 1.35 partículas/m³ en el Pacífico. La costa del Caribe presenta un mayor número de partículas debido a la afluencia de ríos, la densidad poblacional, los vertimientos de aguas residuales y las diversas actividades económicas turísticas dedicadas a la industria y al turismo. Las arenas de las playas colombianas contienen de 3 y 1387 partículas/m² de MPs; sin embargo, esta concentración es similar a los encontrados en la Bahía de Guanabara, en el sureste de Brasil, con una concentración que va de 12 a 1300 partículas/m². Dicha concentración de MPs, señala el estudio podría depender de la contaminación de ríos, descargas de aguas residuales, aguas lluvias y por centros poblados.

Rangel-Buitrago et, al. Encontró 557 y 2457 MP/kg, con un promedio de 1109 MP/kg en fibras, gránulos, fragmentos principalmente en la cuenca del río Magdalena por residuos sólidos y aguas residuales de las poblaciones humanas de la zona. Curiosamente, también se encontró menor concentración de MPs en las playas del norte del Tirreno con valores entre 45 - 1069 MP/kg. Por lo tanto, concluyen que la influencia de los caudales fluviales de la zona es fundamental para la detección de estas partículas,

ya que son una fuente importante de contaminación de basura plástica (Costa Redondo et al., 2022)

El estudio realizado por Molina-Castro et al., (2021), “Contaminación marina por desechos plásticos en países del perfil costero del Pacífico Sur”, evalúa las distintas investigaciones que se han realizado en la costa del Pacífico en América del Sur (Colombia, Ecuador, Perú y Chile), sobre la identificación, evaluación y sinterización de las evidencias científicas sobre la contaminación en los océanos por basura plástica; de lo cual resultó, que la inadecuada gestión de los desechos sólidos es el causante de esta contaminación, validando esto a partir de un estudio cuantitativo en cuatro playas peruanas en donde se develó; que existen más de 20 ítems de desechos plásticos por cada m² de playa y por ende de MPs. Además de ello, se encontró que a partir de la Pandemia COVID-19 ha aumentado considerablemente la cantidad de residuos plásticos a nivel global con una estimación de 1,6 millones de toneladas/día; especialmente por equipos de bioseguridad personal de un solo uso constituidos principalmente por material sintético (polipropileno) que son desechados aproximadamente 3400 millones de mascarillas o protectores faciales diariamente en todo el mundo. Alrededor de 8 millones de toneladas de basura es desechada en los océanos, dentro de lo cual el 80% es basura plástico. El cálculo exacto de micro plásticos que libera esa cantidad todavía está por realizarse, pero se estima que alrededor de la mitad de esa cantidad de plástico se convertirá en partículas micrométricas en 5 años, debido a los diferentes procesos de fragmentación que sufren en el medio. Se calcula que para el año 2030, la cantidad de basura lanzada a los océanos se duplicará si no se toman medidas preventivas por parte de los Estados nacionales para solventar esta crisis.

3.1.2 REVISIÓN A ESCALA NACIONAL

En el Ecuador el estudio realizado por Diaz-Basantes et al. (2020), denominado “Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants”, evaluó la presencia de MPs en bebidas de amplio consumo como la leche y refrescos en envases de polietileno; también la miel y cerveza (industrial y artesanal) en envasadas de vidrio. Mostró mediante la técnica de microfiltración y una digestión con H₂O₂ (30%) por 72 horas, luego dos filtraciones con diferentes medios

filtrantes, y observación microscópica invertida; que al menos el 12% corresponde a fragmentos y fibras sintéticas, que confirmados por espectroscopio FTIR, corresponden a polietileno (PE) de baja y alta densidad, polipropileno (PP) y poliacrilamida (PAM). Los colores más frecuentes fueron el verde, amarillo, rojo, violeta y azul. Las dimensiones de las fibras van de 13,45 y 6742,48 μm y de los fragmentos entre 2,48 y 247,54 μm ; encontrándose 10 y 100 MPs/L, con una media de 40 MPs/L. Bajo los parámetros anteriores el estudio concluyó que es posible que la miel de abeja recolectada en ciudades con una gran población (Quito, Guayaquil y Cuenca), presenta una mayor cantidad de MPs alrededor de 100 unidades de MPs/L.

Otro estudio realizado en Ecuador, en la provincia de Esmeraldas denominado “Microplastics in rivers and coastal water of the province of Esmeraldas, Ecuador” por Capparelli et al. (2021), evaluó la contaminación por micro plásticos en las costas Esmeraldeñas, cuantificando este contaminante en catorce aguas costeras de playas con niveles de urbanización diferentes y en diez cuerpos hídricos (24 muestras). Para el análisis propuesto se tomó dos muestras en cada sitio establecido bajo parámetros de medición en botellas de vidrio color ámbar de 500ml, mientras que en los ríos se tomaron en el centro del caudal y a contracorriente. Luego se aplicó la metodología de filtración de muestras, dicha solución obtenida es secada y se procede a la digestión con H_2O_2 al 30% en condiciones requeridas. Posteriormente por densidad se separó los MPs utilizando una solución saturada de NaCl; luego se realizó algunas filtraciones teniendo como último un filtro por muestra, estos se colocaron y sellaron en cajas Petri e identificado para su posterior inspección visual en un microscopio estereoscópico Amscope. Entre los resultados encontró que los MPs más abundantes fueron fibras transparentes, fragmentos de coloración marrón, gris y negros; resultados que determinan que las aguas de costa presentaron cantidades significativamente mayores de MPs, que en las aguas de los ríos.

3.2 MARCO CONCEPTUAL

3.2.1 ABEJA MELÍFERA

Las abejas obreras de la especie *Apis mellifera*, son hembras estériles de menor tamaño que forman parte de una colonia, constituyen la mayor población en ella; son descendientes de la abeja reina. La función de las obreras es variada dependiendo de la edad y cuando alcanzan la adultez son las encargadas de recolectar néctar, polen, resina y agua del ambiente en el rango de alimentación de la colmena para la supervivencia de la especie.

3.2.2 RESIDUOS PLÁSTICOS

Todo material o producto plástico que no tiene algún valor productivo, económica, ni de servicio, considerado también como basura.

3.2.3 MICRO RESIDUOS O MICROPLÁSTICO

Frias & Nash, (2019) define el término microplástico como cualquier partícula sólida sintética o matriz polimérica, insolubles en el agua, de variables formas (regular o irregular), y que pueden oscilar entre 1µm y 5mm de tamaño, de origen primario o secundario de fabricación.

3.2.4 FIBRAS SINTÉTICAS

Filamentos o hebra de micropartículas poliméricas sintéticas delgadas y de longitud variable fraccionada de textiles.

3.2.5 FRAGMENTO SINTÉTICOS

Pequeñas y diminutas piezas o trozos de macropartículas poliméricas sintéticas que se separan de productos plásticos, de diferentes formas, ancho y longitud variable en unidad de medida micrómetros.

3.2.6 PROCESO DE DIGESTIÓN

Es el tratamiento que se emplea a la muestra, añadiendo una solución ácida o alcalina para reducir o eliminar la materia orgánica presente en la muestra biológica.

3.2.7 ROJO DE NILO

Tinte estable que es hidrofóbico, metacromático y fotoquímico usado generalmente en la investigación concerniente a los micro plásticos.

3.2.8 ESPECTROSCOPIA FTIR

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una tecnología que permite conseguir las huellas dactilares moleculares de muestras biológicas, por absorber ondas infrarrojas en función de sus enlaces químicos y estructurales que la constituyen, proporcionando información estructural específica de las biomoléculas (Mata-Miranda et al., 2017).

3.2.9 BIOINDICADORES

El concepto de bioindicador se refiere a una especie o un grupo de especies que tienen determinadas características biológicas particulares que permiten señalar las características ecológicas del ambiente y que indica las perturbaciones, riesgos, impactos y amenazas que dicho medio puede sufrir (Cabrero-Sañudo et al., 2022).

3.2.10 BIOMONITOREO

El biomonitoreo es una herramienta para diagnosticar, monitorear, evaluar o cuantificar la calidad de un ecosistema o recurso natural (agua, aire o suelo) a partir del uso de organismos o especies de un área determinada para uno o un grupo de contaminante específico en dicho lugar. Este biomonitoreo puede ser pasivo o activo; es pasivo cuando se utiliza especies u organismos propios del entorno o ecosistema para evaluar su estado, mientras que el activo es realizado con especies u organismos que se introduce o trasplante en el sitio de evaluación y/o se utilice un sistema de exposición controlada (Anze et al., 2007).

3.2.11 CONTAMINANTES EMERGENTES

Generalmente nos referimos como contaminantes emergentes a los contaminantes presentes en matrices ambientales de aire, suelo y agua que presentan índices elevados de: productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs), los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) y las sustancias químicas disruptoras endócrinas (DEs), y metales pesados. Estos ingresan en el ecosistema por medio de la contaminación de plantas de tratamiento de aguas residuales, lixiviados de vertederos, escorrentía agrícola, aguas residuales de industrias y hospitales (Álvarez et al., 2021).

3.2.12 CONTAMINANTES XENOBIÓTICOS

Al hablar de xenobióticos nos referimos a sustancias químicas extrínsecas al metabolismo del organismo estudiado o al que sufrió exposición. Generalmente este término alude a los químicos sintetizados por el ser humano. A estos se los cataloga como contaminantes cuando suponen un problema para la salud pública y del ecosistema (Dantán González & Salgado-Morales, 2021).

3.3 BASES TEÓRICAS

3.3.1 ABEJA MELÍFERA

3.3.1.1 CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS

Las abejas domésticas o melíferas constituyen una de las especies del reino animal, de clase insecto, del orden Hymenoptera, pertenecen a la familia Apidae, del género *Apis* y la especie *Apis mellifera*. Esta especie se caracteriza por el alto nivel de organización social (eusociales), que tiene entre los integrantes de la colmena (Goretti et al., 2020). Las abejas (*Apis mellifera*) constituyen una parte fundamental del ecosistema planetario en el que vivimos. Son los polinizadores más importantes y los que más especies de cosechas visitan en sus viajes a nivel mundial (Vásquez Arca et al., 2015)

La sociedad de las abejas melíferas están constituidas por un matriarcado (reina, única hembra fértil), zánganos (machos fecundos) cuya población es menor a 0,1% del

total de la colmena y por último están las obreras quienes son hembras infértiles y de menor tamaño, son la mayor cantidad de individuos en el panal; durante su ciclo de vida (aproximadamente 42 días en verano) desempeñan diferentes oficios según su edad, cuando entran en su etapa de adultez se convierten en pecoreadoras o recolectoras cuya función es localizar y recoger productos como néctar, polen, propóleo, melaza y agua en respuesta a las necesidades de la colonia para la sobrevivencia de toda la comunidad. Una colmena puede alcanzar a tener aproximadamente 40.000 individuos (Goretti et al., 2020). La abeja melífera. tiene como peso promedio de 0,008 g, 14 mm de longitud, con un tórax de 3,96 mm de longitud, abdomen de 8,04 mm de longitud, el ala anterior de 9,24 mm y la posterior de 6.63 mm de longitud; 2,38 mm mide el fémur y la tibia es de 3.07 mm (Vásquez Arca et al., 2015)

3.3.1.2 ASPECTOS ETOLÓGICOS

Las abejas son criaturas extremadamente higiénicas determinadas así por contar con mecanismos de defensa en sus colonias, como su comportamiento de acicalamiento (en inglés grooming), el comportamiento higiénico (CH) mediante el cual las abejas desalojan fuera de sus colmenas a las crías infestadas de ácaros. Gracias a la capacidad genética (transmisión de ciertos genes de madres a hijas), han desarrollado resistencia a la Loque americana (enfermedad por *Paenibacillus larvae* que afecta a las larvas) y su capacidad de CH de las abejas, también eliminan las crías muertas de la colmena; así la abeja puede detectar y eliminar la cría enferma, limitando así transmisión de la enfermedad (Yancce, 2021).

La defensa es otro comportamiento característico de las abejas, que recae en las obreras; quienes protegen la colmena. Este desempeño involucra dos tareas, la primera son especializadas en resguardar la entrada de la colmena o piquera, estas obreras vuelan y participan de ataques masivos secuenciales ante un intruso o amenaza, y el otro desempeño es que son guardianas especializadas que se ubican en la entrada de la colmena para examinar a las abejas que ingresan, estas tienen la capacidad de reconocerlas y si no son de la colonia son rechazadas y agredidas. Por otra parte, está el comportamiento social, cuyos factores determinantes para la regulación de esta conducta son el establecimiento de jerarquías (tres castas: reina, zánganos y obreras),

la definición de labores entre cada individuo de la colmena se da a partir de los cambios fisiológicos (edad de las obreras) y por la variación genética que cambia a lo largo de su desarrollo. (Nates-Parra, 2011).

Otro comportamiento es el forraje, que consiste en la búsqueda de alimentos, gracias a los órganos sensoriales muy desarrollados que tienen las abejas como un par de ojos compuestos, que son sensibles a las diferentes emisiones ultravioletas reflejadas por la coloración de cada flor; y un par de antenas que poseen diferentes receptores, permitiendo detectar diversos olores florales y las feromonas producidas por la reina y obreras, lo que da un olor único a la colmena. Las obreras que se salen a recolectar los productos requeridos son las abejas adultas; cuando estas detectan o identifican una fuente de insumo requerido, transmiten entre ellas dicha información, mediante la danza para comunicar la distancia y ubicación del sitio de interés. Además, si existe alguna floración dentro del rango de la colmena estas serán visitadas por sus obreras y también podrían visitar la misma especie floral otras obreras de colmenas del mismo apiario, pudiéndose producir miel mono floral (Goretti et al., 2020).

Para la recolectar néctar, polen de las flores y agua las abejas hacen viajes muchas veces durante el día, recorriendo distancias de entre 5 a 6 km para buscar alimento, solo el 10% de las obreras podrían volar a más de 9.5 km de distancia desde su colmena (Edo et al., 2021). Su capacidad de vuelo y sus largas migraciones para buscar alimento a varios kilómetros cuadrados de su colmena, las hacen parte indispensable de la biodiversidad y de la sustentabilidad de los ecosistemas en todo el orbe (K. Wang et al., 2021). La abeja es el principal polinizador de la mayoría de regiones ecológicas en todo el mundo (Greenleaf et al., 2007), visitan un promedio de 1.000 flores al día y en época de primavera y verano diariamente alcanzan a visitar hasta 10 millones de flores. Para producir medio kg de miel diario deben visitar aproximadamente de 3 a 4 millones de flores. La velocidad de vuelo de las obreras puede llegar a unos 25 km h⁻¹ y realizan 10 a 15 viajes diariamente (Goretti et al., 2020).

Muchas veces las abejas no visitan grupos de plantas pequeñas, aisladas o poco diversas por lo que no las polinizan e impiden su reproducción y mantenimiento a gran escala; por lo que el forrajeo de abejas a distancias largas permiten la reproducción y

rescate de especies vegetales que están condenadas a morir por su baja fertilidad o polinización en los hábitats fragmentados. En base a ello se concluye que dicha migración por alimentarse genera consecuencias directas en la reproducción sexual de las plantas en floración e incluso puede llegar a determinar la estructura genética de grandes grupos de plantas silvestres o cultivadas (Greenleaf et al., 2007).

La dinámica poblacional de estas polinizadoras, su estructura genética y su historia de vida pueden llegar a modificarse en gran medida según la distancia a la que se alimentan; así también podría afectar del mismo modo a los organismos con los que interactúa. Por lo que la migración durante el pecoreado de las abejas tiene consecuencias directas en las interacciones entre especies animales o vegetales, y llegan a tener incidencia a un nivel ecosistémico tales como: depredación, pestes parasitarias, transferencias de nutrientes a gran escala, dispersión de semillas y la ya mencionada polinización. Por esta actividad indirectamente polinizan las plantas visitadas influenciando también a la producción agraria, es así que el 75% de la producción de frutas, frutos secos, semillas y vegetales, que alimentan al 40% del planeta, dependen de ellas (Greenleaf et al., 2007).

Dado la gran importancia que tienen las abejas; están siendo objeto de comercio y traslado a diversos lugares del mundo, en los cuales actividades de pecoreo los vuelven susceptibles a patógenos tales como virus, bacterias, hongos y parásitos, causando enfermedades, agravadas por otros estresantes ambientales (agentes externos que desencadenan susceptibilidad a enfermedades), entre los más comunes son los imidacloprides y la materia de partículas suspendidas. Además, otros factores de afectación; están los pesticidas causantes de la disminución de abejas en las colonias e incluso su desaparición. Los efectos que pueden ocasionar los pesticidas como los patógenos en estos seres tan importantes en nuestro ecosistema han sido relativamente bien estudiados y existe una gran literatura al respecto (Deng et al., 2021). Sin embargo, a nivel de colonia son más resistentes y acumulan contaminantes o responden a los factores ambientales estresantes sin colapsar (Cunningham et al., 2022).

En cuanto a las distancias de forrajeo y su relación con la salud de las abejas; hay estudios, como el de Kremen en 2005, citado por Greenleaf et al., (2007), que sugiere que mientras las abejas comunes (*Apis mellifera*), tienen mejor alimentación, mejores condiciones de vida y tienen una colmena más grande, mayor tamaño llegan a tener en su madurez. Según estas investigaciones se sugiere que a mayor tamaño de la abeja hay mayor cobertura de metros cuadrados y mayor exploración y riesgo en buscar flores; distancia de forrajeo que es determinante para espacios de cultivos o vegetación propenso de ser intervenido positivamente por las abejas.

3.3.1.3 BIOINDICADORES O BIOMONITORES DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL.

Las investigaciones sobre la contaminación en abejas datan de hace muchos años y se han aplicado para obtener indicadores fiables sobre la contaminación en los ecosistemas, no solo de las abejas, sino que también de cultivos en general (Edo et al., 2021). Los resultados encontrados adquieren importancia debido a que desde el año 2006 se ha observado una pérdida significativa en colmenares de Estados Unidos y Europa; con un mayor impacto en lugares de mayor cantidad de contaminantes se encuentran en el ambiente, lo que le da mayor relevancia dado que en especial las abejas son fundamentales para la conservación y sustentabilidad ambiental. Desde entonces la comunidad científica y la opinión pública alarmada ante esta situación se encuentra desplegando una serie de estudios e investigaciones para determinar y especificar detalles y posibles soluciones sobre esta crisis ambiental (Deng et al., 2021; Naggar et al., 2021).

En las interacciones entre la abeja y los elementos del entorno ambiental durante el pecoreo, indirectamente colectan contaminantes externos en su cuerpo; por los cambios en su diversidad o población han sido valorados para estudiarlas; y observar el real impacto en el ecosistema de la contaminación ambiental; razón está por la que las abejas son utilizadas como Bioindicadores, y como tales pueden aportar valiosa información sobre la situación actual del entorno ambiental (Goretti et al., 2020).

Se ha evidenciado que, las abejas constantemente en sus vuelos y en el regreso a la colmena, acumulan materiales transportadas aéreamente, que se concentran en partes específicas del cuerpo (bioacumulación), por ejemplo, en el borde de sus alas y en su cabeza (Edo et al., 2021), debido a que los desplazamientos aéreos ocasionan fricción en su cuerpo con el aire, generando cargas eléctricas que atraen los contaminantes y se adhieren corporalmente (Papa et al., 2021).

Estos insectos y sus productos apícolas también han sido explorados con otros estudios para determinar presencia de metales pesados (Edo et al., 2021), radionucleidos (K. Wang et al., 2021), elementos radioactivos -estroncio, cesio y cobalto-, pesticidas, calidad de los pesticidas aplicados en la agricultura y de algunos insecticidas (Bargańska et al., 2016), material particulado (Papa et al., 2021). Además, se utilizan para muestrear contaminación por fitopatógenos. Entre otras afectaciones a las abejas está el cambio climático, demostrándose que cambios de temperatura provocaron en las abejas reinas una reducción de la fertilidad, cambios en la expresión génica y resistencia antimicrobiana; así se mostró que la variabilidad climática pueden afectar los recursos que requieren las abejas para su manutención y supervivencia (Cunningham et al., 2022).

En los últimos años los estudios científicos han demostrado la presencia de micro plásticos en los cuerpos de las abejas domésticas (Edo et al., 2021) y en la miel de abeja sea esta de procedencia industrial o artesanal (Diaz-Basantes et al., 2020); lo que convierte a las abejas en un primordial componente para el monitoreo de la degradación ambiental, al ser una herramienta útil para muestrear contaminantes emergentes en el ambiente, permitiendo mapearlos geográficamente y estudiar los gradientes de toxicidad en el espacio y tiempo. Estos resultados a más de mostrarnos preocupantemente la polución ambiental pueden ser determinantes para encaminarnos a corregir hábitos erróneos en el manejo de los plásticos y otros contaminantes y la concreción de políticas públicas y prácticas ciudadanas amigables con el entorno que contribuyan a proteger los cultivos, la seguridad alimentaria y especies beneficiosas (Cunningham et al., 2022). Y adicionalmente salvaguardar la salud humana y del ecosistema (Cunningham et al., 2022).

3.3.2 PLÁSTICO

Durante el último siglo se ha dado una revolución industrial brutal que ha dado como resultado, que el uso del plástico y sus desechos provoquen afectaciones físicas y químicas en el ecosistema terrestre, de tal magnitud que han llegado a un nivel comparable con el de un proceso geofísico natural, en el cual las actividades humanas son las que impactan más significativamente en las funciones del ecosistema y son las de mayor riesgo biológico. Una característica de la empresa humana que marca profundamente el ecosistema es la presencia generalizada del plástico (Dowarah et al., 2020); los que gracias a sus características y propiedades, ha desplazado y sustituido a un sinnúmero de materiales tradicionales como la madera, mármol, metales, papel, vidrio, entre otros; y que ahora es usado desde un sujeta papeles hasta componentes de naves espaciales (da Costa et al., 2017).

Ante esta extremada popularidad, se ha convertido en uno de los productos más fabricados en la historia de la humanidad, pero, su uso y producción ha llegado a un punto tan álgido y excesivo que ha comenzado a atentar contra la salud del ambiente, alcanzando a ser también ya un problema de salud pública.

