



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS Y PLOMO EN MUESTRAS
DE LECHE CRUDA**

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniero Biotecnólogo

AUTORES: FERNANDO SEBASTIÁN ORTEGA CORONEL

MARCELA CAROLINA SOLIS SIGUENCIA

TUTOR: ING. PABLO WILSON ARÉVALO MOSCOSO, PhD.

Cuenca - Ecuador

2023

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Fernando Sebastián Ortega Coronel con documento de identificación N° 0302925110 y Marcela Carolina Solis Siguencia con documento de identificación N° 0106449739; manifestamos que:

Somos autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 27 de septiembre del 2023

Atentamente,



Fernando Sebastián Ortega Coronel

0302925110



Marcela Carolina Solis Siguencia

0106449739

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Fernando Sebastián Ortega Coronel con documento de identificación N° 0302925110 y Marcela Carolina Solis Siguenca con documento de identificación N° 0106449739, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Determinación de la presencia de microplásticos y plomo en muestras de leche cruda”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero Biotecnólogo, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 27 de septiembre del 2023

Atentamente,



Fernando Sebastián Ortega Coronel

0302925110



Marcela Carolina Solis Siguenca

0106449739

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Pablo Wilson Arévalo Moscoso con documento de identificación N° 0102156957 docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS Y PLOMO EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA, realizado por Fernando Sebastián Ortega Coronel con documento de identificación N° 0302925110 y por Marcela Carolina Solis Sigüencia con documento de identificación N° 0106449739, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 27 de septiembre del 2023

Atentamente,



Ing. Pablo Wilson Arévalo Moscoso, PhD.

0102156957

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a dos seres extraordinarios que han sido mi mayor inspiración y motor en cada paso de mi vida: a mis queridos padres, Fausto Ortega y Nube Coronel. En cada desafío que enfrenté, ustedes estuvieron ahí para darme aliento y fortaleza. Su presencia ha sido un faro en mi camino, iluminando cada paso que he dado y mostrándome que, con esfuerzo y perseverancia, se pueden alcanzar los sueños más grandes. Rememorando siempre la sabia frase: "Recuerda que tu historia también es parte de la historia de otras personas", me doy cuenta de que su historia de sacrificio y amor ha dejado una huella imborrable en mi vida y en la vida de aquellos que me rodean. Por ello, el éxito de esta tesis no es solo mío, sino también de ustedes, quienes me han apoyado incondicionalmente en este viaje académico y me han enseñado el valor del esfuerzo y la dedicación.

Fernando Sebastián Ortega Coronel

DEDICATORIA

Hoy culmina un capítulo importante en mi camino académico y profesional, y quiero dedicar este trabajo de titulación a aquellos que me han brindado su apoyo incondicional y han sido mi fuente de inspiración a lo largo de esta travesía.

A mi familia, por ser mi pilar inquebrantable y creer en mí desde el principio. Gracias por su amor, paciencia y comprensión en cada momento de este arduo proceso.

A mis amigos, quienes han estado a mi lado en los momentos de estrés y cansancio, sacando sonrisas en los momentos difíciles y celebrando juntos cada pequeño avance en este camino académico.

A mis profesores y mentores, cuyo conocimiento, guía y sabias palabras han sido fundamentales para mi crecimiento intelectual y profesional. Agradezco la dedicación y la pasión con la que han compartido su sabiduría.

Agradezco también a cada uno de mis compañeros de estudio, con quienes compartí desafíos y aprendizajes, formando lazos que trascienden las aulas y que espero perduren en el tiempo.

Este trabajo de titulación no solo representa el fruto de mis esfuerzos individuales, sino el resultado del apoyo colectivo y del trabajo en equipo. Es una muestra del poder de la perseverancia, el compromiso y la pasión por aprender.

Con este logro, inicio un nuevo capítulo en mi vida, y sé que el aprendizaje no termina aquí. Continuaré creciendo, enfrentando nuevos retos y contribuyendo al conocimiento y al bienestar de nuestra sociedad.

Gracias a todos ustedes, porque esta dedicatoria es una expresión de gratitud, pero también un reconocimiento de que, sin su apoyo, esta meta habría sido mucho más difícil de alcanzar.

Con cariño y agradecimiento,

Marcela Carolina Solis Siguencia.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de corazón a mis padres, hermano y demás familiares por su incondicional apoyo. A la Universidad Politécnica Salesiana y la Carrera de Biotecnología, por brindarme una educación excepcional. Mi más profundo agradecimiento al Ing. Pablo Arévalo, Ph. D, por su guía y mentoría en la culminación de este trabajo. Y finalmente a mi compañera de tesis, encargados de laboratorio, docentes, amigos y compañeros, gracias por formar parte de mi historia y por ser parte esencial de este viaje inolvidable.

Fernando Sebastián Ortega Coronel

AGRADECIMIENTOS

Estimados docentes, con profundo agradecimiento y gratitud, deseo expresarles mi reconocimiento por el invaluable apoyo que han brindado a lo largo de esta etapa académica, la cual no habría sido posible sin su dedicación, sabiduría y orientación a lo largo del proceso. Su compromiso con la excelencia académica y su pasión por enseñar han dejado una huella indeleble en mi formación profesional. Gracias por ir más allá de su rol de docentes, por compartir su experiencia y conocimientos de manera generosa, y por motivarme a superar mis límites intelectuales. Sus valiosas críticas y sugerencias han sido fundamentales para mejorar mi trabajo y alcanzar nuevos niveles de excelencia.

Cada uno de ustedes ha dejado una marca significativa en mi vida, y llevaré conmigo sus enseñanzas a lo largo de mi carrera profesional. Sé que la dedicación y el cariño que han puesto en su labor como docentes han influenciado a muchos otros estudiantes, y su legado perdurará en las generaciones venideras.

Con sinceridad y humildad, les agradezco por ser guías excepcionales en este camino académico, y por el impacto positivo que han tenido en mi formación como profesional y como ser humano.

Con aprecio y respeto,

Marcela Carolina Solis Siguencia.

RESUMEN

En la actualidad la contaminación ambiental ha llegado a niveles críticos, muchos de estos contaminantes son de origen antropogénico como es el caso de los metales pesado y los microplásticos, contaminantes emergentes los cuales a través de distintas rutas de migratorias se involucran en la cadena alimentaria y por ende en muchos productos de consumo humano como es la leche cruda. Por ende, en el presente estudio se recolectó un total de veinte y nueve muestras de leche cruda de una granja de la provincia del Azuay, las cuales se sometieron a rigurosos análisis con la finalidad de determinar si existía presencia de microplásticos y si las concentraciones de plomo excedían el límite máximo permitido por la normativa ecuatoriana INEN 9:2012. Los análisis de laboratorio arrojaron resultados contundentes, mostrando una concentración promedio de 83 microplásticos por litro. Empleando un microscopio invertido de fluorescencia, se encontró que un 64% de las partículas se presentaban en forma de fibras, mientras que el 36% restante eran fragmentos. Además, mediante la técnica FTIR, se identificaron diferentes tipos de microplásticos, siendo el polietileno el más predominante, seguido del politetrafluoroetileno y el nailon respectivamente. El análisis para comprobar las concentraciones de plomo se realizó mediante Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), dando como resultado que el 59% de las muestras excedía el límite máximo permitido por la norma. El análisis de los resultados sobre la concentración de plomo en la leche cruda reveló un 59% de las muestras se encuentra encima del límite máximo permisible acorde con las normativas nacionales e internacionales.

Palabras clave:

Leche cruda, Microplásticos, Plomo, ICP-OES, Microscopio invertido de fluorescencia, FTIR

ABSTRACT

Currently, environmental pollution has reached critical levels, many of these contaminants are of anthropogenic origin as is the case of heavy metals and microplastics, emerging contaminants which through different migratory routes are involved in the food chain and therefore in many products for human consumption such as raw milk. Therefore, in the present study, a total of twenty-nine raw milk samples were collected from a farm in the province of Azuay and subjected to rigorous analysis to determine if microplastics were present and if lead concentrations exceeded the maximum limit allowed by the Ecuadorian regulation INEN 9:2012. The laboratory analysis yielded conclusive results, showing an average concentration of 83 microplastics per liter. Using an inverted fluorescence microscope, it was found that 64% of the particles were in the form of fibers, while the remaining 36% were fragments. In addition, using the FTIR technique, different types of microplastics were identified, with polyethylene being the most predominant, followed by polytetrafluoroethylene and nylon respectively. The analysis to check lead concentrations was performed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES), resulting in 59% of the samples exceeding the maximum limit allowed by the standard. The analysis of the results on the concentration of lead in raw milk revealed that 59% of the samples were above the maximum permissible limit in accordance with national and international regulations.

Keywords:

Raw Milk, Microplastics, Lead, ICP-OES, Inverted fluorescence microscope, FTIR

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO I | 22 |
| INTRODUCCIÓN | 22 |
| 1. Planteamiento del Problema | 23 |
| 2. Justificación | 25 |
| 3. Limitaciones..... | 25 |
| 4. Objetivos..... | 26 |
| 4.1. General..... | 26 |
| 4.2. Específicos..... | 27 |
| 5. Preguntas de Investigación | 27 |
| 6. Hipótesis | 27 |
| CAPÍTULO II..... | 29 |
| MARCO TEÓRICO..... | 29 |
| 1. Antecedentes de la Investigación..... | 29 |
| 2. Bases Teóricas | 38 |
| 2.1. Leche | 38 |
| 2.1.1. Composición Química de la Leche. | 39 |
| 2.1.2. Contaminantes de la leche..... | 39 |
| 2.1.2.1. Metales pesados..... | 39 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 2.1.2.2. | Plomo. | 39 |
| 2.1.2.3. | Riesgos del Consumo de Plomo..... | 40 |
| 2.1.2.4. | Toxicidad del Plomo en Seres Humanos..... | 40 |
| 2.1.2.5. | Límite máximo permitido de plomo en leche cruda. | 40 |
| 2.1.2.6. | Normativa Ecuatoriana plomo en leche cruda. | 41 |
| 2.1.2.7. | Plástico. | 42 |
| 2.1.2.8. | Tipos de plástico..... | 42 |
| 2.1.2.9. | Clasificación del plástico en función de su tamaño. | 42 |
| 2.1.2.10. | Microplásticos. | 43 |
| 2.1.2.11. | Microplásticos primarios..... | 43 |
| 2.1.2.12. | Microplásticos secundarios | 44 |
| 2.1.2.13. | Rutas de exposición humana a los microplásticos | 44 |
| 2.1.2.14. | Impactos producidos por los microplásticos en humanos..... | 44 |
| 3.1. | Técnicas de extracción para microplásticos | 45 |
| 3.1.1. | Digestión ácida..... | 45 |
| 3.1.2. | Digestión alcalina..... | 45 |
| 3.1.3. | Digestión enzimática. | 46 |
| 3.1.4. | Microfiltración. | 46 |
| 3.2. | Técnicas de detección y cuantificación de microplásticos | 46 |
| 3.2.1. | Microscopía óptica. | 46 |

| | | |
|--------|---|----|
| 3.2.2. | Microscopía invertida..... | 47 |
| 3.3. | Técnicas de identificación de microplásticos | 47 |
| 3.3.1. | Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). | 47 |
| 3.4. | Técnicas de detección de plomo en leche cruda..... | 48 |
| 3.4.1. | UV visible. | 48 |
| 3.4.2. | Horno de grafito. | 48 |
| 3.4.3. | ICP-OES..... | 49 |
| 4. | Marco Conceptual..... | 50 |
| 4.1. | Leche Cruda..... | 50 |
| 4.2. | Parámetros fisicoquímicos de la leche..... | 50 |
| 4.3. | Microplásticos. | 50 |
| 4.4. | Microplásticos Primarios..... | 51 |
| 4.5. | Microplásticos Secundarios..... | 51 |
| 4.6. | Fragmentos plásticos. | 51 |
| 4.7. | Fibras plásticas. | 51 |
| 4.8. | Polietileno..... | 51 |
| 4.9. | Tereftalato de polietileno..... | 51 |
| 4.10. | Nailon..... | 52 |
| 4.11. | Poliestireno. | 52 |
| 4.12. | Polipropileno..... | 52 |

| | | |
|-------------------------|--|----|
| 4.13. | Rojo Nilo..... | 52 |
| 4.14. | Fluorescencia. | 52 |
| 4.15. | Metales Pesados..... | 52 |
| 4.16. | Biotransformación..... | 53 |
| 4.17. | Polución. | 53 |
| 4.18. | Trazas..... | 53 |
| 4.19. | Separación de fases. | 53 |
| 4.20. | Curva de calibración. | 54 |
| 4.21. | Agente coagulante..... | 54 |
| CAPÍTULO III..... | | 55 |
| MARCO METODOLÓGICO..... | | 55 |
| 1. | Diseño de estudio..... | 55 |
| 2. | Diseño de investigación | 55 |
| 3. | Población y Muestra | 56 |
| 4. | Plan de Muestreo..... | 56 |
| 4.1. | Objetivo del plan de muestreo | 56 |
| 4.2. | Descripción de la población | 56 |
| 4.3. | Determinación del tamaño de la muestra | 56 |
| 4.4. | Procedimientos de selección de muestra | 57 |
| 4.5. | Método de muestreo | 57 |

| | | |
|----------|---|----|
| 4.6. | Técnicas e instrumentos de recolección de datos en el campo | 58 |
| 4.7. | Procesamiento y análisis de datos | 58 |
| 4.8. | Plan de seguimiento y evaluación con relación al levantamiento de las muestras..... | 58 |
| 4.9. | Limitaciones y suposiciones con relación al levantamiento de las muestras | 59 |
| 5. | Variables | 59 |
| 6. | Instrumentos y recolección de datos | 60 |
| 7. | Análisis de datos | 60 |
| 8. | Equipos, Reactivos y Materiales..... | 61 |
| 9. | Procedimiento experimental | 63 |
| 9.1. | Obtención de microplásticos en leche cruda | 63 |
| 9.1.1. | Coagulación de la leche..... | 63 |
| 9.1.2. | Separación de la fase sólida y líquida. | 64 |
| 9.1.3. | Proceso de tratamiento de la fase líquida. | 64 |
| 9.1.3.1. | Tamizaje..... | 64 |
| 9.1.3.2. | Digestión ácida..... | 64 |
| 9.1.3.3. | Microfiltración. | 64 |
| 9.1.4. | Proceso de tratamiento de la fase sólida..... | 65 |
| 9.1.4.1. | Secado y pulverizado. | 65 |
| 9.1.4.2. | Lavado..... | 65 |
| 9.1.4.3. | Digestión. | 65 |

| | |
|--|----|
| 9.1.4.4. Tamizado..... | 65 |
| 9.1.4.5. Filtración..... | 65 |
| 9.1.4.6. Microfiltración..... | 66 |
| 9.2. Cuantificación y caracterización de microplásticos..... | 66 |
| 9.3. Determinación del tipo de microplástico..... | 66 |
| 9.4. Identificación de los niveles de plomo en las muestras de leche cruda..... | 67 |
| 9.4.1. Digestión por microondas MARS-6 de las muestras de leche cruda para identificación de plomo..... | 67 |
| 9.4.2. Análisis ICP..... | 68 |
| 9.5. Preparación de estándares para la curva de calibración..... | 69 |
| CAPÍTULO IV..... | 70 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 70 |
| 1. Análisis y discusión de los resultados de microplástico..... | 70 |
| 1.1. Caracterización de microplásticos..... | 70 |
| 1.1.1. Morfología de los microplásticos..... | 70 |
| 1.1.2. Determinación del tamaño de microplásticos:..... | 72 |
| 1.1.3. Cuantificación de partículas de microplásticos..... | 74 |
| 1.2. Identificación de microplásticos..... | 77 |
| 1.2.1. Tipos de microplásticos..... | 77 |
| 1.3. Estadística descriptiva..... | 79 |

| | |
|---|-----|
| 2. Análisis y discusión de los resultados de concentraciones de plomo | 80 |
| 2.1. Concentraciones de plomo en muestras analizadas | 84 |
| 2.2. Estadística descriptiva | 87 |
| CAPÍTULO V | 89 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 89 |
| 1. Conclusiones | 89 |
| 1.1. Conclusiones microplástico | 89 |
| 1.2. Conclusiones metales pesados | 91 |
| 2. Recomendaciones | 92 |
| 2.1. Recomendaciones microplástico | 92 |
| 2.2. Recomendaciones metales pesados | 92 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 94 |
| ANEXOS | 104 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| Tabla 1 Límite máximo de contaminantes en leche cruda..... | 41 |
| Tabla 2 Clasificación del plástico según su tamaño. | 43 |
| Tabla 3 Variables | 59 |
| Tabla 4 Materiales, equipos y reactivos para análisis de microplástico | 61 |
| Tabla 5 Materiales, equipos y reactivos para detección de concentraciones de plomo | 62 |
| Tabla 6 Parámetros utilizados en el equipo de digestión por microondas | 67 |
| Tabla 7 Parámetros del método..... | 68 |
| Tabla 8 Longitud de onda para la detección de Pb | 69 |
| Tabla 9 Rango de tamaño de las partículas..... | 72 |
| Tabla 10 Cantidad de micropartículas plásticas encontradas..... | 75 |
| Tabla 11 Porcentaje de polímeros presentes en las muestras..... | 77 |
| Tabla 12 Estadística descriptiva de la cantidad de microplásticos en las muestras | 79 |
| Tabla 13 Resultados de metales pesados Plomo por absorción atómica ICP-OES en las muestras de leche de leche cruda (muestras 29) | 81 |
| Tabla 14 Prueba de hipótesis de una muestra t.test..... | 84 |
| Tabla 16 Comparación de los niveles de plomo en las 29 muestras de leche cruda con los valores permisibles establecidos por normas internacionales y nacionales | 85 |
| Tabla 17 Parámetros estadísticos de los niveles de plomo de las 29 muestras de leche cruda.... | 87 |
| Tabla 18 Registro de muestras tomadas en el campo | 105 |
| Tabla 19 Microplásticos encontrados en la fase líquida | 112 |
| Tabla 20 Microplásticos encontrados en la fase sólida..... | 113 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1 Microplástico en forma de fibra | 70 |
| Figura 2 Microplástico en forma de fragmento | 71 |
| Figura 3 Concentraciones de Pb correspondientes a cada una de las 29 muestras de leche cruda | 83 |
| Figura 4 Porcentajes de muestras de leche cruda que sobrepasan y las que no sobrepasan la concentración máxima de plomo propuesta por la NTE INEN 9:2012 | 85 |
| Figura 5 Frascos de vidrio de 1000mL en autoclave | 104 |
| Figura 6 Medición de la densidad de las muestras de leche cruda | 107 |
| Figura 7 Coagulación de la leche..... | 108 |
| Figura 8 Secado de la fase sólida..... | 108 |
| Figura 9 Pulverización de sólidos secos | 109 |
| Figura 10 Digestión de la fase sólida..... | 109 |
| Figura 11 Filtración al vacío..... | 110 |
| Figura 12 Secado de filtros tratados con rojo Nilo | 110 |
| Figura 13 Análisis en microscopio invertido de fluorescencia..... | 111 |
| Figura 14 Partículas de microplástico tanto en forma de fibras como fragmentos..... | 111 |
| Figura 15 Cantidad de micropartículas de plástico presentes en las muestras | 115 |
| Figura 16 Preparación de las muestras para digestión previa al análisis en ICP | 119 |
| Figura 17 Digestión de las muestras previa al análisis de plomo | 119 |
| Figura 18 Proceso de dilución de las muestras digeridas previo al análisis de plomo | 120 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo A. Esterilización de envases para recolección de muestras | 104 |
| Anexo B. Registro de muestras | 105 |
| Anexo C. Densidad de la leche..... | 107 |
| Anexo D. Proceso de extracción de microplásticos..... | 108 |
| Anexo E. Análisis de microplásticos en microscopio invertido de fluorescencia..... | 111 |
| Anexo F. Partículas encontradas en las fases líquida y sólida | 112 |
| Anexo G. Reportes de FTIR con programa OMNIC | 116 |
| Anexo H. Proceso de detección de plomo..... | 119 |
| Anexo I. Resumen de Calibración ICP-OES..... | 122 |
| Anexo J. Informe de resumen del método ICP-OES | 123 |
| Anexo K. Tabla de reporte horizontal ICP-OES | 124 |

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En Ecuador, la industria láctea ha prosperado debido a las condiciones climáticas y los ecosistemas favorables, especialmente en la región interandina. Dado que la leche y sus derivados son ampliamente consumidos en el mundo, es fundamental garantizar su calidad y cumplir con los estándares nacionales e internacionales. En Ecuador, la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario es responsable del control y regulación de la leche cruda a nivel nacional, realizando pruebas fisicoquímicas, organolépticas, microbiológicas y de laboratorio para detectar contaminantes y garantizar la seguridad del consumidor. (Agrocalidad, 2021).

Entre los contaminantes más tóxicos se encuentran los metales pesados, como el plomo. Este metal es de alta preocupación debido a sus efectos perjudiciales para la salud humana, especialmente cuando se ingiere, inhala o se absorbe en concentraciones altas. La normativa nacional de Ecuador establece límites para la calidad de la leche cruda, y el valor máximo permitido de plomo es de 0,02 mg/kg según la norma NTE INEN 9:2012.

La contaminación ambiental se ha convertido en un problema cada vez más preocupante para la sociedad actual. Se han identificado numerosos compuestos químicos y elementos microbiológicos como contaminantes importantes. Sin embargo, existen sustancias cuya toxicidad no ha sido completamente comprendida o cuya concentración se mantiene por debajo de los niveles críticos, aunque su acumulación a largo plazo podría representar un riesgo significativo. Los llamados contaminantes emergentes. (Qadir & Scott, 2022).

