

CONAMA 2020

CONGRESO NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE

MICROPLÁSTICOS EN AVES SILVESTRES



Autor Principal: Fernando González González (GREFA; Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y su Fauna)

Otros autores: Gema González Matellano (GREFA; Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y su Fauna); Irene López Márquez (GREFA; Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y su Fauna); Francisco Javier García-Peña (GREFA; Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y su Fauna).

ÍNDICE

1. Resumen
2. La problemática de los microplásticos
 - a. Prevalencia de los microplásticos en los ecosistemas continentales
 - b. One Health y los microplásticos
3. Protocolo de extracción y análisis de microplásticos
 - a. Toma de muestras
 - b. Extracción y análisis de microplásticos
4. Resultados
5. Bibliografía

RESUMEN

Desde el origen del plástico en los 50 hasta el año 2015 se ha estimado que se produjeron unas 6,3 billones de toneladas de residuos plásticos y la producción y el consumo de plástico va en aumento cada año. Uno de los residuos plásticos que más tiempo persisten en el medio ambiente y que se piensa que pueden afectar negativamente tanto a la fauna como a la flora son los microplásticos (MPs), los cuales se definen como plásticos con un diámetro menor a 5 mm. Estos microplásticos pueden ser de origen primario, como las microesferas que provienen de los productos de cuidado personal, o secundario que se producen como consecuencia de la degradación de los desechos plásticos más grandes. Actualmente, se pueden encontrar numerosos estudios acerca de la contaminación por microplásticos en el medio marino, tanto en fauna, como en el sedimento o el agua, pero el impacto de los microplásticos en la fauna y flora del medio terrestre son escasos. También, algunas de estas investigaciones han descrito las potenciales consecuencias negativas de los microplásticos y su posible toxicidad para los seres humanos y animales. En este contexto, nuestra investigación tiene como objetivo inicial estudiar la prevalencia de microplásticos en las aves silvestres que ingresan en un centro de recuperación de la Comunidad de Madrid, para poder estimar la presencia de microplásticos en los diferentes niveles de la cadena trófica y en el medio ambiente. Para ello se puso en marcha un protocolo para la toma de muestras y la extracción y análisis de microplásticos en las aves silvestres, ya que hasta el momento no existe un modelo estandarizado para la extracción de los mismos. Como primera fase del estudio se analizó la presencia de microplásticos en el tracto digestivo de las urracas (*Pica pica*), con la intención de comprobar la eficacia del protocolo establecido. Además, esta especie resulta de gran interés al tratarse de un ave urbana que comparte hábitat con el ser humano y está expuesta a factores externos similares.

LA PROBLEMÁTICA DE LOS MICROPLÁSTICOS

El plástico es un material sintético hecho de materiales a base de carbono, principalmente petróleo y otros combustibles fósiles. Existen diferentes tipos en función de su composición química: termoplásticos (Polietileno-PE, polipropileno-PP, poliestireno-PS, Cloruro de polivinilo-PVC) y termoestables (poliuretano, epoxi, alquitrán, etc.), siendo los primeros los más abundantes. Ambos se caracterizan por su maleabilidad y durabilidad. Estas características hacen que sea ampliamente utilizado y haya sustituido en gran medida a otros materiales como la madera, el vidrio y el metal. No obstante, dicha durabilidad hace que permanezca en el medio durante cientos de años. Por ello, actualmente el plástico es un problema ambiental crítico, ya que los residuos plásticos aumentan exponencialmente cada año.

Se estima que desde el origen del plástico en la década de 1950 hasta el 2015 se produjeron 6,3 billones de toneladas de residuos plásticos (Geyer *et al*, 2017), con una producción anual de plástico superior a los 380 millones de toneladas (de Souza *et al*, 2018).

Actualmente, Europa es el segundo productor mundial de plástico después de China. En 2016, el conjunto de los países de la Unión Europea más Noruega y Suiza produjeron 60 millones de toneladas de plástico, generando unas 27 millones de toneladas de residuos plásticos, de los

cuales un 27% fueron a parar directamente a vertederos (Alessi *et al*, 2018). El 40% del plástico producido en Europa se utiliza para la fabricación de envases, dando lugar a 16,7 millones de toneladas de residuos; y el 10% de los plásticos son de un solo uso (Alessi *et al*, 2018). En el caso de nuestro país, España es el cuarto mayor consumidor de plástico en Europa, con un consumo de 4,6 millones de toneladas de plástico en 2016, reciclando aproximadamente un 38%. Además, consume el 10% de los plásticos de un solo uso en Europa.