3.3.2.1 DEFINICIÓN

El Plástico, es un material hecho de un extenso número de compuestos orgánicos sintéticos o semisintéticos, que puede moldearse en una infinidad de formas diferentes: suaves o duros, elásticos o rígidos, etc. Su etimología viene del griego *plastikos*, que significa “capaz de ser dado forma” o de *plastos*, cuyo significado es “moldeado”. También se ha definido al plástico como un compuesto formado además de polímeros por otras sustancias o agregados que permiten mejorar su rendimiento o abaratar costos (da Costa et al., 2017). Otra definición según su origen latín “*plasticus*” significa apto para moldear, son polímeros orgánicos sintéticos derivados de la polimerización de monómeros de origen de productos petroquímicos (Espinar, 2021). Asimismo, Gilberto A. Pedromo M, en el 2002, se refiere al término polímero como una cadena larga constituida por eslabones de moléculas más pequeñas unidas covalentemente, denominadas como unidades estructurales, y que antes de la polimerización son

moléculas pequeñas llamados monómeros. Los monómeros al polimerizarse sufren un cambio en su estructura dando origen al polímero; de manera que la unidad repetitiva es la menor porción del polímero que se repite muchas veces formando la cadena; es así que la unidad repetitiva está conformada por el resto de los monómeros (Pedromo M., 2002, pág. 3).

3.3.2.2 CLASES DE PLÁSTICOS

El autor Espinar, (2021), menciona los dos grandes grupos que se clasifican los materiales plásticos, los cuales son termoplásticos y termoestables (poliuretano, resinas, entre otros).

Los termoplásticos, son plásticos que se ablandan cuando se calientan, se pueden moldear o comprimir, se endurecen cuando se enfrían y conservan su forma. Pertenecen principalmente a este grupo los siguientes: tereftalato de polietileno (PET), poliamidas (PA), poliestireno (PS), polietileno (PE), cloruro de polivinilo (PVC), polipropileno (PP) y policarbonato (PC), polivinilo (PV) (Espinar, 2021).

A continuación, se detalla un poco más este grupo de polímeros más comunes:

El **Tereftalato de polietileno (PET)**, polímero estable con densidad más alta entre 1.30g/l y 1.50g/ml, al igual que el cloruro de polivinilo. En las últimas décadas este material, ha incrementado drásticamente su uso en múltiples aplicaciones como envases de bebidas y alimentos, incluso se lo utiliza en la industria textil en forma de fibra (Espinar, 2021).

El **Polietileno (PE)**, material polimérico blanquecino, con mayor demanda a nivel mundial. Este plástico se emplea generalmente bolsas, utensilios de un solo uso, botellas, juguetes, materiales de empaque y embalaje para la industria agrícola y alimentaria, entre otros. Según su densidad y grado de cristalinidad se puede clasificar en polietileno de alta densidad (HDPE) siendo mayor rigidez y el polietileno de baja densidad (LDPE) con menor dureza, es decir mayor flexibilidad (Espinar, 2021).

El **Cloruro de polivinilo (PVC)**, presenta características de versatilidad, es un polímero de fácil mezcla con otros materiales plásticos, con amplio margen de ajuste de propiedades y de baja estabilidad térmica por lo que es necesario añadir estabilizantes de calor en el procesamiento térmico para evitar su degradación y liberación de cloruro de hidrógeno (Espinar, 2021).

Los polivinilos (PV), son polímeros obtenidos por polimerización del vinilo, con propiedades de tenacidad, flexibilidad y buena resistencia química; preponderando el polietileno: vinil acetato y polietileno: vinil acetato: cloruro de vinilo. Son utilizados para la producción de tuberías, cables, cintas adhesivas y también en envases (Espinar, 2021).

El **Polipropileno (PP)**, material sintético caracterizado por su baja densidad (0.88g/ml-1.23g/ml), siendo uno de los más ligeros de su clase y versátiles, lo que está aumentando su demanda rápidamente. Además, este es uno de los más comunes de residuos o fragmentos de plástico (microplásticos) en los ecosistemas acuáticos conjuntamente con el poliéster y polietileno (Espinar, 2021).

El **Poliestireno (PS)**, material termoplástico logrado a partir de la polimerización por calentamiento del estireno, productos como envases de lácteos, cárnicos y pescado, hasta en productos de aislamiento eléctrico de edificios (Espinar, 2021). Hay 3 tipos de poliestireno: de alto impacto, expandido y de cristal. A menudo los diferentes poliestirenos expandidos o de espuma se hallan en la superficie de la hidrosfera flotando y los que se encuentran bajo la superficie los ecosistemas acuáticos son los poliestirenos sólidos que son ligeramente más densos que el agua (Espinar, 2021).

Los **Poliamidas (PA)**, son termoplásticos rígidos, muy maleables, utilizados en la industria textil en forma de fibras sintéticas, siendo los más usados el nylon como el nylon 6 y nylon (66) (Espinar, 2021).

Los **policarbonatos (PC)**, están fabricados por monómeros de bisfenol A (BPA), son disruptores endocrinos a concentraciones bajas, usualmente se aplica en la industria eléctrica, automotriz, de ensamblaje de vidrio, medios de comunicación, insumos de oficina y también en cubiertas de invernaderos. Otros termoplásticos a más de los citados están los acrilatos (ARC) y los polimetilmetacrilatos (MTCR) (Espinar, 2021)

A pesar de existir diversidad de clases de plásticos, básicamente a nivel global la producción de polímeros sintéticos comprende; el polietileno (PE), polipropileno (PP), policloruro de vinilo (PVP), poliestireno (PS) y el tereftalato de polietileno (PET), expresado en el informe “Microplastics in fisheries and aquaculture. Fisheries and Aquaculture Technical” de la FAO del 2017 (A. Lusher et al., 2017).

3.3.2.3 DEGRADACIÓN DEL PLÁSTICO EN EL AMBIENTE

El plástico desechado en el ambiente puede sufrir procesos de envejecimiento como la degradación o la desintegración, resultado de la acción de las fuerzas físicas, químicas o biológicas. Hay estudios recientes que señalan que la mayoría de plásticos, y muchos de los denominados como “bioplásticos” tienen poco de “bio”, son más propensos a la desintegración que a la degradación (de Souza et al., 2017). Los plásticos son persistentes en el ambiente, y en este espacio sufren diversos procesos como; desgaste químico, fotooxidación, descomposición biológica y por acción de fuerzas físicas se afectan su integridad estructural; procesos que tienden a su fragmentación. Debe tomarse en cuenta que existen más de 4000 químicos que se usan actualmente para la fabricación solamente de envoltorios para comida. Por lo que, con más de 5000 tipos de productos plásticos en el mercado, el número de químicos usados para producirlos es probablemente mayor (Amato-lourenço et al., 2020).

A pesar de los factores que inciden en la composición de los plásticos; su proceso final de degradación y de asimilación natural en el suelo, puede llegar a durar entre 100 a 1000 años dependiendo del tipo de plástico, los mismos que por su característica de ser liviano, permite viajar por aire o agua varios kilómetros y tomando en cuenta la capacidad hidrofóbica, hace posible emitir contaminantes al ecosistema y sus alrededores; consecuentemente altera así el suelo o el agua donde residen sus desechos y causan daño a la flora y fauna (Bucci et al., 2020). Estudios otros señalan que incluso es probable que la longevidad de los plásticos tenga una prolongación mayor, en las profundidades de los océanos y en los entornos polares subterráneos (Barnes et al., 2009).

3.3.3 RESIDUOS PLÁSTICOS

La mayoría de residuos plásticos derivan de los envases y embalaje, cuya producción se estima alrededor de 141 millones de toneladas anuales, otra cantidad proviene de los materiales e insumos usados en el transporte y la construcción (Dowarah et al., 2020), así también resultan del material electrónico, los muebles, juguetes y medicina (Castañeta et al., 2020). El plástico es un material de uso generalizado en la sociedad; su uso excesivo es progresivamente creciente, tanto así que se encuentra entre los diez desechos peligrosos recolectados a nivel mundial (Williams & Rangel-Buitrago, 2022).

Las características y propiedades del plástico (maleabilidad, producción económica, densidad, hidrofobicidad, baja conductividad térmica y eléctrica, resistencia a la corrosión y durabilidad); lo convierten en un material extremadamente versátil y de gran comercialización, por lo que su producción se ha incrementado 25 veces durante los últimos 40 años, agravando más el impacto negativo al ambiente; desde el 1950 hasta el 2015 la producción plástica creció en 2 millones de toneladas anualmente en promedio; lo que supera un 200%. Considerando que el 50% de la producción actual es de un solo uso, se puede predecir que los residuos plásticos constituyen cantidades colosales que terminan contaminando el ambiente; sin embargo de esta realidad, el manejo de residuos o desechos plásticos es inadecuado, incluso es inexistente en diversos lugares; por su gran impacto que actualmente tienen los plásticos; se ha permitido definir a esta época como la “Era del plástico” (Castañeta et al., 2020).

Alrededor del 32% de los residuos y desecho plásticos en el mundo, terminan en la tierra o en los ecosistemas acuáticos continentales, tornando difícil la recolección de los mismos; debido por un lado a su dispersión y a la enorme cantidad de residuos plásticos que suman cerca de 4977 millones de toneladas acumulados en rellenos sanitarios en tierra y en el entorno natural (de Souza et al., 2017).

Actualmente, se calcula que anualmente entre 8 y 11 millones de toneladas de desechos plásticos terminan en los océanos (Williams & Rangel-Buitrago, 2022). En el 2009 el capitán oceanográfico Charles Moore, durante su exploración e investigación

por el vórtice subtropical del Pacífico Norte; se llevó un gran asombro al visualizar una isla artificial en medio del mar de basura flotante, conformada por botellas, envoltorios, contenedores, pañales, bolsas, latas, entre otros desechos. Esta inmensa masa de desechos flotante es constantemente alimentada por las corrientes marinas y el viento. Los efectos negativos de la acumulación no son solamente estética, también afecta a la fauna, provocando estrangulamiento, ingestión, asfixia, golpes, envenenamiento e invasiones de especies extrañas que usan los residuos como rutas de migración hacia otros ambientes. Ante este descubrimiento y en la investigación de esta fenómeno estima que para el año 2050 habría más plástico que peces en el mar. (Castañeta et al., 2020).

Este problema causado por los desechos plásticos, no se limita solamente a fronteras nacionales; sus repercusiones pueden trastocar muchísimos niveles productivos, ambientales y sociales que dependen de un delicado equilibrio, por lo que es fundamental una atención más decidida tanto de la comunidad científica como de la sociedad en general, para prevenir mayores impactos negativos (da Costa et al., 2017).

3.3.3.1 CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS PLÁSTICOS POR SU TAMAÑO

Los residuos plásticos según da Costa et al. (2017), se pueden dividir por rango de tamaño categorizándolos de la siguiente manera: macro residuos que son aquellos que están en el rango de >20 mm de diámetro, los meso residuos corresponden a desechos que están entre 5 a 20 mm y micro residuos son los $< a 5$ mm. Mientras que Barnes et al. (2009) concuerda con esta clase de residuos plásticos, sin embargo, incluye otra categoría corresponde a mega escombros que son los desechos que tienen dimensiones $> a 100$ mm. Por otra parte, las tasas de acumulación de megapartículas y macroplásticos presentan ahora una tendencia de crecimiento uniforme, mientras que las partículas de plástico de tamaño medio se consideran en disminución. Al mismo tiempo, los fragmentos de micro plásticos con respecto a su abundancia y distribución en la tierra han aumentado en las últimas décadas; no obstante poco se conoce de las consecuencias ambientales de los residuos micro plásticos (Barnes et al., 2009).

3.3.3.2 GESTIÓN DE RESIDUOS PLÁSTICOS

Una adecuada gestión de residuos requiere de disciplinar acciones para el control, producción, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento, procesamiento y destino final de los residuos sólidos, respetando los principios de protección de la salud pública, economía, ingeniería y conservación de los recursos. Esfuerzo que necesita una interacción entre aspectos de orden administrativos, financieros, legales, de planificación e ingeniería, encaminados a encontrar soluciones interdisciplinarias y de cooperación mutua (Drzyzga & Prieto, 2019).

A pesar que el plástico puede degradarse, con el paso del tiempo, los residuos de carbono y cenizas provocan que el suelo pierda humedad y se seque, perdiendo sus propiedades, naturaleza y su fertilidad, su contaminación, plantea graves riesgos para el ambiente y la salud (Yooeun & Youn Joo, 2018).

Los procesos de manejo de residuos que se disponen tan solo llegan a reciclar entre el 5 y 25% de los residuos plásticos (Siddiqui & Pandey, 2013), cantidad mínima respecto del total, que torna necesario y urgente replantear una gestión integral que involucre aspectos de orden social, político, cultural y económico dirigido a proteger el ambiente (Yooeun & Youn Joo, 2018).

Frente a la enorme producción de plásticos, al menos el reciclaje contribuye en algo a proteger la ecología, ahorra energía, disminuye otros tipos de contaminantes, conserva los recursos naturales; la acción de los recicladores formales (industrializados y apoyados económicamente por agencias gubernamentales) e informales (grupos independientes); es de primera línea e influyen en todo el sistema (Fazenda & Tavares-Russo, 2016). Una gestión eficiente del manejo de residuos supone una acción que integre la recolección de desechos plásticos, el tratamiento de los mismos y la eliminación de estos desechos sintéticos (Arandes et al., 2004). Complementando su gestión, con una intensa campaña de concienciación a nivel masivo y el fomento y construcción de centros de acopio del cual se pueden reutilizar en el co-procesamiento de cemento, producción de combustible industrial por residuos plásticos mezclados,

para construir carreteras de asfalto. Por tanto es necesario promover procesos alternativos de reciclaje de materiales plásticos, e incentivos (Siddiqui & Pandey, 2013).

3.3.3.3 TRATAMIENTO O MANEJO DE RESIDUOS PLÁSTICOS

Los métodos que existen para el tratamiento o manejo de residuos plásticos de tipo convencional (reciclaje, incineración y vertedero), no tienen punto de comparación en procedimientos y eficiencia con las tecnologías recientes como la Pirolysis de plasma, carretera de betún mezclado con polímeros, co-procesamiento en hornos de cemento, conversión en combustible líquido (Siddiqui & Pandey, 2013). Tecnologías que en otros lugares ya se han puesto en funcionamiento.

El reciclaje convencional puede darse en cuatro formas: el primario que transforma los residuos en productos con características semejantes al original, mientras que el secundario transforma en productos con diferentes características a los residuos plásticos usados; una tercera forma de reciclaje produce combustibles líquidos y productos químicos básicos, y por último una cuarta forma de reciclaje es la recuperación del contenido energético del residuo por combustión o incineración. La incineración, que consiste en la combustión de los residuos puede disminuir el volumen y peso, al tiempo que reduce el depósito de residuos en los vertederos o rellenos sanitarios; procedimientos comunes no amigables con el ambiente debido al riesgo de liberar a la atmósfera compuestos químicos peligrosos (dioxinas, furanos y bisfenoles policlorados). En nuestro país el método más comúnmente usado, es de los vertederos o rellenos sanitarios, cuyo mayor problema es la necesidad de grandes espacios para el depósito, los conflictos socio ambientales que generan y la no recuperación de residuos que también producen daños ambientales (Siddiqui & Pandey, 2013)

Entre las tecnologías no convencionales actuales tenemos el uso de polímeros a partir de residuos plásticos como materia para la construcción de carreteras asfálticas con mejoras en las propiedades de asfalto. El co-procesamiento de residuos plásticos en hornos de cemento, es uno de los más eficaces porque recupera energía, lo que contribuye a disminuir el uso de derivados de petróleo, y contribuyendo en el uso de dicha energía en la producción de cal, acero y electricidad. Otra tecnología eficaz es el

pirolisis de plasma (PPT), que combina las propiedades termoquímicas del plasma con el proceso de pirolisis, permitiendo eliminar todo residuo plástico sin contaminar con emisiones atmosféricas (Siddiqui & Pandey, 2013).

3.3.4 MICROPLÁSTICOS

Los polímeros de plástico han sido aceptados dentro de la sociedad y su uso se ha difundido a una escala inmensa y global, lo que explica que la presencia de estos productos se haya transformado en una problemática mundial. Los plásticos en su escala macro son piezas peligrosas, siendo su variante – los micro plásticos- probablemente más peligrosos; estos que están en proceso de investigación por la comunidad científica; sobre lo cual aún no hay unanimidad de criterios, se encuentran en casi todo el ecosistema de manera muy distinta a los plásticos y acrecienta la preocupación en la comunidad científica, medios de comunicación, gobiernos y ciudadanía en general, por la preservación del ecosistema.

Los micro plásticos (MP) son definidas como partículas de polímeros sintéticos (plástico) diminutas, usualmente de tamaño $< 5\text{mm}$, aunque se ha debatido sobre si incluir dentro de esta categoría a las que presentan otros rasgos de tamaño, como $< 1\text{ mm}$, $< 2\text{ mm}$, $2 - 6\text{ mm}$ o incluso de $< 10\text{ mm}$ (Joana C. Prata et al., 2020; da Costa et al., 2017). A estos MPs se conocen con el particular nombre de “lágrimas de sirena” debido a su tamaño reducido y a su gran variedad de colores (Y. Zhang et al., 2020).

3.3.4.1 CLASIFICACIÓN DE MICROPLÁSTICOS POR SU ORIGEN

Los MPs se clasifican en dos categorías: primarios y secundarios, dependiendo de la fuente de donde estos provengan (da Costa et al., 2017).

3.3.4.1.1 MICROPLÁSTICOS PRIMARIOS

Los micro plásticos primarios son los que son manufacturados intencionalmente para alcanzar niveles milimétricos, e incluso, submilimétricos, se pueden encontrar en productos comunes del hogar como en ambientadores o espráis de uso común, en productos para la higiene personal, como limpiadores faciales, pastas dentales, cremas exfoliantes, protectores solares, etc. (Y. Zhang et al., 2020). También se encuentran, en

un menor porcentaje, en medicinas y píldoras de uso común; en fluidos utilizados para la perforación, en materia prima para la producción del mismo plástico y pueden contaminar otras sustancias por el manejo inadecuado en la manufacturación de varios productos para el hogar e incluso en alimentos. Se estima que, aproximadamente, el 6% de productos líquidos para la limpieza de la piel de venta en la Unión Europea, Suiza y Noruega contienen micro partículas, de los cuales el 93% contiene polietileno. Dichos micro polímeros presentes en estos productos, son generalmente desechados inmediatamente luego de su uso y llegan con muchísima facilidad al ambiente a través del sistema de recolección de desechos líquidos y sus respectivos sistemas de tratamiento. El uso generalizado, crece cada día más, incluye a las impresoras 3D que constituye un importante emisor de MPs, así como también los MPs se liberan en las emisiones de las fábricas de productos plásticos. Los residuos accidentales, mal manejo sanitario, fugas de fábricas de procesamiento y pérdidas accidentales de materiales son las principales causas de la liberación de estas partículas en el entorno (da Costa et al., 2017).

3.3.4.1.2 MPs SECUNDARIOS

Los micro plásticos secundarios son el resultado de la descomposición de partículas de plásticos más grandes (Y. Zhang et al., 2020). Cuando los desechos plásticos están expuestos al ambiente y a la inclemencia de los elementos naturales, sus estructuras físicas, biológicas y químicas, sufren procesos en las que las partículas poliméricas son afectadas en su integridad estructural, lo que conlleva a su fragmentación. Dicha fragmentación puede ocurrir, incluso antes de que las partículas tengan contacto con los elementos naturales, como en el caso de las fibras sintéticas liberadas durante el lavado de ropa común. Contribuyen al aumento de los MPs secundarios, los desechos de basura común y de plásticos; la abrasión de desechos en rellenos sanitarios y en lugares de reciclaje; el manejo descuidado de equipos de pesca plásticos; la basura generada por barcos en su funcionamiento o la que es arrojada al mar en actividades recreacionales; el material plástico en los desechos orgánicos; la pintura que contiene polímeros sintéticos y la abrasión que genera la remoción de dicha pintura; los polímeros usados en los aditivos usados para la composta; las fibras

liberadas por productos de higiene y las fibras liberadas por textiles sintéticos (da Costa et al., 2017),

A pesar de la creciente presencia de MPs, aún no se dispone de una tipificación adecuada para permitir un análisis sistemático que determine sus orígenes, procesos y posibles soluciones, por lo que es menester para este trabajo poder aportar a la tipificación y al esclarecimiento de estos procesos.

3.3.4.2 CONTAMINACIÓN AL AMBIENTE POR MICROPLÁSTICOS

Las características de los micro plásticos en especial su tamaño reducido hace difícil determinar el destino de los mismos; Su amplia variedad de formas, diversas maneras de combinarse en el ecosistema y su persistencia en el tiempo complica aún más calcular la dimensión de la contaminación provocada. Se suma a ello la falta de métodos estandarizados de muestreo, la normalización de unidades de expresión de los datos y la no definición unánime sobre los MPs dentro de la comunidad científica (da Costa et al., 2017).

Los plásticos, por evacuación doméstica e industrial de aguas residuales, por transportación en el viento y erosión del suelo terminan concentrándose en los océanos; lo cual ha despertado preocupación e interés por formular procesos de remoción eficaz de los MPs, procedimiento que aparte de requerir un alto potencial técnico, no cumple eficientemente su tarea; debido a la naturaleza de las partículas de micro plásticos, y porque su baja densidad de la mayoría de los micro plásticos y la fusión con otros desechos sólidos, se asientan en las cuencas de los ríos (da Costa et al., 2017; Y. Zhang et al., 2020). Fenómeno que aparte de contaminar cuerpos de agua afecta tierras dedicadas a la agricultura (Bucci et al., 2020).

La presencia de MPs en todo el globo terráqueo incluyendo el polo norte, polo sur y en las remotas profundidades exploradas del océano, dependen del transporte facilitado por el aire, el agua y la erosión de la tierra. Por lo que puede encontrarse MPs en todos los ecosistemas marino y terrestre, en las 5 zonas subtropicales del océano,

movidos a través de los cinturones transportadores y las corrientes marinas conocidas como “corrientes de Ekman”. Estos descubriendo sugieren que los MPs pueden ser más preponderantes en las áreas costeras que en las regiones mar adentro, debido sobre todo a las actividades antropogénicas especialmente en áreas concurridas con una intensa actividad industrial y comercial (da Costa et al., 2017).