Entre estos contaminantes destacan los microplásticos, partículas pequeñas que pueden transportar contaminantes químicos y que se encuentran en distintas matrices entre las que se destacan productos de consumo humano, como la leche, tanto en su forma cruda como envasada, es uno de los alimentos líquidos más populares y su consumo ha aumentado en los últimos años. (González, 2017).

Por lo tanto, esta investigación se centró en encontrar un método adecuado para determinar la presencia de microplásticos en la leche cruda. Y en determinar la presencia de plomo, metal pesado que comprende un riesgo potencial para la salud del consumidor.

Además, el informe de investigación sigue la siguiente estructura: el primer capítulo se enfoca en la introducción, el planteamiento del problema, limitaciones y los objetivos generales y específicos del estudio. En el siguiente capítulo se presenta el marco teórico, que incluye los antecedentes, las bases teóricas del estudio y el marco conceptual. El tercer capítulo describe la metodología empleada en la investigación. El cuarto capítulo presenta el análisis y los resultados obtenidos. Y, por último, el quinto capítulo contiene las conclusiones y las recomendaciones derivadas del estudio realizado.

1. Planteamiento del Problema

La seguridad alimentaria es una preocupación creciente en la sociedad actual, ya que los consumidores demandan alimentos libres de contaminantes que puedan representar riesgos para la salud. Uno de los principales enfoques de esta es la calidad de los alimentos, que se refiere a asegurar que los alimentos estén libres de contaminantes físicos, químicos y biológicos que puedan

representar un riesgo para la salud. Esto implica la implementación de buenas prácticas agrícolas, controles de calidad en la industria alimentaria y el cumplimiento de normativas y regulaciones sanitarias. En este contexto, los microplásticos y el plomo han surgido como contaminantes emergentes de interés debido a su potencial impacto en la cadena alimentaria.

La leche cruda es un alimento de consumo masivo y ampliamente utilizado en la industria alimentaria para la elaboración de diversos productos lácteos. Sin embargo, existe una falta de información sobre la presencia de microplásticos, así como sus posibles implicaciones para la seguridad alimentaria. En cuanto al plomo en el Ecuador existe ya una normativa de control para los niveles de este en la leche cruda ya que se conoce que es nocivo para la salud.

La determinación de la presencia de microplásticos y plomo en muestras de leche cruda es un desafío debido a la necesidad de técnicas de análisis sensibles y específicas. La biotecnología ofrece herramientas prometedoras para abordar este problema, ya que permite el desarrollo de métodos de detección y cuantificación más precisos y eficientes.

Por lo tanto, resulta imprescindible realizar una investigación rigurosa que utilice las herramientas de la biotecnología para detectar y cuantificar la presencia de microplásticos y plomo en muestras de leche cruda, así como evaluar su repercusión en la seguridad alimentaria. Este enfoque proporcionará información científica sólida acerca de la extensión de la contaminación, los riesgos potenciales asociados y facilitará el desarrollo de estrategias apropiadas para mitigar estos problemas.

2. Justificación

La detección de microplásticos en la leche es importante por varias razones, la presencia de microplásticos en la leche también puede indicar que están presentes en otros productos alimenticios, por lo que es importante vigilar su presencia en ellos. Es por esto que su detección en la leche puede ayudar a identificar posibles fuentes de contaminación y permitir el desarrollo de estrategias para reducir su liberación al ambiente.

La presencia de microplásticos en la leche puede poner de relieve la necesidad de una mayor regulación y control sobre el uso y la eliminación de los productos plásticos para reducir su impacto ambiental. En general, su detección es un paso relevante para comprender el alcance de la contaminación por plásticos en nuestros sistemas alimentarios y desarrollar estrategias para minimizar su impacto en el ambiente.

La presencia de plomo en la leche cruda supone un problema de salud importante debido a que el plomo es un contaminante tóxico que puede acumularse en el cuerpo humano y causar daños a la salud, especialmente en los niños. La determinación de la cantidad de plomo en la leche cruda es esencial para garantizar la seguridad alimentaria y la protección de la salud pública.

3. Limitaciones

El presente estudio que busca determinar la presencia de microplásticos y plomo en muestras de leche cruda se enfrenta a algunas limitaciones importantes para tener en cuenta. En primer lugar, la determinación de muestras, ya que se requiere la aprobación de los propietarios del ganado para acceder a la leche cruda necesaria. La necesidad de obtener el consentimiento de

los propietarios del ganado para acceder a sus animales y recolectar muestras de leche cruda es un proceso complejo, por lo que esta limitación ha restringido el estudio a una sola ubicación o localización geográfica. Otra limitación es la falta de un protocolo establecido para realizar el análisis de microplásticos en la leche cruda. Esto significa que se requiere el desarrollo y la elaboración de un método específico para la detección de microplásticos en este tipo de muestra. El proceso de desarrollo de un nuevo método implica tiempo, recursos y experimentación adicional para asegurar su precisión, sensibilidad y especificidad. Adicional, una limitación es el presupuesto insuficiente, esto debido a los altos costos asociados con los equipos, materiales y reactivos requeridos para el análisis. Como resultado, se reduce la cantidad de muestras que pueden ser analizadas dentro de nuestros límites financieros. Y finalmente, una limitación del estudio está relacionada con el tiempo, dada la restricción impuesta por las políticas de la universidad en cuanto a la duración del proyecto. La detección de plomo y microplásticos en la leche cruda puede requerir un tiempo considerable debido a los procedimientos de muestreo, preparación de muestras y análisis. Lo que puede influir en la capacidad de obtener un número suficiente de muestras y realizar un análisis detallado, afectando la exhaustividad del estudio.

4. Objetivos

4.1. General

Evaluar la presencia de microplásticos y plomo en muestras de leche cruda de la provincia del Azuay, mediante análisis de laboratorio garantizando la seguridad alimentaria de los consumidores.

4.2. Específicos

Ejecutar el plan de muestreo en base a lo que establece la normativa vigente del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca estableciendo las muestras que se emplearán.

Analizar las concentraciones de plomo y microplásticos presentes en las muestras de leche cruda, mediante pruebas de laboratorio para su comparación con bases de datos.

Analizar las características de los microplásticos presentes en las muestras de leche cruda, a través de pruebas de laboratorio para la identificación del tipo de microplástico.

Evaluar la información levantada con relación al plomo mediante pruebas estadísticas estableciendo el cumplimiento con la normativa ecuatoriana.

Evaluar la información levantada con relación a los microplásticos mediante pruebas estadísticas proporcionando información a la comunidad científica.

5. Preguntas de Investigación

¿La leche cruda cumple con la normativa INEN de acuerdo con el parámetro de plomo?

¿Existen o no microplásticos en la leche cruda en la provincia del Azuay?

6. Hipótesis

Para nuestra investigación se han generado 2 hipótesis a las que se tratará de dar respuesta.

El contenido de plomo en las muestras de leche cruda supera los niveles de la normativa, por tanto, puede afectar la seguridad alimentaria de los consumidores.

Existe contenido de microplásticos en las muestras de leche cruda, por ende, suministrará información de interés para la sociedad científica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

1. Antecedentes de la Investigación

Los microplásticos pueden ingresar a la leche a través de diversas fuentes, como alimentos, agua y equipos de ordeño contaminados. Se realizó una búsqueda exhaustiva de estudios sobre la determinación de la presencia de microplásticos en leche cruda o relacionados a esta, a continuación, se destacan algunos.

En el artículo de (Muhib et al., 2023) se hace una revisión de los hallazgos existentes sobre la presencia de diversos tipos de fragmentos de microplásticos en botellas de plástico, agua del grifo y envases de alimentos, como polipropileno, poliestireno, tereftalato de polietileno, entre otros. La fragmentación de microplásticos puede estar relacionada con el estrés mecánico, la radiación ultravioleta, la baja calidad del material plástico, el envejecimiento y la deposición atmosférica. Además, los microplásticos pueden contener diversos compuestos químicos y retener materiales complejos del entorno, lo que dificulta su detección precisa con un solo método.

En la investigación de (Zuccarello et al., 2019) se determinó la presencia de microplásticos en aguas minerales embotelladas y encontró que todas las muestras contenían microplásticos, con una concentración principal de $656,8 \mu\text{g/L} \pm 632,9$. Además se observó una fuerte correlación entre la contaminación por microplásticos y el pH del agua y la densidad plástica de las botellas.

En el artículo de (Hernández et al., 2019) se examinó el potencial de liberación de microplásticos y nano plásticos por parte de las bolsitas de té de plástico durante el proceso de

remojo. Los resultados mostraron que una sola bolsita de té de plástico liberaba aproximadamente 11,6 mil millones de microplásticos y 3,1 mil millones de nano plásticos cuando se remojaba a la temperatura de preparación. Se utilizó espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) y espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) para comparar la composición de las partículas liberadas con las bolsitas de té originales (nylon y tereftalato de polietileno).

El estudio de (Pham et al., 2023) determinó la presencia de microplásticos en ocho tipos de alimentos comunes y evaluó la exposición humana agregada a través del consumo de alimentos. Los resultados mostraron que los adultos coreanos promedio ingieren entre $1,4 \times 10^{-4}$ y $3,1 \times 10^{-4}$ gramos de microplásticos por semana.

En el estudio de (Shruti et al., 2020) se analizaron refrescos, bebidas energéticas, té frío y cerveza en México para detectar microplásticos y caracterizar su forma, tamaño y composición. Se encontraron microplásticos en la mayoría de las muestras, en formas diversas y tamaños que van desde 0,1 hasta 3 mm, también se identificaron polímeros específicos en los microplásticos, lo que sugiere una contaminación derivada de textiles sintéticos y envases. Además, se plantea la posibilidad de que las excretas humanas contribuyan a la dispersión de microplásticos en el ambiente.

En el estudio de (Prata et al., 2020) desarrolló un método mejorado para la detección de microplásticos en vinos blancos tapados con tapones sintéticos. Se excluyeron los métodos de cuantificación visual y en el microscopio óptico debido al pequeño tamaño de las partículas. Se utilizó por primera vez la espectroscopia micro-Raman en bebidas complejas, como vinos blancos,

para identificar partículas microplásticas con lo que se logró identificar al menos una partícula sintética en cada botella, excepto en dos casos.

En el estudio de (Altunışık, 2023) se examinaron diez marcas de refrescos en Turquía para determinar la presencia y distribución de microplásticos. Se encontró microplástico en todas las marcas, con el 80% de las muestras, lo que refleja un alto nivel de contaminación. Se determinó que cada litro de refresco consumido expone a las personas a cerca de 9 partículas microplásticas, siendo los niños más vulnerables. Y los principales componentes químicos identificados fueron poliamida, tereftalato de polietileno y polietileno, siendo las fibras la forma dominante.

En la investigación de Kwon et al. (2020) indica que también se han encontrado microplásticos en otros productos alimenticios, como mariscos, sal y miel; sin embargo, no se conocen sus efectos en la salud a largo plazo, asociados con su ingestión.

En el artículo de (Lin et al. 2022) revisaron los datos sobre la presencia de microplásticos en alimentos procesados y se evaluaron los posibles riesgos asociados. El agua embotellada y la leche tuvieron las mayores ingestas de microplásticos. Este estudio proporciona una base para la gestión de los posibles riesgos de microplásticos en productos alimenticios procesados.

En Ecuador (Diaz et al., 2020) determinaron la presencia de microplásticos en miel, cerveza, leche y bebidas refrescantes en el mercado ecuatoriano, utilizando FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) se determinó que los principales tipos encontrados eran polietileno, polipropileno y poliacrilamida.

En artículo de (Rbaibi Zipak et al. 2022) señala que se determinó la presencia de microplásticos en la producción de yogur. Se tomaron muestras de una planta de yogur en Estambul y se analizaron utilizando técnicas de digestión artificial, filtración y microscopía binocular. Además, se utilizaron técnicas SEM y ATR-FTIR para caracterizar los microplásticos. Los resultados revelaron la presencia de un total de 171 partículas microplásticas en los filtros de doce pasos del proceso de producción, con una concentración predominante en el rango de 20 a 580 partículas por litro. Se observó una alta concentración de microplásticos en los envases de leche cruda y yogur.

En el estudio de (Zhang et al., 2023) se investigó la contaminación por microplásticos en 13 tipos de leche en polvo para bebés, encontrando que la leche en polvo en caja estaba más contaminada que la enlatada debido al empaque interno de plástico y papel de aluminio laminado. Aunque la exposición directa a través de la leche en polvo es baja, se observó que los biberones aumentaban la exposición 6,8 veces y la preparación de la leche en polvo 1,7 veces.

En México (Kutralam et al., 2020) mediante el uso de Espectroscopía Micro-Raman se determinó que los polímeros termoplásticos de sulfona eran los microplásticos más comunes en productos lácteos y se sugirió la necesidad de medidas preventivas para evitar su presencia.

En Italia el estudio de (Ragusa et al., 2022) encontró por primera vez que la leche materna humana contenía microplásticos utilizando la técnica de Micro espectroscopía Raman.

En la investigación de (Liu et al., 2023) se evaluó la exposición a microplásticos en muestras de placenta, meconio, heces infantiles, leche materna y fórmula infantil. Se reclutaron 18 parejas madre-bebé y se analizaron las muestras utilizando un espectrómetro de imágenes infrarrojas láser. Se identificaron dieciséis tipos de microplásticos, con predominancia de poliamida y poliuretano. Se encontró que más del 74% de los microplásticos tenían un tamaño de 20-50 μm .

Se han realizado varios estudios a nivel global relacionados con la presencia de metales pesados en leche cruda, se destacan algunos a continuación:

(Rodríguez López, 2016) con su estudio realizado en Ecuador en veintinueve ganaderías en la parroquia de Machachi y evidenció resultados a través del uso de un espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito para determinar la presencia de plomo en la leche cruda. Los resultados indican que el 96,55% de las Unidades de Producción Agropecuaria superan el límite máximo permisible de 0,02 mg/kg establecido por la norma INEN, lo que representa un riesgo para la salud animal y humana.

El objetivo del estudio de (Condori & Málaga, 2021) fue medir los niveles de plomo y arsénico en la leche y el pelo de vacas en el valle de Moquegua. Se tomaron 12 muestras de cada una y se analizaron en laboratorio utilizando una técnica de absorción atómica con horno de grafito. Los resultados mostraron que los niveles de plomo y arsénico en ambas muestras superaron los límites máximos permitidos.

El estudio experimental mixto tenía como objetivo determinar la concentración de arsénico y plomo en la leche cruda de vaca en el distrito de Huay Huay durante el período 2020-2021, así como su posible efecto en la salud de los consumidores. Se analizaron las muestras de leche cruda mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito y generador de hidruros. También se realizó una encuesta a los pobladores para medir los efectos sobre la salud. Se concluyó que la concentración de arsénico y plomo en la leche cruda de vaca superaba los valores permitidos por la OMS, pero la gran mayoría de los consumidores no presentaron efectos negativos sobre su salud (Coronel Balcazar & Villanueva Tinta, 2022).

En el estudio de (Sharifi et al., 2022) se buscó medir la cantidad de plomo presente en la leche cruda de las principales explotaciones ganaderas de la provincia de Teherán en Irán, debido a que este metal puede ser muy peligroso para la salud humana. Se recolectaron 57 muestras de leche cruda de distintas regiones de la provincia y se midió el contenido de plomo utilizando un espectrómetro de absorción atómica de horno de grafito. Luego, se calculó el cociente de peligrosidad (HQ) para evaluar el riesgo de las muestras. Los resultados mostraron que todas las muestras tenían un HQ inferior a 1, lo que se considera dentro del nivel aceptable.

En la investigación de (Temiz & Soyly, 2012) se estudiaron 144 muestras de leche cruda con el objetivo de detectar la presencia de metales pesados como resultado de emisiones generadas por actividades industriales en Tekkekoy, Samsun, Turquía. Se utilizó la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para determinar los niveles de Cu, Fe, Zn, Cr, Ni, Cd, As y Pb en las muestras. Se encontró que los niveles más altos de cobre, plomo y cadmio se registraron durante el periodo de verano.

La investigación realizada en Sitio del Niño, San Juan Opico, El Salvador, por (Medina Matus & Guillén Paredes, 2017) examinó la presencia de plomo en muestras de leche y agua de tres granjas situadas dentro de un radio declarado de contaminación por plomo de 1.500 metros. También se incluyeron tres granjas situadas fuera del radio a efectos comparativos. Los niveles de plomo se midieron mediante espectroscopia de absorción atómica. Estos resultados indican que tanto dentro como fuera del radio de contaminación, los niveles de plomo en la leche superaban los valores permitidos

(Choque, 2015) desarrolló un método sencillo de extracción asistida por microondas para la posterior determinación de los niveles de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en leche líquida mediante espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS). Se determinaron los niveles de Cd y Pb en leche comercializada en la ciudad de Bogotá, Colombia. Los niveles de cadmio oscilaron entre 0,014 y 0,019 mg/kg. Mientras que los de Pb dentro del rango de 0,006 a 0,017 mg/Kg. Los resultados de la leche procesada o comercializada indicaron que las condiciones ambientales y los procesos de fabricación desempeñaron un papel clave en la distribución de metales tóxicos en la leche cruda y procesada. Las implicaciones toxicológicas de los niveles encontrados indican que el consumo de leche comercializada en Bogotá no supone un riesgo para la salud de sus habitantes.

El objetivo del estudio de (Meshref et al. 2014) era determinar las concentraciones de (Pb), (Cd), (Zn), (Cu) y (Fe) en la leche y los productos lácteos y evaluar los posibles riesgos para la salud asociados a su consumo. Se recogió un total de 77 muestras de la provincia egipcia de Beni-

Suef. Los niveles de Pb en todas las muestras superaban el límite máximo permitido por la norma del Codex Alimentarius (0,02 mg/kg).

(Zyambo et al. 2022) investigaron la contaminación por Pb en la leche de vaca y su impacto en el riesgo para la salud humana a través del consumo de leche de ganado criado en las proximidades de una mina de Pb-Zn en Kabwe, Zambia. Se recogieron muestras de leche fresca de vacas de las zonas de cría. La determinación del Pb se realizó mediante espectrofotometría atómica de absorción de llama de grafito (GFAAS). Los niveles de Pb en la leche de vaca mostraron diferentes patrones de concentración según la estación, la distancia y la ubicación de las granjas respecto a la mina de Pb-Zn. Los niveles medios globales de Pb oscilaron entre 0,60-2,22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 0,50-4,24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en las estaciones húmeda y seca, respectivamente.

(Fadhil & Gathwan, 2022) realizaron un estudio sobre treinta muestras de leche de marcas locales importadas de diversos mercados de la provincia de Bagdad, Irak. Las muestras consistían en leche en polvo y líquida, con una distribución equitativa de quince muestras cada una. Las concentraciones de los elementos plomo y cadmio se analizaron utilizando la Escala de Absorción Atómica de Llama (7000 _ AASF). Los resultados mostraron que todas las muestras tenían concentraciones de plomo superiores a los límites permitidos, mientras que la mayoría de ellas tenían concentraciones de cadmio dentro de los límites permitidos.

Se llevó a cabo un estudio en la gobernación de Assiut (Egipto) para evaluar los niveles de plomo (Pb), cadmio (Cd) y selenio (Se) en productos lácteos en polvo, concretamente en preparados lácteos en polvo para lactantes. Se recogieron setenta muestras aleatorias de diversos

mercados y farmacias en sus envases originales. Las muestras se transportaron al laboratorio para su análisis mediante espectrofotómetro de absorción atómica. Entre las muestras positivas, una proporción significativa superaba los Límites Máximos Permisibles (LMP) de plomo, cadmio y selenio (Ahmed et al., 2020).

En Polonia (Pietrzak-Fiećko et al. 2019) analizaron un total de 28 muestras de leche. El material analizado se mineralizó en seco. Para determinar el contenido de los elementos analizados se utilizó el método de espectrometría de absorción atómica de llama. No hubo diferencias significativas en el contenido de metales pesados en las muestras de leche analizadas. Ninguna de las muestras reveló la superación del nivel máximo permitido de estos elementos.

Las actividades mineras metalúrgicas en Perú han provocado la contaminación de la leche con plomo (Pb) y cadmio (Cd), lo que supone riesgos medioambientales y para la salud humana, en particular para los niños. Se recogieron 40 muestras de leche y se analizaron mediante espectrometría de absorción atómica. Se comprobó que la concentración media de Pb en la leche era de $15 \pm 2,6 \mu\text{g/kg}$, lo que representa el 75% del Límite Máximo (LM) establecido para la seguridad (Chirinos-Peinado et al. 2022).

En un estudio realizado en la ciudad de Guayaquil, Ecuador por (Pernía et al., 2014) se investigó la posible presencia de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en distintas presentaciones de leche de vaca, incluyendo leche ultra pasteurizada, pasteurizada y en polvo de varias marcas comerciales. Se tomaron muestras de estas leches y se utilizó un Espectrofotómetro de Absorción Atómica para detectar la concentración de estos metales pesados. Los resultados revelaron que los

valores de plomo (Pb) en la leche estaban 272 veces por encima del límite máximo permitido para la leche, según las regulaciones del Codex Alimentarius.

(Bonyadian et al. 2022) evaluaron los cambios en los niveles de mercurio, plomo, cadmio y arsénico en muestras de leche cruda durante los procesos de producción de leche en polvo. Se evaluaron un total de 50 muestras de leche cruda, leche desnatada y nata de una planta lechera de la provincia de Chaharmahal y Bakhtiari, Irán. Las muestras se analizaron para investigar su plomo, mercurio, cadmio y arsénico utilizando el método de espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado elemental. Según los resultados de este estudio, las normas internacionales (Codex) y las normas nacionales iraníes, las cantidades medias de plomo en todos los productos eran superiores a las de los niveles estándar (20 ppb).