Los efectos negativos del plástico en el medio ambiente están siendo ampliamente estudiados. Si bien los macroplásticos (plásticos mayores a 2,5 cm) son la forma más visible de contaminación plástica, son los microplásticos (MPs) los que tendrían un mayor impacto sobre los organismos vivos (Alessi *et al*, 2018). Estos últimos engloban todos los fragmentos plásticos con un diámetro menor de 5 mm, incluidos los nanoplasticos (NPs), los cuales sería aquellos con un diámetro menor de 1µm. El origen de los microplásticos puede ser de dos tipos: primario, como por ejemplo en forma de microesferas fabricadas en la mayoría de los casos como ingredientes de los productos de cuidado personal; o secundario, por la degradación o fragmentación de plásticos de mayor tamaño, ya sea por biodegradación (es decir, por la acción de los organismos vivos), fotodegradación (radiación de la luz), degradación térmica (altas temperaturas), degradación termo-oxidativa (degradación oxidativa lenta a temperatura moderada), hidrólisis (degradación por la acción del agua) o abrasión (Jiang B *et al*, 2020).

Los microplásticos podrían afectar la salud de animales y seres humanos de forma directa e indirecta, tal y como se ha publicado en diferentes artículos científicos (Jiang B *et al*, 2020). Así, los microplásticos podrían deteriorar directamente la funcionalidad de multitud de órganos tanto de personas como animales. Además, se consideran vectores de contaminantes como metales pesados, bacterias, virus o residuos de antibióticos, vehiculando dichos componentes al organismo de los seres vivos. Por otro lado, gran cantidad de microplásticos contienen aditivos que pueden liberarse mediante lixiviación y provocar alteraciones endocrinas debido a su actividad estrogénica, como por ejemplo los ftalatos y el bisfenol A (BPA). Aunque estos efectos negativos se han estudiado principalmente en peces y ratones, en los últimos años se están realizando estudios *in vitro* sobre su repercusión en el organismo de los seres humanos.

Prevalencia de los microplásticos en los ecosistemas continentales

Los ecosistemas continentales están compuestos por los ecosistemas de agua dulce y los ecosistemas terrestres. Ambos ecosistemas han sido menos estudiados que los ecosistemas marinos, pero cada vez son objeto de mayor preocupación para la comunidad científica.

El origen de la mayor parte de los MPs en los ecosistemas continentales se debe principalmente a una mala gestión de los residuos plásticos por parte de los vertederos y las plantas de reciclaje. No obstante, también es muy preocupante la gran cantidad de MPs en suspensión que ha detectado en la atmósfera, los cuales pueden ser transportados a larga distancia para posteriormente precipitarse en la tierra. Así, se han contabilizado hasta 355 partículas/m² al día en el área metropolitana de París, lo que corresponde a una exposición ambiental de 2 a 10 toneladas al año de microfibras plásticas (Qi R. *et al*, 2019).

El 80% de los residuos plásticos que hay en los mares y océanos europeos provienen de la tierra, por lo que es fundamental ampliar los datos sobre la prevalencia de los MPs en los ecosistemas terrestres para poder frenar su presencia en mares y océanos. Se estima que los ecosistemas continentales son los receptores primarios del 32% de los residuos plásticos y que la contaminación de microplásticos terrestre podría ser de 4 a 23 veces mayor que la de los océanos (Qi R. *et al* 2019). Se ha estudiado principalmente la prevalencia de MPs en los campos de cultivo, encontrando una alta concentración que afecta negativamente a la mesofauna, la microbiota e incluso al crecimiento de las plantas.

One Health y los microplásticos

Los impactos de los MPs sobre los animales y los seres humanos pueden clasificarse en efectos físicos, biológicos y químicos. Los impactos físicos incluyen la ingesta de MPs, la inhalación o la absorción dérmica, siendo la ingesta el más estudiado hasta el momento, al tratarse de la principal fuente de contaminación para los seres humanos. Los potenciales riesgos para la salud humana se centran, fundamentalmente, en su toxicidad gastrointestinal y hepática, debido al estrés oxidativo, las reacciones inflamatorias y los trastornos metabólicos que provocan los nanoplasticos sobre los diferentes órganos.

Los efectos biológicos son causados por los cambios en las propiedades físicas de los MPs debido a las biopelículas que se forman en la superficie de los microplásticos por la naturaleza hidrofóbica de los mismos. Las biopelículas pueden estar formadas por comunidades funcional y filogenéticamente diversas de bacterias, protozoos, algas y hongos, que forman colectivamente un ensamblaje microbiano, una comunidad de bioincrustaciones o un perifiton (Méndez-Pedriz *et al*, 2020).

Por último, el impacto químico de los MP puede atribuirse a las características innatas de los plásticos o a su característica como vector de contaminantes. Los efectos químicos más estudiados hasta el momento son los provocados por los metales pesados y los aditivos plásticos.