Otras fuentes de contaminación incluyen a la escorrentía doméstica que contiene fibras de ropa y micro plásticos presentes en los productos de cuidado personal, productos biológicos, fertilizantes, desechos municipales e industriales, aguas residuales, escorrentía de lagos, basura de la calle y basureros ilegales, desechos de vinilo utilizados en actividades agrícolas, polvo de llantas y partículas en el aire que viajan grandes distancias (Mourshed et al., 2017). Esta acción antropogénica es tan notoria que investigaciones usando microscopia de luz polarizada confirma la presencia de fibras sintéticas en alcantarillas y desagües e incluso en los efluentes de las plantas de tratamiento con etapas finales de microfiltración (Drzyzga & Prieto, 2019; Mourshed et al., 2017).

Los plásticos fragmentados que se acumulan en la superficie del suelo pueden ser transportados a capas más profundas del suelo por las actividades de los organismos del suelo, como saltamontes, insectos y plantas. Además, aunque ningún estudio ha revelado la transferencia o la existencia de microplásticos en las aguas subterráneas, varios investigadores han advertido sobre la posible distribución y transporte de MPs a las aguas subterráneas y la zona hiporreica; los microplásticos pueden migrar a través del perfil del suelo y llegar a las aguas subterráneas (Yooeun & Youn Joo, 2018).

La inegable integración de los MPs en los ecosistemas terrestres y acuáticos pueden alterar la cadena alimenticia al ser ingeridos por diferentes organismos con los que interactúan. Tal como se logró encontrar presencia de MPs en algas, zooplankton, y por ende en los consumidores de primer nivel y otros de la cadena alimentaria (Bucci et al., 2020).

3.3.4.3 IMPACTO DE LOS MICRO PLÁSTICOS EN LA BIOTA

Los científicos están de acuerdo en que el MP presentes en el ambiente marino, puede tener efectos adversos en los organismos acuáticos e incluso en la salud humana. Actualmente, los amplios estudios han demostrado los efectos de toxicidad y sus consecuencias que ocurren en los ecosistemas acuáticos (Yooeun & Youn Joo, 2018). Otros estudios mostraron la presencia de micro plásticos en el aparato digestivo de invertebrados acuáticos, en donde persisten varios días y semanas antes de ser excretados; pudiendo ser posible que estos contaminantes pueden ser transferidos a la red trófica u otros ecosistemas (Oliveira et al., 2019), y con ello se contaminae otros niveles de la cadena alimentaria

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos define a los micro plásticos como contaminantes prioritarios debido a su persistencia, su carácter bioacumulativo y su toxicidad; lo que quiere decir que los MPs pueden ingresar por membrana celular al sistema circulatorio, linfático, respiratorio o cualquier otro provocando daño y poniendo en peligro la integridad física de los seres vivos (Bucci et al., 2020).

Un estudio mostró que la exposición de MPs a las lombrices de tierra (*Eisenia foetida* y *Lumbricus terrestris*) se acumulan en más dependiendo de los escenarios de exposición, esta apreciación es válida para otros organismos y otros ambientes por mecanismo de transferencia (Yooeun & Youn Joo, 2018). Sin embargo, hasta la fecha, las investigaciones sobre los efectos tóxicos de estas partículas en los organismos del suelo aún siguen siendo limitadas,

Asi tambien se ha evidenciado la presencia de MPs en diversas flores de plantas, como se experimentó con la introducción artificial de perlas de látex en los tractos transmisores de los pistilos de ciertas especies vegetales, que se translocaron al ovario, evitando la polinización natural y afectando la fertilidad, reduciendo los cultivos y la producción de semillas. Este fenómeno también puede interferir en la dispersión de las semillas (Oliveira et al., 2019).

A la par se descubrieron que también existen mediante otros estudios algunos insectos que se alimentan de plástico (polietileno) pudiendo dirigirse o biodegradarlos en su interior como los gusanos de seda (*Plodia interpunctella*) y las larvas de escarabajo de la harina (*Tenebrio molitor*) que podría consumir únicamente espuma de estireno (Oliveira et al., 2019). Descubrimientos que pueden ser considerados como alternativas para la biorremediación de estos contaminantes

A pesar de que la contaminación por MPs y sus efectos son graves, recientemente se está tornando objeto de interés tanto para la comunidad científica, la agenda legislativa y medios de comunicación; preocupados por su persistencia y crecimiento en el ambiente planetario; incluso pone en tela de juicio la creciente fabricación de plásticos sobre todo por la compleja amalgama de sustancias químicas asociadas y por su largo proceso de descomposición (Bucci et al., 2020).

3.3.4.4 EFECTOS EN LA SALUD HUMANA Y EN EL MEDIOAMBIENTE DE LA CONTAMINACIÓN POR MICRO PLÁSTICOS

La contaminación por micro plásticos no es ajena a la afectación que podrían provocar en el ser humano, porque su uso cada vez es mayor, y ha desplazado al uso de seda, algodón, madera y tejidos textiles naturales que con el tiempo son absorbidos por el ambiente e incorporados al ciclo trófico del planeta sin provocar desequilibrio y efectos negativos; fenómeno que no ocurre con el uso de plásticos el mismo que termina fragmentándose en micro plásticos con la consecuente contaminación del ecosistema (Pedromo M., 2002).

Según la investigadora de Natasha (Reyna, 2019) indica lo siguiente:

Se estima que desde 1950 hasta el 2015 se han manufacturado alrededor de 8300 millones de toneladas de plástico virgen, el cual ha generado 6300 millones de toneladas de desechos plásticos alrededor del mundo, donde un 79% de estos aún están en el planeta, tanto en vertederos, como en el agua potable o en el ecosistema marino (pág. 10).

Como se ha especificado anteriormente en este trabajo, los micro fragmentos plásticos están compuestos de subunidades llamadas monómeros, la gran mayoría de estos son tóxicos para los humanos, animales y vegetales e incluso están vinculadas en el humano, como en el apareamiento de enfermedades como el cáncer, anormalidades reproductivas y problemas congénitos. Un ejemplo de esta problemática es el polímero PS, cuya toxicidad que está todavía siendo estudiada, pero ya se conoce que su monómero principal, el estireno, es un tóxico conocido muy bien dentro de la toxicología, y está catalogada como una sustancia potencialmente cancerígena; hecho que confirma el potencial riesgo de salud que supone la ingestión de ciertas partículas de MPs en los organismos vivos (Castañeta et al., 2020).

En términos de salud esta contaminación por micro plásticos, ha llegado a ser catalogado ya como un problema de salud pública, afirmación que se sustenta en estudios publicados que confirman la presencia de MPs en todos los continentes y en casi todos los ecosistemas del planeta (Castañeta et al., 2020).

La sospecha de que los MPs son un riesgo para la salud pública, ha sido comprobado por los varios estudios que si bien, aun no se logra un consenso sobre sus efectos maliciosos tanto para el ecosistema como para la salud de todos, se torna fundamental continuar con las investigaciones y sobre todo difundirlos masivamente de modo que se pueda observar su verdadera dimensión, se le otorgue mayor interés para plantear cambios en la interacción con el entorno, así como posibles soluciones sobre la creciente contaminación.

3.3.4.5 TRATAMIENTOS DE MUESTRA PARA LA EFICIENCIA EN IDENTIFICACIÓN DE MICRO PLÁSTICOS

Para fines de investigación de las muestras biológicas, es determinante eliminar la materia orgánica, sedimentos o tejido biológico sea de manera directa, por métodos visuales, o por lo contrario, preparándola para separar y extraer los microplásticos de la muestra, mediante una digestión química, con la finalidad de eliminar la carga orgánica y evitar interferencia en el análisis. La digestión química puede desarrollarse por

tratamiento ácido, alcalino, oxidativo e enzimático, para extraer los microplásticos (Dehaut et al., 2016).

Tratamiento Ácido

Los ácidos disuelven rápidamente el tejido acuoso, al descomponer la materia o tejidos biológico existente sin afectar o degradar a polímeros plásticos existentes en la muestra (Dehaut et al., 2016). El tratamiento con ácido nítrico (HNO_3), el ácido perclórico (HClO_4) y sus ácidos mixtos ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$), tienen un fuerte poder oxidante y corrosivo, destruyen los tejidos biológicos del agua y extraen microplásticos. Además, se ha probado con HCl y H_2O_2 para la disolución de la materia orgánica en las muestras; sin embargo, cuando se tratan con ácidos fuertes con temperatura aplicada algunos microplásticos, como la poliamida, el policarbonato, poliestireno, poliéster, que tiene menor resistencia a los ácidos en concentraciones bajas, pero en altas concentraciones de ácidos pueden ser destruidos o presentar daños severos, particularmente a altas temperaturas (A. L. Lusher et al., 2017); otros materiales poliméricos tratados con ácido presentan parcialmente degradación. Por lo tanto, se requieren diferentes tipos de soluciones óptimas para la degradación ácida dependiendo de la muestra biológica a analizar; y conocer la influencia de estos ácidos en la morfología de los microplásticos para obtener mínima alteración de los MPs. Por otra parte, una de las desventajas de la digestión ácida es que; requiere mucho tiempo y produce otras sustancias químicas durante la digestión.

Tratamiento Alcalino

Las soluciones alcalinas pueden degradar eficazmente el tejido acuático al hidrolizar los enlaces químicos y desnaturalizar las proteínas. Para este tratamiento se aplica soluciones como hidróxido de sodio (NaOH) e hidróxido de potasio (KOH) las cuales son las más utilizadas para extraer microplásticos de los tejidos acuáticos. La temperatura juega un papel importante en el procesamiento alcalino. Estas soluciones pueden hidrolizar eficazmente las proteínas, pero no la celulosa, el ácido silícico (SiO_2 , diatomeas y arena) y la quitina. Además, las soluciones alcalinas pueden causar una degradación severa de los polímeros microplásticos como PET, lo que limita su

aplicación en algunos campos. Sin embargo un soluto de KOH que contiene tejido vivo recubre la superficie de los microplástico, presentando una interferencia fuerte de las sales de potasio durante el proceso de identificación por micro espectroscopía infrarroja (Wagner et al., 2017)

Tratamiento Oxidativo

Consiste en un proceso de exposición al oxígeno activo, que provoca una reacción redox orgánica en la que el oxígeno se une a los delicados carbonos de la cadena para formar peróxidos, que luego se descomponen produciendo acetona o aldehídos. El tratamiento oxidativo también es un método ampliamente utilizado para la extracción de microplásticos de muestras acuáticas. Una solución acuosa de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30% se usa generalmente como agente oxidante para el tratamiento de oxidación. Puede digerir grasas, celulosa, conchas quitinosas y otras materias orgánicas (Waite et al., 2018).

3.3.4.6 METODOLOGÍA PARA DETERMINAR MICRO PLÁSTICOS

3.3.4.6.1 MÉTODOS PARA IDENTIFICAR CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS MPS

La presencia de microplásticos en nuestro entorno y en la cadena alimentaria es una preocupación creciente. Esto ha llevado a un aumento de las pruebas para detectar MPs en una variedad de muestras, incluidas las embotelladas, oceánicas y de agua dulce, sus hallazgos han generado una legislación más estricta, en la perspectiva de limitar la cantidad de plástico que ingresa al ecosistema.

- **Método Visual por microscopio**

La identificación visual es la técnica más simple y más utilizada para identificar micro polímeros y se puede lograr mediante la observación a simple vista o con un microscopio óptico. La forma y el color son los principales criterios para determinar si un elemento sospechoso, es MP. Para mejorar la precisión de los resultados de identificación, se recomienda cumplir con varios criterios de selección al inspeccionar

visualmente los materiales plásticos de tamaño micrómetro. Las partículas o fibras sospechosas no deben tener una estructura orgánica o celular visible y deben tener un grosor y un color uniforme, las partículas deben ser claras y de color uniforme en toda su longitud, las partículas blancas y claras deben verse con un microscopio de alta potencia o de fluorescencia (Shim et al., 2017).

Este método consiste en la observación directa de las propiedades físicas de los MPs como el tamaño, coloración y la forma de las partículas en una muestra biológica; mediante el ojo humano o un microscopio, otra forma de observación es el aislamiento de los MPs, del tejido de la muestra para luego analizar su morfología. Los observadores pueden identificar directamente microplásticos con un tamaño de 1 a 5 mm a simple vista; sin embargo, los factores subjetivos pueden llevar a conclusiones diferentes al detectar microplásticos. Torres et al., (2022) mostraron que tres observadores independientes distinguieron el microplástico de otros desechos a simple vista y obtuvieron tres resultados de prueba diferentes. Para mejorar la precisión del método visual, se ha combinado con la técnica de sonda caliente, que permite separar piezas micrométricas de plástico de muestras biológicas; estimando la composición de la muestra en función de las diferentes temperaturas de fusión de la muestra y el MP (Shim et al., 2017).

Sin embargo, este método puede alterar muestras de MPs y tener errores potenciales en el análisis. Cuando el tamaño de partícula es inferior a 1 mm o se mezclan partículas orgánicas e inorgánicas, el método visual ya no es aplicable (De-La-Torre, 2019). Los MPs, que tienen un tamaño de varios cientos de micrones, deben separarse con un microscopio. Los microscopios juegan un papel clave en la distinción de microplásticos al ampliar los detalles de estos.

A menudo es imposible distinguir todos los MPs directamente por métodos visuales, y la abundancia de estos en las muestras puede estimarse incorrectamente. Es así que se demostró que el 70 % de los microplásticos separados por estos métodos se identificaron como no plásticos mediante análisis de espectroscopia infrarroja posteriores. Así también Dekiff et al., (2014) mostró que solo el 47 % de las muestras eran polímeros microplásticos después de la cromatografía de gases de descomposición

térmica para volver a identificar 32 muestras de microplásticos, lo que se confirmó mediante microscopía óptica.

La evidencia ha demostrado que la detección microscópica es propensa a falsos positivos, con una tasa de error de hasta el 20 % sin análisis de composición química (Song et al., 2015). Por lo tanto, el método visual no se recomienda como método de extracción independiente, debido a sus limitaciones en la precisión y la tipificación de polímeros. Solo se puede utilizar como una herramienta para un mayor análisis e identificación de microplásticos.

- **Tinción roja de Nilo**

Para la presente investigación comprender el método llamado Rojo de Nilo, es fundamental en la detección de micro polímeros sintéticos de plástico en organismos vivos; así como la rapidez de identificación y análisis preciso de la contaminación de micro plásticos en el entorno, especialmente en el monitoreo en campo, mediante la aplicación y desarrollo de métodos analíticos de cuantificación más eficientes y ágiles. A pesar de que existen variedad de técnicas analíticas que han surgido a lo largo del tiempo, analizados anteriormente; algunos de ellos consumen demasiado tiempo, son caros y requieren mayor experiencia en ellos, limitando su adopción. Para una detección exitosa y cuantificación correcta de estas partículas se cuenta con la reciente introducción de la identificación guiada por la fluorescencia, la que utiliza la mancha por tintes que dan una manera específica de resaltar los micro plásticos y de distinguirlos de minerales y materia orgánica en la muestra, mejorando en mucho la visualización e identificación de los micro plásticos dentro de un rango de tiempo apropiado (Shruti, Roy, et al., 2022).

El Rojo de Nilo (NR) es un tinte estable, hidrofóbico, metacromático y fotoquímico usado generalmente en la investigación de los micro plásticos. Es un compuesto sin carga, orgánico y heterocíclico conformado de 5H benzo[a]fenoxazina-5-uno con un grupo dimetilamina sustituido en la posición 9. Aunque es casi insoluble en agua, muestra un incremento significativo en una intensidad fluorescente en solventes no polares con una banda de absorción y emisión en el espectro visible que

no se tinte con la absorción de muchas biomoléculas. Debido a su alta sensibilidad cromófora a los solventes polares y su constancia dieléctrica, tiene un alto rendimiento cuántico en un ambiente no polar y un amplio rango solvatoocrómico (Shruti, Roy, et al., 2022)

La emisión de color del NR fluorescente varía dependiendo de la relativa hidrofobicidad del medioambiente, cambiando de un rojo profundo a un fuerte amarillo oro. Previamente fue introducido como una sonda fluorescente para visualizar y cuantificar moléculas hidrofóbicas como lípidos intracelulares, proteínas hidrofóbicas, vesículas y polímeros de polihidroxicanoato. Los tintes como el aceite rojo EGN, Eosin B, la rosa de bengala, el Hostatol amarillo 3G, el naranja arcediano, el azul básico 24, el Violenta Cristal, el azul Lactophenol, el Rojo Neutral, el Safranin-T, el Trifano Azul y la Rodamina B han sido probados y demostrados para teñir micro plásticos; pero el NR por su afinidad a los plásticos destaca entre todos ellos. La mayor ventaja que tiene el NR es su alta absorción en plásticos y su alta intensidad fluorescente, su corto periodo de incubación y su buena afinidad con un amplio rango de polímeros, hace de él un tinte más prometedor para la detección de micro plásticos (Shruti, Roy, et al., 2022).

El tinte NR no es tóxico para células humanas a concentraciones suficientes para producir una señal fluorescente; esta técnica es ampliamente aplicada en experimentos controlados de laboratorio para estudiar la absorción y translocación de micropartículas plásticas después de su exposición a organismos. Más aún, útil para detectar partículas micrométricas escondidos en la inspección espectroscópica, al igual que facilita la cuantificación por el procesamiento automatizado de imágenes. Además, de ser aceptada para lograr analizar y aprender más sobre, la relativamente desconocida población de pequeños micro plásticos < 20 μm , escondidos en el ambiente y en los productos de consumo humano. Estas propiedades lo hacen un método aceptado, aunque aún es necesario desarrollar una técnica estandarizada para estudios futuros (Shruti, Fermín, et al., 2022).

Un obstáculo para el teñido fluorescente con el NR y su eficiencia en el análisis, es la presencia de desechos orgánicos u otros materiales en las muestras, por lo que se requiere en primer lugar separar los MPs, por densidad aislándolos de la muestra matriz

o emplear diferentes procesos de digestión de materiales orgánicos para facilitar más la filtración y recuperar los MPs con mayor eficiencia de la muestra, con la finalidad de evitar una sobreestimación con falsos positivos identificados (Shruti, Fermín, et al., 2022).

Respecto de la tinción con NR hay que recalcar que es una técnica fluorescente que otorga una imagen específica de micro plásticos en las muestras analizadas, facilitando cuantificar y definir las características morfológicas de los micro plásticos. La técnica mencionada bajo una excitación y emisión de longitud de onda por fluorescencia al usar un microscopio fluorescente, permite incluso la fotografía de partículas micrométricas (Shruti, Fermín, et al., 2022).

Para las investigaciones de MPs, en el bioindicador se han desarrollado cuatro procedimientos de tinción. El método A es cuando los filtros que contienen micro plásticos son manchados con 2 o 3 gotas de la solución de tinte o esparciendo la solución del tinte por toda la región. El método B: inyecta la solución con tinte directamente a la muestra antes de filtrar sin ningún pretratamiento para remover los componentes orgánicos. El método C es cuando la solución con el tinte se añade al agua desionizada enjuagada que contiene partículas retenidas en el filtro. En el método D, la muestra que contiene micro plásticos es colocada en el plato de Petri y luego tinturada con NR agregando una gota de la solución acuosa en los micro plásticos o al transferir los micro plásticos con pinzas (Shruti, Fermín, et al., 2022).

3.3.4.6.2 MÉTODOS PARA IDENTIFICAR LA COMPOSICIÓN DE MPs

En cuanto identificar la composición de MPs hay divergencia, dependiendo de la metodología usada, lo que ha generado discusiones sobre cómo mejorar y encontrar criterios unánimes respecto de un proceso estandarizado de análisis y detección de MPs.

Sin embargo, de esta discusión científica el método que utiliza el tinte Rojo de Nilo (NR por sus siglas en inglés), es uno que en los últimos tiempos se ha posicionado como el que mejor permite un análisis integral, benigno y amigable con el medioambiente y con los investigadores. Es valorado por que además es relativamente

un método fácil de comprender y aplicarlo para la identificación de MPs, dado su composición (Shruti, Fermín, et al., 2022).

- **Microscopio electrónico de barrido (SEM)**

El microscopio electrónico de barrido (SEM) puede proporcionar imágenes de alta resolución de una muestra al proyectar un haz de electrones de alta intensidad sobre la superficie de la muestra y escanearlo en un patrón de barrido de trama. Los detalles de la superficie de la muestra son reflejados por los electrones con un aumento muy alto. Los posibles microplásticos se pueden distinguir de otros contaminantes orgánicos o inorgánicos mediante el examen de imágenes de alta resolución de la morfología de su superficie con SEM. También se puede utilizar para analizar el progreso de la erosión de los microplásticos recuperados del entorno natural. Esto se hace examinando las texturas superficiales prominentes, como grietas y hoyuelos en estas partículas de plástico. La combinación de SEM con la espectroscopia de rayos X de dispersión de energía (SEM-EDS) proporciona información detallada sobre la composición elemental de los microplásticos y sus aditivos inorgánicos (W. Wang & Wang, 2018).

SEM-EDS se puede usar para distinguir aún más entre materiales naturales y microplásticos a través de imágenes y análisis elemental, reduciendo la cantidad de partículas requeridas para el análisis espectroscópico. Aunque SEM ha tenido éxito en el estudio de las propiedades superficiales de los microplásticos, esta técnica requiere un tiempo y un esfuerzo considerable en la preparación de muestras, lo que la hace inadecuada para procesar grandes cantidades de muestras de microplásticos (K. Zhang et al., 2016).

- **Microscopía infrarroja**

La microscopía infrarroja (IR) permite la detección de partículas de hasta 10 micrones o menos. Existen varias opciones disponibles para la microscopía IR, tanto en términos de la técnica de muestreo como del grado de automatización requerido para el análisis. Las técnicas de escaneo utilizadas en microscopía infrarroja incluyen

transmisión, reflectancia y ATR (ThermoFisher, 2018). La transmisión da como resultado espectros de mejor calidad, pero requiere que la muestra se presione o se procese de otra manera para permitir que la luz infrarroja pase a través de la muestra.