2. Bases Teóricas

2.1. Leche

Desde un punto de vista biológico se denomina leche a la secreción de las hembras mamíferas, cuya misión es satisfacer los requerimientos nutricionales del recién nacido en sus primeros meses de vida; sin embargo, desde la perspectiva legal, se entiende por leche natural el producto integro, no alterado ni adulterado y sin calostros, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras mamíferas domésticas sanas y bien alimentadas (Aguilera & Martínez, 2017).

2.1.1. Composición Química de la Leche.

Los principales componentes son el agua, los lípidos, el azúcar (lactosa) y las proteínas. Además, hay numerosos constituyentes menores, la mayoría en niveles traza (por ejemplo, minerales, vitaminas, hormonas, enzimas y compuestos diversos) (Goulding et al., 2020). Su composición varía en función de la especie, el origen, la raza, la alimentación y el estado de salud del animal, el clima, las condiciones higiénicas (Muñoz & Yoldi, 2000).

2.1.2. Contaminantes de la leche.

2.1.2.1. Metales pesados.

El plomo, el mercurio, el cadmio y el cromo ocupan los primeros puestos en la lista de toxicidad entre los distintos metales. Los tres primeros, denominados "los tres grandes", están en el punto de mira debido a su gran toxicidad e impacto en el ambiente. Los metales pesados son muy tóxicos para las plantas y los seres humanos cuando se consumen por encima de los límites permitidos (Sandeep et al., 2019).

2.1.2.2. Plomo.

El plomo es un metal pesado, de baja temperatura de fusión, de color gris-azulado que ocurre naturalmente en la corteza terrestre. Sin embargo, raramente se encuentra en la naturaleza en forma de metal. Generalmente se encuentra combinado con otros dos o más elementos formando compuestos de plomo. Los compuestos de plomo se usan como pigmentos en pinturas, barnices para cerámicas y en materiales de relleno. La cantidad de plomo que se usa en estos productos se ha reducido en años recientes para minimizar los efectos nocivos del plomo sobre seres humanos y animales. (ATSDR, 2021).

2.1.2.3. Riesgos del Consumo de Plomo.

Una vez que el plomo entra en el cuerpo, se distribuye a órganos como el cerebro, los riñones, el hígado y los huesos. El cuerpo almacena el plomo en los dientes y los huesos, donde se acumula con el tiempo. El plomo almacenado en los huesos puede pasar a la sangre durante el embarazo, exponiendo así al feto. Los niños desnutridos son más susceptibles al plomo porque su organismo absorbe más plomo si le faltan otros nutrientes, como calcio o hierro (WHO, 2022).

2.1.2.4. Toxicidad del Plomo en Seres Humanos.

Los niños son especialmente vulnerables a los efectos tóxicos del plomo y pueden sufrir importantes y permanentes consecuencias negativas para su bienestar, sobre todo en el desarrollo del cerebro y el sistema nervioso. El plomo también causa daños a largo plazo en los adultos, entre ellos un mayor riesgo de hipertensión y daños renales. La exposición de las mujeres embarazadas a altos niveles de plomo puede provocar partos prematuros, mortinatos y bajo peso en el recién nacido (WHO, 2022).

2.1.2.5. Límite máximo permitido de plomo en leche cruda.

La leche de vaca contiene los micronutrientes y macronutrientes más importantes, como ácidos grasos, aminoácidos, vitaminas y minerales. También puede ser una fuente importante de metales pesados. Como las vacas suelen pastar en zonas abiertas, su consumo de forraje y agua es propenso a una elevada contaminación por metales. Estos metales pesados también pueden acumularse en la leche y la carne de vacuno y entrar en el ciclo alimentario humano. Como los niños tienen menor peso corporal, son más vulnerables, e incluso concentraciones bajas de Pb pueden ser peligrosas para ellos (Sharifi et al., 2022).

Debido a la toxicidad del Pb, muchas agencias reguladoras han definido límites para este metal en la leche cruda. Según la Comisión del Codex Alimentarius, sobre contaminantes en los alimentos (FAO & WHO, 1999), el reglamento de la Unión Europea (European Commission, 2006) y la Norma Nacional de Irán (ISIRI, 2009) y la normativa INEN (9:2012) de Ecuador, se define 0,02 µg/kg como la cantidad máxima permitida de Pb en la leche. En los últimos años los investigadores han prestado más atención a la presencia de Pb en la leche cruda (Sharifi et al., 2022).

2.1.2.6. Normativa Ecuatoriana plomo en leche cruda.

La normativa NTE INEN 9:2012 establece ciertos límites y requisitos de calidad para garantizar la seguridad alimentaria. La normativa INEN sobre la leche cruda establece que este producto debe ser obtenido mediante el ordeño higiénico de vacas sanas, y no se le deben añadir ni quitar componentes. La norma técnica establece un límite máximo para los contaminantes. Para el plomo en la leche cruda, el límite máximo permitido es de 0,02 mg/kg según la norma. Es importante respetar estas restricciones para garantizar la seguridad alimentaria y proteger la salud de los consumidores.

Tabla 1

Límite máximo de contaminantes en leche cruda

| Contaminante | Límite Máximo | Método de Ensayo |
|---------------------|----------------------|-------------------------|
| Plomo (mg/kg) | 0,02 | ISO/TS 6733 |

Nota. Adaptada de INEN 9: 2012

2.1.2.7. Plástico.

El plástico es un polímero de origen orgánico que se sintetiza a partir de derivados del petróleo, aunque también puede derivarse de distintas fuentes renovables, como los provenientes del almidón o los de origen bacteriano. Los plásticos tienen un elevado peso molecular, y están constituidos por componentes con propiedades elásticas y flexibles que los vuelven muy maleables, permitiendo adaptarlos a distintas formas sólidas (Zaritzky & Nudelman, 2020).

El empleo de plástico, sobre todo plástico de un solo uso ha tenido un gran incremento en nuestra sociedad. Estos desechos se acumulan en el ambiente dada su baja degradabilidad y su complejo reciclado, generando un desequilibrio ambiental. Aun así, pese a su enorme fortaleza física, con el tiempo, los plásticos al ser expuestos por diferentes agentes tanto físicos como químicos, que lo corroen, se fragmentan en partículas más pequeñas (Bollaín Pastor & Vicente Agulló, 2019).

2.1.2.8. Tipos de plástico.

Los polímeros más comunes y ampliamente utilizados en la fabricación de materiales plásticos a nivel mundial y que se encuentran en mayor abundancia son: el polietileno, el policloruro de vinilo, el poliestireno, el polipropileno y el polietileno tereftalato. Estos polímeros representan aproximadamente el 90% de la producción global de plástico (Rojo Nieto & Montoto Martínez, 2017).

2.1.2.9. Clasificación del plástico en función de su tamaño.

Tabla 2

Clasificación del plástico según su tamaño.

| Tipo | Tamaño |
|---------------|------------------------|
| Macroplástico | > 25 mm |
| Mesoplástico | 5 mm < 25 mm |
| Microplástico | 1 μm < 5 mm |
| Nanoplástico | < 1 μm |

Nota. Adaptado de (Crawford & Quinn, 2017).

2.1.2.10. Microplásticos.

Los microplásticos son micropartículas provenientes de diversas fuentes, como bolsas de plástico, botellas y materiales de envasado, así como micro perlas de productos de cuidado personal, fibras de ropa y textiles y fragmentos de artículos de plástico de mayor tamaño, es decir de polímeros de materiales sintéticos hechos a base de petróleo, y tienen un tamaño de menos de 5 milímetros, a menudo invisibles a simple vista. Los microplásticos son considerados contaminantes emergentes debido a su creciente presencia en el ambiente, pero su impacto en la salud humana aún no se conoce del todo. (Lehtiniemi et al., 2018).

2.1.2.11. Microplásticos primarios

Los microplásticos primarios son diminutas partículas de plástico que se fabrican y utilizan intencionadamente para diversos fines industriales y comerciales. Pueden presentarse en forma de micro perlas, microfibras y microcápsulas. También pueden ser un importante problema ambiental porque pueden ser ingeridos por la vida marina y acumularse en la cadena alimentaria, así como pueden filtrarse al ambiente y contaminar a los ecosistemas. (Castañeta et al., 2020).

2.1.2.12. Microplásticos secundarios

Los microplásticos secundarios son diminutas partículas de plástico que se forman cuando artículos de plástico de mayor tamaño se descomponen en trozos más pequeños por efecto del sol, el viento y el agua. Estas pequeñas partículas de plástico también pueden proceder de gránulos de plástico, que son las materias primas utilizadas en la fabricación de plásticos, y del desprendimiento de fibras de tejidos sintéticos (EsMarEs, 2016).

2.1.2.13. Rutas de exposición humana a los microplásticos

Las rutas de exposición humana a los microplásticos se dan principalmente a través de la inhalación, ingestión y el contacto con la piel. Estos pueden ser inhalados a partir de la contaminación del aire por textiles, neumáticos de caucho sintético y polvo urbano. La ingestión de microplásticos ocurre al consumir alimentos y agua potable. Además, actualmente, existe una ingesta inadvertida y generalizada de estas micropartículas, especialmente de polietileno tereftalato (PET) y polietileno (PE), presentes en envases desechables de bebidas y comida rápida. Estos polímeros se encuentran en mayor concentración en las heces humanas, posiblemente debido al aumento global del consumo de comida rápida y el uso creciente de envases plásticos (Castañeta et al., 2020).

2.1.2.14. Impactos producidos por los microplásticos en humanos

El impacto de los microplásticos en la salud humana es un tema complejo y aún no se comprende del todo. Aunque se han detectado microplásticos en diversas fuentes de consumo humano, como la sal, la cerveza, las frutas y verduras frescas, y el agua potable, es difícil determinar si causan daños. Los plásticos están compuestos por una combinación de sustancias químicas, incluyendo aditivos que pueden ser tóxicos, se han identificado miles de sustancias

químicas utilizadas en los plásticos, muchas de las cuales carecen de una regulación adecuada. Se desconoce el impacto a largo plazo de la exposición a estas sustancias químicas en conjunto con los microplásticos. A pesar de que se han encontrado correlaciones, establecer una causalidad clara es complicado debido a la amplia gama de productos químicos a los que estamos expuestos en nuestra vida diaria (Thompson, 2022).

3.1. Técnicas de extracción para microplásticos

3.1.1. Digestión ácida.

Este método utiliza una solución ácida, como ácido clorhídrico o nítrico, que disuelve los componentes orgánicos de la muestra y deja expuestos los microplásticos en forma de fragmentos, fibras o pellets. También se suele emplear peróxido de hidrógeno en distintas concentraciones, usualmente de 15%, 30% o 35%. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de ácidos fuertes puede dañar ciertos polímeros, por lo tanto, es importante optimizar las condiciones de la digestión ácida para minimizar el daño a los microplásticos y garantizar resultados precisos (Lusher et al., 2017).

3.1.2. Digestión alcalina.

La digestión alcalina se ha utilizado en varios estudios como una alternativa a la digestión ácida, ya que algunos investigadores han sugerido que la digestión ácida puede afectar los microplásticos y alterar la precisión de los resultados. Por lo que se considera una técnica más suave y menos invasiva, además de tener periodos más cortos de digestión. En este método, se utiliza una solución alcalina, como hidróxido de potasio o hidróxido de sodio, para disolver los componentes orgánicos de la muestra principalmente proteínas a través de la hidrólisis de enlaces químicos (Miller et al., 2017).

3.1.3. Digestión enzimática.

La digestión enzimática es un método alternativo que brinda una digestión eficiente de la muestra y un bajo impacto en los polímeros presentes, consiste en agregar una solución de enzimas a la muestra para descomponer las proteínas en ella y liberar los microplásticos que están adheridos a estas. Este método puede ser útil en casos donde la digestión ácida o alcalina afectan la integridad de los microplásticos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la eficiencia de este método puede variar dependiendo de las propiedades de la muestra y del tipo de enzima utilizada (Von Friesen et al., 2019).

3.1.4. Microfiltración.

La microfiltración es una técnica de separación y purificación que utiliza membranas con poros de tamaño micrométrico para separar partículas y materiales suspendidos en líquidos. Estos filtros cuentan con poros que tienen una estructura muy uniforme, lo que asegura una retención fiable de las partículas. El tamaño de los poros de la membrana es crucial para determinar las partículas o microorganismos que serán retenidos en el proceso (Panopoulos et al., 2020).

3.2. Técnicas de detección y cuantificación de microplásticos

3.2.1. Microscopía óptica.

La microscopía óptica es un método de visualización de objetos pequeños que no son perceptibles a simple vista, y se basa en el uso de lentes y la refracción de la luz visible. Esta técnica permite ampliar la imagen del objeto en cuestión y visualizarlo con mayor detalle, su resolución es cercana a la mitad de longitud de onda de la luz visible es decir a una resolución de

200 nm, lo que es útil para la evaluación de morfología de muestras inorgánicas y biológicas (Ryan et al., 2017).

3.2.2. Microscopía invertida.

La microscopía invertida es una técnica de microscopía que consiste en colocar el objetivo y las lentes de enfoque debajo de la muestra, en lugar de encima como en la microscopía convencional. Las partículas se identifican y se miden mediante software especializado de análisis de imagen, lo que permite cuantificar la cantidad de micropartículas de interés en la muestra (Ratner & Hauch, 2013).

3.2.3. Microscopía invertida de fluorescencia.

La fluorescencia es ampliamente utilizada en la microscopía biológica y analítica debido a su alta sensibilidad y especificidad. Permite determinar la distribución, cantidad y ubicación de moléculas individuales. También se aplica en la detección de microplásticos utilizando tintes fluorescentes. La fluorescencia es una valiosa herramienta en la investigación científica y el análisis de muestras debido a su capacidad para proporcionar información detallada sobre la ubicación y cantidad de moléculas y partículas. (Calvo, 2020).

3.3. Técnicas de identificación de microplásticos

3.3.1. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

El FTIR es una técnica de análisis que se basa en la absorción de radiación infrarroja para detectar las vibraciones moleculares de los componentes presentes en una muestra. Durante el proceso de análisis, la luz infrarroja se emite hacia la muestra y se mide la cantidad de luz que se absorbe a diferentes longitudes de onda. Después, se realiza una transformación matemática llamada algoritmo de Fourier, que permite la identificación de los componentes moleculares

presentes en la muestra. Esta técnica se aplica comúnmente en la identificación de sustancias químicas y materiales (Kowalczyk & Pitucha, 2019).

3.4. Técnicas de detección de plomo en leche cruda

3.4.1. UV visible.

Es la técnica más común para el análisis de metales en los alimentos; sin embargo, ha perdido importancia en años recientes debido al desarrollo de nuevas técnicas tales como la espectrometría de absorción atómica. Se basa en la relación entre la absorción de la radiación visible o ultravioleta cercana de una solución y la concentración de las especies coloreadas en la solución. El analito tiene que ser convertido a un complejo coloreado antes del análisis. La instrumentación básica es todavía relativamente simple y de bajo costo en comparación con los instrumentos que se requieren para las otras técnicas de análisis de metales. El método puede automatizarse fácilmente para el análisis rutinario y da resultados con una buena sensibilidad y precisión. Las desventajas de esta técnica son que a menudo se requiere un control estricto del pH y un estado de oxidación específico y también puede haber problemas con la interferencia de otros metales (Skoog D.A. 2001) (Pinzón, 2015).

3.4.2. Horno de grafito.

El horno de grafito es un dispositivo utilizado en la espectroscopía de absorción atómica para detectar la presencia de metales en una muestra líquida, como la leche. En el caso específico de la detección de plomo en la leche, el proceso funciona de la siguiente manera:

-Preparación de la muestra: Se toma una muestra de la leche y se somete a un proceso de digestión, que implica la adición de ácidos para descomponer los componentes orgánicos y permitir la liberación de los metales en la muestra.

-Atomización: La muestra digestada se introduce en el horno de grafito, donde se atomiza. Esto implica la vaporización de la muestra y la formación de átomos de plomo gaseosos

-Absorción: Los átomos de plomo gaseosos se dirigen hacia una fuente de luz de espectro visible, donde son absorbidos por átomos de grafito calentados eléctricamente.

-Detección: La cantidad de luz absorbida se mide y se compara con la cantidad de luz absorbida por una muestra de referencia sin plomo. La diferencia en la cantidad de luz absorbida indica la cantidad de plomo presente en la muestra.

El horno de grafito se utiliza para atomizar y vaporizar una muestra líquida, permitiendo que los átomos de plomo sean absorbidos por átomos de grafito calentados eléctricamente. La cantidad de luz absorbida se mide y se compara con una muestra de referencia sin plomo para determinar la cantidad de plomo presente en la muestra original (ESGRAF, 2020).

3.4.3. ICP-OES.

ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy) es una técnica científica utilizada para el análisis elemental. Implica el uso de un plasma acoplado inductivamente como fuente de excitación y espectroscopia de emisión óptica para la detección. El ICP-OES ofrece varias ventajas como técnica analítica. Tiene un amplio rango dinámico lineal, lo que permite la cuantificación precisa de elementos tanto en trazas como en altas concentraciones. También es una técnica multielemental, capaz de analizar una amplia gama de elementos simultáneamente. Además, proporciona una excelente sensibilidad, precisión y bajos límites de detección, lo que la hace adecuada para diversas aplicaciones, como el análisis medioambiental, farmacéutico, alimentario y la caracterización de materiales.

En la ICP-OES, una muestra se convierte primero en un aerosol y se introduce en un plasma de alta temperatura generado por un gas argón acoplado inductivamente. El plasma atomiza e

ioniza la muestra, dando lugar a la formación de átomos e iones en estado excitado. Estas especies excitadas emiten longitudes de onda de luz características cuando vuelven a su estado básico.

La luz emitida es recogida por un espectrómetro, que dispersa la luz en las longitudes de onda que la componen. Esto permite la identificación y cuantificación de los elementos presentes en la muestra basándose en sus espectros de emisión únicos. Las intensidades de las longitudes de onda emitidas se miden, proporcionando información sobre las concentraciones elementales en la muestra (Ribón & Naharro, 2021).

4. Marco Conceptual

4.1. Leche Cruda.

Es la leche recién ordeñada que no ha pasado aún por el proceso de pasteurización, tanto para garantizar la calidad higiénico-sanitaria, como para prolongar la vida útil del producto (Aguilera & Martínez, 2017) (Center for Food Safety & Nutrition, 2018).

4.2. Parámetros fisicoquímicos de la leche.

Son las propiedades físicas y químicas que caracterizan este líquido natural. El análisis de estos parámetros ayuda a detectar posibles adulteraciones o cambios en la leche (Universidad de Murcia 2011).

4.3. Microplásticos.

Los microplásticos son pequeñas partículas como fibras y fragmentos derivadas de polímeros sintéticos que miden menos de 5 mm de tamaño (Xumiao et al., 2023).

4.4. Microplásticos Primarios.

Los microplásticos primarios son partículas minúsculas creadas intencionalmente con un propósito comercial y se utilizan en productos y aplicaciones específicas (National Geographic Society, 2022).

4.5. Microplásticos Secundarios.

Los microplásticos secundarios son partículas de plástico que se generan a partir de la degradación y fragmentación de plásticos más grandes en el ambiente (Oleksiuk et al., 2022).

4.6. Fragmentos plásticos.

Partículas con forma y dimensiones variables (Quinteros, 2022).

4.7. Fibras plásticas.

Partículas plásticas con estructura unidimensional cuya longitud es mucho más larga que su diámetro (Quinteros, 2022).

4.8. Polietileno.

El PE es un polímero blanquecino termoplástico obtenido a partir de la polimerización del etileno (Aceromafe, 2021).

4.9. Tereftalato de polietileno.

El PET es un tipo de polímero plástico que se forma mediante la combinación de etileno y paraxileno (Sandoval-Herrera & Bermúdez-Morera, 2021).

4.10. Nailon.

El nailon es un tipo de plástico sintético compuesto de poliamidas de alto peso molecular y, en la mayoría de los casos, se produce en forma de fibra (Encyclopedia Britannica, 1998).

4.11. Poliestireno.

El PS es un tipo de polímero sintético aromático que se forma mediante la polimerización del estireno en condiciones de calor o mediante la utilización de iniciadores (Ashter, 2022).

4.12. Polipropileno.

El PP es un polímero termoplástico que se forma mediante la polimerización del monómero de propileno. Es una resina de gran resistencia química y se puede moldear con facilidad. (Resinas termoplásticas, 2021).

4.13. Rojo Nilo.

Colorante fluorescente utilizado para resaltar y teñir los microplásticos presentes en muestras ambientales (Santofimio González, 2020).

4.14. Fluorescencia.

La fluorescencia es un fenómeno óptico contrastante que utiliza la propiedad de ciertas moléculas para absorber luz en una longitud de onda específica y luego emitir luz en una longitud de onda más larga (Sezgin, 2017).

4.15. Metales Pesados.

Elementos que existen de forma natural y poseen un peso atómico importante, con una densidad al menos cinco veces superior a la del agua (Tchounwou et al., 2012).

4.16. Biotransformación.

Mecanismo metabólico que se produce principalmente en el hígado y que contribuye a la eliminación de sustancias externas e internas. Implica una secuencia de reacciones que modifican la composición química de estas sustancias. Las enzimas responsables de catalizar estas reacciones tienen la capacidad de convertir el sustrato en inactivo, activo o potencialmente dañino (Phang-Lyn & Llerena, 2022).

4.17. Polución.

Presencia de contaminantes, agentes extraños de origen sintético, creados por el ser humano, como el plástico o compuestos químicos nocivos para la salud humana como el plomo en la leche cruda (Reyna & Arteaga, 2022).

4.18. Trazas.

Los metales traza presentes en los alimentos pueden tener importancia nutricional o toxicológica. Término aplicado al grupo de metales y metaloides con una densidad superior a 6 g/cm., se aplica generalmente a elementos como Cd, Cu, Fe, Pb y Zn que se asocian comúnmente a problemas de contaminación y toxicidad (Vivianne Lbds, 2020).