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE MICROPLÁSTICOS

Toma de muestras

Todas las muestras fueron tomadas en la sala de necropsias del Hospital de Fauna Salvaje de GREFA, utilizando las medidas de protección higiénico-sanitarias pertinentes y con instrumental y materiales libres de plásticos para evitar contaminar la muestra. La muestra seleccionada para probar la eficacia del protocolo fue el tracto digestivo completo de 15 cadáveres de urraca, recogidos desde el esófago hasta la cloaca sin dañar ninguna sección para evitar la pérdida de contenido digestivo. Esta muestra se conservó en papel de aluminio, congelada a -20°C , hasta el momento de su procesamiento.

La elección de la urraca (*Pica pica*) se debe al gran tamaño de su población, su amplia distribución y las características de su dieta. Son el córvido más abundante y extendido en la Península Ibérica, caracterizado por su gran capacidad de adaptación a los ambientes más humanizados. Sigue una dieta inespecífica, basada en el oportunismo, que incluye todo tipo de desperdicios, lo que implica la ingesta directa de microplásticos de manera accidental.

Extracción y análisis de microplásticos

El protocolo diseñado e instaurado en el centro se basa principalmente en el utilizado por Carlin y col (2020) para la extracción y análisis de microplásticos a partir del tracto digestivo de aves de presa que ingresaron en un centro de recuperación de Florida, en Estados Unidos. Cualquier manipulación de la muestra del tracto digestivo, una vez descongelada, se hará dentro de la cabina de bioseguridad de flujo laminar para evitar la contaminación ambiental de la muestra por los microplásticos suspendidos en el aire. Todo el material utilizado será de vidrio o de metal y se lavará por triplicado con agua bidestilada y filtrada.

El proceso de extracción de microplásticos se divide en cuatro pasos: digestión, sedimentación, decantación y filtración. En primer lugar, se lavará la muestra 3 veces con agua bidestilada y filtrada para eliminar cualquier contaminación que haya tenido lugar durante el proceso de extracción de la muestra. Posteriormente, se trocea la muestra para facilitar su digestión y se deposita en cubetas metálicas o de cristal que soporten temperaturas superiores a los 65°C. A continuación, se añade una solución acuosa de KOH al 10%, preparada con agua bidestilada y filtrada, en una proporción 3:1 para cada muestra de forma individual. Cada cubeta se cubrirá con papel de aluminio correctamente etiquetado con los datos de cada muestra y se colocará en un agitador magnético con placa calefactora dentro de una cabina de extracción, la muestra se digiere en agitación a 65 rpm y 65°C durante 48 horas.

Transcurrido ese tiempo, la muestra digerida se deja reposar durante 24 horas a temperatura ambiente en probetas de vidrio dentro de la cabina de bioseguridad de flujo laminar. Seguidamente, el sobrenadante de cada probeta se decanta en un embudo de la rampa de filtración en el que se habrá colocado un filtro de fibra de vidrio con un diámetro de poro de 0,47µm, y se realiza la filtración utilizando un sistema de vacío. Previamente a la filtración de las muestras, se realizará un control donde se filtre el agua bidestilada y filtrada en la rampa de vacío, para verificar la ausencia de microplásticos tanto en el agua bidestilada y filtrada como en el sistema de filtración.

Todo el material utilizado será lavado convenientemente, aclarado tres veces con agua bidestilada y filtrada y almacenado en la cabina de flujo laminar o cubierto con papel aluminio para evitar su contaminación. Finalmente, el filtro se conserva en una placa de Petri estéril lavada previamente tres veces con agua bidestilada y filtrada y se sella para evitar la contaminación ambiental mencionada anteriormente. El filtro se analiza utilizando una lupa con cámara integrada y se cuantifica la cantidad total de microplásticos para obtener el número de microplásticos/g de digestivo, además de clasificarse por colores.

El análisis de los filtros se realizará el mismo día y por el mismo observador, para mitigar el error humano. Cada filtro se analizará por duplicado para evitar la pérdida de información. Además, se realizarán fotos de los diferentes microplásticos. La metodología utilizada para el conteo es la siguiente: en primer lugar, se coloca una plantilla cuadrículada sobre la tapa superior de la placa Petri y se revisa toda la cuadrícula a un aumento de 30X; al identificar un

posible MP se aumenta a 50X para corroborar que se trate de un MP y poder tomar fotos de mayor calidad; los microplásticos observados se cuantifican y se clasifican en función del color de cada uno de ellos. Cada muestra se clasifica según el número de plásticos observados como muestra con contaminación baja (<10 MPs), media (11 – 20), moderada (21 -50), o alta (>50).

Estos datos serán analizados de manera grupal, pudiendo realizar comparaciones con los grupos que se analicen posteriormente. Dada la perpetuidad de los microplásticos, todos los filtros obtenidos en el estudio se almacenan para futuras pruebas con tecnologías como la espectroscopia infrarroja por microondas, que permite clasificar los microplásticos por su naturaleza química.