Sin embargo, esto puede resultar en espectros distorsionados, lo que dificulta identificar los componentes del polímero, el tamaño de muestra ATR funciona como se describe en la sección anterior. Una desventaja de usar esta técnica automatizada por la posibilidad de contaminación entre mediciones sucesivas cuando el elemento ATR entra en contacto con la muestra; esto no es un problema con los sistemas ATR manuales donde el cristal se puede limpiar fácilmente entre mediciones. Por lo tanto, la elección del método de muestreo depende principalmente del tipo de muestra. El nivel de automatización de un microscopio infrarrojo varía desde un simple análisis de un solo punto hasta imágenes completamente automatizadas que cubren un área más grande de la muestra y mide múltiples partículas (Fisher Scientific, s. f.).

- **Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)**

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) puede proporcionar un único espectro infrarrojo para un enlace químico en particular. Debido a que diferentes sustancias tienen diferentes composiciones de enlaces, las sustancias desconocidas se pueden identificar comparando el espectro de una sustancia desconocida con el de una sustancia conocida. Debido a su alta fiabilidad, FTIR se ha convertido en una de las técnicas más utilizadas para la caracterización química de microplásticos a partir de muestras ambientales (Giménez Segovia, 1989).

FTIR se utiliza principalmente de dos maneras en los programas de vigilancia de microplásticos. Por escaneo de todas las partículas sospechosas o análisis de una serie de submuestras, para verificar los resultados de identificación visual. Sin duda, aumentar el número de partículas sospechosas analizadas por FTIR mejorará la precisión de los datos, pero se deben considerar factores limitantes como el tiempo y el costo. FTIR no solo puede identificar con precisión el tipo de polímero en los microplásticos, sino que también proporciona más información sobre la erosión fisicoquímica de los

microplásticos mediante el análisis de su intensidad de oxidación (W. Wang & Wang, 2018).

Cabe mencionar que, tanto el polietileno como el polipropileno son poliolefinas simples que pueden identificarse y distinguirse fácilmente mediante instrumentos FTIR y Raman, técnicas comúnmente utilizadas en la industria de polímeros y plásticos. Otros polímeros también se identifican mediante espectros IR y Raman. La espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) y Raman se ha utilizado durante mucho tiempo para analizar polímeros y, por lo tanto, se entiende que son los verdaderos métodos para identificar microplásticos. Por consiguiente, proporciona una descripción general de las técnicas FTIR y Raman para la identificación de microplásticos. Es por ello que, tanto FTIR como Raman pueden detectar una larga lista de materiales plásticos, una serie de herramientas entran en juego al procesar con un rango de tamaños de partículas. A medida que disminuye el tamaño de las partículas, aumenta la complejidad y el costo del equipo necesario para analizarlas. Por lo tanto, al seleccionar una plataforma analítica adecuada, el tamaño del microplástico a examinar debe ser la primera consideración (Fisher Scientific, s. f.).

Análisis de partículas desde 5 mm hasta 100 micras

Las partículas de tamaño desde 5 mm hasta 100 micras son visibles a simple vista y pueden manipularse con mano firme utilizando pinzas; lo que hace relativamente simple verlos y manejar con el sistema espectroscópico. El método espectroscópico más común para el análisis de polímeros es un espectrómetro FTIR junto con un accesorio de reflexión total atenuada (ATR) (Fisher Scientific, s. f.). ATR permite obtener el espectro IR- de un material simplemente presionando la muestra contra un cristal transparente, generalmente un diamante (Wagner et al., 2017).

La luz infrarroja pasa del cristal a la muestra donde la energía es absorbida por la muestra y la luz se refleja de regreso al cristal para producir el espectro. Por ejemplo, el espectrómetro FTIR está equipado con un Thermo Scientific™ Diamond ATR, cuyo diamante es de unos pocos mm de diámetro y no necesita estar completamente cubierto por la muestra; tornándolo ideal para el análisis de muestras en este rango de

tamaño. Una limitación de la medición ATR es que determina el material que se encuentra en la superficie de la muestra; lo cual es útil cuando el recubrimiento de superficie es de interés, como en el caso de la absorción de toxinas. Sin embargo, si la muestra es resistente, esto puede afectar la detección, si esto sucede, la superficie debe cortarse o pulirse antes del análisis (Fisher Scientific, s. f.).

El accesorio ATR no permite que se vea la muestra después de que se intercala entre el brazo ATR y el cristal de diamante, cuando se trata de muestras en el rango de 5 mm a 1 mm, pero a su pesar no es un problema, para muestras más pequeñas, es preferible que la muestra se pueda ver mientras se coloca el accesorio y las mediciones posteriores. Los accesorios ATR están disponibles y brindan visualización, ampliación y facilitan el análisis de muestras de 1 mm a 70 micrones, un ejemplo de dicho accesorio es el accesorio micro espectroscópico Czitek SurveyIR®. Un espectrómetro FTIR con accesorios ATR es fácil de usar y relativamente económico, además, el factor de forma pequeño del espectrómetro Nicolet iS5 permite recolectar y examinar muy cerca los microplásticos, lo cual puede ser útil en estudios ambientales realizados fuera del laboratorio (Fisher Scientific, s. f.).

Análisis de partículas de 100 micras a 1 micra

Cuando el tamaño de la partícula cae significativamente debajo de 100 micras, se requiere algo de aumento. Hay dos opciones: Microscopía IR y microscopía Raman (ambas técnicas son también conocidas como microespectroscopía). Para partículas menores de 10 micrones, la microscopía Raman resulta ser la opción preferida dentro de la amplia búsqueda bibliográfica (Fisher Scientific, s. f.).

- **Espectroscopia Raman**

La espectroscopia Raman es otra técnica confiable y ampliamente utilizada para identificar polímeros microplásticos de diversas matrices ambientales. La identificación de microplásticos por espectroscopia Raman se realiza iluminando una muestra sospechosa con un rayo láser monocromático. Como resultado, la absorción, dispersión o reflexión por la estructura molecular específica y la composición atómica de la

muestra; da como resultado diferentes frecuencias de luz retrodispersada, este llamado cambio Raman puede crear un espectro único para cada polímero, la espectroscopia Raman permite la caracterización química no destructiva de microplásticos, siendo muy útil cuando se requiere más análisis de la muestra. Algunas de las ventajas de FTIR se comparten con la espectroscopia Raman como: alta confiabilidad, capacidad de detección de alto rendimiento, tamaño de muestra pequeño y requisitos ambientales (Ortega Ruiz, 2020). En comparación con las técnicas FTIR, la espectroscopia Raman tiene las ventajas de una mayor resolución espacial, un rango espectral más amplio, un acoplamiento espectral más estrecho y una menor sensibilidad a los ecos parásitos del agua. La combinación de espectroscopia Raman y microscopia (micro-Raman) permite la identificación de microplásticos de hasta 1 μm de tamaño, lo cual es muy difícil con otras técnicas espectroscópicas. Mediante el uso de espectroscopia micro-Raman en combinación con dispositivos de imágenes espectrales Raman, es práctico adquirir imágenes químicas espaciales de toda la muestra con una resolución espacial de menos de 1 μm . La espectroscopia Raman también se puede combinar con la microscopia de barrido láser confocal para localizar microplásticos en tejidos vivos.

3.3.4.6.3 OTROS MÉTODOS

Pirólisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas (Pyr-GC-MS)

La pirólisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas (Pyr-GC-MS) es una técnica destructiva, que también se ha utilizado con éxito para la identificación química de micro plásticos en el entorno, mediante el análisis de los productos de pirólisis. Los tipos de polímeros micro plásticos se pueden identificar comparando sus pirogramas característicos con los pirogramas de referencia producidos por polímeros puros conocidos. Permite la introducción directa de partículas sólidas de polímero con una preparación mínima de la muestra. En contraste con la microespectroscopia ATR-FTIR, tiene capacidad para proporcionar simultáneamente información detallada sobre la composición química del polímero y los aditivos orgánicos que contiene. Además, Pyr-GC-MS es insensible a la forma, el tamaño y la contaminación orgánica o inorgánica asociada de las partículas analizadas (W. Wang & Wang, 2018).

Se requiere una pequeña cantidad de muestra para una sola medición, lo que sugiere que es adecuado para el análisis de trazas. Sin embargo, esta técnica requiere el análisis de solo una partícula por ciclo, y el tiempo requerido para una sola medición es de 30 a 100 minutos, lo que inevitablemente limita su aplicabilidad al análisis de grandes volúmenes de muestra. Solo las partículas lo suficientemente grandes (>100 μm) para el procesamiento manual son adecuadas para el análisis; ya que las posibles partículas de micro plásticos deben introducirse manualmente en el tubo de pirólisis. En comparación con la espectroscopia, las técnicas de análisis térmico tienen el principal inconveniente de ser destructivas, permitiendo solo la caracterización química, pero no las características morfológicas de los micro plásticos analizados, como el tamaño de las partículas y la distribución de tamaños, sobre los que no se proporciona información detallada. En este contexto, se recomienda que el análisis térmico sirva como técnica complementaria a la espectroscopia para lograr un análisis integrado de micro plásticos (Zhu & Wang, 2020)

3.3.5 BIODEGRADACIÓN DE MICRO PLÁSTICOS CON MICROORGANISMOS

La contaminación por micro plásticos provoca un gran problema ambiental, y su consecuencia adversa es la alteración de la biota: por tal motivo diferentes autores han evaluado el comportamiento y los efectos de los micro plásticos, debido a que puede permanecer en el entorno y resistir la degradación, aunque ciertos microorganismos pueden degradar el microplástico. Sin embargo, actualmente no se han aislado los microorganismos funcionales suficientes para biodegradar MPs. Además, la literatura revisada trata sobre la biodegradación de PE de baja y alta densidad en comparación con el polipropileno (PP). En las que se ha informado que especies fúngicas como *Aspergillus niger* y especies microbianas como *Pseudomonas* degradan el PP. Según otros estudios, las cepas microbianas más estudiadas para la biodegradación de PP son *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Streptomyces* o *Aspergillus*, *Phanerocheetes*, un hongo del género *Penicillium* (Castro-García et al., 2021). La degradación bacteriana de los plásticos es un proceso biológico que involucra enzimas y diversas condiciones que influyeron en su producción. Las bacterias aisladas de diversas fuentes que produjeron oxidorreductasas e hidrolasas como CMCasa, xilanasas,

proteasa, lipasa y quitinasa son las que degradan los plásticos de manera efectiva. También se usaron amilasa, lignina/manganeso peroxidasa, lacasa y posiblemente otras enzimas hidrolíticas producidas por microorganismos para despolimerizar el material.

Durante muchos años se han estudiado los mecanismos de degradación de plásticos de las películas plásticas mediados por microbios. Estos métodos suelen requerir un período mínimo de incubación de 40 a 60 días para confirmar el desarrollo de biopelículas y documentar el grado de degradación mediante evaluaciones químicas y físicas. El medio actual está plagado de diferentes tipos de plástico. Por lo tanto, se necesitan comparaciones para validar la degradación del plástico y optimizar el uso de especies bacterianas para degradar eficientemente diferentes tipos de plásticos (Andriani et al., 2022).

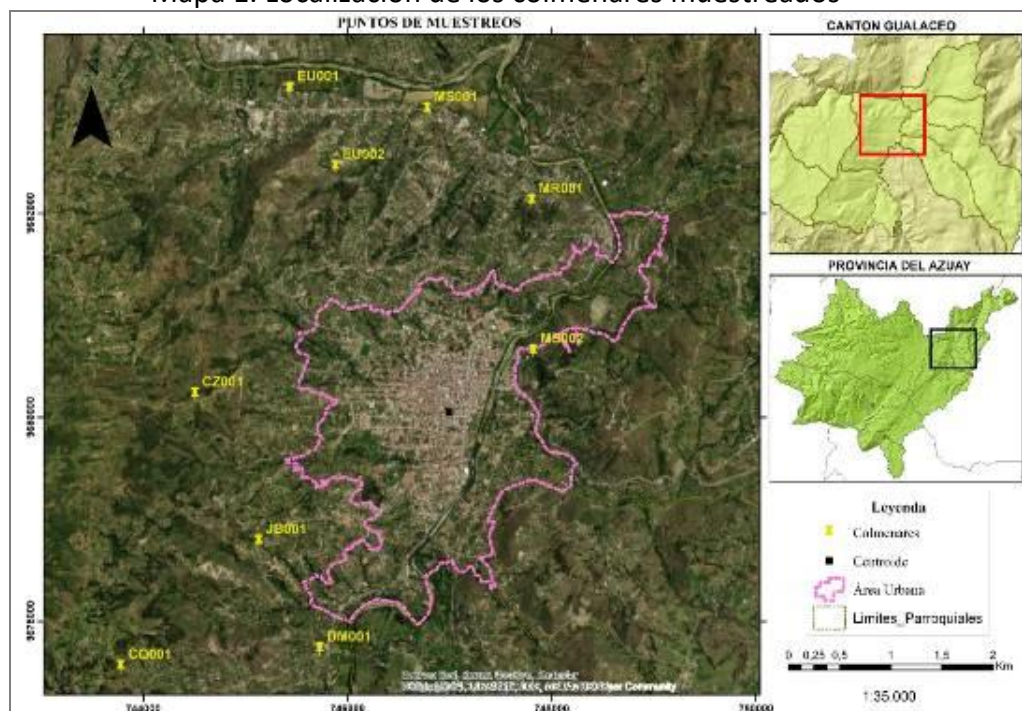
La presencia y la biodiversidad de microorganismos degradadores de plástico dependen del hábitat, como suelo, compost, agua y lodos activados. Se debe investigar la distribución y diversidad de las bacterias que degradan el plástico en diferentes hábitats. En este estudio, analizamos la biodegradación in vitro del polipropileno por especies bacterianas aisladas de Muara Anke, Yakarta, ya que las condiciones ambientales influyen en los grupos de microorganismos y las vías involucradas en la biodegradación (Andriani et al., 2022; Castro-García et al., 2021).

4 MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1 ÁREA DE ESTUDIOS

El presente estudio se desarrolla en la zona periurbana del cantón Gualaceo, a los alrededores del área urbana de la ciudad de Gualaceo, del cantón Gualaceo en la provincia del Azuay (región interandina), al Sur de la República del Ecuador. Las zonas que se involucran en el estudio; son aquellas en las cuales los apicultores tienen sus colmenares: al norte La Isla (Bullcay), Racacay, Bullcay (Estadio) y Negas, al sur: Cochapamba y Nallig, al este Yabrum y Quimzhi, al oeste: Guazhalan. Son áreas transitorias entre lo urbano y lo rural; se caracterizan por presentar cambios de uso de suelo del territorio de manera continua, en la cual se desarrolla actividades productivas y residenciales, estos terrenos tienen una edificación y extensiones grandes de área libres donde se desarrolla la producción agrícola y/o pecuaria. La infraestructura que se encuentra en el territorio del estudio es incompleta y existe una baja densidad de edificaciones.

Mapa 1. Localización de los colmenares muestreados



Fuente: Autor, 2022

El área urbana de Gualaceo tiene una extensión de 6.58 km²; con una población en la zona urbana o cabecera cantonal de 13.981 habitantes y en la periferia 7.462 individuos según la base de datos del VII Censo de Población y VI de Vivienda 2010, del Instituto Nacional de Estadística y Censo – INEC; siendo el área urbana con mayor población. La situación geográfica del área urbana de Gualaceo constituye parte del valle del río Santa Barbará.

Los análisis de la investigación se realizan durante el penúltimo trimestre del año 2022, con la colaboración voluntaria de los apicultores del área de estudio que aceptaron ayudar con información necesaria para esta investigación y en la recolección de las muestras.

4.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

4.2.1 ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

El enfoque del estudio está constituido por una perspectiva cuantitativa (realidad objetiva), fundamentado en un paradigma cuantitativo más no experimental, puesto que busca ser objetivo y tiene el propósito de describir cuantitativamente (datos numéricos) las variables caracterizantes como la ausencia o presencia de MPs, su composición (tipo de MP) y cantidad de micro plástico en relación entre la distancia del centro urbano y la cantidad de micro plásticos en los cuerpos de las abejas de la especie *Apis mellifera* de colmenas ubicadas en la zona periurbana del cantón Gualaceo, mediante el desarrollo de supuestos y un proceso metódico. El criterio personal del investigador es imparcial o neutral, sin sesgos y tendencias que afecten los resultados.

La lógica aplicada en este estudio es deductiva ya que va desde lo ordinario a lo específico; parte de la premisa general “Todas las abejas que viven cerca de los centros urbanos tienen micro plásticos en sus cuerpos” y para llegar a lo particular “Las abejas que viven cerca de la zona periurbana de Gualaceo tienen mayor presencia de micro plásticos en sus cuerpos”.

4.2.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación, de acuerdo a la profundidad con la que se plantea el objeto a estudiar, busca que el mismo; se corresponda al nivel Descriptivo, que permitirá medir los datos recolectados durante la investigación y posteriormente describir, analizar e interpretar sistemáticamente las características del fenómeno analizado en forma clara y precisa; basándose en la realidad del contexto propuesto.

4.2.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El método descriptivo aplicado en este estudio es de campo u observacional con el fin de recolectar datos primarios directamente del objeto a investigar. Este tipo de investigación no es experimental, es observacional ya que ninguna variable a estudiar es influenciada ni alterada a condiciones existentes, únicamente se observa y registrar la medición de las variables, según lo planificado. De allí, que se pretende difundir los conocimientos generados en la investigación y poder comprender mejor la realidad del problema en nuestro entorno, con el propósito de colaborar y contribuir con información nueva sobre la temática analizada, tanto a la comunidad científica como a la comunidad civil. Además de ello, también se plantea una investigación de tipo correlacional, es decir no causal, teniendo por objetivo también, determinar el grado de relación existente entre las variables a estudiar. Una vez medida la variable se emplea la estimación de correlación a través de pruebas de hipótesis con técnicas estadísticas aplicadas; lo que permitirá conocer si existe relación, entre la distancia del centro urbano de Gualaceo y la cantidad de micro plásticos obtenidos de los cuerpos de las abejas (*Apis mellifera*) de colmenas de los apicultores, en la zona periurbana del cantón Gualaceo, provincia del Azuay.

Por lo tanto, a partir de la investigación de campo se generan datos primarios obtenidos de primera mano en tiempo real y por el investigador es decir observados directamente de los sujetos investigados, como también se recogen datos secundarios que respaldarán la investigación basado en la información existente que permite conformar el marco teórico y le da una caracterización de tipo documental.

4.2.4 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Ho: La cantidad MPs encontrado en las abejas analizadas no son inversamente proporcionales a la distancia de los centros urbanos.

Hi: A mayor distancia de centros urbanos menor cantidad de micro plásticos presentes en los cuerpos de las abejas (*Apis mellifera*) procedentes de las colmenas de los apicultores localizados en la zona periurbana del cantón Gualaceo en el año 2022.

4.2.5 SISTEMA DE VARIABLES

En primer lugar, tenemos la variable de caracterización que son los micro plásticos, la variable de interés las abejas de los colmenares de la zona periurbana del cantón Gualaceo y la distancia al centro urbano de Gualaceo.

4.2.6 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Consiste en establecer cada variable a investigar en cada una de sus respectivas dimensiones e indicadores, según la escala de medición, para lo cual se desarrolla el cuadro de operacionalización de variables.

Tabla 1. Matriz de operacionalización de las variables del estudio

Variables	Definición	Dimensiones	Indicadores
Microplásticos en el cuerpo de abejas obreras	Partículas de polímeros sintéticos de plástico de tamaño menor a 5mm (de 1 a 5mm) adheridas al insecto himenóptero apócrifo de la familia Apidae, (<i>Apis mellifera</i>)	Área y/o longitud de partículas de MPs	Cantidad de Fragmento o Designación en micrómetros (μm).
		Número de MPs por colmenas	Cantidad de partículas encontradas en cada colmena muestreada.
		Tipo de polímeros	Porcentaje de Polímero identificado

Distancia al centro urbano	Trayecto comprendido entre un lugar a otro	Distancia entre las colmenas muestreadas y el centroide del centro urbano del cantón Gualaceo	kilómetros (km)
Colmenas	Lugar donde viven las abejas	Número de colmenas muestreadas	Cantidad de colmenas muestreadas

Fuente: Autor, 2022

4.2.7 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

Población: Para la actual investigación se establece una población accesible o población muestreada, dependiendo de la participación y colaboración voluntaria de algunos apicultores de la zona periurbana de Gualaceo; muestra que corresponde a una delimitada fracción de la población objetivo y es de la cual se separa una muestra representativa.

Muestra: De los 13 apicultores (colmenares) de la zona periurbana del cantón Gualaceo; 9 colmenares fueron seleccionados según su voluntad a colaborar en este estudio. De cada colmenar seleccionado se ha determinado 3 colmenas, de las cuales se recolectarán aproximadamente 50 abejas obreras por cada colmena seleccionada. En total se tendrá 27 muestras con un duplicado, que correspondería a un total de 54 muestras.

Muestreo: El método seleccionado es no probabilístico de tipo intencional y opinático, ya que en este caso las colmenas elegidas de los apicultores involucrados para la toma de muestras son escogidas en base a criterios definidos por el investigador, como fue ubicación de los colmenares, su distancia y accesibilidad de ingreso al colmenar.

4.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Existen diferentes tipos de técnicas para la recolección de datos que permiten responder a la pregunta de investigación planeada; éste presente estudio ha considerado en primera instancia un análisis documental (documentación escrita, oral o estadísticos), de los cuales se han recopilados los más relevantes, sobre el tema en común que permitan obtener, analizar, interpretar y/o comparar datos o información requerida; como punto de partida del conocimiento que se tiene sobre ello; para ello se indago en bases de datos digitales del repositorio de la Universidad y otros recursos. Complementariamente a esta técnica se aplica; la de observación mediante la instrumentación, mediante el Microscopio invertido de Fluorescencia con su software NIS, dispositivos fotográficos, y mediante el Espectroscopia FTIR con sus programas que permite comparar las observaciones realizadas y determinar a qué polímero sintético corresponde.