4.19. Separación de fases.

Procedimiento físico en el cual se somete una mezcla a un tratamiento específico con el fin de dividirla y separar sus componentes en al menos dos sustancias distintas (Fibras y Normas de Colombia S. A. S., 2019). Las fases pueden ser sólido-sólido, sólido-líquido o gas-líquido.

4.20. *Curva de calibración.*

La representación visual que muestra la relación entre una señal instrumental y la concentración de un analito, y establece un rango de operación en el cual los resultados comunicados tienen una precisión y exactitud verificadas durante la validación de cada método (AGQ Labs Chile S.A., 2017).

4.21. *Agente coagulante.*

Sustancia que se adiciona a la leche con la finalidad de formar una cuajada (Centurión Cabanillas et al., 2009).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

1. Diseño de estudio

La presente investigación se utilizó un diseño de tipo descriptivo porque su objetivo era describir la presencia y tipo de microplásticos, y la concentración de plomo en la leche cruda de vacas, se buscó describir las características o situaciones tal y como se presentan en la realidad, sin manipularlas ni establecer relaciones causales entre ellas. También fue de tipo transversal porque la recolección de datos se realizó en un solo momento del tiempo. El momento de recolección de datos se consideró prospectivo debido a que se planificó previamente la recolección de muestras de leche cruda y se realizaron las mediciones posteriormente. Además, como investigadores no manipulamos ninguna variable. En lugar de ello, nos centramos en observar y medir las características de las muestras de leche cruda recolectadas.

2. Diseño de investigación

Este trabajo se desarrolló en un enfoque de campo y documental, ya que se llevó a cabo la recolección de datos directamente de las cabezas de ganado productoras de leche en una sola granja. Durante la investigación, se realizó una visita a dicha granja, permitiendo establecer contacto directo con las vacas y los encargados de su cuidado. Se realizaron observaciones detalladas del entorno, la alimentación y las condiciones de vida de las vacas, además se llevó a cabo análisis directos de la calidad de la leche obtenida. De igual forma, se llevó a cabo la búsqueda y recuperación de datos secundarios, obtenidos y registrados por otros investigadores en fuentes impresas y electrónicas, para su posterior análisis, crítica e interpretación. La investigación tuvo un carácter no experimental, ya que no se controlaron ninguna de las variables en el estudio.

3. Población y Muestra

En la actual investigación se trabajó con una población finita y accesible, en la cual se procedió a extraer una muestra de esta, para lo cual se estableció a través de un modelo matemático la determinación del tamaño de la muestra, considerando que la población era de 30 cabezas de ganado productoras de leche ubicadas en la provincia del Azuay. El proceso de muestreo se detalla a continuación en el apartado 4.

4. Plan de Muestreo

4.1. Objetivo del plan de muestreo

Tomar muestras seguras y representativas de la población descrita en el apartado 3, utilizando técnicas adecuadas con la finalidad de poder garantizar la validez de las conclusiones obtenidas.

4.2. Descripción de la población

Cabezas de ganado, solo hembras, no machos, es decir productoras de leche.

4.3. Determinación del tamaño de la muestra

El tamaño de una muestra es una selección significativa de la población que se pretende estudiar, para este caso se ha decidido aplicar la siguiente fórmula con la finalidad de calcular una muestra significativa:

$$\text{Tamaño de la muestra} = \frac{Z^2 \cdot p \cdot (1 - p)}{C^2}$$

$$\text{Tamaño de la muestra} = 29$$

Donde:

Z = Nivel de confianza (95%)

p = 0.5

C = Margen de error

En la población de 30 cabezas de ganado, se tomará una muestra de 29, para el análisis en laboratorio de su leche cruda. La selección se hará en el momento de la toma de muestras, ya que se debe considerar la probabilidad de que en ese momento en la población total una de las cabezas de ganado no esté produciendo.

4.4. Procedimientos de selección de muestra

Para seleccionar las cabezas de ganado de la población se utilizará un muestreo aleatorio simple. Es decir, cada vaca en la población tiene igual probabilidad de ser seleccionada para formar parte de la muestra

4.5. Método de muestreo

La leche cruda será recolectada de las vacas seleccionadas para la muestra utilizando técnicas estandarizadas de recolección de muestras de leche. En este caso utilizaremos las técnicas que se proponen en el “manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de la leche cruda” del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Los equipos, materiales y reactivos a utilizarse se describen en el apartado “5.1”, teniendo en consideración que los recipientes receptores de las muestras serán de vidrio para evitar errores en el proceso de detección de microplástico. El proceso de preparación del material requerido se detalla en el punto

“5.2”. Y la recolección y conservación de la muestra se detalla en el punto “5.3” del documento mencionado.

4.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos en el campo

Las observaciones realizadas en el campo se recolectaron en notas digitales después de entrevistar a los encargados de los animales. Las muestras recolectadas fueron de vacas raza Holstein, libres de enfermedades, con una edad promedio de 6 años y un peso saludable, las cuales en su totalidad se alimentan del pasto de la zona.

4.7. Procesamiento y análisis de datos

En el procesamiento y análisis de datos se emplearon herramientas informáticas como el programa Office Excel para la creación de tablas que permitieron clasificar y registrar los datos de las muestras de manera eficiente, garantizando la integridad y organización de la información. En dicha tabla de registro de muestras (*Anexo B*) se consignaron los datos de cada muestra identificada con su número y código correspondiente.

4.8. Plan de seguimiento y evaluación con relación al levantamiento de las muestras

El seguimiento y la evaluación del plan de muestreo incluirá una revisión de los procedimientos de selección de muestras y los métodos de recolección de datos para asegurar su validez y fiabilidad. Los resultados de la prueba de microplásticos serán evaluados y comparados con los datos de otras investigaciones para la presencia de microplásticos en alimentos, ya que no existen estándares establecidos en ninguna normativa del país, en cuanto a los resultados de concentración de plomo se procederá a su comparación con los requisitos de la normativa INEN 9:2012, para cada muestra.

4.9. Limitaciones y suposiciones con relación al levantamiento de las muestras

Una posible limitación de este plan de muestreo es debido a la falta de presupuesto ya que no se contaban con un número de envases de vidrio autoclavables tan amplio como para recolectar una mayor cantidad de muestras.

5. Variables

En este proyecto se presenta una variable independiente que hace referencia a las “cabezas de ganado” que como investigadores analizaremos con la finalidad de determinar la presencia de “microplásticos totales” (variable dependiente), el “tipo de microplástico” (variable dependiente) y la “concentración de plomo” (variable dependiente) en cada muestra de leche cruda. Además, como variables intervinientes tenemos el “método de alimentación”. Por ejemplo, si se obtiene la leche de vacas alimentadas con pasturas y suplementos naturales, es posible que haya una menor cantidad de microplásticos en comparación con la leche obtenida de vacas alimentadas con alimentos altamente procesados. Y también la “calidad del alimento”. Por ejemplo, en el agua utilizada para regar los pastos en los que pastan las vacas. Si el agua contiene altas concentraciones de plomo, es posible que las plantas absorban el plomo y que éste se transfiera a la leche de las vacas.

Tabla 3

Variables

| VARIABLE | TIPO | NATURALEZA |
|-------------------|---------------|---------------------|
| Cabezas de ganado | Independiente | Cualitativa ordinal |

| | | |
|-----------------------------------|---------------|-----------------------|
| Microplásticos totales (MPs/L) | Dependiente | Cuantitativa continua |
| Tipo de microplásticos | Dependiente | Cualitativa nominal |
| Plomo (mg/kg) | Dependiente | Cuantitativa continua |
| Método de alimentación | Interviniente | Cualitativa nominal |
| Calidad de alimento | Interviniente | Cualitativa ordinal |

Por Autores, 2023

6. Instrumentos y recolección de datos

Se utilizaron técnicas e instrumentos exhaustivos para la recolección de datos digitales, a través de los cuales se realizaron búsquedas en repositorios digitales, como Scopus, ScienceDirect, Redalyc y NCBI, para obtener documentos científicos relevantes para respaldar la investigación. Con el objetivo de encontrar las metodologías de extracción, evaluación y detección de microplásticos y plomo en leche cruda. La normativa propuesta por APA 7ma Edición se utilizó para la redacción científica, y la herramienta digital Mendeley se usó para las referencias bibliográficas. Se emplearon hojas de registro y tablas generadas con Office Excel para facilitar la recolección de información y cumplir con los objetivos de la investigación.

7. Análisis de datos

En el procesamiento y análisis de los datos se empleó el programa Office Excel como una herramienta de apoyo para crear tablas y gráficas, así como para realizar un análisis estadístico descriptivo. En las tablas se proporcionó información necesaria para el procesamiento de los datos

y determinar la cantidad, concentración, y demás dimensiones de la variable dependiente. Posteriormente, esta información se transformó en gráficas que facilitaron su análisis. Las tablas y las gráficas se encuentran en el capítulo IV Resultados y Discusión y en el capítulo V Conclusiones y Recomendaciones en el apartado Anexos

8. Equipos, Reactivos y Materiales

En la tabla 4 se presenta los equipos, materiales y reactivos empleados para el proceso de detección de microplásticos.

Tabla 4

Materiales, equipos y reactivos para análisis de microplástico

| Equipos | Materiales | Reactivos |
|--|--|------------------------------|
| Refrigerador | Frascos autoclavables de 1000 mL | Ácido acético (grado HPLC) |
| Sonicador | Vasos de precipitación de 250, 600 y 1000 mL | Peróxido de Hidrógeno al 30% |
| Equipo de filtración al vacío | Tamiz latón/acero inoxidable de 250 μ m | Agua destilada (grado HPLC) |
| Estufa | Tela de lino | Rojo de Nilo |
| Microscopio invertido de fluorescencia | Probetas de 100 mL | |
| FTIR | Matraz Kitasato 1000 mL Papel filtro | |

Filtros de celulosa de 10 μm

Cajas Petri

Portaobjetos

Por Autores, 2023.

En la tabla 5 se presenta los equipos, materiales y reactivos empleados para el proceso de detección de concentraciones de plomo en las muestras de leche cruda.

Tabla 5

Materiales, equipos y reactivos para detección de concentraciones de plomo

| Equipos | Materiales | Reactivos |
|--|---|----------------------------------|
| Espectrómetro de emisión atómica (ICP-OES) | Tubos cónicos de polipropileno de 50 mL con tapa rosca | Agua destilada (grado HPLC) |
| Horno microondas | Hielera | Ácido nítrico concentrado al 69% |
| Balanza Analítica | Geles refrigerantes | |
| Cámara de flujo laminar | Guantes de nitrilo | |
| Baño María | Rotulador de tinta indeleble | |
| Espectrómetro de emisión atómica (ICP-OES) | Matraz Erlenmeyer 250 mL | |
| Horno microondas | Micropipeta SUMEDIX de 100 μL a 1000 μL | |

| | |
|-------------------------|--|
| Balanza Analítica | Puntas azules 100-1000 μ L |
| Cámara de flujo laminar | Pipetas aforadas de 5 mL y 20 mL |
| Baño María | Probeta de 250 mL Embudos de vidrio Balones aforados de 50 mL y 500 mL Vasos de precipitación 250 mL y 1000 mL Argón grado 4.8 para espectrofotometría de emisión atómica Viales de teflón para digestión por microondas Papel filtro libre de ceniza |

Por Autores, 2023

9. Procedimiento experimental

9.1. Obtención de microplásticos en leche cruda

9.1.1. Coagulación de la leche.

Se tomó una muestra de 1 L de leche cruda y se calentó a 85°C con una hornilla en un vaso de precipitación, una vez alcanzada esa temperatura se agregó 100 mL de ácido acético (grado HPLC). Se dejó reposar durante 24 horas para permitir una buena coagulación.

9.1.2. Separación de la fase sólida y líquida.

Una vez coagulada la muestra se utilizó una tela de lino para separar la fase sólida y líquida en diferentes recipientes. En un proceso similar a la producción de queso casero. Una vez separadas las fases se procedió a tratar cada una por separado.

9.1.3. Proceso de tratamiento de la fase líquida.

9.1.3.1. Tamizaje.

Una vez obtenida la fase líquida en un vaso de precipitación con un volumen adecuado, se procedió a realizar un tamizaje a través de un tamiz de latón/acero inoxidable de 250 μm .

9.1.3.2. Digestión ácida.

Posterior al tamizado, se realizó una digestión con peróxido de hidrógeno al 30 %. El volumen de peróxido utilizado se estableció en 20 ml por cada 100 mL de muestra. Una vez agregado a la muestra se sometió la solución a ultrasonido durante 15 minutos a 55 °C y se dejó reposar durante 72 horas.

9.1.3.3. Microfiltración.

Al terminar la digestión, se realizó una filtración al vacío a 55 °C a través de un papel filtro de celulosa de 47 mm y un poro de 10 μm . Una vez filtrada toda la solución, se almacenó el filtro utilizado en una caja Petri de vidrio y se dejó secar a temperatura ambiente.

9.1.4. Proceso de tratamiento de la fase sólida.

9.1.4.1.Secado y pulverizado.

Se realizó un proceso de secado de la fase sólida durante 72 horas a 60 °C en una estufa. Una vez obtenida la materia seca se la pulverizó utilizando un mortero para generar el menor tamaño de partícula posible.

9.1.4.2.Lavado.

Se realizó un lavado de la materia pulverizada con 100 mL de agua destilada (grado HPLC).

9.1.4.3.Digestión.

Una vez hecho el lavado, se procedió a llevar a cabo una digestión de esta con 25 mL de peróxido de hidrógeno al 30 %, se sometió a ultrasonido durante 15 minutos a 55 ° y se dejó reposar durante 72 horas para degradar la materia orgánica.

9.1.4.4.Tamizado.

Al terminar la digestión, la solución degradada se pasó a través del tamiz de un latón / acero inoxidable de 250 µm para retener a materia orgánica residual y recuperar el líquido.

9.1.4.5.Filtración.

Descartados los sólidos, se filtró la solución restante mediante un papel filtro de celulosa con el fin de recuperar nuevamente la solución, pero con menor contenido graso.

9.1.4.6. Microfiltración.

Obtenida la solución final se realizó una filtración al vacío a 55 °C a través de un papel filtro de celulosa de 47 mm y un poro de 10 µm y se almacenó el filtro utilizado en una caja Petri de vidrio y finalmente se secó a temperatura ambiente.

9.2. Cuantificación y caracterización de microplásticos

El procedimiento se realizó con el uso del microscopio invertido de fluorescencia con lentes de aumento de 4x y 10x, y del software NIS-Element AR del equipo. Se analizaron los filtros obtenidos de los procesos de tratamiento de las fases sólida y líquida descritos previamente, y que posteriormente fueron rociados con rojo Nilo y secados por 1 h a 60 °C en una estufa con la finalidad de teñir los microplásticos. La cantidad de microplásticos presentes se determinó por conteo del número de partículas encontradas en el filtro dividido en cuadrantes, y la caracterización en fibras o fragmentos a través de la evaluación y medición de las micropartículas encontradas.

9.3. Determinación del tipo de microplástico

El tipo de microplástico obtenido se identificó mediante la utilización de un sistema de espectroscopia FTIR, el cual es sensible a las características químicas de dichas partículas. Dada la presencia de cierta cantidad de grasa en los filtros, una vez terminado el conteo y caracterización de los microplásticos en el microscopio, se procedió a realizar un lavado del filtro con 250 mL de agua destilada (grado HPLC) calentada a 60°C para retirar dicha grasa y no afectar los resultados del sistema FTIR. Para este fin se procedió a comparar la muestra utilizando el programa OMNIC con el porcentaje de similitud proveniente de las bibliotecas de polímeros y plásticos incluidas en dicho programa.

9.4. Identificación de los niveles de plomo en las muestras de leche cruda

9.4.1. Digestión por microondas MARS-6 de las muestras de leche cruda para identificación de plomo.

Se transfirió 4 mL de la muestra al recipiente de digestión. Posteriormente se añadió 10 mL de HNO₃. Se agitó suavemente la mezcla y esperar aproximadamente 15 minutos antes de cerrar el recipiente. Se siguió el programa de calentamiento sugerido por el equipo MARS 6 para una correcta digestión. Los tiempos de rampa y la potencia pueden variar en función del tipo y el número de buques. Como resultado se obtuvo una muestra clara, incolora y sin partículas al diluirla a 50 mL utilizando una solución de HNO₃ al 2%.

Tabla 6

Parámetros utilizados en el equipo de digestión por microondas

| Temperatura °C | Ramp (mm:ss) | Hold (mm:ss) | Power (W) | Stiring |
|-------------------------|---------------------------------------|---------------------|--|--------------------------------|
| 200 | 15:00 | 15:00 | 900:1800 | Off |
| Muestra (Leche) 4 mL | Reactivo 10 mL (HNO ₃) | Método One Touch | Tipo de Control Rampa de temperatura | Tipo de Muestra de Orgánica |

Nota: Parámetros tomados de la configuración del equipo Mars-6. Una vez realizada la digestión ácida, el contenido de los tubos teflón se purificó por medio de filtros libres de ceniza en balones de aforo de 50 mL de capacidad, los cuales se aforó con solución de Ácido Nítrico al 2% con agua tipo 1, por Autores, 2023

9.4.2. Análisis ICP

El análisis de plomo en leche cruda se realizó con el equipo ICP-OES. Esta técnica, utiliza un proceso en el cual se introduce de manera continua una muestra líquida y se forma un aerosol mediante un sistema de nebulización. Este aerosol es transportado por el gas argón hacia la antorcha del plasma, que está acoplada inductivamente mediante radiofrecuencia. Dentro del plasma, debido a las altas temperaturas que se generan, los analitos presentes en la muestra se atomizan e ionizan, dando lugar a la formación de espectros de emisión atómica con líneas características. Estos espectros son dispersados por una red de difracción, mientras que un detector sensible a la luz se encarga de medir las intensidades de dichas líneas. Toda esta información se procesa posteriormente por un sistema informático. En cuanto a los parámetros del método del equipo estos se describen en la tabla 7 a continuación.

Tabla 7

Parámetros del método

| | Radial | Axial |
|--------------------------------|---------------|--------------|
| Tiempo de exposición UV | 15 | 15 |
| Potencia de radiofrecuencia UV | 1150 | 1150 |
| Flujo de gas UV Neb | 0,5 | 0,5 |
| Tiempo de exposición VIS | 5 | 5 |
| Potencia RF VIS | 1150 | 1150 |
| Flujo de gas VIS nebulizador | 0,5 | 0,5 |
| Tasa de flujo de gas frío | 12 | 12 |
| Tasa de flujo de gas auxiliar | 0,5 | 0,5 |

Fuente: Autores, (2023)

Tabla 8*Longitud de onda para la detección de Pb*

| Símbolo | Longitud de onda (nm) / Orden | Modo de medida |
|----------------|--------------------------------------|-----------------------|
| Pb | 220.353 {453} | Axial |

Por Autores, 2023

9.5.Preparación de estándares para la curva de calibración

Debido a que el equipo ICP-OES tiene un amplio rango de detección para cada uno de los elementos de la tabla periódica, se procedió a realizar una curva de calibración para los estándares del Plomo. El estándar tuvo 1000 ppm de plomo, por lo que se procedió a realizar una solución madre de 10 ppm en un balón de 25 mL aforado con ácido nítrico al 2%. A partir de esta solución se realizó un proceso de dilución a 0.1 ppm, 0.025 ppm y 0.01 ppm. La solución utilizada como blanco fue ácido nítrico al 2%. Y finalmente al colocarlas en el equipo, se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0,9997, lo que sugirió que la curva de calibración se ajustaba adecuadamente a los datos y que existía una relación sólida entre la señal del detector y la concentración de la muestra.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Análisis y discusión de los resultados de microplástico

Tras analizar las muestras de leche cruda, se pudo constatar la existencia de microplásticos en cada una de las 29 muestras examinadas, es decir el 100% de ellas. Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

1.1. Caracterización de microplásticos

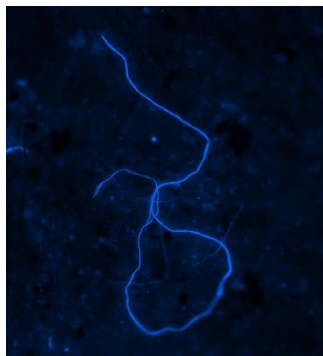
La caracterización de los microplásticos encontrados en el estudio se realizó mediante el uso del microscopio invertido de fluorescencia y el software NIS-Elements AR.

1.1.1. Morfología de los microplásticos

Los microplásticos identificados en el estudio se presentaron en forma de fibras y fragmentos, y se observó una notable variabilidad en su grosor y longitud, como se muestra en las figuras 1 y 2

Figura 1

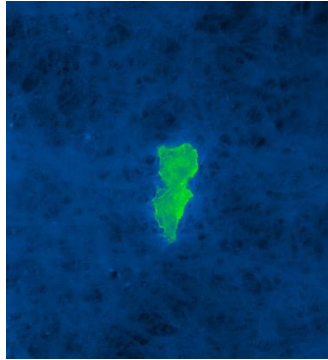
Microplástico en forma de fibra



Nota. Fibra observada en microscopio invertido de fluorescencia con aumento 4x, por Autores, 2023.

Figura 2

Microplástico en forma de fragmento



Nota. Fragmento observado en microscopio invertido de fluorescencia con aumento 4x, por Autores, 2023.