RESULTADOS

La eficacia del protocolo diseñado e instaurado en GREFA fue idónea, ya que se consiguió extraer y analizar con éxito los microplásticos de las 15 muestras de tractos digestivos completos de urracas.

Se determinó que el **86,67% de las urracas contenían microplásticos en su tracto digestivo**, lo que supone una prevalencia muy elevada de microplásticos en el hábitat de estos animales, el cual es compartido con el ser humano. Por otro lado, **la cantidad de MPs encontrado en la mayoría de los individuos fue baja** (66,67% de los individuos), siendo la cantidad media de microplásticos por gramo de tejido digestivo de **0,67 MPs/g**.



Figura 1. Gráfica de la prevalencia de microplásticos en el tracto digestivo de las urracas. (GREFA- Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y de su Hábitat)

Tras la clasificación de los microplásticos por colores, se observó que **más del 50%** de los microplásticos observados eran de **color azul**, seguido por el color rojo con un 30% de prevalencia.

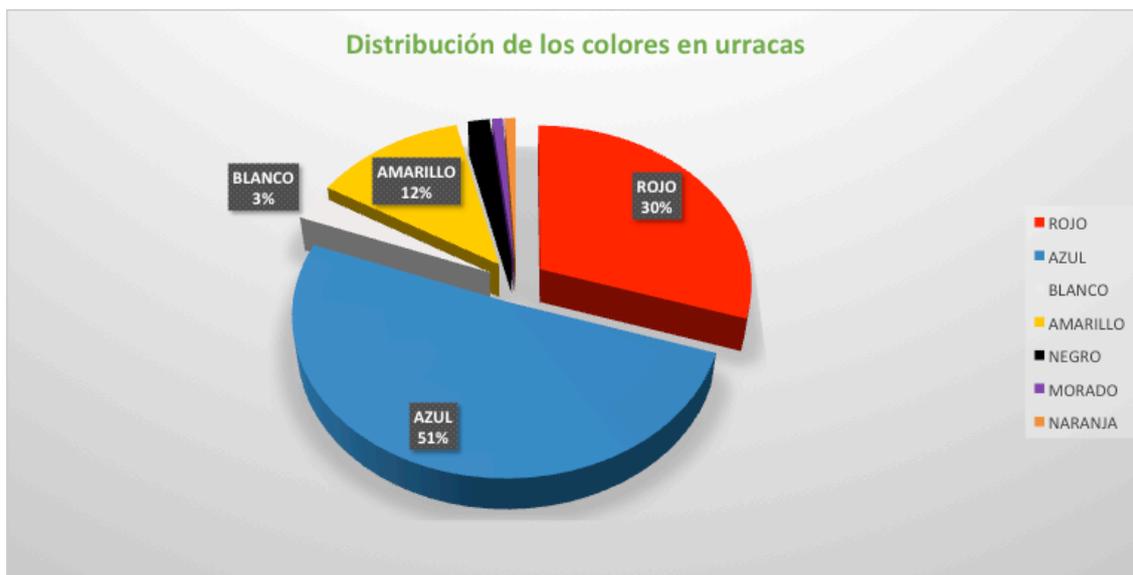


Figura 2. Gráfica de la distribución de los colores de los microplásticos de los tractos digestivos de las urracas. (GREFA- Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y de su Hábitat)

BIBLIOGRAFIA

- [1] Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). "Production, use, and fate of all plastics ever made", *Science advances*, 3(7). [doi: 10.1126/sciadv.1700782]
- [2] de Souza Machado, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2018). "Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems", *Global change biology*, 24(4), pp. 1405-1416. [doi:10.1111/gcb.14020]
- [3] Jiang, B., Kauffman, A. E., Li, L., McFee, W., Cai, B., Weinstein, J., & Xiao, S. (2020). "Health impacts of environmental contamination of micro-and nanoplastics: a review", *Environmental Health and Preventive Medicine*, 25(1), pp. 1-15. [doi:10.1186/s12199-020-00870-9]
- [4] Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., & Yan, C. (2020). "Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review", *Science of the Total Environment*, 703, 134722. [doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134722. Epub 2019 Oct 17. PMID: 31767311]
- [5] Alessi. et al. 2018. "Una trampa de plástico: liberando de plástico el Mediterráneo". Iniciativa Marina Mediterránea, Roma, Italia, 2018
- [6] Menéndez-Pedriza A, Jaumot J. Interaction of Environmental Pollutants with Microplastics: A Critical Review of Sorption Factors, Bioaccumulation and Ecotoxicological Effects. *Toxics*. 2020;8(2):40. Published 2020 Jun 2. doi:10.3390/toxics8020040