4.4 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

En el procesamiento y análisis de las observaciones del presente estudio se utiliza el programa Excel y RStudio. Excel; que permite ordenar, organizar y procesar los datos primarios obteniendo la estadística descriptiva, como también la visualización de los datos procesados por medio de tablas y gráficos (diagramas o histogramas entre otros), admitiendo en primera instancia esquematizar de una manera comprensiva los datos observados y a su vez determinar los diferentes parámetros requeridos de las variables estudiadas (Abundancia global y por su forma, dimensionamiento de los MPs). Luego con la herramienta Rstudio (software diseñado para análisis estadísticos y gráficos), se realiza tratamientos estadísticos a partir de los datos de las muestras, obteniendo un análisis descriptivo y con ello se obtienen medidas de tendencia central y de dispersión. Se trabajó con las dos variables independientes; el análisis de coeficiente de correlación en el programa Rstudio con el packages “cor.test” y el método “spearman”, para

establecer si existe relación entre la cantidad de MPs encontrados en las 27 colmenas correspondientes a los 9 colmenares muestreados y la distancia desde este punto hacia el centro urbano del cantón Gualaceo.

Con la aplicación del programa OMNIC se pudo determinar la composición de MPs obteniendo información sobre el tipo de compuesto del material plástico identificado y con los datos recopilados por muestra se pudo determinar la cantidad del tipo de MPs por composición.

4.5 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Tabla 2. Materiales, reactivos y equipos

Materiales	Equipos e Instrumentos	Reactivos
Recipientes de vidrio con tapa corcho (130 ml)	Kit de filtración al vacío de vidrio (kitasato, 1000 ml, embudo de 300 ml, base de vacío de 47 mm con disco sinterizado y abrazadera metálica de 47mm) y/o equipo de filtración al vacío	Peróxido de hidrógeno al 33%
Vasos de precipitación de vidrio de 250 ml	Bomba de vacío	Etanol al 96%
Cajas Petri de vidrio	Cámara de flujo laminar	Tinte rojo de Nilo a 1ppm en metanol absoluto
Papel filtro	Balanza analítica digital	Agua mili-Q o ultrapura
Filtros de membrana de nitrato de celulosa (\varnothing 47mm, porosidad 0.45 μ m)	Estufa	
Porta objeto	Autoclave	
Papel de aluminio	Microscopio invertido de fluorescencia marca Nikon eclipse Ti2/ software NIS- Elements BR	

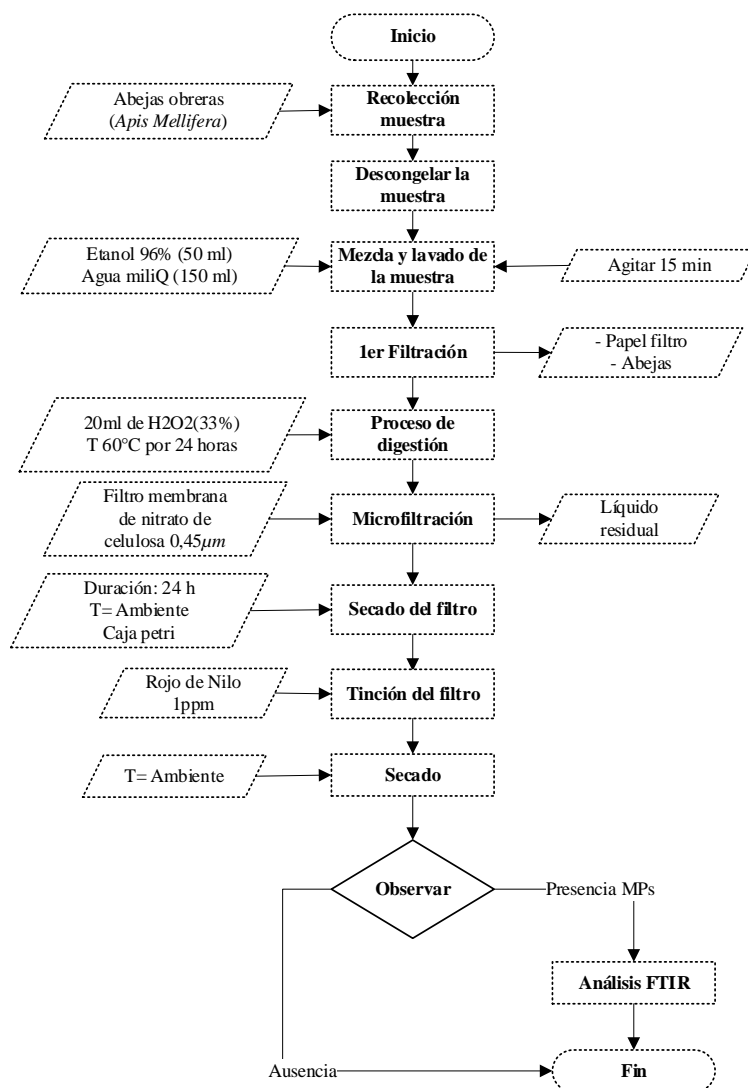
Pipeta de vidrio	Espectrómetro FTIR marca Thermo Scientific Nicolet iS10/Software Omnic
Probeta graduada (100ml y 250 ml)	
Matraces Erlenmeyer (1000 ml)	
Varilla de vidrio	
Balón de aforo de 100 ml	
Zips zap	

Fuente: Elaboración propia

4.6 PROTOCOLOS APLICADOS PARA LA INVESTIGACIÓN

Previo a la aplicación de metodología, se revisó información de la metodología usadas en estudios similares; sobre lo cual se recopilaron las técnicas más adecuadas para el desarrollo de la presente investigación, adaptándolas al inventario de los laboratorios de Ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, la que se desarrolla en las siguientes etapas.

Figura 1. Diagrama de flujo del procesamiento en laboratorio



Fuente: Autor, 2022

4.6.1 TOMA Y RECOGIDA DE MUESTRAS

En el propósito de establecer el protocolo de recolección de la muestra seleccionadas en los diferentes apiarios o colmenares que se tiene acceso, se tomó en cuenta la información del estudio por Edo et al., (2021) Honeybees as active samplers for microplastics. Una vez coordinado con los apicultores se procede a acceder a cada apiario con los trajes de seguridad de un apicultor y los materiales y condiciones necesarias para recolectar, guardar y conservar la muestra. En cada colmenar se capturan aproximadamente unas 50 abejas obreras reteniéndolas en recipientes de vidrio de 130 ml con tapa de corcho, posteriormente se colocan las muestras por

colmenar en una bolsa zip, sellándolas y codificado correctamente; se coloca de inmediato en un cooler con la finalidad de conservar la muestra y evitar la descomposición de los individuos, luego las muestras se congelan sin ninguna solución hasta trasladar a laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana de Cuenca. De este modo las muestras están listas para luego realizar el procedimiento analítico correspondiente. Este mismo proceso se duplica luego de 15 días en cada uno de los colmenares seleccionados para el muestreo inicial.

4.6.2 COLMENARES MUESTREADOS

Tabla 3. *Puntos de Muestreos (colmenares muestreados)*

N°	Código Apicultor	N° Colmenas	Coordenadas Geográficas (WGS84- 17S)		Sector
			X	Y	
1	MS001	3	746780	9683020	Bullcay (Pista Bicicross)
2	MR001	3	747805	9682123	Negas
3	MS002	3	747819	9680651	Guazhalan
4	EU001	3	745437	9683223	La Isla
5	EU002	3	745883	9682457	Racacay
6	JB001	3	745131	9678784	Quimzhi (Antenas)
7	CQ001	3	743780	9677557	Cochapamba
8	CZ001	3	744507	9680227	Yabrum (Mirador)
9	DM001	3	745728	9677731	Nallig (UPS Nallig)
Total		27			

Fuente: Autor, 2022

4.6.3 EXTRACCIÓN DE MICRO PLÁSTICO DE LA MATRIZ AMBIENTAL EN ESTUDIO

4.6.3.1 PROCESAMIENTO DE MUESTRA Y DESPRENDIMIENTO DE LOS MPS

Una vez que las muestras están en el laboratorio, se procede a descongelar a temperatura ambiente, de inmediato se traspasó los individuos previos a su conteo a un vaso de precipitación de vidrio de 250 ml, al cual se agregó un volumen del 50% de la

solución de 50 ml de etanol y 150 ml de agua miliQ; agitándolas durante 15 minutos con la varilla de vidrio de manera suave para que se desprendan las partículas de MPs y otras adheridas al cuerpo de las abejas. Este proceso se realizó en la cámara de flujo laminar para evitar una posible contaminación cruzada.

4.6.3.2 PRIMERA FILTRACIÓN

Transcurrido los 15 minutos de agitación de la muestra se realiza la filtración con papel filtro (porosidad de $11\mu\text{m}$) en el kit de filtración al vacío de la muestra, con el 50% de la solución de etanol y agua miliQ reservada se enjuaga los cuerpos de las abejas en el mismo filtro para recuperar posibles partículas o materiales que podían quedarse adheridas al mismo, realizando con cuidado para evitar desintegrar sus cuerpos. La solución filtrada que corresponde a un volumen de aproximadamente 200 ml se reserva para aplicar la etapa de digestión o eliminación de materia orgánica. Debo anotar que solo el proceso de filtración se realizó fuera de la cámara de flujo laminar, con el cuidado de siempre mantener tapado las muestras con papel aluminio, así mismo para evitar contaminación cruzada.

4.6.3.3 OXIDACIÓN O DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

La solución resultada de la primera filtración de muestra que se encuentra en el Kitasato se traspasa a un vaso de precipitación de 250 ml al cual se le agrega el 20 ml de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 33%, es decir el 10% de la muestra, cuyo fin es eliminar y desprender la posible materia orgánica existente en la muestra y obtener únicamente las partículas de MPs. Una vez agregado el agua oxigenada se coloca la muestra en la estufa a una temperatura de 60°C por 24 horas, condiciones aplicadas por Edo., (2021) en su estudio.

4.6.3.4 MICRO FILTRACIÓN, SEPARACIÓN DE MPs

Al cumplir con el tiempo determinado para la eliminación de cualquier materia orgánica que pueda contener la muestra, se continuó con la separación de las partículas

de micro plásticos de la solución tratada a partir de la filtración con la ayuda del kit de sistema de filtración al vacío y con el filtro de membrada de nitrato de celulosa de un diámetro de 47 mm, de porosidad 0.45 μm ; al culminar esta fase se retira el filtro con mucho cuidado, se coloca en una caja Petri de vidrio y se protege con papel aluminio codificando cada muestra correctamente, luego se deja secar a temperatura ambiente por 24 horas.

4.6.4 TÉCNICA DE TINCIÓN

En esta fase se preparó una solución de tinción de rojo Nilo o Red Nile con metanol absoluto obteniendo una concentración de 1ppm, que se colocó en un dispensador spray el cual se cubrió con papel aluminio por ser fotosensible, conservándose esta solución durante todo el análisis en un lugar seco, oscuro y a temperatura ambiente.

Una vez pasado 24 horas, al filtro resultante del proceso de filtración descrito anteriormente, se le aplica un disparo de tinte Rojo Nilo dejándolo secar por completo para luego proceder a la observación de los MPs en el microscopio. Cabe indicar que ante un proceso inadecuado de secado, la presencia de humedad en el filtro puede disminuir la intensidad de fluorescencia al visualizar en el microscopio invertido de fluorescencia como indica el autor Prata et al., (2020).

Al aplicar el tinte rojo Nilo al filtro con micro plásticos, se aumenta la eficiencia y exactitud de la identificación y cuantificación de los MPs por su propiedad solvatocrómico, método de bajo costo, de fácil uso y de rápida identificación de MPs (Maes et al., 2017; Shruti, Fermín, et al., 2022) además que permite diferenciar las partículas plásticas de otras partículas simultáneamente por la afinidad que tiene a partículas hidrofóbicas (Dowarah et al., 2020).

4.6.5 CARACTERIZACIÓN POR OBSERVACIÓN DE MICROPLÁSTICOS

Para la identificación visual de partículas micrométricas de plásticos se lleva el filtro tinturado con rojo de Nilo ya deshidratado con un portaobjeto de vidrio al

microscopio invertido de fluorescencia Niko eclipse Ti2 con cuidado aplicando el software (NIS Elements BR). Para visualizar la fluorescencia, se coloca en el filtro verde del equipo usado, en una longitud de onda de excitación (430-490nm) y de emisión que va de 510-560nm (Stanton et al., 2019). En base a lo mencionado se procedió a observar realizando un barrido visual de izquierda a derecha, buscando fragmentos o fibras de micro plásticos aplicando fluorescencia lo que permite identificar las partículas de interés e inmediatamente se procede a determinar la forma, su dimensión (longitud o área), cantidad y ubicación de las partículas por filtro. Además, previo a la observación con cautela se divide en cuatro cuadrantes el filtro para hacer la observación.

4.6.6 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA FTIR DE MICRO PLÁSTICOS (MPS)

Finalizado la observación y ubicación de las partículas de interés en los filtros en la anterior fase, se continua con el análisis de los componentes principales de todas las posibles partículas identificadas posteriormente se analizan con el uso del Espectrómetro FT-IR, modelo Nicolet™ iS™ 10, marca Thermo Scientific con la incorporación de un software integrado denominado OMNIC. La metodología analítica aplicada en esta instrumentación está basada en espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) con la técnica de reflectancia total Atenuada (ATR) de diamante. Al cual se aplica tres barridos como mínimo por cada partícula presente en la muestra. La longitud de banda aplicada corresponde a un rango de 400 a 4000 cm^{-1} , siendo el infrarrojo medio. Procedimiento que fue controlado y evaluaba a través del software OMNIC, que permite determinar los espectros de cada partícula comparándose con los datos que se refiere en el programa en el programa OMNIC; así se encontró similitud entre los espectros de la biblioteca de referencia y los de la muestra, lo que tiene correspondencia con los comportamientos de los polímeros sintéticos en los estudios de los autores Song et al., (2015) y Y. Zhang et al., (2020).

Finalmente, y luego de conocer los espectros de los polímeros encontrados se procederá a realizar el tratamiento estadístico con el objeto de analizar e interpretar los datos mediante herramientas estadísticas y de ese modo, comprobar la existencia o no,

de la relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de micro plásticos en los colmenares de los apicultores de la zona periurbana del cantón Gualaceo.

4.6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A partir del diseño de investigación propuesto se realiza el análisis estadístico; mediante la sistematización de los datos recopilados, aplicando operaciones estadísticas que nos permita cuantificar los datos, su respectiva interpretación y validación de los mismos. Para una mejor comprensión y precisión de los datos se aplica el programa Excel y Rstudio el que permite mostrar tablas, gráficos, determinar su comportamiento, tendencia y demostrar las pruebas de hipótesis del presente caso de estudio.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

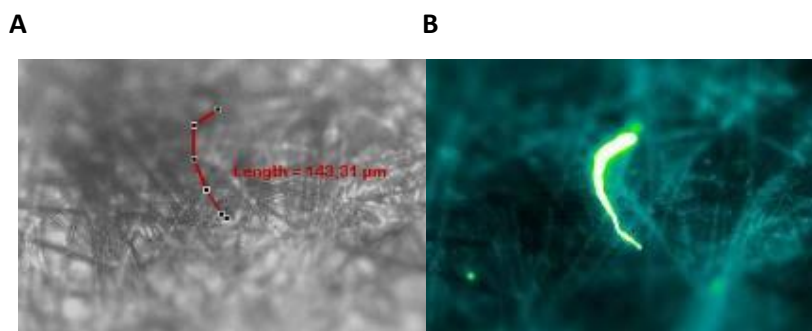
5.1 RESULTADOS

Al aplicar la metodología con rigor, tanto en cantidad como en calidad en los diversos momentos desde la toma y recolección de muestras, extracción de microplásticos de las muestras, técnica de tinción, caracterización de MPs por microscopia de fluorescencia y caracterización de MPs por su composición; se encontró como resultado general que los MPs están presentes en todos los colmenares participantes del área de estudio del cantón Gualaceo.

5.1.1 CARACTERIZACIÓN VISUAL DE MPs POR SU FORMA

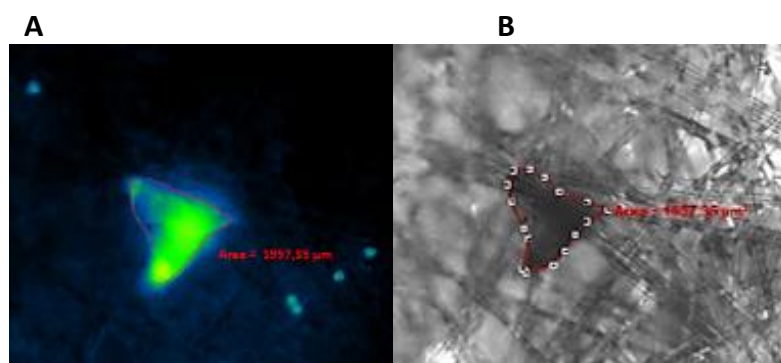
Con la aplicación de la tecnología que actualmente dispone la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, que permite identificar y caracterizar la morfología de los materiales plásticos de tamaños menores a 5mm, se encontró que existen dos formas o estructuras diferentes de polímeros. La fibra encontrada y caracterizada por su longitud que se muestra en la figura 2 y el fragmento caracterizado por área o diámetro que se muestra en la figura 3. Esta caracterización se realiza tanto por observación por microscopia simple como cuando se aplica fluorescencia, la misma que dada la proyección lumínica tanto en la fibra como en el fragmento confirma su presencia.

Figura 2. A. Fibra sintética micrométrica con su forma y longitud; B. Fibra sintética con fluorescencia.



Fuente: Autor, 2022

Figura 3. A. Fragmento sintético micrométrico irregular, en su forma y longitud; B. Fragmento sintético con fluorescencia



Fuente: Autor, 2022

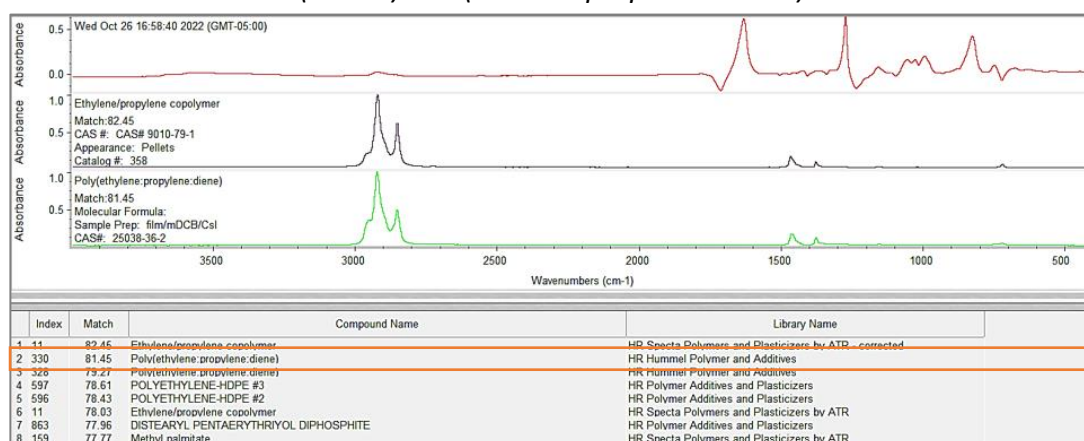
5.1.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS MICRO PLÁSTICOS POR SU COMPOSICIÓN EN EL ESPECTRÓMETRO FTIR

La observación e identificación de las partículas en los filtros a través del microscopio invertido de fluorescencia, marcadas que se procedieron a medir en el FTIR y con el apoyo del programa OMNIC permitió verificar e identificar la composición de cada partícula de la muestra, tomando en cuenta que sus espectros son similares o corresponden a los que señala la biblioteca de referencia, que refieren a HR Hummel Polymer and Additives, HR Polymer Additives and Plasticizers, HR Specta Polymers and Plasticizers by ATR, HR Specta Polymers and Plasticizers by, y Hummel Polymer Sample Library . En cuanto a la especificidad de este estudio, que busca solo identificar la presencia de polímeros sintéticos; más no caracterizarlos por rangos de longitud de

banda, en la metodología aplicada no se consideró necesario detallar a profundidad estos aspectos, centrando la atención en lo que el programa OMNIC comprobó. Más sin embargo una desconfiguración imprevista del software OMNIC Spectra, dificultó la verificación de los compuestos plásticos identificados por programa OMNIC; sin que esto signifique, invalidar los resultados obtenidos. Por otra parte, cabe indicar que el porcentaje de coincidencia entre los espectros tanto de la muestra como de la biblioteca de referencia usada fueron diversas, por lo que para el presente estudio se eligió únicamente los porcentajes que eran mayor al 70% de coincidencia, para garantizar mayor precisión. Aunque, también se establece que valores coincidentes entre el espectro referencial y la muestra pueden alcanzar porcentajes de 47,50%, considerando como un buen resultado (Qiu et al., 2015).