En las figuras 1 y 2 se pueden apreciar tanto las fibras (partículas cuyo largo es notablemente más prominente que su ancho) como los fragmentos (partículas sin una forma específica). En este estudio un 64% de las partículas encontradas se presentaron en forma de fibras y el 36% restante como fragmentos. Estos resultados en comparación con el estudio de Jiang et al. (2023) sobre microplásticos en sistemas de agua de riego donde también se clasificaron a estas partículas en fibras y fragmentos, las fibras representaron entre el 36% y el 64% de las partículas, lo que sugiere que las fibras fueron la forma más típica y abundante en ese entorno, y además sugieren una posible fuente común de contaminación ya que los microplásticos presentes en los sistemas de riego pueden ingresar a la cadena alimentaria y por consiguiente en la leche cruda. Sin embargo, en contraste con el estudio realizado por Diaz et al., (2020) en muestras de distintos

alimentos, entre ellas la leche descremada, se clasificaron a las micropartículas de plástico encontradas en forma de fibras y fragmentos, pero con una mayor presencia de fragmentos en comparación a las fibras en sus distintas muestras. Esta diferencia en la proporción de fibras y fragmentos entre los estudios sugiere que la composición y origen de las partículas de microplásticos pueden variar según el tipo de alimento o la fuente de la muestra.

1.1.2. Determinación del tamaño de microplásticos:

Tabla 9

Rango de tamaño de las partículas

| Muestra | Fibras (μm) | Fragmentos (μm^2) |
|----------------|--|--|
| M 01 | 13,82 - 1724,54 | 10,14 - 152,33 |
| M 02 | 23,43 - 1839,02 | 16,72 - 112,06 |
| M 03 | 18,26 - 1773,12 | 23,57 - 164,29 |
| M 04 | 11,16 - 1428,91 | 12,44 - 91,82 |
| M 05 | 12,10 - 1692,70 | 26,09 - 133,95 |
| M 06 | 14,37 - 1827,68 | 33,25 - 148,02 |
| M 07 | 21,84 - 1317,96 | 13,78 - 247,57 |
| M 08 | 20,07 - 882,74 | 11,63 - 110,30 |
| M 09 | 17,22 - 1003,55 | 27,03 - 209,13 |
| M 10 | 32,68 - 773,83 | 10,12 - 113,71 |
| M11 | 24,36 - 1401,82 | 24,69 - 87,04 |
| M 12 | 18,55 - 2209,27 | 19,20 - 128,48 |
| M 13 | 12,48 - 2061,62 | 25,94 - 100,07 |

| | | |
|----------------------|------------------------|-----------------------|
| M14 | 35,06 - 1074,24 | 31,83 - 74,63 |
| M 15 | 12,29 - 547,31 | 11,64 - 195,77 |
| M 16 | 16,66 - 2587,33 | 20,09 - 238,40 |
| M 17 | 15,24 - 794,29 | 22,37 - 183,91 |
| M 18 | 13,46 - 955,13 | 17,41 - 95,03 |
| M 19 | 11,51 - 2268,42 | 24,89 - 147,60 |
| M 20 | 33,75 - 1027,14 | 18,58 - 125,39 |
| M 21 | 26,82 - 848,77 | 12,26 - 66,04 |
| M 22 | 20,33 - 1819,10 | 21,12 - 131,56 |
| M 23 | 27,19 - 1562,40 | 26,15 - 134,88 |
| M 24 | 14,57 - 2014,86 | 29,12 - 197,16 |
| M 25 | 27,06 - 3084,04 | 22,18 - 161,39 |
| M 26 | 24,80 - 1734,18 | 30,15 - 147,93 |
| M 27 | 27,62 - 602,95 | 15,90 - 58,31 |
| M 28 | 13,95 - 1357,23 | 25,00 - 219,06 |
| M 29 | 21,54 - 927,16 | 20,17 - 193,74 |
| Rango General | 11,16 - 3084,04 | 10,12 - 247,57 |

Nota. Esta tabla se muestran los rangos de tamaño correspondientes a las fibras y fragmentos de cada muestra. por Autores, 2023.

En la tabla 7 se manifiestan los rangos de tamaño de las partículas encontradas. Para las fibras, se registraron longitudes que van desde 11,16 hasta 3084,04 μm , mientras que, para los fragmentos, las áreas oscilaron entre 10,12 y 247,57 μm^2 . Comparando estos resultados con los de Diaz et al., (2020) se encontraron tamaños de partículas en un rango más amplio. En particular, en

este estudio, se registraron tamaños máximos en μm de 6742,4 para las fibras y 247,54 para los fragmentos, lo que indica una mayor variabilidad en el tamaño de las fibras de microplásticos presentes en las muestras de leche cruda en comparación con los fragmentos. De igual forma al comparar estos resultados con los obtenidos en un estudio realizado por Shruti et al. (2020) en diferentes tipos de bebidas comunes, se detectaron microplásticos en 48 de las 57 muestras analizadas, con tamaños de 0,1 a 3 mm y formas diversas, incluyendo fibras y fragmentos, por lo que se infiere que las partículas de microplásticos en las bebidas parecen ser más pequeñas en promedio que las encontradas en la leche cruda. También comparando estos resultados con los obtenidos en el estudio de Kutralam-Muniasamy et al. (2020) en 23 muestras de leche de marca, se encontraron microplásticos en forma de fibras y fragmentos y tamaños que oscilan entre 0,1-5 mm, donde predominaron las fibras con un tamaño menor a 0,5 mm. A pesar de que ambos estudios identificaron microplásticos en la leche, se observan diferencias significativas en el tamaño de estas partículas. Estas discrepancias pueden deberse a las diferentes fuentes y procesos de producción involucrados en la obtención de la leche cruda directamente de origen animal y en el envasado de la leche de marca.

1.1.3. Cuantificación de partículas de microplásticos

En el proceso de cuantificación, se utilizó el microscopio invertido de fluorescencia y el software NIS-Elements AR para determinar la cantidad de fibras y fragmentos en cada una de las muestras analizadas en sus fases sólida y líquida. Los resultados de esta investigación se presentan en la tabla 7, donde se observa la cantidad total de microplásticos encontrados por muestra. Esta cifra representa la suma de las partículas encontradas en la fase sólida y líquida, es decir su concentración, expresada como microplásticos por litro (MPs/L).

Tabla 10*Cantidad de micropartículas plásticas encontradas*

| Muestra | Fase líquida | | | Fase sólida | | | Concentración (MPs/L) |
|----------------|---------------------|-------------------|--------------|--------------------|-------------------|--------------|----------------------------------|
| | Fibras | Fragmentos | Total | Fibras | Fragmentos | Total | |
| M 01 | 5 | 2 | 7 | 48 | 27 | 75 | 82 |
| M 02 | 7 | 0 | 7 | 56 | 21 | 77 | 84 |
| M 03 | 10 | 1 | 11 | 50 | 29 | 79 | 90 |
| M 04 | 10 | 2 | 12 | 45 | 33 | 78 | 90 |
| M 05 | 9 | 0 | 9 | 44 | 30 | 74 | 83 |
| M 06 | 11 | 2 | 13 | 46 | 35 | 81 | 94 |
| M 07 | 9 | 3 | 12 | 43 | 34 | 77 | 89 |
| M 08 | 10 | 0 | 10 | 49 | 22 | 71 | 81 |
| M 09 | 8 | 2 | 10 | 35 | 35 | 70 | 80 |
| M 10 | 6 | 1 | 7 | 41 | 30 | 71 | 78 |
| M11 | 7 | 0 | 7 | 35 | 30 | 65 | 72 |
| M 12 | 4 | 2 | 6 | 44 | 28 | 72 | 78 |
| M 13 | 10 | 0 | 10 | 43 | 30 | 73 | 83 |
| M14 | 10 | 1 | 11 | 43 | 28 | 71 | 82 |
| M 15 | 6 | 1 | 7 | 43 | 27 | 70 | 77 |
| M 16 | 6 | 1 | 7 | 51 | 27 | 78 | 85 |
| M 17 | 5 | 1 | 6 | 46 | 32 | 78 | 84 |
| M 18 | 10 | 1 | 11 | 39 | 36 | 75 | 86 |

| | | | | | | | |
|--------------|----|---|----|----|----|----|----|
| M 19 | 8 | 0 | 8 | 36 | 35 | 71 | 79 |
| M 20 | 8 | 2 | 10 | 42 | 30 | 72 | 82 |
| M 21 | 4 | 2 | 6 | 46 | 21 | 67 | 73 |
| M 22 | 9 | 1 | 10 | 50 | 26 | 76 | 86 |
| M 23 | 9 | 0 | 9 | 60 | 22 | 82 | 91 |
| M 24 | 9 | 1 | 10 | 48 | 20 | 68 | 78 |
| M 25 | 11 | 3 | 14 | 51 | 24 | 75 | 89 |
| M 26 | 9 | 1 | 10 | 46 | 21 | 67 | 77 |
| M 27 | 7 | 1 | 8 | 44 | 28 | 72 | 80 |
| M 28 | 6 | 1 | 7 | 46 | 34 | 80 | 87 |
| M 29 | 8 | 4 | 12 | 42 | 28 | 70 | 82 |
| Media | 8 | 1 | 9 | 45 | 28 | 74 | 83 |

Nota. En la tabla se muestran las cantidades de microplásticos encontrados en forma de fibras y fragmentos en las fases sólida y líquida de la leche, y su concentración final, por Autores, 2023.

En la tabla 8 se observa que existe la presencia de microplásticos en todas las muestras analizadas con un promedio de 83 MPs/L. También se aprecia una variabilidad en los resultados individuales de cada muestra, pero no se detectan diferencias significativas entre ellos. Por otra parte, en los datos obtenidos por Diaz et al., (2020) en muestras de distintos alimentos como leche descremada, cerveza, miel y refrescos, donde se encontró una cantidad de microplásticos entre 10 y 100 MPs/L, con un promedio de alrededor de 40 MPs/L, el cual comparado con el promedio obtenido de muestras de leche cruda presenta una menor concentración de microplásticos por litro. Esto sugiere que los microplásticos se encuentran en una amplia variedad de productos, sin

importar si la muestra proviene directamente de origen animal, como en el caso de la leche cruda, o si se trata de productos envasados. En contraste, en el estudio de Zipak et al. (2022) sobre la producción de yogur, se encontró un total de 171 partículas microplásticas en los filtros de doce pasos del proceso, con una concentración predominante en el rango de 20 a 580 partículas por litro, lo que hace evidente que la concentración de microplásticos en las muestras de leche cruda es menor en general que en el proceso de producción de yogur, lo que sugiere que los niveles de contaminación pueden variar significativamente según el tipo de alimento y el proceso de producción.

1.2. Identificación de microplásticos

1.2.1. Tipos de microplásticos

Para la identificación del tipo de microplásticos presentes en las muestras, se utilizó un microscopio invertido de fluorescencia para detectar las partículas y localizarlas para su posterior análisis. Aquellas partículas seleccionadas fueron procesadas con FTIR mediante el software OMNIC y los espectros generados se compararon con bibliotecas de plásticos y polímeros. Los resultados se tabularon en la tabla 11, mostrando el porcentaje de abundancia de cada tipo de microplástico en las 29 muestras.

Tabla 11

Porcentaje de polímeros presentes en las muestras

| | Tipo de polímero | | | | | |
|-------------------|-------------------------|-------------|---------------|-----------|-----------|--------------|
| | PE | PTFE | Nailon | PS | PP | Otros |
| Porcentaje | 77 | 11 | 6 | 3 | 2 | 1 |

Nota. En esta tabla se presentan los porcentajes del tipo de plástico de mayor incidencia en las muestras de leche cruda, por Autores, 2023.

En la Tabla 11 se refleja la composición en términos de porcentaje de los diferentes tipos de microplásticos presentes. Los resultados revelaron que el polietileno (PE) fue el tipo más común, representando aproximadamente el 77% de los microplásticos detectados. El politetrafluoroetileno (PTFE) fue el siguiente en frecuencia, con un porcentaje del 11%, seguido del nailon (6%), el poliestireno (PS) (3%), el polipropileno (PP) (2%) y otros tipos (1%). Estos resultados contrastan con los encontrados en el estudio de Diaz et al., (2020) en diferentes muestras de alimentos, donde los principales microplásticos encontrados fueron el polietileno, el polipropileno y la poliacrilamida. La coincidencia en la presencia de polietileno y polipropileno en ambos conjuntos de resultados puede indicar que estos polímeros son comunes en una amplia gama de productos, independientemente de si la muestra es directamente de origen animal, como la leche cruda, o de productos envasados. Por otro lado al comparar estos resultados con los obtenidos en el estudio de Ragusa et al. (2022) sobre detección y caracterización de microplásticos en la leche materna humana con micro espectroscopía Raman, se observó que las micropartículas más abundantes en esa investigación estaban compuestas principalmente por polietileno, cloruro de polivinilo y polipropileno. Aunque hay similitudes en la presencia de polietileno en ambas muestras, se observan diferencias significativas en la composición general de los microplásticos entre la leche cruda y la leche materna humana. Estas discrepancias podrían atribuirse a las distintas fuentes de contaminación de los microplásticos en cada tipo de muestra. De igual forma en el estudio de Li et al. (2023) que utilizó un espectrómetro de imágenes infrarrojas láser Agilent 8700 para analizar muestras de leche materna, fórmula infantil, entre otros. Se identificaron

dieciséis tipos de microplásticos, siendo la poliamida y el poliuretano los más predominantes. Aunque ambos estudios muestran la presencia de diversos tipos de microplásticos, se observan diferencias en las proporciones y tipos específicos identificados. Estas diferencias podrían deberse a variaciones en las fuentes de contaminación de los microplásticos en cada estudio.

1.3. Estadística descriptiva

Tabla 12

Estadística descriptiva de la cantidad de microplásticos en las muestras

| Indicador | Valor |
|--------------------------------|--------------|
| Media | 83 |
| Error típico | 1,00 |
| Mediana | 82 |
| Moda | 82 |
| Desviación estándar | 5,36 |
| Varianza de la muestra | 28,72 |
| Curtosis | -0,34 |
| Coficiente de asimetría | 0,06 |
| Rango | 22 |
| Mínimo | 72 |
| Máximo | 94 |
| Suma | 2402 |
| Numero de muestras | 29 |

Nota. En la tabla se observa la estadística referente a la cantidad total de microplásticos presentes en las muestras, misma que se realizó con Office Excel con nivel de confianza del 95%, por Autores, 2023.

El análisis de los resultados de estadística descriptiva sobre la concentración de microplásticos en un litro de leche cruda revela que la media de microplásticos encontrados es de 83. Al observar el valor del error típico, que es de 1, podemos inferir que los datos se encuentran relativamente cercanos a la media, lo que sugiere que existe cierta consistencia en la concentración de microplásticos en las muestras de leche cruda analizadas. Además, la desviación estándar, con un valor de 5,36, da a entender que hay una ligera variabilidad en la concentración de microplásticos en las muestras, pero al ser un valor relativamente bajo, podemos inferir que la mayoría de las muestras se encuentran en una franja cercana a la media.

2. Análisis y discusión de los resultados de concentraciones de plomo

Tras el análisis en el ICP-OES se procede a la transformación de unidades de los resultados obtenidos partiendo de ppm a mg/Kg. La concentración de plomo en las muestras se obtiene mediante la siguiente ecuación donde se considera el factor de dilución:

$$\text{Contenido de Pb} \frac{mg}{Kg} = \frac{\text{Lectura} \cdot 50 mL}{P} \quad P = V \cdot d$$

Lectura: resultado del equipo ICP-OES

P: Peso de la muestra en gramos

V: Volumen 4 mL

d: Densidad de la leche cruda 1.013 g/mL

De las 29 muestras de leche cruda que se analizaron para presencia de plomo se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 13

Resultados de metales pesados Plomo por absorción atómica ICP-OES en las muestras de leche de leche cruda (muestras 29)

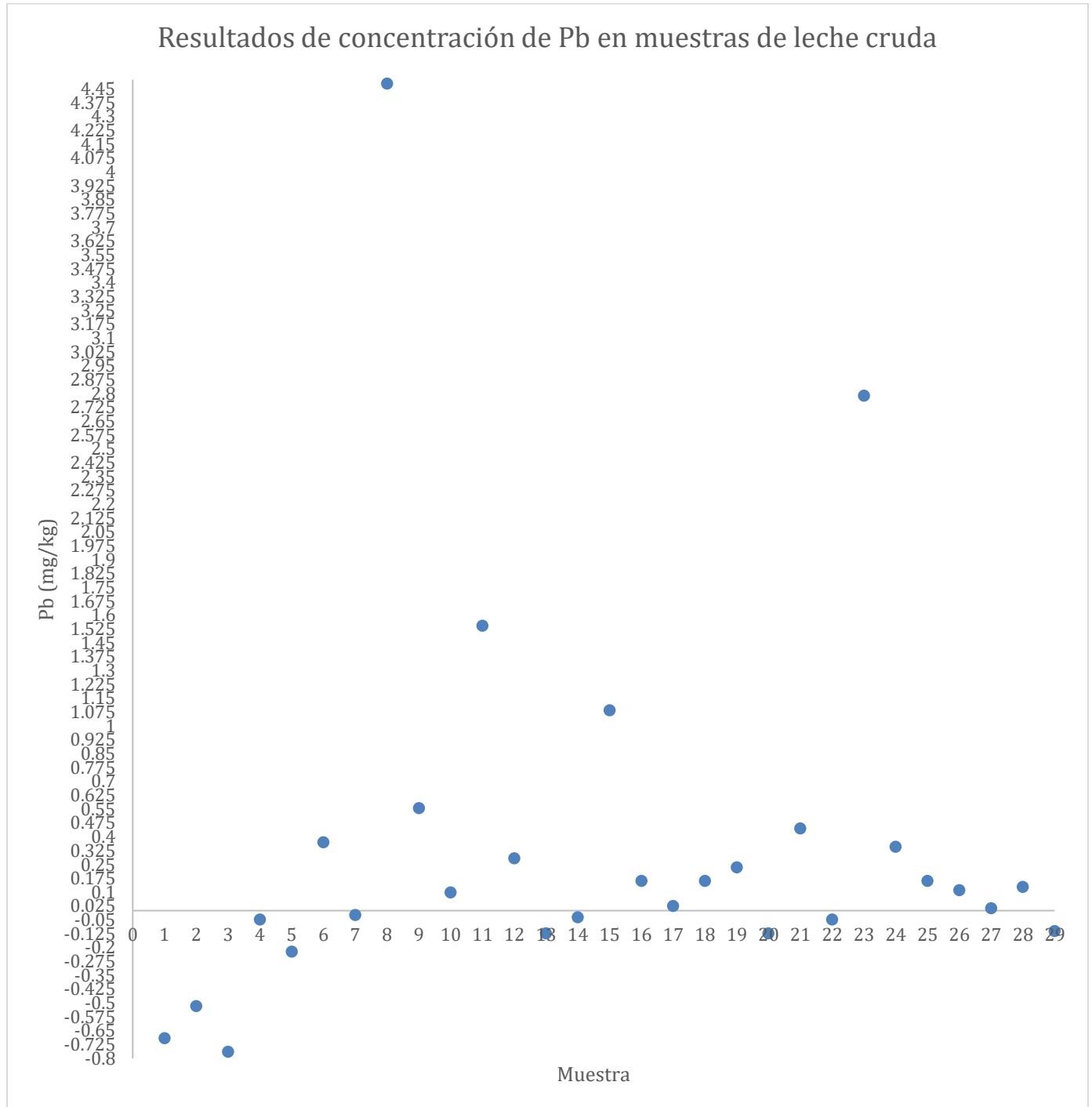
| MUESTRA | PLOMO (mg/kg) | CUMPLE | | MUESTRA | PLOMO (mg/kg) | CUMPLE | |
|---------|------------------|--------|-----------|---------|------------------|--------|-----------|
| | | CON LA | NORMATIVA | | | CON LA | NORMATIVA |
| M01 | ND | No | | M16 | 0,1604 | Si | |
| M02 | ND | No | | M17 | 0,0246 | Si | |
| M03 | ND | No | | M18 | 0,1604 | Si | |
| M04 | ND | No | | M19 | 0,2344 | Si | |
| M05 | ND | No | | M20 | ND | No | |
| M06 | 0,3701 | Si | | M21 | 0,444 | Si | |
| M07 | ND | No | | M22 | ND | No | |
| M08 | 4,479 | Si | | M23 | 2,788 | Si | |
| M09 | 0,555 | Si | | M24 | 0,345 | Si | |
| M10 | 0,098 | Si | | M25 | 0,1604 | Si | |
| M11 | 1,542 | Si | | M26 | 0,111 | Si | |
| M12 | 0,283 | Sí | | M27 | 0,012 | No | |
| M13 | ND | No | | M28 | 0,128 | Si | |
| M14 | ND | No | | M29 | ND | No | |

| | | |
|-----|-------|----|
| M15 | 1,085 | Si |
|-----|-------|----|

Nota. Los valores ND (no detectables) hacen referencia a los valores por debajo del límite de detección por Autores, 2023.

Figura 3

Concentraciones de Pb correspondientes a cada una de las 29 muestras de leche cruda



Nota. Se puede apreciar en la gráfica de dispersión los valores obtenidos para las concentraciones de plomo correspondientes a cada una de las 29 muestras, por Autores, 2023.