En las figuras 4, 5 y 6 se muestra el análisis de identificación de algunos polímeros según su composición a partir de la comparación de espectros de la partícula de la muestra como los dados por el FTIR, además se puede apreciar en las imágenes el valor de coincidencia (match)

Figura 4. Los espectros de la muestra (rojo) y de la biblioteca de referencia-FTIR (azul y verde), indican que polímero corresponde por su composición y su valor de coincidencia (match). Poli(etileno : propileno: dieno)



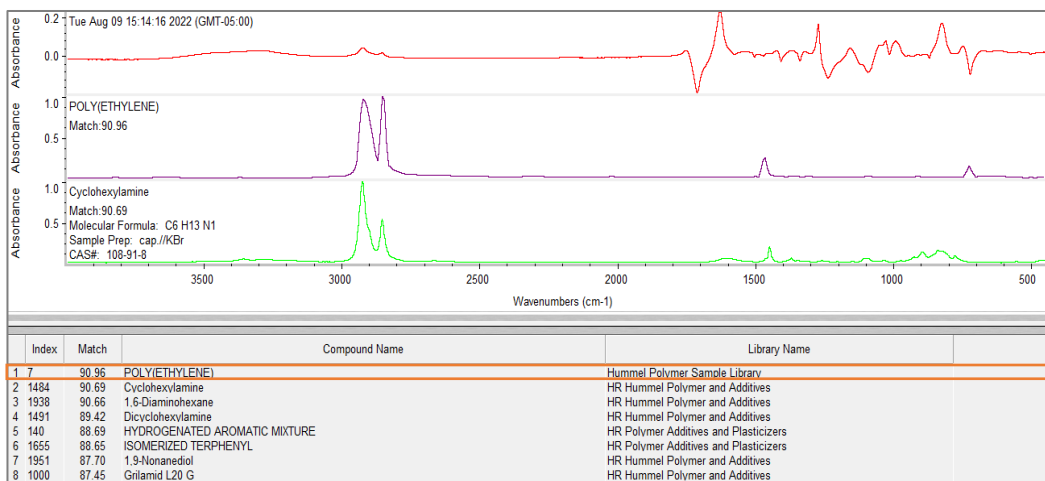
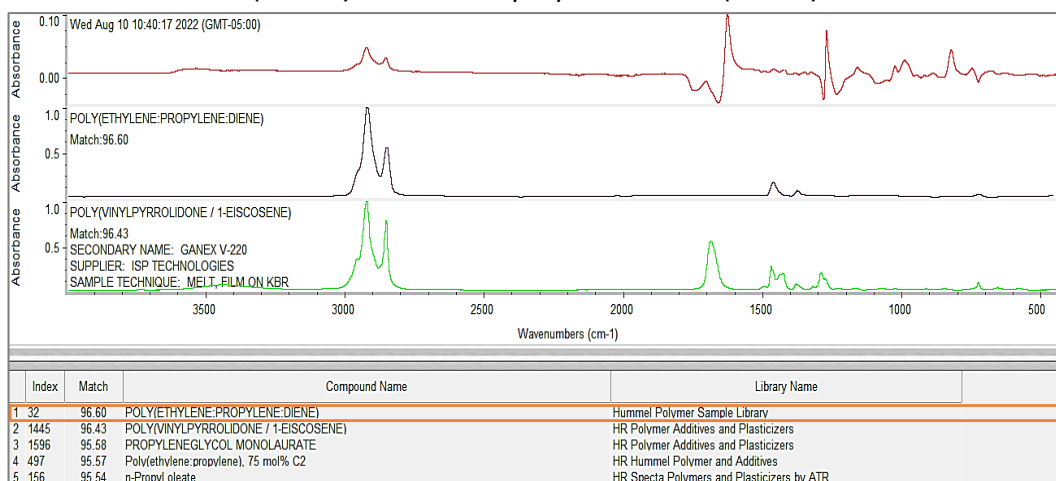


Figura 5. Los espectros de la muestra (rojo) y de la biblioteca de referencia (azul y verde), indican que polímero corresponde por su composición y su valor de coincidencia (match). Polietileno propileno dieno (EPDM)



Policarbotano (PC)

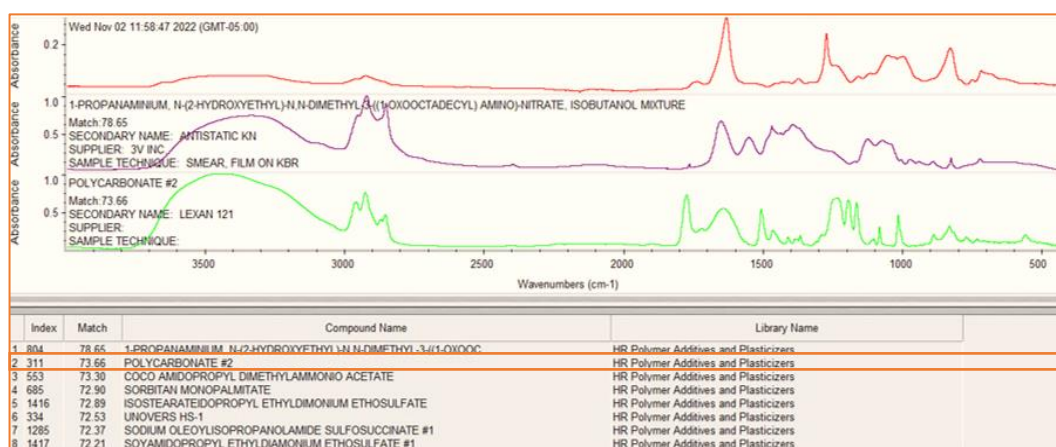
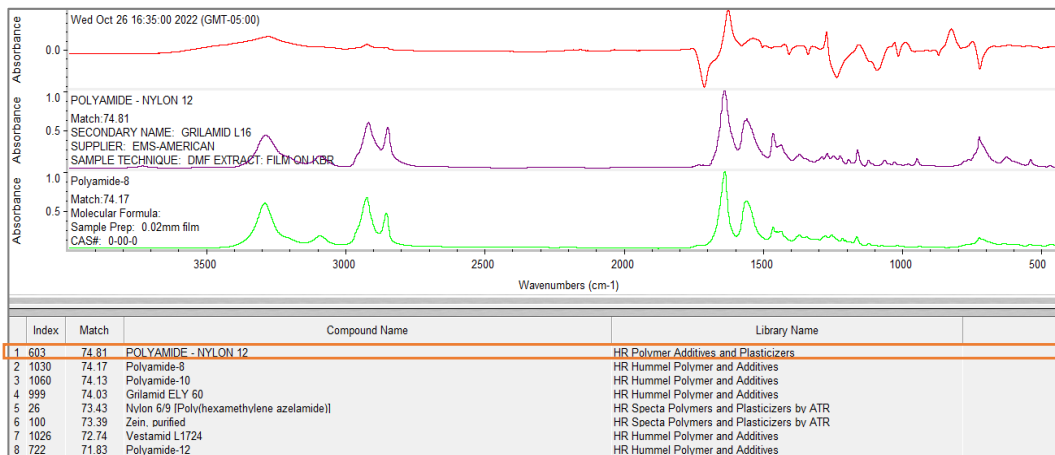


Figura 6. Los espectros de la muestra (rojo) y de la biblioteca de referencia (azul y verde), indican que polímero corresponde por su composición y su valor de coincidencia (match), Polímero Poliamida-Nylon 12, PA

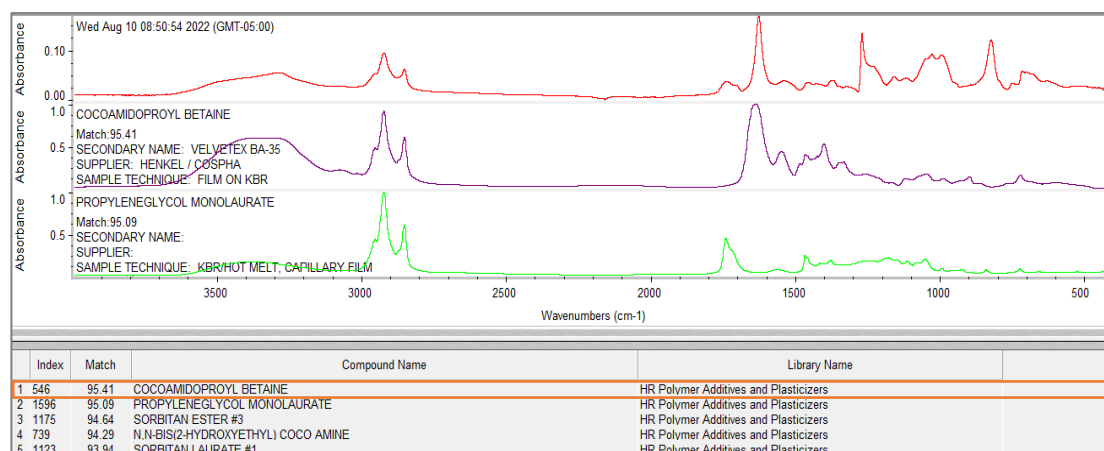


Poli(4-metilcaprolactam)



El programa OMNIC permite suprimir los falsos positivos que se registraron en primera instancia a la visualización en microscopio con fluorescencia; al evidenciar que el espectro registrado coincide con el espectro de la biblioteca; lo que admite recopilar y clasificar por tipo de polímeros sintéticos identificados por muestras (colmenares muestreados: JB001, MR001, MS001, CQ001, CZ001, MS002, DM001, EUI001, EUR001) y finalmente cuantificarlos. Los casos que no correspondieron se consideraron falsos positivos y se descartaron; cómo se puede visualizar en la figura 7, en la cual se registra un polímero que no corresponde a MPs.

Figura 7. Los espectros de la muestra (rojo) y de la biblioteca de referencia (azul y verde), indican que el polímero corresponde según su composición a *Cocoamida propil betaína*.



En la tabla 4, se evidencia los tipos de polímeros identificado por su composición en cada colmenar muestreada y codificada de la siguiente manera: JB001, MR001, MS001, CQ, CZ, MSG001, DM001, EUI, EUR; códigos que corresponde a las iniciales de los apicultores que colaboraron en esta investigación; además se muestra la cantidad de los tipos de polímeros presentes, que en su total asciende a 341 partículas.

Tabla 4. Tipo de polímeros por su composición y cantidad registrada en cada colmenar muestreado

Tipo de Polímeros por su composición	Colmenares muestreados/Cantidad de polímeros registrados									Total	%
	JB001	MR001	MS001	CQ01	CZ001	MS002	DM001	EUI01	EUR02		
Poliétileno (PE)	27		9	1		2	1			40	11,73
Poliétileno -HDPE#1	5		1							6	1,76
Poliétileno HD	4	2								6	1,76
Poliétileno propileno dieno (EPDM)	28		3			1	1	1		34	9,97
Poliétileno propileno	1				1					2	0,59
Copolímero etileno-propileno (EPM)	3						2			5	1,47
Nylon 6,9	1			1			1			3	0,88
Nylon 6,3	2									2	0,59
Nylon 12	2		2		1					5	1,47
Poliámid-nylon 12	4		24	1	1		7	3		40	11,73
Poliámid 8							13	2		15	4,40
Poliámid-10							3			3	0,88
Tereftalato de poliétileno (PET)	1	3	1	2	1	1	1		1	11	3,23
Politetrafluoroetileno	7	12	2			1				22	6,45

Poliéster	1									1	0,29
Polycarbonato #2	2	2	4	1	4			2		15	4,40
Poli(4-metilcaprolactama)	4	18	6	15			2	26	15	86	25,22
Poli(5-metilcaprolactama)	1		3	1				3		8	2,35
Polipropileno	1			1						2	0,59
Poli(butadieno acrilonitrilo)		8								8	2,35
Bakelita 37981						2		2		4	1,17
*Zeina	9			1						10	2,93
*Seda					13					13	3,81
	103	25	62	18	23	24	31	39	16	341	100,00

Nota: El signo (*) presente en la tabla 4, indica que estos dos polímeros registrados son de origen natural.

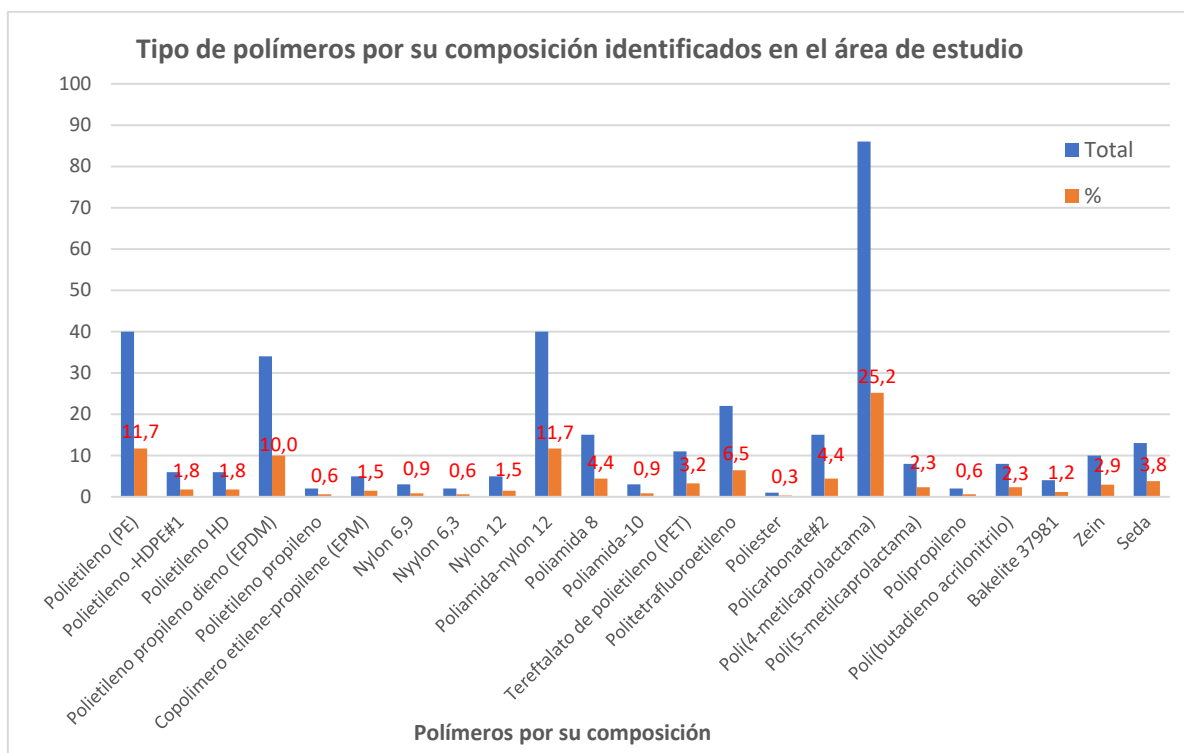
Fuente: Autor, 2022.

Las micro partículas poliméricas encontradas en los diferentes colmenares, a partir de la identificación en el FTIR (composición de plástico) y que se ve en la tabla 4, corresponden a 23 polímeros registrados con diferente composición. Se puede apreciar también que el polímero PET (Tereftalato de polietileno) está presente en casi todos los sitios excepto en el colmenar EUI, el poli (4-metilcaprolactama) tuvo ausencia en los colmenares MR y MS002, la poliamida-nylon 12 están presentes en 7 sitios, pero no se encontró en el colmenar MS002 y EUR, los policarbonatos están presentes en 6 colmenares sin registrar en MR y DM.

Para una mejor comprensión de las cantidades de los polímeros por tipología que se encontraron al analizar las muestras de los 9 colmenares como señala la tabla 4, se indica sus respectivos porcentajes con respecto al total de los tipos encontrados (341partículas); Por ejemplo se destaca por su mayor o menor porcentaje, los siguientes; al poli(4-metilcaprolactama) le corresponde el mayor porcentaje que es 25,29%, seguido por la Poliamida-nylon 12 y el Polietileno (PE) con 11,73% cada uno, el 9,9% para Polietileno Propileno Dieno (EPDM), el Politetrafluoroetileno está representado con el 6,45%, el 4,4% es para Poliamida 8 con similar valor presenta el policarbonato, un 3,23% corresponde al Tereftalato de polietileno (PET). Los polímeros con mayor presencia, antes mencionados suman un total de porcentaje de 73,9%;

mientras que el restante de polímeros con menores valores porcentuales alcanza un 26,10 % como se muestra en la figura 8.

Figura 8. Porcentaje de las micropartículas poliméricas identificados por su composición en la zona de estudio.



Fuente: Auto, 2022

5.1.3 ABUNDANCIA DE MICRO PLÁSTICOS EN LAS MUESTRAS

Al observar las muestras de cada una de las colmenas seleccionadas de los apicultores participantes se pudo evidenciar la presencia de MP tanto en forma de fragmento, como en forma de fibra. Se pudo obtener así la cantidad de estas micropartículas sintéticas de plástico en total por cada colmena analizada; así también, se comprobó que la cantidad de MPs observados en las muestras varían una con la otra tanto en fragmento como en fibras sintéticas y que en algunas muestras no se identificaron fragmentos como se puede visualizar en la tabla 5. En esta tabla se muestra los resultados obtenidos de las colmenas muestreadas (3) por cada colmenar participante (9).

Tabla 5. Número de Fragmentos y fibras contabilizadas en cada muestra recolectada, ubicadas en diferentes sitios de zona periurbano de Gualaceo.

N° Localidad	Colmenar	N° de colmena	Fragmento	Fibras	Concentración (MPs/colmena)
1	JB001	C1	21	18	39
		C2	34	16	50
		C3	21	29	50
		C4	33	31	64
		C5	52	26	78
		C6	7	19	26
	Promedio		28	23	51
2	MR001	C1	-	12	12
		C2	-	5	5
		C3	9	12	21
		C4	4	11	15
		C5	6	5	11
		C6	1	6	7
	Promedio		5	9	12
3	MSB001	C1	20	27	47
		C2	15	20	35
		C3	19	7	26
		C4	18	12	30
		C5	2	4	6
		C6	1	8	9
	Promedio		13	13	26
4	CQ001	C1	3	5	8
		C2	8	10	18
		C3	12	8	20
		C4	2	4	6
		C5	1	6	7
		C6	0	3	3
	Promedio		4	6	10
5	CZ001	C1	10	15	25
		C2	2	6	8
		C3	1	9	10
		C4	4	9	13
		C5	4	6	10
		C6	4	7	11
	Promedio		4	9	13
6	MSG001	C1	27	25	52
		C2	36	30	66
		C3	30	23	53
		C4	38	39	77

		C5	39	22	61
		C6	14	18	32
		Promedio	31	26	57
7	DM00	C1	4	4	8
		C2	11	13	24
		C3	-	13	13
		C4	15	3	18
		C5	8	16	24
		C6	9	15	24
		Promedio	8	11	19
8	EUI	C1	4	8	12
		C2	7	15	22
		C3	1	6	7
		C4	4	7	11
		C5	2	3	5
		C6	2	12	14
		Promedio	3	9	12
9	EUR	C1	2	9	11
		C2	10	12	17
		C3	5	7	22
		C4	-	17	12
		C5	-	3	3
		C6	1	10	11
		Promedio	3	10	13
	PROMEDIO TOTAL	11	13	24	
	SUMA	583	686	1269	
	%	45,94	54,06	100	

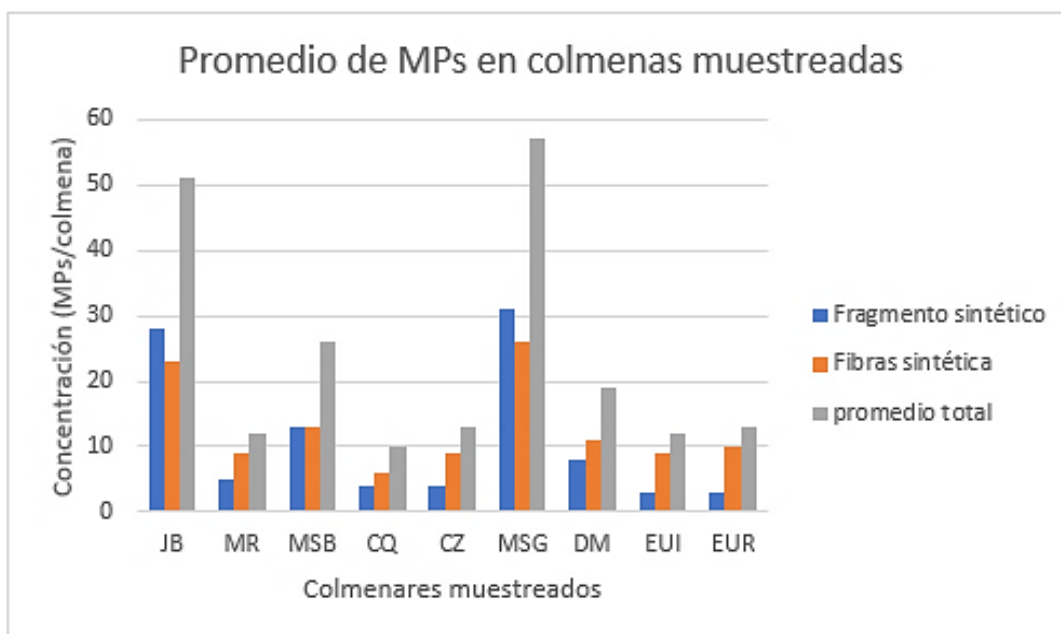
Fuente: Autor, 2022

Con respecto a la tabla 5, se visualiza 1269 partículas poliméricas observadas en total del área de estudio, de las cuales 583 son fragmentos y 686 son fibras. El promedio total de MPs por colmena es de 24 MPs/colmena. El colmenar que reporta mayor promedio de MPs en sus colmenas es 57MPs/colmena, correspondiente al colmenar MSG001 y el colmenar con menor valor corresponde a 10 MPs/colmena y está reportado en el colmenar CQ001.

En la figura 9, se representa el promedio de MPs encontrado en las colmenas estudiadas por granja apícola participante de esta presente investigación, en la cual nos da los promedios de fragmentos, fibras sintéticas y su concentración total; siendo el

colmenar con código JB Y MSG con mayor MPs identificados y con promedio bajo es el colmenar con el código CQ.

Figura 9. Promedio de micro plásticos en forma de fibra y fragmento observados durante el muestreo



Fuente: Autor, 2022

Por otra parte, se puede indicar que el rango mínimo y máximo de los diámetros registrados del fragmento sintético es desde $5.63 \mu\text{m} \pm 1834.69 \mu\text{m}$ y para el caso de la fibra sintética va desde $6.65 \mu\text{m} \pm 4980.57 \mu\text{m}$ (mínimo y máximo) en cuanto a su rango de longitud, obsérvese en la tabla 6.

Tabla 6. Rangos de tamaño de fragmentos y fibras observadas en cada muestra recolectada de colmenas, ubicadas en diferentes sitios de zona periurbano de Gualaceo.