2.1. Concentraciones de plomo en muestras analizadas

Se procedió a realizar la prueba de hipótesis de una muestra, con un nivel de significancia del 0.05. Y se establecieron las siguientes hipótesis:

- Hipótesis Nula (H0): Las concentraciones de plomo son mayores o iguales a 0,02 mg/kg, representada por $H_0 \geq 0,02 \text{ mg/kg}$
- Hipótesis Alternativa (H1): Las concentraciones de plomo son menores a 0,02 mg/kg, representada por $H_1 < 0,02 \text{ mg/kg}$

Tabla 14

Prueba de hipótesis de una muestra t.test

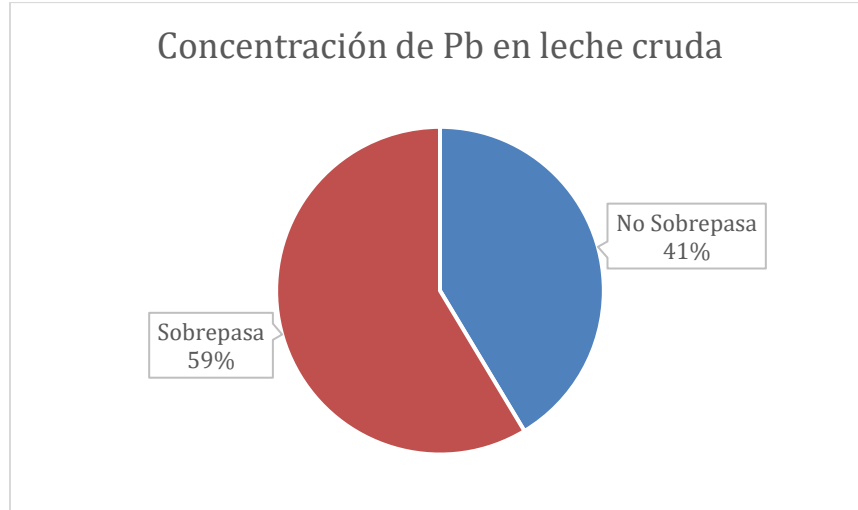
| <i>Prueba de hipótesis de una muestra</i> | |
|--|--------|
| Valor de t calculado | 2.3629 |
| Grados de libertad (df) | 28 |
| Valor p | 0.9873 |
| Nivel de significancia | 0.05 |

Nota. La prueba se realizó mediante el software estadístico R-Studio, por Autores, 2023.

Estadísticamente, con un valor de p de 0.9873 mayor al valor de significancia de 0.05, se acepta la hipótesis nula (H0), por lo que se demuestra que los niveles de plomo de las muestras analizadas se encuentran por encima del límite permisible de 0.02 mg/kg. Esto indica que, en la población analizada, no se cumple con los estándares establecidos para la concentración de plomo en la leche cruda.

Figura 4

Porcentajes de muestras de leche cruda que sobrepasan y las que no sobrepasan la concentración máxima de plomo propuesta por la NTE INEN 9:2012



Nota. En el grafico se observa la diferencia de las muestras que sobrepasan y las que no sobrepasan el límite máximo permitido de Plomo acorde a la NTE INEN 9:2012. Estos valores generan gran preocupación ya que recientes estudios demuestran que el plomo se encuentra como uno de los elementos carcinógenos en humanos, acorde a European Food Safety Authority, causando severos daños en pulmones, estómago y cerebro.

Tabla 15

Comparación de los niveles de plomo en las 29 muestras de leche cruda con los valores permisibles establecidos por normas internacionales y nacionales

| Análisis | Norma | Estándar | Promedio | Número de |
|----------|-------|---------------|----------|--------------|
| | | Internacional | obtenido | muestras que |

| | | | | superar el |
|-------|----------------------------|------------|----------|-------------------|
| | | | | límite |
| Plomo | Codex | 0,02 mg/kg | 0,447597 | 17/29=59% |
| | Alimentarius; FAO & OMS | | | |
| | INEN | 0,02 mg/kg | | |

Nota. Acorde con los datos de WHO, (2022) Los niños son especialmente vulnerables a los efectos tóxicos del plomo y pueden sufrir importantes y permanentes consecuencias negativas para su bienestar, sobre todo en el desarrollo del cerebro y el sistema nervioso. El plomo también causa daños a largo plazo en los adultos, entre ellos un mayor riesgo de hipertensión y daños renales. La exposición de las mujeres embarazadas a altos niveles de plomo puede provocar partos prematuros, mortinatos y bajo peso en el recién nacido.

En la tabla 16 se puede observar el promedio obtenido de concentración de plomo acorde a las 29 muestras de leche cruda analizadas. También se observa el porcentaje de muestras que superan el límite internacional permitido con un valor de 59%, al comparar este dato con otros estudios como el de Rodríguez López, (2016) quien determinó mediante GFAAS que el 96,55% de las muestras de leche cruda superaban el límite máximo permisible en 29 ganaderías de Ecuador, el valor obtenido varía considerablemente.

El valor promedio de plomo obtenido en las 29 muestras de leche cruda analizadas refleja un resultado de 0,447597 mg/kg, este valor se encuentra 22 veces por encima del valor máximo permitido por las normativas internacionales y nacionales contrastarlo con el estudio de Pernía et al., (2014), en el que se analizó mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica en la ciudad

de Guayaquil, Ecuador leche de vaca en distintas presentaciones, reveló que la concentración de plomo excedía 272 veces el límite máximo permitido según las regulaciones del Codex Alimentarius.

Al comparar los resultados obtenidos expuestos en la tabla 16, apenas el 59% de las muestras superaron el límite máximo permitido por las normativas, mientras que en el estudio de Condori & Málaga, (2021) en Perú el 100% de las muestras superan el límite máximo permitido por las normativas, lo mismo sucede con el estudio de Meshref et al. (2014) realizado en Egipto que concluye que la totalidad de sus muestras superaban el límite propuesto por el Codex Alimentarius.

2.2. Estadística descriptiva

Tabla 16

Parámetros estadísticos de los niveles de plomo de las 29 muestras de leche cruda

| Indicador | Valor |
|----------------------------------|--------------|
| Media | 0,447597 |
| Error típico | 0,180966 |
| Mediana | 0,111 |
| Moda | 0 |
| Desviación estándar | 0,974531 |
| Varianza de la muestra | 0,94971 |
| Curtosis | 11,19029 |
| Coefficiente de asimetría | 3,256249 |

| | |
|---------------------------|---------|
| Rango | 4,479 |
| Mínimo | 0 |
| Máximo | 4,479 |
| Suma | 12,9803 |
| Numero de muestras | 29 |

Nota. En la tabla se observa la estadística referente a la concentración de presentes en las muestras, misma que se realizó con Office Excel con nivel de confianza del 95%, por Autores, 2023.

Con un nivel de confianza del 95%, el análisis de los resultados de estadística descriptiva sobre la concentración de plomo en las 29 muestras de leche cruda revela una media de concentración de plomo de 0,447597 lo cual se encuentra 22 veces por encima del límite máximo permisible acorde con las normativas nacionales e internacionales. Con un error típico de 0,180966, podemos decir que la media muestral es bastante precisa y confiable para representar la tendencia central de la población subyacente. Además, la desviación estándar, con un valor de 0,974531 indica que los valores individuales están dispersos, lo que sugiere que los datos son bastante variados. Los valores mínimos registrados representados por 0 fueron valores no detectables, es decir por debajo del límite de detección. El valor máximo que se detecto fue de 4,479 mg/kg en una de las 29 muestras de leche cruda.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Conclusiones

1.1. Conclusiones microplástico

- En el presente estudio se logró determinar la presencia de microplásticos en el 100% de las muestras de leche cruda de la provincia del Azuay. La presencia de microplásticos en todas las muestras de leche cruda hace evidente la exposición a estos contaminantes en este tipo de alimento que consumimos diariamente.
- El plan de muestreo generado cumple lo que establece la norma vigente del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca fue fundamental para evaluar la presencia de microplásticos en muestras de leche cruda de la provincia del Azuay. Al establecer y seguir un enfoque metodológico preciso y representativo, hemos obtenido datos confiables y significativos que permiten evaluar el nivel de contaminación por microplásticos y plomo en este alimento.
- El análisis de las concentraciones de microplásticos a través de pruebas de laboratorio ha arrojado resultados contundentes que muestran un rango de 72 a 94 microplásticos por litro, y una concentración promedio de 83 microplásticos por litro, determinando que existe presencia de microplásticos en la leche cruda.

- La comparación de estos resultados con bases de datos demuestra la validez de nuestras conclusiones, ya que en varios estudios similares se evidencia la presencia de microplásticos con resultados similares a los nuestros. La consistencia entre nuestros hallazgos y los de otros investigadores refleja que nuestros métodos de muestreo y análisis fueron confiables y eficientes.
- De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la caracterización de las partículas de microplásticos presentes en la leche cruda, se determina que un 64% de las partículas encontradas fueron en forma de fibras y el 36% restante como fragmentos. Valores que coinciden con los de otros estudios similares realizados.
- Las fibras presentaron un rango de longitud entre 11,16 y 3084,04 μm , mientras que los fragmentos presentaron un rango de áreas de 10,12 y 247,57 μm^2 . Revelando la variedad de tamaños de las diferentes formas de microplásticos presentes en la leche cruda.
- El análisis del tipo de microplástico estableció al polietileno como el tipo de plástico más predominante con un 77%, seguido de politetrafluoroetileno con un 11%, nailon con un 6%, poliestireno con un 3%, polipropileno con un 2%, y otros tipos con un 1%. Evidenciando los distintos tipos de plástico presentes en la leche cruda.
- El análisis estadístico ha permitido establecer estos resultados como una línea base que va a permitir a la comunidad científica identificar en dónde se encuentran acumulándose este

tipo de parámetros en futuras investigaciones que aborden de manera adecuada esta problemática.

- Finalmente se da respuesta a la pregunta de investigación en base a los resultados de este estudio que demuestran de manera evidente la presencia de microplásticos en la leche cruda en la provincia del Azuay.

1.2. Conclusiones metales pesados

- De las 29 muestras de leche cruda recolectadas en la provincia del Azuay al ser analizadas para detectar las concentraciones de plomo mediante el equipo ICP-OES se logró determinar que existe presencia de plomo por encima de los niveles permitidos por la normativa en el 59% de las muestras recolectadas.
- El valor máximo detectado de plomo en las muestras de leche cruda de la zona estudiada es de 4,479 mg/kg.
- No obstante 12 de las 29 muestras de leche cruda recolectadas para el estudio, presentaron valores no detectables, es decir por debajo del límite de detección.
- La media de las 29 muestras es de 0,447597 mg/kg de plomo, al analizar este resultado acorde al análisis estadístico y al compararlo con la normativa INEN 9:2012 se demuestra que existe una considerable contaminación de plomo en la leche cruda de la zona estudiada.
- La presencia de plomo puede deberse a varias fuentes entre ellas podemos determinar, la cercanía de la granja con el área urbana y también a zonas mineras, la proximidad con vías de alto tráfico, al igual que la presencia de afluentes naturales de la zona.

- Se supone que el ingreso de plomo puede provenir directamente de la alimentación del animal, esto quiere decir que en la fuente de agua y suelo debe existir presencia de plomo.
- Al comparar los resultados obtenidos con los encontrados en distintas bases de datos se concluye que existe la presencia de plomo como contaminante por encima del límite máximo permitido en la leche cruda, tanto a nivel del Ecuador, como internacionalmente, causando preocupación por la seguridad alimentaria y el control que existe sobre está a nivel nacional.

2. Recomendaciones

2.1. Recomendaciones microplásticos

- Se recomienda optimizar la metodología empleada para la detección y cuantificación de microplásticos en leche cruda, ya que la mayoría de los estudios sobre esto se han realizado en agua, y por ende se procedió a implementar una nueva metodología para este fin.
- Se aconseja que, para obtener resultados más representativos, ampliar el muestreo a diferentes localizaciones y granjas. Lo que permitirá tener una visión más completa de la presencia de microplásticos en la leche cruda en el Austro ecuatoriano
- Finalmente se propone impulsar la investigación en seguridad alimentaria, dada la presencia de microplásticos en un alimento tan básico como la leche cruda, así como sus posibles implicaciones para la salud pública y el ambiente.

2.2. Recomendaciones metales pesados

- Se aconseja a las autoridades encargadas de la calidad de la leche (Agrocalidad) que refuercen las campañas de concientización sobre el uso adecuado de agroquímicos,

baterías, pinturas con metales pesados y desechos de origen metálico, con el propósito de reducir la contaminación en los alimentos. También se sugiere realizar análisis periódicos de metales pesados en las industrias lácteas, utilizando laboratorios certificados, para mantener controlados los niveles presentes y evaluar si representan un riesgo para la salud de los consumidores.

- Además, se propone llevar a cabo estudios en cada provincia que tenga centros de acopio importantes para la industria láctea o donde existan industrias lácteas significativas. Estos estudios deberían abarcar distintos tipos de leche y recopilar un mayor número de muestras, desde los campos hasta las plantas procesadoras, con el fin de detectar los puntos de contaminación por metales pesados.
- Como último aspecto, se sugiere realizar un estudio detallado acerca del agua y los terrenos que rodean los centros de acopio y las haciendas proveedoras de leche cruda. Este análisis exhaustivo tiene como propósito identificar posibles fuentes de contaminación por metales pesados u otros elementos que puedan afectar la calidad de la leche y, por consiguiente, la seguridad de los productos alimenticios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceromafe. (2021, January 5). Qué es y para qué sirve en polietileno en la industria. Aceromafe. <https://www.aceromafe.com/que-es-el-polietileno/>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2021). Toxicological profile for lead. <https://doi.org/10.15620/cdc:95222>
- AGQ Labs Chile S.A. (2017). Análisis químico, medir es comparar. AGQ. <https://agqlabs.cl/wp-content/uploads/Analisis-quimico-medir-es-comparar.pdf>
- Aguilera, C. M., & Martínez, O. (2017). Leche y Derivados Lácteos. In A. Gil Hernandez (Ed.), Tratado de nutrición: Bases moleculares de la nutrición: Vol. II (pp. 79–93). Editorial Médica Panamericana.
- Ahmed, A., Amin, W., Amin, M., & Ghetany, R. (2020). ASSESSMENT OF LEAD, CADMIUM AND SELENIUM LEVELS IN SOME DRIED MILK SOLD IN MARKETS. Assiut Veterinary Medical Journal, 66(164), 92–102.
- Altunışık, A. (2023). Prevalence of microplastics in commercially sold soft drinks and human risk assessment. Journal of Environmental Management, 336, 117720.
- Ashter, S. A. (2022). Low performance demand plastics and elastomers for medical devices (pp. 79–89). William Andrew Publishing.
- ATSDR. (2021, March 17). Resumen de Salud Pública: Plomo (Lead). Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs13.html
- Bonyadian, M., Fallahi, H., & Abasvali, M. (2022). Assessment of Changes in Levels of Mercury, Lead, Cadmium, and Arsenic in Raw Milks during Milk Powder Production. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 16(4), 77–85.

Bosnak, C., Pruszkowski, E., & Neubauer, K. (2008, October 1). The Analysis of Food Substances by ICP-MS. Spectroscopy Online.

<https://www.spectroscopyonline.com/view/analysis-food-substances-icp-ms>

Castañeta, G., Gutiérrez, A. F., Nacaratte, F., & Manzano, C. A. (2020). MICROPLÁSTICOS: UN CONTAMINANTE QUE CRECE EN TODAS LAS ESFERAS AMBIENTALES, SUS CARACTERÍSTICAS Y POSIBLES RIESGOS PARA LA SALUD PÚBLICA POR EXPOSICIÓN. *Revista Boliviana de Química*, 37(3), 160–175.

Center for Food Safety, & Nutrition, A. (2018, November 8). Los peligros de la leche cruda: La Leche sin Pasteurizar Puede Representar un Riesgo Grave Para la Salud. U.S. Food and Drug Administration; FDA. <https://www.fda.gov/es/node/390100>

Centurión Cabanillas, C., Zuloeta Romero, S., & Vásquez Wong, F. (2009). Comparativo de tres coagulantes en la elaboración de queso fresco. *Pueblo Continente*, 20(2), 399–408.

Chirinos-Peinado, D., Castro-Bedriñana, J., Ríos-Ríos, E., Mamani-Gamarra, G., Quijada-Caro, E., Huacho-Jurado, A., & Nuñez-Rojas, W. (2022). Lead and Cadmium Bioaccumulation in Fresh Cow's Milk in an Intermediate Area of the Central Andes of Peru and Risk to Human Health. *Toxics*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/toxics10060317>

Choque, G. (2015). Determinación de los niveles de plomo y cadmio en leche procesada en la ciudad de Bogotá D.C.

https://www.lareferencia.info/vufind/Record/CO_628ee04fd6903537c1b31305d7a6aad9/Description#tabnav

Condori, R. G., & Málaga, J. (2021). Niveles de plomo y arsénico en leche y pelo de vacas lecheras del valle de Moquegua. *Revista de investigación Agropecuaria Science and Biotechnology*, 1(4), 10–17.

Coronel Balcazar, B. D., & Villanueva Tinta, M. (2022). Concentración de arsénico y plomo en leche cruda de vaca y el efecto de la salud en los consumidores del distrito de Huay Huay región Junín, 2020 - 2021" (G. Bravo Araujo (ed.)) [Universidad María Auxiliadora].

<https://hdl.handle.net/20.500.12970/773>

Crawford, C. B., & Quinn, B. (2017). Microplastic Pollutants (L. S. Kelleher & E. Thomson (eds.); p. 102). Elsevier Inc.

Diaz, M. F., Conesa, J. A., & Fullana, A. (2020). Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants. *Sustainability: Science Practice and Policy*, 12(14), 5514.

Encyclopedia Britannica. (1998). Nylon. In *Encyclopedia Britannica*. Britannica, T. Editors of Encyclopedia. <https://www.britannica.com/science/nylon>

ESGRAF. (2020, April 8). Horno de grafito: principales usos en equipo instrumental. ESGRAF. <https://esgraf.com.mx/blog/posts/usos-del-horno-de-grafito.html>

EsMarEs. (2016, October 24). Estudio sobre cuantificación de fuentes de microplásticos e identificación de posibles medidas para su reducción en la fuente. *Estrategias Marinas de España*. https://www.miteco.gob.es/es/ceneam/grupos-de-trabajo-y-seminarios/Proteccion-del-medio-marino/fuentesmicroplasticos_informecepyc_tcm30-169519.pdf

Fadhil, J. F., & Gathwan, M. A. (2022). Lead and Cadmium Elements Detected in Milk Samples from Local Markets in Baghdad. *Chemical Methodologies*, 6(8), 612–619.

FAO. (2013, July 16). Producción y productos lácteos: Composición de la leche. Organización de las Naciones Unidas por la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la->

Lin, Q., Zhao, S., Pang, L., Sun, C., Chen, L., & Li, F. (2022). Potential risk of microplastics in processed foods: Preliminary risk assessment concerning polymer types, abundance, and human exposure of microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 247, 114260.

Liu, S., Guo, J., Liu, X., Yang, R., Wang, H., Sun, Y., Chen, B., & Dong, R. (2023). Detection of various microplastics in placentas, meconium, infant feces, breastmilk and infant formula: A pilot prospective study. *The Science of the Total Environment*, 854, 158699.

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.

Medina Matus, S. A., & Guillén Paredes, R. (2017). Determinación de plomo en leche de ganado bovino en el cantón Sitio del niño municipio de San Juan Opico, El Salvador.

<http://ri.ues.edu.sv/2199/1/13101312.pdf>

Meshref, A. M. S., Moselhy, W. A., & Hassan, N. E.-H. Y. (2014). Heavy metals and trace elements levels in milk and milk products. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 8(4), 381–388.

Miller, M. E., Kroon, F. J., & Motti, C. A. (2017). Recovering microplastics from marine samples: A review of current practices. *Marine Pollution Bulletin*, 123(1-2), 6–18.

Muhib, I., Uddin, K., Rahman, M., & Malafaia, G. (2023). Occurrence of microplastics in tap and bottled water, and food packaging: A narrative review on current knowledge. *The Science of the Total Environment*, 865, 161274.

Muñoz, M., & Yoldi, G. (2000). Leche y Derivados. In I. Astiasarán & J. A. Martínez (Eds.), *Alimentos: composición y propiedades* (pp. 74–77). McGraw-Hill Interamericana de España S.L.

National Geographic Society. (2022, May 20). Microplastics. National Geographic Education.

<https://education.nationalgeographic.org/resource/microplastics>

OHSU. (2016, December 31). ICP-MS as a Technique. Oregon Health & Science University.
<https://www.ohsu.edu/elemental-analysis-core/icp-ms-technique>

Oleksiuk, K., Krupa-Kotara, K., Wypych-Ślusarska, A., Głogowska-Ligus, J., Spychała, A., & Słowiński, J. (2022). Microplastic in Food and Water: Current Knowledge and Awareness of Consumers. *Nutrients*, 14(22). <https://doi.org/10.3390/nu14224857>

Panopoulos, G., Moatsou, G., Psychogiopoulou, C., & Moschopoulou, E. (2020). Microfiltration of Ovine and Bovine Milk: Effect on Microbial Counts and Biochemical Characteristics. *Foods*, 9(3), 284.

Pernía, B., Valarezo, M. M., Bravo, K., Ramírez, N., López, D., Muñoz, J., & Egas, F. (2014). Detección de cadmio y plomo en leche de vaca comercializada en la ciudad de Guayaquil, Ecuador. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, 8(2), 81–86.

Pham, D. T., Kim, J., Lee, S.-H., Kim, J., Kim, D., Hong, S., Jung, J., & Kwon, J.-H. (2023). Analysis of microplastics in various foods and assessment of aggregate human exposure via food consumption in Korea. *Environmental Pollution*, 322, 121153.

Phang-Lyn, S., & Llerena, V. A. (2022). Biochemistry, Biotransformation. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Pietrzak-Fiećko, R., Bakula, S., Jakubowska, D., & Smoczyński, S. S. (2019). Cadmium and lead contents in drinking milk from selected regions of Poland. *Medycyna Środowiskowa*, 16(3), 15–19.

Pinzon, C. (2015). Determinación de los niveles de plomo y cadmio en leche procesada en la ciudad de Bogotá D.C (N. Patiño (ed.)) [MSc, Universidad Nacional de Colombia].

<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/53244>

Prata, J. C., Paço, A., Reis, V., da Costa, J. P., Silva Fernandes, A. J., Mendes da Costa, F., Duarte, A., & Rocha-Santos, T. (2020). Identification of microplastics in white wines capped with polyethylene stoppers using micro-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 331, 127323.