N° Localidad	Colmenar	N° de colmena	Fragmentos		Fibras	
			Diámetro (μm)		Longitud (μm)	
			Min	Max	Min	Max
1	JB001	C1	17,2	196,31	49,31	3692,80
		C2	8,2	197,33	119,06	2035,04
		C3	15,3	208,64	65,27	1867,28
		C4	18,16	146,67	23,15	2216,14
		C5	15,4	250,88	21,54	2566,62

		C6	17,08	66,27	20,22	746,92
2	MR001	C1			80,39	1999,74
		C2			235,37	1073,24
		C3	31,42	158,05	92,11	885,30
		C4	43,44	226,55	68,54	948,70
		C5	23,7	83	248,87	1981,73
		C6	25,36	505,09	49,16	412,49
		3	MSB001	C1	20,15	141,85
C2	20,64			122,95	73,02	1823,42
C3	29,4			1834,69	41,66	4980,57
C4	5,72			69,08	54,85	1341,21
C5	20,18			23,59	93,89	830,64
C6	15,49			15,49	249,06	736,27
4	CQ001			C1	25,31	96,63
		C2	33,23	177,57	119,77	2184,23
		C3	20,38	127,79	26,57	1479,72
		C4	40,88	62,17	48,13	505
		C5	5,66	5,66	28,52	373,33
		C6			120,04	453,54
		5	CZ001	C1	9,34	23,95
C2	11,49			27,04	20,37	289,31
C3	24,09			28,52	44,4	1336,36
C4	18,59			54,32	32	719,88
C5	5,72			5,72	86,88	1043,83
C6	23,53			33,27	75,67	1480,72
6	MSG001			C1	11,38	37,25
		C2	14,08	187,84	30,4	3998,01
		C3	8,98	137,77	14,72	3360,5
		C4	8,98	187,29	15,01	3534,7
		C5	8,98	128,17	21,96	1598,59
		C6	5,63	73,87	32,01	627,45
		7	DM001	C1	22,38	43,07
C2	31,12			53,63	72,12	3094,08
C3					30,38	827,32
C4	6,54			46,89	39,64	308,35
C5	6,55			83,85	36,16	1025,69
C6	5,63			58,43	32,01	627,45
8	EUI001			C1	15,96	50,24
		C2	24,87	114,13	32,63	560,58
		C3	24,74	24,74	56,98	501,29
		C4	7,88	15,3	82,78	658,02
		C5	14,49	51,5	18,88	251,15
		C6	11,92	15,42	10,08	1041,94
		9	EUR002	C1	12,25	12,59
C2	39,41			112,62	16,62	3236,75

	C3	23,76	196,08	71,64	3060,37
	C4	46,08	1214,96	168,87	1902,26
	C5			6,65	1458,47
	C6	40,31	40,31	24,52	1834,76
	Rango	5,63	1834,69	6,65	4980,57

Nota: El signo guion (-) indica que no se ha observado ningún material sintético micrométrico de interés.

Fuente: Autor, 2022

Continuando con el análisis, se procedió a evaluar la data de las muestras recolectadas de las nueve localidades donde se encuentran los colmenares estudiados (área periurbana de Gualaceo), representando las características principales de los datos mediante la estadística descriptiva obtenida de Excel. En la tabla 7, se encuentra los datos estadísticos de resumen calculados para cada colmenar. Por ejemplo, El colmenar CQ001 tiene una media de MPs más baja que las demás alcanzando 10,33 MPs y el colmenar que tiene la media más alta es MS002 con 56,5 MPs. En cuanto a la tendencia central del conjunto de datos de cada colmenar, se aprecia que los colmenares MR001, EUI001 y EUR001 presentan un valor similar equivalente a 11,5, mientras que el restante es diferente. Con respecto a la desviación estándar, se puede indicar que los valores obtenidos son mayores por lo que la dispersión es mayor. Además, en la tabla 7, puede referirse con respecto a la moda, que en los colmenares JB001, CZ001, DM001 y EUI001 presentan un valor que aparece con mayor frecuencia dentro del conjunto de datos correspondientes, en cambio en el restante no se dispone de una moda ya que no existe un dato con periodicidad.

Tabla 7. Estadística descriptiva numérica de las muestras por Apicultor participante de la zona periurbana de Gualaceo.

	JB00 1	MR00 1	MS00 1	CQ00 1	CZ00 1	MS00 2	DM00 1	EUI00 1	EUR00 2
<i>Media</i>	51,2	11,8	30,5	10,3	12,8	56,8	18,5	11,8	12,7
<i>Error típico</i>	7,5	2,3	8,7	2,8	2,5	6,2	2,8	2,4	2,6
<i>Mediana</i>	50,0	11,5	30,5	7,5	10,5	57,0	21,0	11,5	11,5
<i>Moda</i>	50,0	#N/D	#N/D	#N/D	10,0	#N/D	24,0	#N/D	11,0
<i>Desviación estándar</i>	18,3	5,7	21,2	6,9	6,2	15,3	6,8	6,0	6,4

<i>Varianza de la muestra</i>	333,8	33,0	449,1	48,3	38,2	232,6	46,3	35,8	41,1
<i>Curtosis</i>	-0,2	0,1	-1,4	-1,6	4,6	0,9	-1,1	1,1	0,7
<i>Coefficiente de asimetría</i>	0,2	0,6	0,2	0,7	2,1	-0,5	-0,8	0,9	0,0
<i>Rango</i>	52	16	54	17	17	45	16	17	19
<i>Mínimo</i>	26	5	6	3	8	32	8	5	3
<i>Máximo</i>	78	21	60	20	25	77	24	22	22
<i>Suma</i>	307	71	183	62	77	341	111	71	76
<i>Cuenta</i>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Nivel de confianza (95%)</i>	19,2	6,0	22,2	7,3	6,5	16,0	7,1	6,3	6,7

Fuente: Autor, 2022

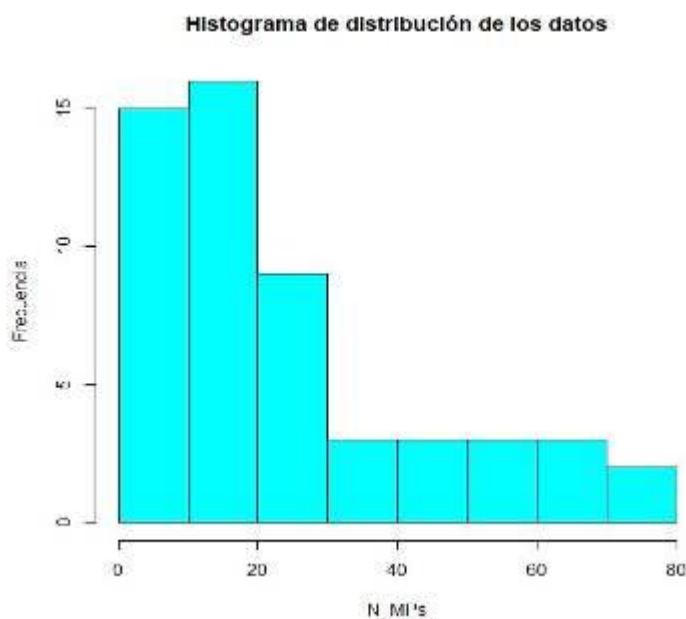
5.1.4 PRUEBA DE NORMALIDAD

Con la finalidad de determinar la normalidad de los datos y así establecer cómo se distribuyen los datos en la población estudiada, se diseña la siguiente hipótesis:

- Hipótesis Nulo (H0) = Los datos tienen una distribución normal
- Hipótesis Alternativa (H1) = Los datos no tienen una distribución normal;

Estableciendo un valor de 0,05 al nivel de significancia y de acuerdo a los resultados se procede a aceptar o rechazar la hipótesis propuesta.

Previo a realizar la prueba de normalidad se realiza una observación mediante un histograma para ver el comportamiento de los datos en cuanto a la distribución, el mismo que indica que no presenta una distribución normal a simple vista. Figura 10.

Figura 10. Histograma de la distribución de los datos

Fuente: Autor, 2022

Luego de ello, se procede a aplicar la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk porque el tamaño de la muestra es pequeño (< 50), dando como resultado un valor de p de $1,985e-06$ (0.000001985) y siendo este valor menor al valor de α que es 0.05 , se procede a rechazar la H_0 o nula y se acepta la H_1 o alternativa la cual indica que los datos no tienen una distribución normal. En la tabla 8 se visualiza los resultados obtenidos de la aplicación del test de Shapiro-Wilk para evidenciar la normalidad de los datos.

Tabla 8. Test de normalidad, Shapiro-Wilk

Shapiro-Wilk normality test			
	Estadístico	p-valor	Alpha
W	0,82767	1,985e-06	0.05

Fuente: Autor, 2022

Al determinar la no normalidad de los datos en cuanto a su distribución, como siguiente paso al establecer que los datos no son normales y al no poder aplicar el análisis de varianza, se procede en este caso; desarrollar pruebas no paramétricas.

5.1.5 PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS

De acuerdo a las condiciones y características de los datos y del análisis de normalidad se aplica la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis que contrasta si los diferentes conjuntos de datos provienen de una misma población, prueba que es equivalente al test de ANOVA. Ante lo mencionado se procede al planteamiento de hipótesis con un grado de significancia de 0,05.

- H0: Todas las medianas son iguales de la población estudiada.
- H1: Al menos una de las medianas difiere de la población en estudio

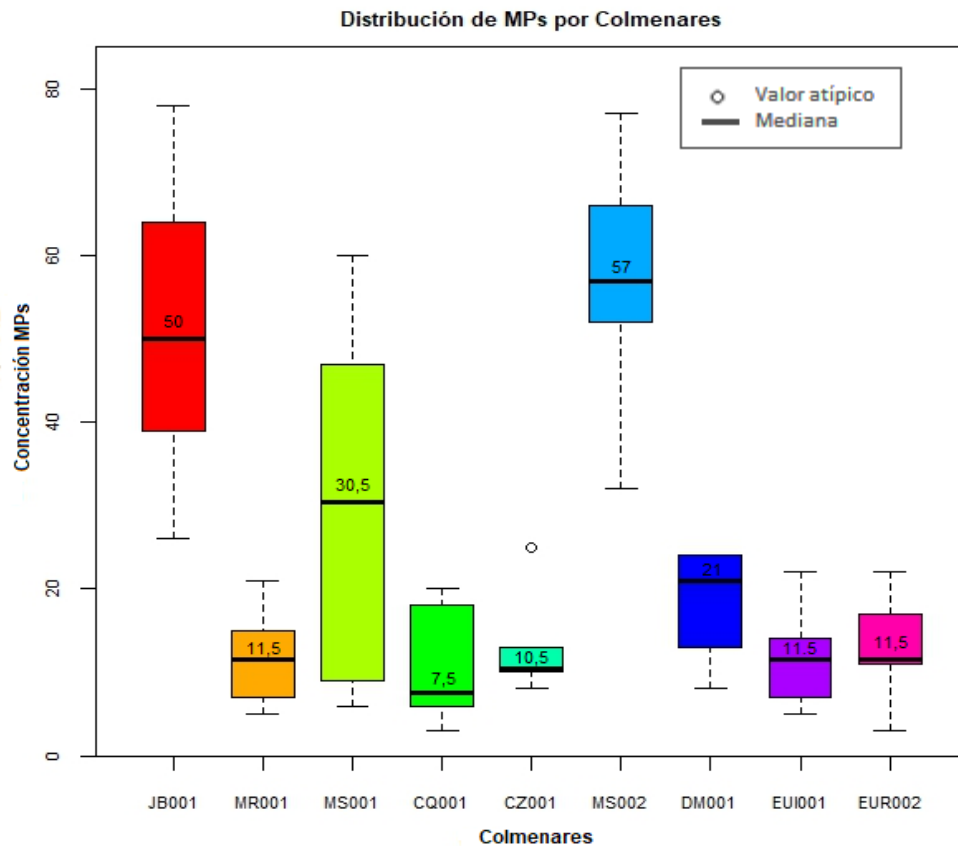
Tabla 9. *Análisis de varianza no paramétrica, Prueba de Kruskal-Wallis*

Kruskal-Wallis		
prueba de suma de rangos		
X²	Df	Valor-p
30.74	8	0.0001563

Fuente: Autor, 2022.

Luego de realizar el respectivo computo en el programa Rstudio mediante el comando `kruskal.test`, se consigue el valor de p o valor crítico que corresponde a 0,0001563 siendo < a 0,05 valor de alpha, por lo que se admite la hipótesis alternativa (H1), es decir, se descarta que la concentración de MPs en las muestras de las localidades analizadas sean equidistantes y por tanto se demuestra que no pertenecen a una misma población; en cambio en siete grupos son significativamente diferentes de entre los comparados como se expresa en la tabla 9 y figura 6. Sin embargo, como este test no indica cuales son; se ejecuta el método de comparación Post-Hoc para saber que grupos difieren.

Figura 11. Diagrama de caja y bigotes de la prueba de Kruskal-Wallis para las muestras independientes.



Fuente: Autor, 2022.

Como se puede valorar en la figura 6, el diagrama de caja y bigotes permite mostrar un resumen del conjunto de datos numéricos gráficamente; conociendo así que la distribución de los datos es asimétrica por ende tienen una mayor dispersión de datos. El valor de la mediana se desplaza hacia el límite inferior para con casi todos los casos excepto para JB001, MS002, DM001 y EUR002. A más de ello se visualiza que los valores de JB001, MS002, presentan la mayor concentración de partículas por muestra cuya mediana es de 50 y 57 respectivamente, mientras que el colmenar que tiene una mediana inferior a todas es el CZ001 con un valor de 7,5 partículas. Se puede observar que presenta un valor atípico en el sector CZ001 sobre el cuartil superior.

5.1.1 PRUEBA DE CORRELACIÓN ENTRE DOS VARIABLES (CANTIDAD DE MPs/DISTANCIA AL CENTRO URBANO DEL CANTÓN GUALACEO)

Finalmente, y dado que el planteamiento de la presente investigación a más de descriptivo es correlacional, pues pretende demostrar si existe una relación entre la distancia del centro urbano Gualaceo y la cantidad de microplásticos provenientes de los cuerpos de abejas (*Apis mellifera*) de colmenares ubicados en la zona periurbana del cantón Gualaceo; se procede a la prueba de correlación entre las dos variables.

Una vez establecido la ausencia de normalidad de las variables independientes (MPs y distancia a los centros urbanos) se procede a aplicar la prueba de correlación de Spearman (ρ), con la finalidad de medir la fuerza y dirección de asociación entre dos variables, en este caso microplásticos y la distancia (Km) al centro urbano; con el siguiente planeamiento de la hipótesis de correlación:

- Ho: No existe correlación entre las variables X y Y (MPs&distancia)
- H1: Existe correlación entre las variables X y Y (MPs&distancia)

Tabla 10. Prueba de correlación entre dos variables

Correlación de rango de Spearman rho	
Data: C_MPs and Distance	
S	p-valor
37533	0,001152

Hipótesis alternativa: verdadera rho no es igual a 0

Estimaciones de muestra:

rho: -0,4306333

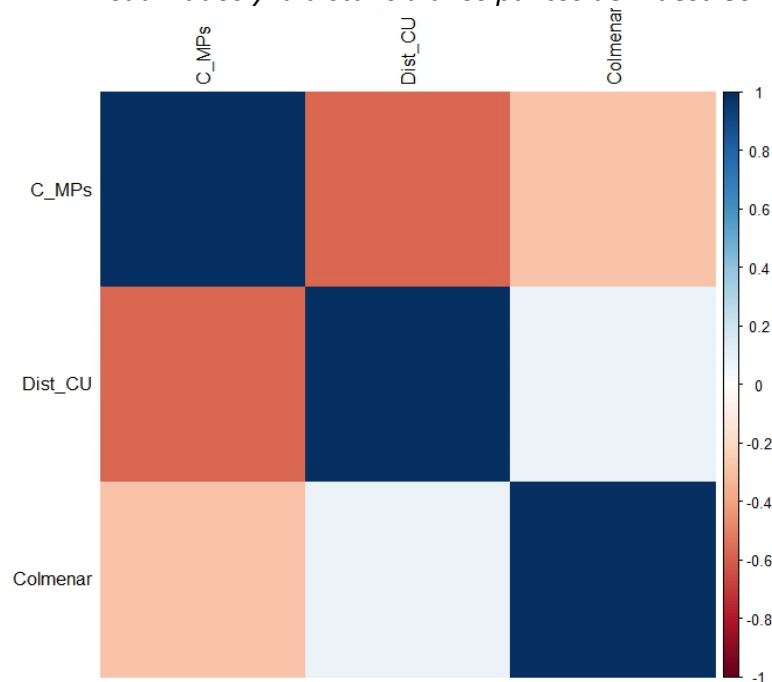
Fuente: Autor, 2022.

El criterio de decisión para aceptar o rechazar la Ho o H1 se considera que si p-valor es $< 0,05$ se rechaza la H0, caso contrario si p-valor es $\geq 0,05$ se acepta la H0 y se rechaza la H1. Por lo tanto, ante los resultados obtenidos en la tabla 10, según el criterio

de decisión; se rechaza la H_0 ya que el p-valor alcanza un valor de 0,001; lo que indica que existe relación entre las dos variables analizadas. Seguido de ello, se analiza si hay relación o asociación entre ambas variables a partir del valor rho calculado que equivale a $-0,43$; valor que indica que existe una correlación de intensidad moderada entre las dos variables (MPs & distancia) y que tiene una dirección negativa, es decir inversa. El coeficiente de correlación está comprendido entre -1 y 1 ; que cuando se acerca a -1 y a 1 existe una correlación.

En la figura 8, la matriz de correlación, visualiza que relación es moderada ya que la coloración (rosado) está entre -0.4 a -0.6 , lo que indica ser negativo, por tanto es inversamente proporcional en cuanto a su direccionamiento, siendo que a más distancia menor cantidad de MPs presentes.

Figura 12. Representación gráfica de la correlación entre la cantidad de MPs visualizados y la distancia a los puntos de muestreo.



Fuente: Autor, 2022.

5.2 DISCUSIÓN

De entre los 1269 fragmentos y fibras que se identificaron en primera instancia por su apariencia y por fluorescencia, se descartaron falsos positivos, que pudieron interferir en la estimación real; tal como refiere el estudio de Nalbone et al., (2021) que señala que se vuelve complejo la identificación de micropartículas plásticas en cuanto disminuye el tamaño de las partículas; circunstancia a la que por mayor seguridad y certeza en la lectura se plantea determinar que esta causal pueden interferir en los resultados; sumado a probables fallas en los equipos o incluso por contaminación. Adicionalmente y en otro aspecto, durante la aplicación de fluorescencia se encontró que algunas fibras de coloración oscuras no emitían luminiscencia, como otras que sí; como lo afirma Stanton et al., (2019) en su estudio donde señala que todos los fragmentos sintéticos de plástico (micro plásticos) de color blanco y transparente se tiñeron totalmente con rojo Nilo y los micro plásticos de colores no tuvieron el mismo efecto; lo que puede significar que ante una tinción desigual o incompleta no permitió determinar algunos, disminuyendo el conteo final de los MPs.

Respecto a la tinción de rojo Nilo se confirmó que es un colorante válido en estas investigaciones, que a pesar, que puede generar sobreestimaciones en cuanto a la cuantificación de micro plásticos, es una técnica accesible, rápida y que facilita diferenciar los MPs de otras partículas, tal como se insinúa en el estudio de Stanton et al., (2019). Sin embargo de ello, según los estudios de Maes et al., (2017) y Shruti, Fermín, et al., (2022) indican que al aplicar el tinte para micro plásticos tiene mayor eficiencia, exactitud para identificar y cuantificar micropartículas.

Entre las micropartículas encontradas en todas las muestras, se destacaron fibras y fragmentos irregulares, quienes fueron priorizados dado el objeto del presente estudio. Similar apreciaciones existen en los estudios de Edo et al., (2021) y Deng et al., (2021), no obstante también identificaron, pero en menor cantidad filamentos y películas.

En cuanto a la abundancia de estos MPs se encontró que de todas las partículas registradas solo el 54,06% es fibra y 45,94% corresponde a fragmentos. Mientras que,

en el estudio de Edo et al., (2021) se muestra que la abundancia mayoritariamente predomina los fragmentos (52%) que las fibras (38%), relación que no se asemeja posiblemente debido a que la toma de muestra es diferente o por otros factores externos que podrían haber intervenir en la muestra. Sin embargo, se confirma la presencia de MPs en sus diferentes formas. Otros estudios corroboran que las fibras son superiores que los fragmentos es el caso de Oliveira et al., (2019), así como también está el caso de González-Pleiter et al., (2020) que en su estudio demuestra que los fragmentos plásticos en la atmósfera son menores que las fibras y que se pueden transportar a grandes distancias por acción del viento.

La dimensión considerada para la determinación de las partículas como micro plásticos fue dada por un rango que va de $1\mu\text{m}$ a 5mm , tanto para fibras como para fragmentos; rango que también indica Frias & Nash, (2019) y Castañeta et al., (2020) en sus respectivos estudios. De acuerdo a ello, las fibras encontradas alcanzaron longitudes que van desde $6.65\ \mu\text{m} \pm 4980.57\ \mu\text{m}$ y para los fragmentos presentan un rango de diámetro que va de $5.63\ \mu\text{m} \pm 1834.69\ \mu\text{m}$ en el presente estudio. Edo et al., (2021) en su investigación encontró fragmentos con un diámetro que va $64 \pm 39\ \mu\text{m}$ y para fibras corresponde a un rango de $234 \pm 156\ \mu\text{m}$ de longitud. Esta diferencia podría depender del lugar de la toma de la muestra; debido a que en el presente estudio se lo realizado desde la piquera a diferencia de las muestras tomas en la investigación por Edo et al.

Los polímeros sintéticos encontrados e identificados por su composición fueron: Poliamidas (PA), Polietileno (PE), Polietileno Propileno Dieno (EPDM), Politetrafluoroetileno (PTFE), Policarbonato (PC), y Tereftalato de polietileno (PET), entre otros. Similar a lo que revela el estudio de Deng et al., (2021) realizado en las abejas recolectadas en campo, que mostraron la presencia de policarbonato (PC), tereftalato de polietileno (PE), poliestireno (PS). Mientras que, en los estudios de Edo et al., (2021) adicionalmente encontraron partículas plásticas como Poliéster (PS), cloruro de polivinilo (PVC), poliuretano (PU), resina epoxi, acetato de polivinilo (PVAc), polipropileno (PP). Similar resultado se obtuvo en estudios de la miel de abeja realizado por Diaz-Basantes et al., (2020); aunque se señalan otros plásticos como polietileno de

baja y poliacrilamina. Diferencias estas que dependerían al parecer del tipo de plásticos usados y desechados en el área escogida para estudio.

El método utilizado es descriptivo correlacional (no causal), con un enfoque deductivo que permitió llegar a las conclusiones generales desde la observación individuales y particulares. Tal como, la metodología usada por Edo et que procedió con la determinación de MPs mediante MicroFTIR, diferenciándose en la técnica usada en esta investigación, en la que se aplicó tinción con rojo Nilo y FTIR. Ambas metodologías permitieron encontrar y corroborar resultados similares, lo cual le da un valor reconocido científicamente.

Las hipótesis planeadas fueron Ho: La cantidad MPs encontrado en las abejas analizadas no son inversamente proporcionales a la distancia de los centros urbanos, y Hi: A mayor distancia de centros urbanos menor cantidad de micro plásticos presentes en los cuerpos de las abejas (*Apis Melífera*) procedentes de las colmenas de los apicultores localizados en la zona periurbana del cantón Gualaceo en el año 2022. La hipótesis alternativa (Hi) fue validada en su totalidad dado que se pudo demostrar que existe relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de micro plásticos presentes en abejas de los colmenares seleccionados; planteando inicialmente que la presencia de micro plásticos, en cuanto a cantidad, encontrados en los cuerpos de las abejas es inversamente proporcional a la distancia de los centros urbanos.

El análisis estadístico aplicado estableció la existencia de relación entre la distancia de centros urbanos y la cantidad de micro plásticos provenientes de los cuerpos de abejas (*Apis mellifera*) de las colmenas muestreadas ubicadas en la zona periurbana del cantón Gualaceo. Esta relación se expresa inversamente proporcional, lo que valida la pregunta central aun cuando estadísticamente tenga valor moderado. Es importante recalcar tal como cita Edo et al., (2021) que estos resultados pueden también cambiar dado que existen partículas que pueden ser trasladadas por el viento sin mediar distancias a los sitios que existen fuentes de contaminación. Adicionalmente y por haber evidenciado en campo, desechos plásticos cercanos a las colmenas, puede reforzar la duda de que no toda la contaminación de micro plásticos en las colmenas, provienen de los cuerpos de las abejas.

6 CONCLUSIONES

El trabajo de investigación realizado; sumado a múltiples estudios sobre la temática; comprueba que la polución por MPs es real e impactante, evidencia el peligro creciente hacia los ecosistemas y a quienes en él interactuamos; es un aporte científico que intenta llamar la mayor atención, tanto a la sociedad civil, cuanto instituciones y organismos públicos, de manera que se despierte el debate y genera mayor participación; así como, desde una perspectiva de política pública se defina y destine mayor inversión tanto para facilitar estudios complementarios, como para ejecutar acciones encaminadas a disminuir los impactos que van en contra de la sostenibilidad.

Al comprobar que la dimensión de la contaminación, alcanza incluso entornos impensables como el de las colmenas de las abejas melíferas, tal como se evidencio en este estudio se puede inferir lo importante que resulta haber encontrado MPs, aplicando metodologías científicas y validadas por la academia; la presencia de MPs en los cuerpos de las abejas de los colmenares estudiados, induce a pensar que es una problemática con alcance global.

Las fibras y fragmentos de MPs encontrados en todos los colmenares muestreados, de diferentes lugares de la zona mencionada en Gualaceo; están caracterizadas por rangos científicamente reconocidos, tales como los rangos de diámetro de fragmentos sintético registrados va desde $5.63 \mu\text{m} \pm 1834.69 \mu\text{m}$ y para el caso de la fibra, la longitud que presentan un rango que va desde $6.65 \mu\text{m} \pm 4980.57 \mu\text{m}$ (mínimo y máximo); hallazgos que son una evidencia de la contaminación por plásticos que existe en el cantón Gualaceo, cuya realidad aun no es reconocida ni valorada suficientemente en la perspectiva de despertar una conciencia ambiental amigable, como tampoco en la necesidad de acordar acciones de mitigación y prevención de daños mayores.

A pesar de que solamente el 39.87% de las micropartículas registradas a partir de la visualización por fluorescencia se comprobó que eran micro plásticos por

espectroscopia FTIR, el cual a la vez permitió identificar qué tipo plásticos son, sin que signifique una sobreestimación, le otorga validez a esta técnica analítica, y por tanto puede ser aplicadas en otros procedimientos, por cuanto la tinción RN incorporada antes de la filtración, agiliza la consecución de datos para el posterior análisis estadístico.

Al analizar la composición de tipo de plásticos que se identificaron en las muestras, se encontró hubo mayor presencia de: poli(4-metilcaprolactama), Poliamida-nylon 12, Polietileno (PE), Polietileno Propileno Dieno (EPDM), Politetrafluoroetileno (PTFE), Poliamida 8 (PA), policarbonato (PC), Tereftalato de polietileno (PET); materiales cuyas aplicaciones son múltiples en la industria plástica y textil.

En cuanto a la dispersión de la distribución de los datos, medida por la desviación estándar, la misma que se acerca a cero y por ende está más cerca a la media; se puede afirmar que los valores de desviación estándar establecidos en el análisis descriptivo son lejanos a la media, encontrándose que, con mayor desviación estándar el colmenar MS001 con 21,2, lo que indica que los datos se extienden lejos de la media, en cambio el de menor desviación estándar que los demás es el colmenar MR001 con 5,7.

La distribución de los datos es asimétrica, porque los valores de media y la mediana presentan variabilidad, en donde las medias son mayores a las medianas; lo que indica además que la distribución está sesgada hacia la derecha. Sin embargo, el conjunto de datos de MS001 revela el mismo valor para la media y la mediana, correspondiente a 30,5 partículas.

Basados en la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, se infiere que la mayoría de las medianas son diversas, excepto tres que coinciden en su valor, siendo este 11,5 MPs por colmenar (MR001, EUI001 y EUR002), lo que se acepta como válido, que al menos una mediana es diferente del resto de la población.

La hipótesis alternativa (H_i) planteada, que menciona que la relación entre la distancia a centros poblados y la cantidad de MPs es inversamente proporcional; bajo un análisis estadístico riguroso del conjunto de datos, validados con la aplicación de la metodología y técnica aplicada se confirma positivamente; debido a que el colmenar CQ tiene menor cantidad de partículas y la distancia es mayor al centro urbano, mientras

que las colmenas de MS002 presenta mayor cantidad de partículas y su distancia es menor a la zona urbana de Gualaceo.

Con la aplicación de la metodología y riguroso análisis estadístico de los datos, la hipótesis alternativa o H1; se confirma positivamente señalando que - A mayor distancia de centros urbanos menor cantidad de micro plásticos presentes en los cuerpos de las abejas (*Apis mellifera*) procedentes de las colmenas de los apicultores localizados en la zona periurbana del cantón Gualaceo en el año 2022.

La información básica de los 9 colmenares que están dentro de la zona periurbana del cantón Gualaceo, fue posible gracias a la colaboración de sus propietarios, a su interés por aportar y participar en la investigación; otros colmenares no se pudo tener acceso por recelo o desinterés de sus apicultores.

7 REFERENCIAS

- Álvarez, M. D., Molina, M. J., & Recalde, G. A. (2021). Contaminantes emergentes en aguas y remediación de suelos con nanopartículas. *Alianzas y Tendencias BUAP*, 6(24), 50–74. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5594782>
- Amato-lourenço, L. F., Galvão, S., Weger, L. A. De, Hiemstra, P. S., Vijver, M. G., & Mauad, T. (2020). Science of the Total Environment An emerging class of air pollutants : Potential effects of microplastics to respiratory human health ? *Science of the Total Environment*, 749, 141676. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141676>
- Andriani, D., Yuthi Apriana, A., Srikandace, Y., Ratnaningrum, D., & Sri Endah, E. (2022). Polypropylene film and beads biodegradation by *Lysinibacillus macroides* isolated from coastal area of Muara Angke in Jakarta-Indonesia. *Earth and Environmental Science*, 1–11. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1017/1/012019>
- Anze, R., Franken, M., Zaballa, M., Pinto, M. R., Zeballos, G., Cuadros, M. D. L. Á., Canseco, Á., Rocha, A. De, Estellano, V. H., & Granada, S. Del. (2007). Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia. *Revista Virtual REDESMA*, 53–74.
- Arandes, J. M., Bilbao, J., & Valerio, D. L. (2004). RECICLADO DE RESIDUOS PLÁSTICOS LOS RESIDUOS PLÁSTICOS. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 1–18.
- Bargańska, Z., Ćlebioda, M., & Namieśnik, J. (2016). Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(3), 235–248. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1078220>
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Bucci, K., Tulio, M., & Rochman, C. M. (2020). What is known and unknown about the effects of plastic pollution: A meta-analysis and systematic review. *Ecological*

- Applications*, 30(2), 1–16. <https://doi.org/10.1002/eap.2044>
- Cabrero-Sañudo, F. J., Cañizares García, R., Caro-Miralles, E., Gil-Tapetado, D., Grzechnik, S., & López-Collar, D. (2022). Seguimiento de artrópodos bioindicadores en áreas urbanas: objetivos, experiencias y perspectivas. *Ecosistemas*, 31(1), 2340. <https://doi.org/10.7818/ecos.2340>
- Capparelli, M. V., Molinero, J., Moulatlet, G. M., Barrado, M., Prado-Alcívar, S., Cabrera, M., Gimiliani, G., Ñacato, C., Pinos-Velez, V., & Cipriani-Avila, I. (2021). Microplastics in rivers and coastal waters of the province of Esmeraldas, Ecuador. *Marine Pollution Bulletin*, 173(October). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113067>
- Castañeta, G., Gutiérrez, A. F., Nacaratte, F., & Manzano, , Carlos A. (2020). Microplastics: a Contaminant That Grows in All Environmental Areas, Its Characteristics and Possible Risks To Public Health From Exposure. *Revista Boliviana de Química*, 37(3), 1–17. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.37.3.4>
- Castro-García, S., Barrera-Leiva, A. M., González-Evaristo, A. M., Pinot-Gómez, A. L., Vargas-Chan, J. R., Sierra-Lemus, I., & Huchin-Mian, J. P. (2021). Contaminación por microplásticos en ecosistemas acuáticos. *XXVI Verano de la Ciencia*, 10, 1–9.
- Costa Redondo, L. C., Vasco Echeverri, Ó., & Galindo Montero, A. (2022). *Una mirada hacia los contaminantes emergentes “microplásticos” en Colombia*. 1–9. <https://doi.org/10.26507/paper.2509>
- Cunningham, M. M., Tran, L., McKee, C. G., Ortega Polo, R., Newman, T., Lansing, L., Griffiths, J. S., Bilodeau, G. J., Rott, M., & Marta Guarna, M. (2022). Honey bees as biomonitors of environmental contaminants, pathogens, and climate change. *Ecological Indicators*, 134, 108457. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108457>
- da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. A. P. (2017). Microplastics – Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment. En *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 75). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.004>
- Dantán González, E., & Salgado-Morales, R. (2021). El Hologenoma, una herramienta para el estudio de los problemas ambientales ocasionados por xenobióticos. *Revista del Centro de Investigación de la Universidad la Salle*, 14(56), 17–36. <https://doi.org/10.26457/recein.v14i56.2862>

- De-La-Torre, G. E. (2019). Microplásticos en el medio marino: una problemática que abordar. *Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA*, 15(4), 27–37.
- de Souza, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2017). Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 24(4), 1405–1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>
- Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., & Paul-Pont, I. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>
- Dekiff, J. H., Remy, D., Klasmeier, J., & Fries, E. (2014). Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environmental Pollution*, 186, 248–256. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2013.11.019>
- Deng, Y., Jiang, X., Zhao, H., Yang, S., Gao, J., Wu, Y., Diao, Q., & Hou, C. (2021). Microplastic Polystyrene Ingestion Promotes the Susceptibility of Honeybee to Viral Infection. *Environmental Science and Technology*, 55(17), 11680–11692. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c01619>
- Diaz-Basantes, M. F., Conesa, J. A., & Fullana, A. (2020). Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants. *Sustainability (Switzerland)*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/SU12145514>
- Dowarah, K., Zakiahmed, S., & Devipriya, S. P. (2020). Jo ur na l P. *ECSN*, 128757. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128757>
- Drzyzga, O., & Prieto, A. (2019). Plastic waste management, a matter for the ‘community’. *Microbial Biotechnology*, 12(1), 66. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13328>
- Edo, C., Fernández-Alba, A. R., Vejsnæs, F., van der Steen, J. J. M., Fernández-Piñas, F., & Rosal, R. (2021). Honeybees as active samplers for microplastics. *Science of the Total Environment*, 767, 144481. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144481>
- Espinar, S. O. (2021). *PRESENCIA Y EVOLUCIÓN DE MICROPLÁSTICOS EN ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES DE LA REGIÓN DE MURCIA: PROPUESTA DE LAS MEJORES TECNOLOGÍAS DISPONIBLES PARA UNA EMISIÓN CERO*. Universidad Politécnica de Cartagena.

- Fazenda, A. J., & Tavares-Russo, M. A. (2016). Caracterización de residuos sólidos urbanos en Sumbe: herramienta para gestión de residuos. *Ciencias Holguín*, 22, 1–15.
- Fisher Scientific, T. (s. f.). *Guide to the identification of microplastics by FTIR and Raman spectroscopy*.
- Frias, J. P. G. L., & Nash, R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138(November 2018), 145–147.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022>
- Giménez Segovia, E. (1989). Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier. *Química e industria: Qel*, ISSN 0033-6521, N°. 7-8, 1989, págs. 689-696, 7, 689–696.
- González-Pleiter, M., Edo, C., Aguilera, Á., Viúdez-Moreiras, D., Pulido-Reyes, G., González-Toril, E., Osuna, S., de Diego-Castilla, G., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., & Rosal, R. (2021). Occurrence and transport of microplastics sampled within and above the planetary boundary layer. En *Science of the Total Environment* (Vol. 761). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143213>
- Goretti, E., Pallottini, M., Rossi, R., La Porta, G., Gardi, T., Cenci Goga, B. T., Elia, A. C., Galletti, M., Moroni, B., Petroselli, C., Selvaggi, R., & Cappelletti, D. (2020). Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. *Environmental Pollution*, 256, 113388. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113388>
- Greenleaf, S. S., Williams, N. M., Winfree, R., & Kremen, C. (2007). Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia*, 153(3), 589–596.
<https://doi.org/10.1007/s00442-007-0752-9>
- Leslie, H. A., van Velzen, M. J. M., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International*, 163(December 2021), 107199.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
- Lusher, A., Hollman, P., & Mendoza, J. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. En *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 615. <https://doi.org/978-92-5-109882-0>

- Lusher, A. L., Welden, N. A., Sobral, P., & Cole, M. (2017). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9(9), 1346–1360. <https://doi.org/10.1039/c6ay02415g>
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. G. (2017). A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7(February), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep44501>
- Mata-Miranda, M. M., Guerrero-Robles, C. I., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. J., González-Díaz, C. A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-Ishiwara, D. G., & Vázquez-Zapién, G. J. (2017). Componentes Principales mediante Espectroscopia FTIR como Técnica de Caracterización Innovadora durante la Diferenciación de Células Madre Pluripotentes a Células Pancreáticas. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomedica*, 38(1), 225–234. <https://doi.org/10.17488/RMIB.38.1.17>
- Molina-Castro, R. E., Gómez-Ronquillo, W. J., & De La Cruz-Lozano, J. (2021). 2021-Dialnet-ContaminacionMarinaPorDesechosPlasticosEnPaisesDel-8016951 (2). *Polo del Conocimiento*, 6(5), 458–478. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i5.2671>
- Mourshed, M., Hasan Masud, M., Rashid, F., & Uzzal Hossain, J. M. (2017). Towards the effective plastic waste management in Bangladesh: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 24:35, 24(35), 27021–27046. <https://doi.org/10.1007/S11356-017-0429-9>
- Naggar, Y. Al, Brinkmann, M., Sayes, C. M., Al-Kahtani, S. N., Dar, S. A., El-Seedi, H. R., Grünewald, B., & Giesy, J. P. (2021). Are honey bees at risk from microplastics? *Toxics*, 9(5), 1–8. <https://doi.org/10.3390/TOXICS9050109>
- Nalbone, L., Panebianco, A., Giarratana, F., & Russell, M. (2021). Nile Red staining for detecting microplastics in biota: Preliminary evidence. *Marine Pollution Bulletin*, 172(May), 112888. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112888>
- Nates-Parra, G. (2011). Genética del comportamiento: Abejas como modelo. *Acta Biologica Colombiana*, 16(3), 213–229.
- Oliveira, M., Ameixa, O. M. C. C., & Soares, A. M. V. M. (2019). Trends in Analytical Chemistry Are ecosystem services provided by insects “ bugged ” by micro (nano) plastics ? *Trends in Analytical Chemistry*, 113, 317–320. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.018>

- Ortega Ruiz, P. (2020). Detección de microplásticos en el agua de mar con espectroscopía Raman. *UCrea*, 1–25.
- Papa, G., Capitani, G., Capri, E., Pellecchia, M., & Negri, I. (2021). Science of the Total Environment Vehicle-derived ultra fine particulate contaminating bees and bee products. *Science of the Total Environment*, 750, 141700.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141700>
- Prata, J. C., Alves, J. R., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2020). Major factors influencing the quantification of Nile Red stained microplastics and improved automatic quantification (MP-VAT 2.0). *Science of the Total Environment*, 719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137498>
- Prata, J. C., Reis, V., Matos, J. T. V., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT). *Science of the Total Environment*, 690, 1277–1283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.060>
- Qiu, Q., Peng, J., Yu, X., Chen, F., Wang, J., & Dong, F. (2015). Occurrence of microplastics in the coastal marine environment: First observation on sediment of China. *Marine Pollution Bulletin*, 98(1–2), 274–280.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.028>
- Reyna, N. (2019). Uso de tejidos sintéticos en el fast fashion: percepciones del impacto medioambiental por micro plásticos en el agua. *Facultad de Ingeniería Universidad del Desarrollo*, 1–15.
[https://repositorio.udd.cl/bitstream/handle/11447/3662/Uso de tejidos sintéticos en el fast fashion%3A percepciones del impacto medioambiental por micro plásticos en el agua.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.udd.cl/bitstream/handle/11447/3662/Uso%20de%20tejidos%20sint%C3%A9ticos%20en%20el%20fast%20fashion%3A%20percepciones%20del%20impacto%20medioambiental%20por%20micro%20pl%C3%A1sticos%20en%20el%20agua.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. E. (2017). Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical Methods*, 9(9), 1384–1391.
<https://doi.org/10.1039/C6AY02558G>
- Shruti, V. C., Fermín, P., Roy, P. D., & Kutralam-muniasamy, G. (2022). *Analyzing microplastics with Nile Red : Emerging trends , challenges , and prospects*. 423(September 2021). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127171>
- Shruti, V. C., Roy, P. D., & Kutralam-muniasamy, G. (2022). *Revista de Materiales Peligrosos Análisis de microplásticos con Nile Red : Tendencias emergentes , retos*

y perspectivas. 423.

- Siddiqui, J., & Pandey, G. (2013). A Review of Plastic Waste Management Strategies. *Research Journal of Environment Sciences*, 2(12), 84–88.
- Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Rani, M., Lee, J., & Shim, W. J. (2015). A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin*, 93(1–2), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.01.015>
- Sridharan, S., Kumar, M., Singh, L., Bolan, N. S., & Saha, M. (2021). Microplastics as an emerging source of particulate air pollution : A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 418(March), 126245. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126245>
- Stanton, T., Johnson, M., Nathanail, P., Gomes, R. L., Needham, T., & Burson, A. (2019). Exploring the Efficacy of Nile Red in Microplastic Quantification: A Costaining Approach. *Environmental Science and Technology Letters*, 6(10), 606–611. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00499>
- ThermoFisher. (2018). Guide to the identification of microplastics by FTIR and Raman spectroscopy. *Thermoscientific*, 6.
- Torres, J., Gisela, Z., Aucahuasi, S., & Antonio, F. (2022). Técnicas de detección de microplásticos en peces: Revisión sistemática. En *Repositorio Institucional - UCV*. Universidad César Vallejo.
- Vásquez Arca, O. C. R., Mestanza Arca, B. S., & Alarcón Silva, R. E. (2015). Características morfo métricas, comportamiento higiénico y agresividad de abejas criollas *Apis mellifera* sp. *UCV Hacer*, 5(1), 16–23. <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-hacer/article/view/751>
- Wagner, J., Wang, Z. M., Ghosal, S., Rochman, C., Gassel, M., & Wall, S. (2017). Novel method for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices. *Analytical Methods*, 9(9), 1479–1490. <https://doi.org/10.1039/C6AY02396G>
- Waite, H. R., Donnelly, M. J., & Walters, L. J. (2018). Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. *Marine pollution bulletin*, 129(1), 179–185. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2018.02.026>

- Wang, K., Li, J., Zhao, L., Mu, X., Wang, C., Wang, M., Xue, X., Qi, S., & Wu, L. (2021). Gut microbiota protects honey bees (*Apis mellifera* L.) against polystyrene microplastics exposure risks. *Journal of Hazardous Materials*, 402(September 2020), 123828. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123828>
- Wang, W., & Wang, J. (2018). Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, 108, 195–202. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2018.08.026>
- Williams, A. T., & Rangel-Buitrago, N. (2022). The past, present, and future of plastic pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 176(February), 113429. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113429>
- Yooeun, C., & Youn Joo, A. (2018). Current research trends on plastic pollution and ecological impacts on the soil ecosystem: A review. *Environmental Pollution*, 240, 387–395. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.05.008>
- 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. *Environmental Pollution*, 219, 450–455. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2016.05.048>
- Zhang, Y., Kang, S., Allen, S., Allen, D., Gao, T., & Sillanpää, M. (2020). Atmospheric microplastics: A review on current status and perspectives. *Earth-Science Reviews*, 203(September 2019), 103118. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103118>
- Zhu, J., & Wang, C. (2020). Recent advances in the analysis methodologies for microplastics in aquatic organisms: current knowledge and research challenges. *Analytical Methods*, 12(23), 2944–2957. <https://doi.org/10.1039/D0AY00143K>