Quinteros, K. S. (2022). Detección de micropartículas de plástico en el sistema de potabilización de agua “Mahuarca” de la ciudad de Azogues, Ecuador (P. W. Arévalo Moscoso (ed.)) [BSc, Universidad Politécnica Salesiana (Ecuador)]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/23401>

Ragusa, A., Notarstefano, V., Svelato, A., Belloni, A., Gioacchini, G., Blondeel, C., Zucchelli, E., De Luca, C., D’Avino, S., Gulotta, A., Carnevali, O., & Giorgini, E. (2022). Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. *Polymers*, 14(13). <https://doi.org/10.3390/polym14132700>

Ratner, B. D., & Hauch, K. D. (2013). Microscopy for Biomaterials Science. In A. S. Hoffman & Schoen, Frederick J.: Lemons, Jack E. (Eds.), *Biomaterials Science* (pp. 677–692). Academic Press.

Rbaibi Zipak, S., Muratoglu, K., & Buyukunal, S. K. (2022). Yoğurt Üretim sürecinde mikroplastik varlığının değerlendirilmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2022.27871>

Reyna, S., & Arteaga, J. (2022). Riesgos de contaminación química en leche y sus derivados. *La Granja*, 36(2), 122–134.

Ribón, B., & Naharro, D. (2021, January 18). Espectroscopía de Plasma ICP-OES. Laboratorio de Técnicas Instrumentales UVa. <https://www.laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/espectroscopa-de-plasma-icp-oes>

Rodríguez López, N. (2016). Determinación de la presencia de plomo en leche cruda producida en la parroquia de Machachi (F. De La Cueva Jácome (ed.)) [Universidad Central del Ecuador].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10246>

Rojo Nieto, E., & Montoto Martínez, T. (2017). Basuras marinas, plásticos y microplásticos: orígenes, impactos y consecuencias de una amenaza global. *Ecologistas en Acción*.

Ryan, J., Gerhold, A. R., Boudreau, V., Smith, L., & Maddox, P. S. (2017). Introduction to Modern Methods in Light Microscopy. *Methods in Molecular Biology*, 1563.

https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6810-7_1

Saez, G. (2018). Microplásticos en el agua potable de la ciudad de Riobamba (M. Paredes (ed.)) [BSc, Universidad Nacional del Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/4710>

Sandeep, G., Vijayalatha, K. R., & Anitha, T. (2019). Heavy metals and its impact in vegetable crops. *International Journal of Chemical Studies*, 7(1), 1612–1621.

Sandoval-Herrera, J., & Bermúdez-Morera, D. (2021). Degradación del polietilentereftalato por medio de microorganismos. *Informador Técnico*, 85(2). <https://doi.org/10.23850/22565035.3592>

Santofimio González, M. P. (2020). Propuesta de investigación para la detección y cuantificación de microplásticos en agua embotellada por métodos de tinción de Nilo Rojo y espectroscopia Raman (J. G. Plazas Tuttle (ed.)) [BSc, Universidad de los Andes].

<http://hdl.handle.net/1992/48710>

Sezgin, E. (2017). Super-resolution optical microscopy for studying membrane structure and dynamics. *Journal of Physics*, 29(27). <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa7185>

Sharifi, S., Sohrabvandi, S., Mofid, V., Javanmardi, F., Khanniri, E., & Mortazavian, A. M. (2022). The assessment of lead concentration in raw milk collected from some major dairy farms

in Iran and evaluation of associated health risk. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 20(1), 181–186.

Shruti, V. C., Pérez-Guevara, F., Elizalde-Martínez, I., & Kutralam-Muniasamy, G. (2020). First study of its kind on the microplastic contamination of soft drinks, cold tea and energy drinks - Future research and environmental considerations. *The Science of the Total Environment*, 726, 138580.

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia. Supplementum*, 101, 133–164.

Temiz, H., & Soyulu, A. (2012). Heavy metal concentrations in raw milk collected from different regions of Samsun, Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 65(4), 516–522.

Thompson, R. (2022, April 26). ¿Qué daños producen los microplásticos para el ser humano? *National Geographic*. <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2022/04/que-danos-producen-los-microplasticos-para-el-ser-humano>

Universidad de Murcia. (2011, May 19). Composición físico-química - Unidad de Innovación. Unidad de Innovación. <https://www.um.es/web/innovacion/plataformas/ocw/listado-de-cursos/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas/composicion-fisico-quimica>

Vivianne Lbds. (2020). An Approach to Trace Metals in Milk. *Epidemiology: Open Access*, 10(3), 1–3.

Von Friesen, L. W., Granberg, M. E., Hassellöv, M., Gabrielsen, G. W., & Magnusson, K. (2019). An efficient and gentle enzymatic digestion protocol for the extraction of microplastics from bivalve tissue. *Marine Pollution Bulletin*, 142, 129–134.

WHO. (2022, August 31). Lead poisoning. *World Health Organization*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and->

ANEXOS

Anexo A. *Esterilización de envases para recolección de muestras*

Figura 5

Frascos de vidrio de 1000 mL en autoclave



Por Autores, 2023

Anexo B. Registro de muestras

Tabla 17

Registro de muestras tomadas en el campo

| Registro de muestras | | | |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------|
| Fecha de recolección | 15 de mayo de 2023 | | |
| Tipo de alimentación | Pasto de la zona | | |
| Número de Muestra | Código de Muestra | Edad en años | Peso en kg |
| 1 | M01 | 6 | 450 |
| 2 | M02 | 6 | 500 |
| 3 | M03 | 5 | 450 |
| 4 | M04 | 6 | 450 |
| 5 | M05 | 6 | 500 |
| 6 | M06 | 5 | 500 |
| 7 | M07 | 4 | 450 |
| 8 | M08 | 6 | 500 |
| 9 | M09 | 4 | 500 |
| 10 | M10 | 5 | 450 |
| 11 | M11 | 5 | 450 |
| 12 | M12 | 6 | 500 |
| 13 | M13 | 6 | 500 |
| 14 | M14 | 6 | 450 |

| | | | |
|----|-----|---|-----|
| 15 | M15 | 4 | 500 |
| 16 | M16 | 6 | 500 |
| 17 | M17 | 6 | 500 |
| 18 | M18 | 5 | 500 |
| 19 | M19 | 6 | 500 |
| 20 | M20 | 6 | 450 |
| 21 | M21 | 5 | 500 |
| 22 | M22 | 4 | 500 |
| 23 | M23 | 6 | 450 |
| 24 | M24 | 4 | 450 |
| 25 | M25 | 5 | 500 |
| 26 | M26 | 5 | 500 |
| 27 | M27 | 6 | 450 |
| 28 | M28 | 6 | 500 |
| 29 | M29 | 6 | 450 |

Nota. Peso en kg hace referencia a los pesos de las cabezas de ganado, por Autores, 2023

Anexo C. Densidad de la leche

Figura 6

Medición de la densidad de las muestras de leche cruda



Por Autores, 2023

Anexo D. Proceso de extracción de microplásticos

Figura 7

Coagulación de la leche



Por Autores, 2023

Figura 8

Secado de la fase sólida



Por Autores, 2023

Figura 9

Pulverización de sólidos secos



Por Autores, 2023

Figura 10

Digestión de la fase sólida



Por Autores, 2023

Figura 11

Filtración al vacío



Por Autores, 2023

Figura 12

Secado de filtros tratados con rojo Nilo



Por Autores, 2023

Anexo E. Análisis de microplásticos en microscopio invertido de fluorescencia

Figura 13

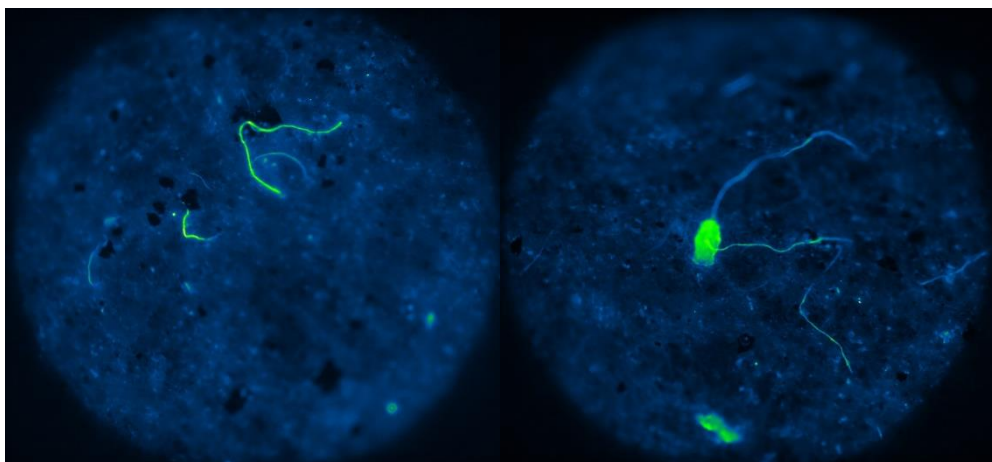
Análisis en microscopio invertido de fluorescencia



Por Autores, 2023

Figura 14

Partículas de microplástico tanto en forma de fibras como fragmentos



Por Autores, 2023

Anexo F. Partículas encontradas en las fases líquida y sólida

Tabla 18

Microplásticos encontrados en la fase líquida

| Microplásticos en fase líquida | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-------------------|----------|----------|----------|-----------------|-------------------|----------|----------|----------|-----------------|-----------------|
| Muest | Fragmentos | | | | | Fibras | | | | Total de | partícul |
| | Cuadrantes | | | | Total de | Cuadrantes | | | | | |
| ra | 1 | 2 | 3 | 4 | | fragmento | 1 | 2 | 3 | 4 | de |
| | | | | | s | | | | | de | |
| | | | | | | | | | | fibras | |
| M1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 3 | 2 | 5 | 7 |
| M2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 2 | 7 | 7 |
| M3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 5 | 3 | 2 | 0 | 10 | 11 |
| M4 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 4 | 0 | 3 | 3 | 10 | 12 |
| M5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 6 | 0 | 9 | 9 |
| M6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 4 | 4 | 0 | 11 | 13 |
| M7 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 6 | 0 | 0 | 3 | 9 | 12 |
| M8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 2 | 0 | 10 | 10 |
| M9 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 4 | 2 | 2 | 8 | 10 |
| M10 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 2 | 1 | 0 | 6 | 7 |
| M11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 3 | 7 | 7 |
| M12 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 | 4 | 6 |
| M13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 5 | 10 | 10 |
| M14 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 4 | 3 | 1 | 10 | 11 |
| M15 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 4 | 6 | 7 |

| | | | | | | | | | | | |
|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| M16 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 3 | 0 | 6 | 7 |
| M17 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 5 | 6 |
| M18 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 6 | 0 | 1 | 10 | 11 |
| M19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 2 | 2 | 8 | 8 |
| M20 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 6 | 0 | 0 | 2 | 8 | 10 |
| M21 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 6 |
| M22 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 3 | 3 | 9 | 10 |
| M23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 4 | 9 | 9 |
| M24 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 5 | 0 | 0 | 9 | 10 |
| M25 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 | 3 | 2 | 4 | 2 | 11 | 14 |
| M26 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 4 | 0 | 0 | 5 | 9 | 10 |
| M27 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 3 | 7 | 8 |
| M28 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 4 | 6 | 7 |
| M29 | 2 | 1 | 0 | 1 | 4 | 0 | 5 | 0 | 3 | 8 | 12 |

Por Autores, 2023

Tabla 19

Microplásticos encontrados en la fase sólida

| Microplásticos en fase sólida | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------|----------|----------|----------|-----------------|-------------------|----------|----------|----------|-----------------|--|
| Muestr a | Fragmentos | | | | | Fibras | | | | | Total de partícu as |
| | Cuadrantes | | | | Total de | Cuadrantes | | | | Total de | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | fragment | 1 | 2 | 3 | 4 | fibras | |
| | | | | | | | | | | | |

os

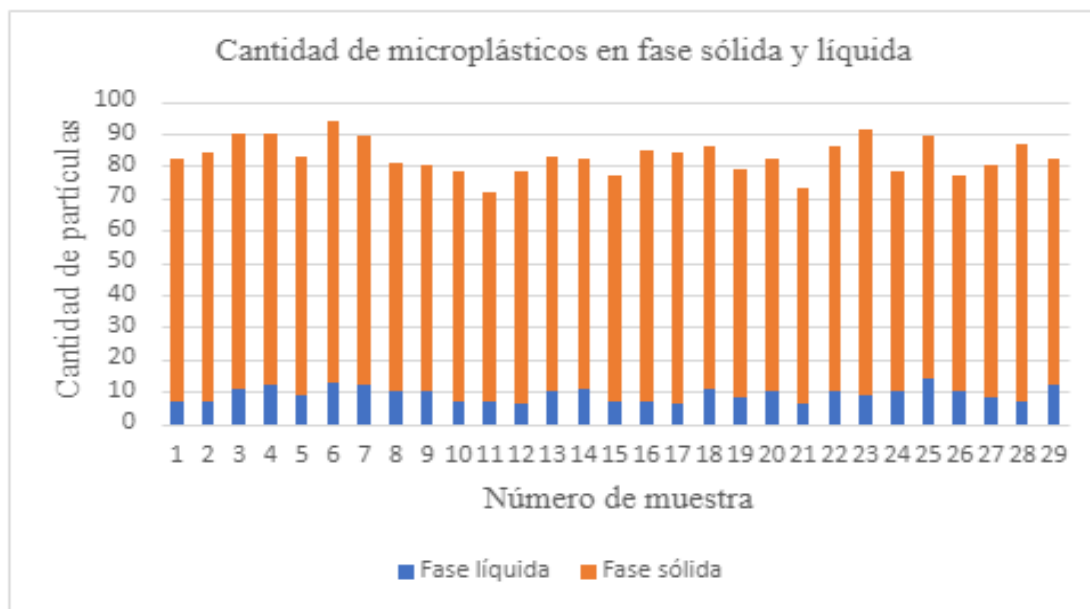
| | | | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| M1 | 6 | 5 | 11 | 5 | 27 | 14 | 15 | 12 | 7 | 48 | 75 |
| M2 | 7 | 3 | 3 | 8 | 21 | 13 | 10 | 18 | 15 | 56 | 77 |
| M3 | 4 | 6 | 10 | 9 | 29 | 21 | 12 | 8 | 9 | 50 | 79 |
| M4 | 6 | 8 | 10 | 9 | 33 | 13 | 9 | 8 | 15 | 45 | 78 |
| M5 | 11 | 7 | 7 | 5 | 30 | 15 | 8 | 10 | 11 | 44 | 74 |
| M6 | 6 | 11 | 9 | 9 | 35 | 9 | 12 | 11 | 14 | 46 | 81 |
| M7 | 14 | 5 | 8 | 7 | 34 | 14 | 9 | 8 | 12 | 43 | 77 |
| M8 | 8 | 6 | 8 | 0 | 22 | 10 | 8 | 16 | 15 | 49 | 71 |
| M9 | 3 | 8 | 10 | 14 | 35 | 7 | 12 | 5 | 11 | 35 | 70 |
| M10 | 5 | 9 | 4 | 12 | 30 | 11 | 16 | 6 | 8 | 41 | 71 |
| M11 | 6 | 7 | 9 | 8 | 30 | 14 | 5 | 6 | 10 | 35 | 65 |
| M12 | 8 | 14 | 2 | 4 | 28 | 13 | 7 | 8 | 16 | 44 | 72 |
| M13 | 9 | 8 | 7 | 6 | 30 | 17 | 11 | 10 | 5 | 43 | 73 |
| M14 | 9 | 5 | 4 | 10 | 28 | 9 | 12 | 14 | 8 | 43 | 71 |
| M15 | 11 | 4 | 2 | 10 | 27 | 8 | 14 | 10 | 11 | 43 | 70 |
| M16 | 5 | 8 | 8 | 6 | 27 | 8 | 13 | 18 | 12 | 51 | 78 |
| M17 | 10 | 6 | 9 | 7 | 32 | 10 | 10 | 17 | 9 | 46 | 78 |
| M18 | 15 | 7 | 3 | 11 | 36 | 12 | 8 | 13 | 6 | 39 | 75 |
| M19 | 13 | 9 | 7 | 6 | 35 | 12 | 5 | 11 | 8 | 36 | 71 |
| M20 | 5 | 11 | 7 | 7 | 30 | 15 | 7 | 8 | 12 | 42 | 72 |
| M21 | 9 | 4 | 6 | 2 | 21 | 7 | 14 | 16 | 9 | 46 | 67 |
| M22 | 7 | 12 | 6 | 1 | 26 | 8 | 16 | 11 | 15 | 50 | 76 |
| M23 | 4 | 1 | 9 | 8 | 22 | 18 | 15 | 11 | 16 | 60 | 82 |

| | | | | | | | | | | | |
|------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| M24 | 2 | 3 | 8 | 7 | 20 | 9 | 12 | 10 | 17 | 48 | 68 |
| M25 | 2 | 11 | 5 | 6 | 24 | 12 | 15 | 16 | 8 | 51 | 75 |
| M26 | 0 | 8 | 10 | 3 | 21 | 11 | 13 | 15 | 7 | 46 | 67 |
| M27 | 6 | 10 | 3 | 9 | 28 | 14 | 12 | 8 | 10 | 44 | 72 |
| M28 | 1 | 9 | 11 | 13 | 34 | 11 | 7 | 16 | 12 | 46 | 80 |
| M29 | 7 | 3 | 14 | 4 | 28 | 15 | 6 | 13 | 8 | 42 | 70 |

Por Autores, 2023

Figura 15

Cantidad de micropartículas de plástico presentes en las muestras

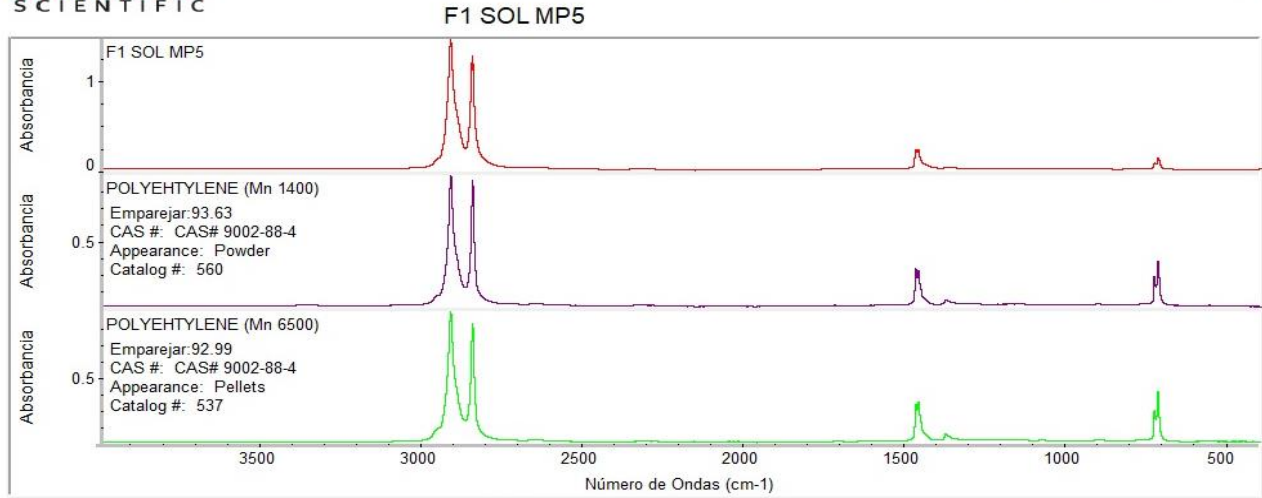


Por Autores, 2023

Anexo G. Reportes de FTIR con programa OMNIC

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Mar Jul 11 10:20:25 2023 (GM)



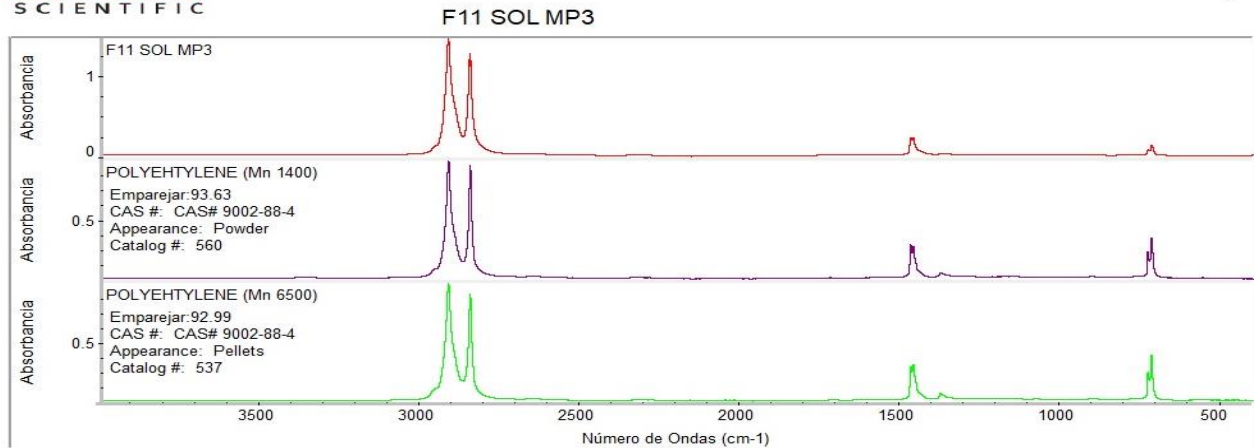
Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

Espectrom: F1 SOL MP5
 Región: 3995.85-455.13
 Tipo de búsqueda: Correlación
 Lista de Aciertos:

| Índice | Simili | Nombre del compuesto | Biblioteca |
|--------|--------|---------------------------------|---|
| 102 | 93.63 | POLYEHTYLENE (Mn 1400) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 104 | 92.99 | POLYEHTYLENE (Mn 6500) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 56 | 92.99 | Polyethylene, oxidized | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 305 | 92.64 | POLYEHTYLENE TYPE F | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 103 | 92.42 | POLYEHTYLENE (Mn 1800) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 37 | 88.88 | Polyamide resin | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 306 | 88.74 | POLYEHTYLENE KR 16 | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 101 | 88.59 | POLYEHTYLENE (Mn 900) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 1355 | 88.45 | Octadecanoic acid; Stearic acid | HR Hummel Polymer and Additives |
| 49 | 87.38 | Polyethylene, high density | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Mar Jul 11 10:11:46 2023 (GM)

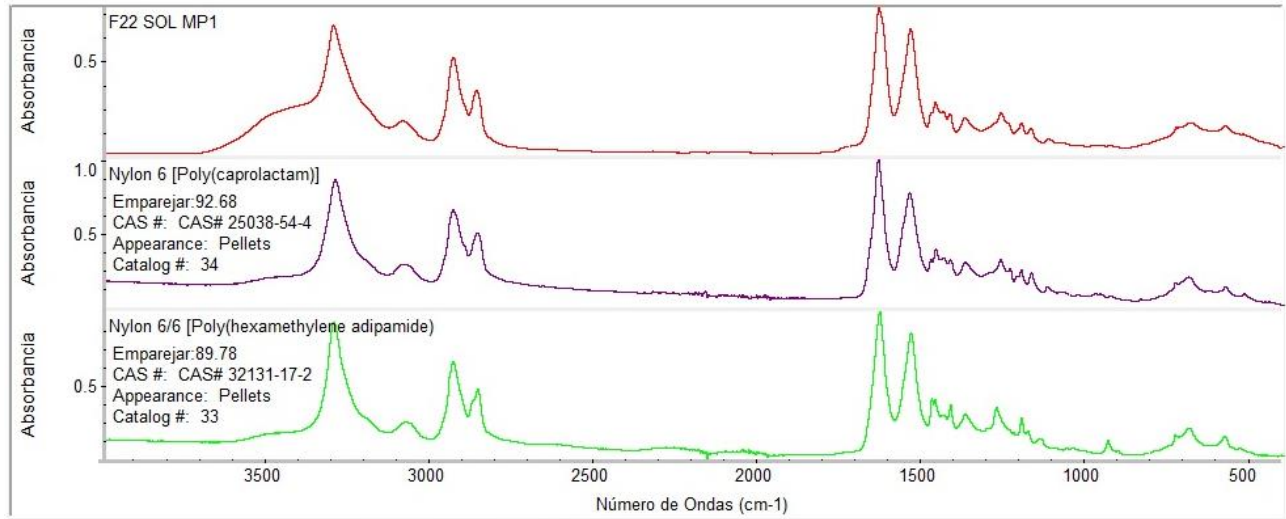


Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

Espectrom: F11 SOL MP3
 Región: 3995.85-455.13
 Tipo de búsqueda: Correlación
 Lista de Aciertos:

| Índice | Simili | Nombre del compuesto | Biblioteca |
|--------|--------|---------------------------------|---|
| 102 | 93.63 | POLYEHTYLENE (Mn 1400) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 104 | 92.99 | POLYEHTYLENE (Mn 6500) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 56 | 92.99 | Polyethylene, oxidized | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 305 | 92.64 | POLYEHTYLENE TYPE F | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 103 | 92.42 | POLYEHTYLENE (Mn 1800) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 37 | 88.88 | Polyamide resin | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 306 | 88.74 | POLYEHTYLENE KR 16 | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 101 | 88.59 | POLYEHTYLENE (Mn 900) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 1355 | 88.45 | Octadecanoic acid; Stearic acid | HR Hummel Polymer and Additives |
| 49 | 87.38 | Polyethylene, high density | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |

F22 SOL MP1

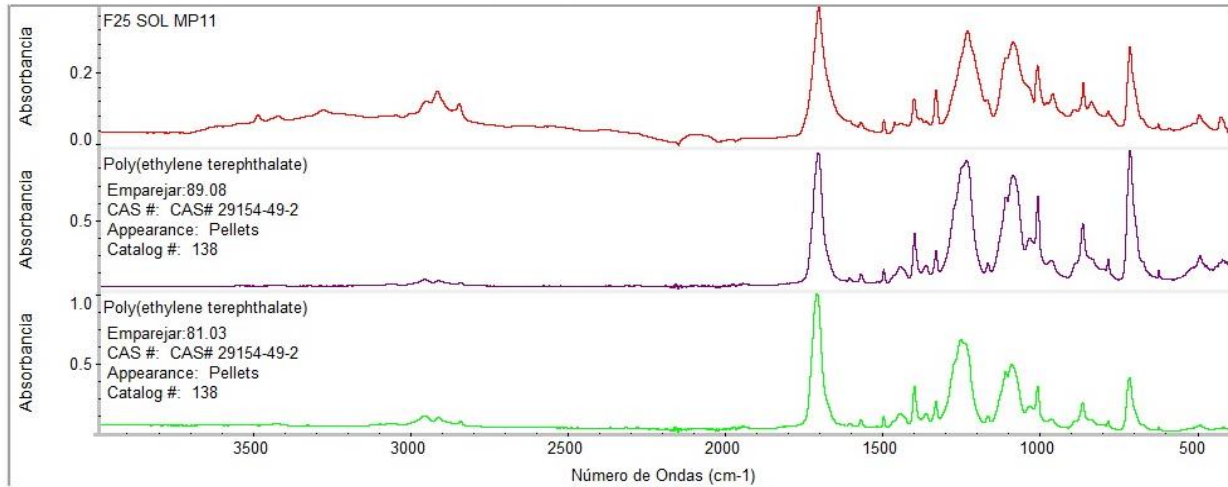


Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

Espectro: F22 SOL MP1
 Región: 3995.85-455.13
 Tipo de búsqueda: Correlación
 Lista de Aciertos:

| Índice Simili | Nombre del compuesto | Biblioteca |
|---------------|--|---|
| 24 | 92.68 Nylon 6 [Poly(caprolactam)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| 25 | 89.78 Nylon 6/6 [Poly(hexamethylene adipamide)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| 24 | 87.10 Nylon 6 [Poly(caprolactam)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 27 | 77.87 Nylon 6/12 [Poly(hexamethylene dodecanediamide)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| 25 | 77.68 Nylon 6/6 [Poly(hexamethylene adipamide)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 27 | 77.42 Nylon 6/12 [Poly(hexamethylene dodecanediamide)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 26 | 77.25 Nylon 6/9 [Poly(hexamethylene azelamide)] | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |

F25 SOL MP11

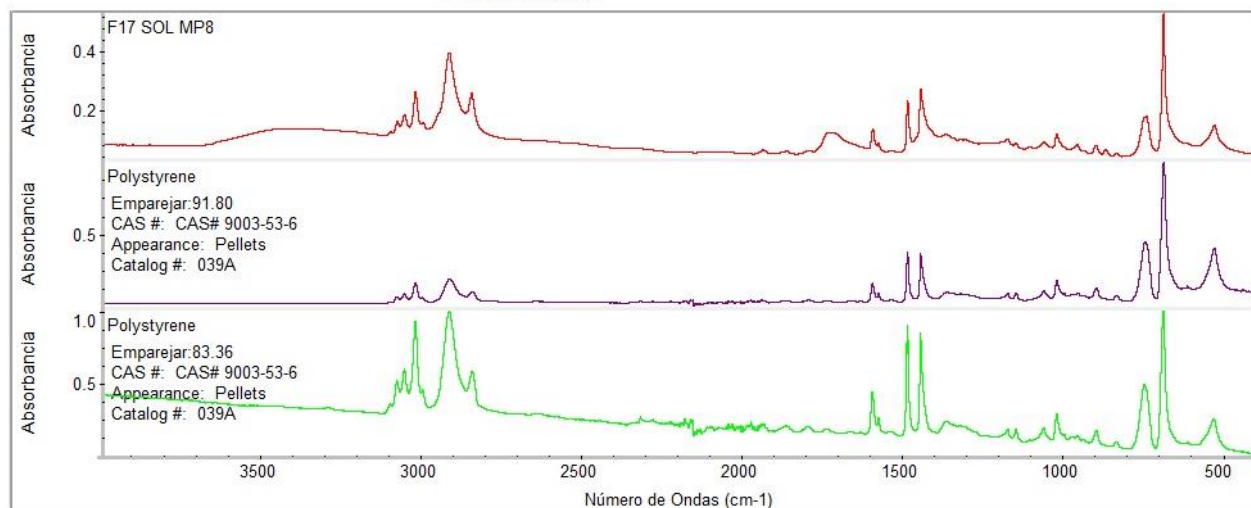


Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

Espectro: F25 SOL MP11
 Región: 3995.85-455.13
 Tipo de búsqueda: Correlación
 Lista de Aciertos:

| Índice Simili | Nombre del compuesto | Biblioteca |
|---------------|--|---|
| 57 | 89.08 Poly(ethylene terephthalate) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 57 | 81.03 Poly(ethylene terephthalate) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| 40 | 81.01 Poly(butylene terephthalate) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 40 | 75.92 Poly(butylene terephthalate) | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| 543 | 67.33 Poly(ethylene terephthalate) | HR Hummel Polymer and Additives |
| 32 | 56.07 Poly(1,4-butylene terephthalate) | HR Hummel Polymer and Additives |
| 23 | 55.43 Polyester, tere- & isophthalic acids | HR Hummel Polymer and Additives |
| 19 | 53.89 Polyester, terephthalic acid | HR Hummel Polymer and Additives |

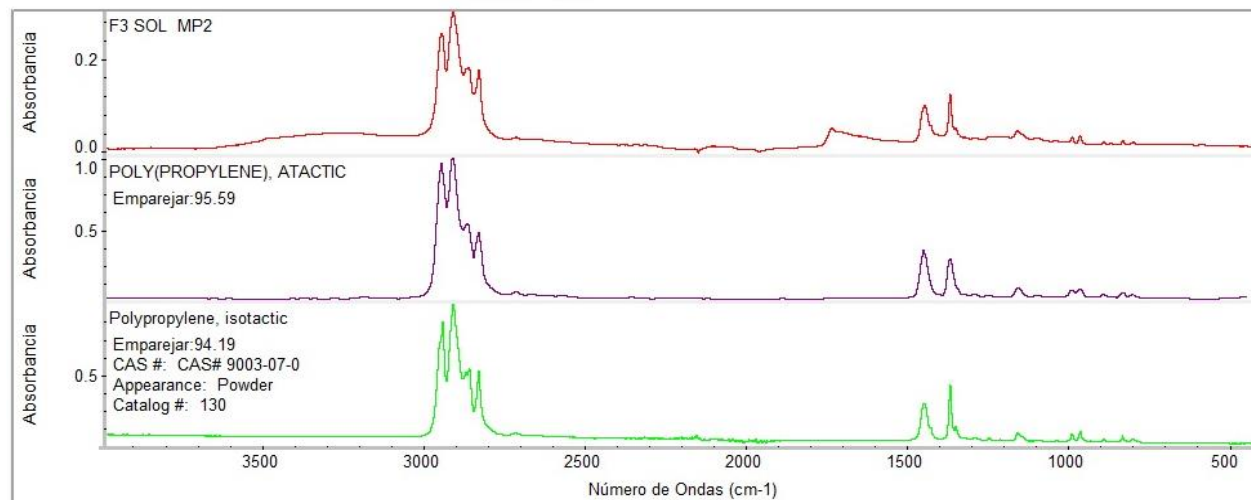
F17 SOL MP8



Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

| Espectrom: | | F17 SOL MP8 | Biblioteca |
|--------------------|--------|--|---|
| Región: | | 3995.85-455.13 | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| Tipo de búsqueda: | | Correlación | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| Lista de Aciertos: | | | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| Índice | Simili | Nombre del compuesto | |
| 68 | 91.80 | Polystyrene | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 68 | 83.36 | Polystyrene | Hummel Polymer Sample Library |
| 84 | 83.06 | Styrene/allyl alcohol copolymer 5-6% Hyd roxyl | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 179 | 82.09 | POLYSTYRENE RESIN | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR |
| 46 | 81.21 | POLY(STYRENE), ATACTIC | |
| 335 | 74.29 | POLYSTYRENE #3 | |
| 63 | 74.27 | Poly(alpha-methylstyrene) | |

F3 SOL MP2



Número de barridos de la muestra: 3
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 4.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 80.00

| Espectrom: | | F3 SOL MP2 | Biblioteca |
|--------------------|--------|--|---|
| Región: | | 3995.85-455.13 | Hummel Polymer Sample Library |
| Tipo de búsqueda: | | Correlación | HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR - corrected |
| Lista de Aciertos: | | | Hummel Polymer Sample Library |
| Índice | Simili | Nombre del compuesto | |
| 41 | 95.59 | POLY(PROPYLENE), ATACTIC | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 67 | 94.19 | Polypropylene, isotactic | HR Hummel Polymer and Additives |
| 38 | 92.07 | POLY(PROPYLENE), SYNDIOTACTIC | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 1653 | 91.96 | POLYPROPYLENE-AMORPHOUS | HR Hummel Polymer and Additives |
| 942 | 90.99 | Polypropylene, isotactic | HR Hummel Polymer and Additives |
| 437 | 90.83 | POLYPROPYLENE #2 | HR Polymer Additives and Plasticizers |
| 566 | 90.55 | Polypropylene, atactic | HR Hummel Polymer and Additives |
| 324 | 90.49 | Polypropylene + poly(ethylene:propylene) | HR Hummel Polymer and Additives |
| 499 | 89.92 | Poly(propylene:ethylene), 83 mol% C3 | HR Hummel Polymer and Additives |
| 943 | 88.18 | Polypropylene, atactic | HR Hummel Polymer and Additives |

Anexo H. Proceso de detección de plomo

Figura 16

Preparación de las muestras para digestión previa al análisis en ICP

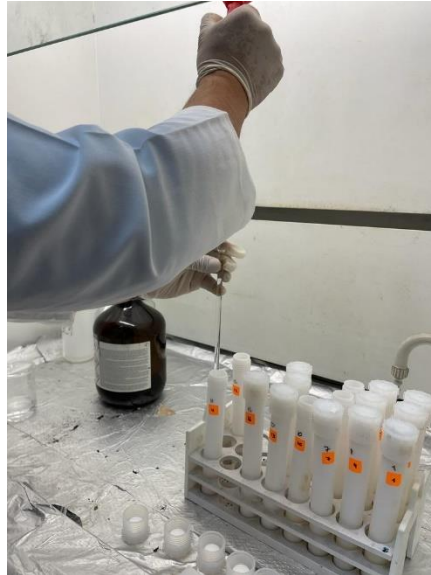


Figura 17

Digestión de las muestras previa al análisis de plomo



Figura 18

Proceso de dilución de las muestras digeridas previo al análisis de plomo

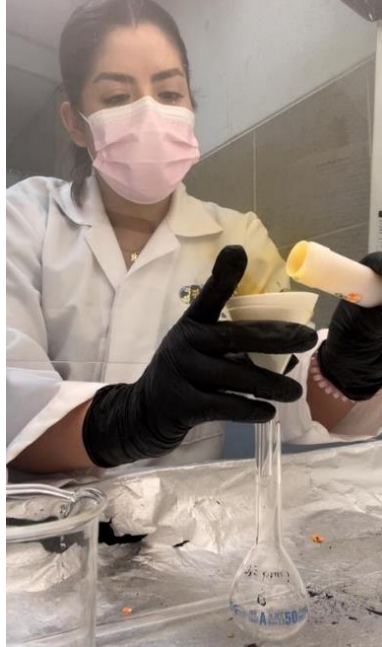


Figura 19

Preparación de diluciones seriadas



Figura 20

Análisis de estándares en ICP-OES



Anexo I. Resumen de Calibración ICP-OES

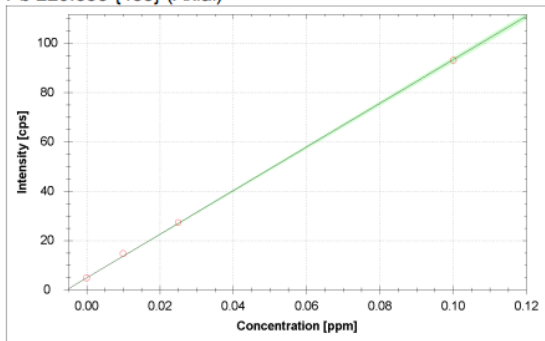
Calibration Summary

7/5/2023 10:56:44 AM

LabBook: Pb leche cruda FO MS.imexp

Calibration Graphs

Pb 220.353 (453) (Axial)



$$f(x) = 884.9386 \cdot x + 4.8221$$

$$R^2 = 0.9997$$

$$\text{BEC} = 0.005 \text{ ppm}$$

$$\text{LoD} = \text{N/A}$$

Anexo J. Informe de resumen del método ICP-OES

Method Summary Report

7/5/2023 10:59:25 AM



Method Parameters

| View Direction | Radial | Axial |
|--------------------|--------|-------|
| UV Exposure Time | 15 | 15 |
| UV RF Power | 1150 | 1150 |
| UV Neb Gas Flow: | 0.5 | 0.5 |
| VIS Exposure Time | 5 | 5 |
| VIS RF Power | 1150 | 1150 |
| VIS Neb Gas Flow: | 0.5 | 0.5 |
| Cool Gas Flow Rate | 12 | 12 |
| Aux Gas Flow Rate | 0.5 | 0.5 |

| Symbol | Wavelength (nm) / Order | Measure Mode | Internal Standard |
|--------|-------------------------|--------------|-------------------|
| Pb | 220.353 {453} | Axial | |

Subarray details

| Symbol | Wavelength (nm) / Order | Peak X Location | Peak Y Location | Width | Height | Center region position | Center region width |
|--------|-------------------------|-----------------|-----------------|-------|--------|------------------------|---------------------|
| Pb | 220.353 {453} | 289.278 | 59.412 | 13 | 5 | 6 | 2 |

| Symbol | Wavelength (nm) / Order | Left Bkg | Location | Width | Right Bkg | Location | Width |
|--------|-------------------------|----------|----------|-------|-----------|----------|-------|
| Pb | 220.353 {453} | Fixed | 1 | 1 | Fixed | 13 | 1 |

Calibration details

| | STD 1 | STD 2 | STD 3 | STD 4 | STD 5 |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Pb 220.353 {453} (Axial) | 0.010 ppm | 0.025 ppm | 0.050 ppm | 0.075 ppm | 0.100 ppm |

| Symbol | Wavelength (nm) / Order | Fit Type | Weighting | Forcing |
|--------|-------------------------|----------|-----------|---------|
| Pb | 220.353 {453} | Linear | None | Blank |

Anexo K. Tabla de reporte horizontal ICP-OES

Horizontal Table Report

7/5/2023 10:58:17 AM

tabla con resultados

menor al limite de detección en base a las condiciones

LabBook: Pb leche cruda FO MS.imexp



| | | | Pb 220.353 |
|-----------------------|--------|------------|------------|
| | | | {453} |
| | | | (Axial) |
| 6/22/2023 11:09:36 AM | BLANCO | 0.000 ppm | |
| 6/22/2023 11:11:09 AM | STD 1 | 0.011 ppm | |
| 6/22/2023 11:13:19 AM | STD 2 | 0.025 ppm | |
| 6/22/2023 11:15:29 AM | STD 3 | 0.017 ppm | |
| 6/22/2023 11:17:44 AM | STD 4 | 0.050 ppm | |
| 6/22/2023 11:19:54 AM | STD 5 | 0.100 ppm | |
| 6/22/2023 4:05:48 PM | M1 | -0.056 ppm | |
| 6/22/2023 4:08:06 PM | M2 | -0.042 ppm | |
| 6/22/2023 4:10:11 PM | M3 | -0.062 ppm | |
| 6/22/2023 4:12:06 PM | M4 | -0.004 ppm | |
| 6/22/2023 4:32:29 PM | M5 | -0.018 ppm | |
| 6/22/2023 4:34:41 PM | M6 | 0.030 ppm | |
| 6/22/2023 4:36:29 PM | M7 | -0.002 ppm | |
| 6/22/2023 4:38:16 PM | M8 | 0.363 ppm | |
| 6/22/2023 4:40:04 PM | M9 | 0.045 ppm | |
| 6/22/2023 4:41:51 PM | M10 | 0.008 ppm | |
| 6/22/2023 4:43:42 PM | M11 | 0.125 ppm | |
| 6/22/2023 4:45:31 PM | M12 | 0.023 ppm | |
| 6/22/2023 4:47:25 PM | M13 | -0.010 ppm | |
| 6/22/2023 4:49:14 PM | M14 | -0.003 ppm | |
| 6/22/2023 4:51:03 PM | M15 | 0.088 ppm | |
| 6/22/2023 4:52:49 PM | M16 | 0.013 ppm | |
| 6/22/2023 4:54:35 PM | M17 | 0.002 ppm | |
| 6/22/2023 4:56:23 PM | M18 | 0.013 ppm | |
| 6/22/2023 4:58:12 PM | M19 | 0.019 ppm | |
| 6/22/2023 4:59:59 PM | M20 | -0.010 ppm | |
| 6/22/2023 5:03:24 PM | M22 | 0.036 ppm | |
| 6/22/2023 5:05:19 PM | M23 | -0.004 ppm | |
| 6/22/2023 5:07:11 PM | M24 | 0.226 ppm | |
| 6/22/2023 5:08:56 PM | M25 | 0.028 ppm | |
| 6/22/2023 5:10:41 PM | M26 | 0.013 ppm | |
| 6/22/2023 5:12:29 PM | M27 | 0.009 ppm | |
| 6/22/2023 5:14:18 PM | M28 | -0.001 ppm | |
| 6/22/2023 5:16:05 PM | M29 | -0.009 ppm | |
| 6/22/2023 5:17:52 PM | M30 | 0.012 ppm | |