




Detection of microplastics in marine species from Pucusana, Peru, by stereoscopic microscopy and epifluorescence with Rhodamine B

Elizabeth Huilca Sanchez¹ ; Anna Zegarra Chmarova²  and Samuel Astete Perez³ 

^{1,2,3}Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Perú, ¹u201924431@upc.edu.pe, ²u202019846@upc.edu.pe,
³pcigsast@upc.edu.pe




Abstract– Microplastic contamination (< 5 µm) is a global problem with social, economic and environmental impacts. Its presence in marine species for human consumption has raised concerns due to the risks to health and ecosystems. Although legislation and analytical techniques have advanced worldwide, in Peru studies and regulations are still limited.

This research was carried out in the Pucusana fishing market, where microplastic contamination has been detected in the coastal area. The digestive tracts and soft tissue of Mugil cephalus, Trachurus murphyi and Aulacomya atra were analyzed using stereoscopic microscopy, obtaining 100% positive cases, with T. murphyi as the species with the highest amount of microplastics. In all the individuals analyzed, synthetic fibers were the predominant type (> 80%).

For the identification of microplastics by epifluorescence microscopy, Rhodamine B (100 µg/mL) was used and visually compared with Nile Red (10 µg/mL). Although microplastics treated with Rhodamine B at a concentration of 100 µg/mL showed fluorescence, it was lower in intensity than with Nile Red at a concentration of 10 µg/mL.

Keywords-- microplastic, bioaccumulation, marine pollution, staining, Rhodamine B.

Detección de microplásticos en especies marinas de Pucusana, Perú, mediante microscopía estereoscópica y epifluorescencia con Rodamina B

Elizabeth Huilca Sanchez¹ ; Anna Zegarra Chmarova²  and Samuel Astete Perez³ 

^{1,2,3}Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Perú, ¹u201924431@upc.edu.pe, ²u202019846@upc.edu.pe, ³pcigsast@upc.edu.pe

Resumen– La contaminación por microplásticos (< 5 µm) es un problema global con impactos sociales, económicos y ambientales. Su presencia en especies marinas de consumo humano ha generado preocupación debido a los riesgos para la salud y los ecosistemas. Aunque la legislación y las técnicas analíticas han avanzado a nivel mundial, en Perú los estudios y normativas aún son limitados.

Esta investigación se realizó en el mercado pesquero de Pucusana, donde se ha detectado contaminación por microplásticos en la zona costera. Se analizaron los tractos digestivos y el tejido blando de *Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi* y *Aulacomya atra* mediante microscopía estereoscópica, obteniéndose un 100 % de casos positivos, con *T. murphyi* como la especie con mayor cantidad de microplásticos. En todos los individuos analizados, las fibras sintéticas fueron el tipo predominante (> 80 %).

Para la identificación de microplásticos mediante microscopía de epifluorescencia, se utilizó Rodamina B (100 µg/mL) y se comparó visualmente con Rojo Nilo (10 µg/mL). Aunque los microplásticos teñidos con Rodamina B en concentración 100 µg/mL presentaron fluorescencia, esta fue menor en intensidad que con Rojo Nilo en concentración de 10 µg/mL.

Palabras clave: microplástico, bioacumulación, contaminación marina, tinción, rodamina B.

I. INTRODUCCIÓN

Desde su invención hasta la actualidad, el uso de plástico ha sido una práctica común por sus variadas y numerosas propiedades aplicativas capaces de sustituir o complementar materiales como los metales y la madera, cuyo consumo se ha incrementado a lo largo de los años de manera proporcional al crecimiento poblacional en el mundo, alcanzando, según el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [1], a producirse anualmente más de 430 millones de toneladas de este material. Presente en la

mayoría de las grandes industrias, por ejemplo, el sector médico, de cosméticos, de ropa, de artículos electrónicos y de productos avanzados [2].

Los beneficios del plástico como bien y como insumo de otros bienes y servicios son equiparables a las consecuencias negativas de su consumo excesivo y del desequilibrio entre la gestión de su reciclaje y producción [3]. De naturaleza no biodegradable y persistente en el ambiente, se acumula indiscriminadamente en hábitats terrestres y marinos, y en ecosistemas en tamaños progresivamente más pequeños [4] como los denominados microplásticos (MPs), aquellos de tamaño inferior a 5 mm [5].

La permanencia en el tiempo de estos residuos en el océano ha resultado en su ingreso a la cadena trófica; en más de 700 especies, desde el plancton hasta la ballena azul, mediante la ingesta [6, 7]. Estudios han identificado la presencia de MPs en el tracto digestivo de los peces de países como México [7], Argentina [8] y Perú [9]; y en el tejido blando de especies de moluscos de, por ejemplo, el Mar Mediterráneo Noroccidental [10] y en la Samoa Americana de Tutuila [11].

Como fuente alimentaria, las especies marinas con MP en sus sistemas representan una importante fuente de exposición dietética que repercute en la salud humana y se refleja en riesgos potenciales como el daño histológico, la alteración endocrina, respuesta al estrés, citotoxicidad y genotoxicidad [12].

Las técnicas desarrolladas para analizar y evaluar MPs en muestras basadas en la biota son variadas, pero no existe una estandarización de estas [13]. Una de las técnicas más comunes y accesibles es la microscopía estereoscópica [14]

que complementada por la tinción con colorantes como el Rojo Nilo brinda resultados positivos [15]. Sin embargo, la accesibilidad del colorante es, muchas veces, limitada por el lugar en el que se desenvuelve el estudio y el presupuesto de la investigación, por lo que se plantea aplicar un tinte fluorescente disponible localmente que permita una mayor visualización en organismos biológicos como lo son las especies marinas comercializadas provenientes de la playa Pucusana y distribuidas en el mercado local del distrito de Pucusana en Lima, Perú.

De esta manera, el presente trabajo tiene como propósito evaluar la presencia de microplásticos en especies marinas comercializadas en el mercado de Pucusana, Lima, Perú, utilizando técnicas de microscopía estereoscópica y epifluorescencia. Además, se busca comparar visualmente la eficacia de la Rodamina B (RhB) (100 µg/mL) y el Rojo Nilo (10 µg/mL) en la detección por fluorescencia de microplásticos en estas especies. En consecuencia, se pretende determinar si la fluorescencia de RhB es comparable a la del Rojo Nilo, con el fin de comprobar su efectividad como colorante alternativo para visualizar microplásticos en muestras biológicas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Selección de especies comerciales

Teniendo en cuenta la influencia del tipo de alimentación y hábitat de la especie sobre la cantidad de MP bioacumulado, se seleccionaron las especies de *Mugil cephalus* (Lisa), *Trachurus murphyi* (jurel) y *Aulacomya atra* (Choro). Los dos primeros se alimentan por filtración, por lo que son altamente susceptibles a bioacumular MP; mientras que el tercero, lo consume durante su etapa de planctívoro al ser de tamaño similar a las especies planctónicas de las que se alimenta [16]. Las muestras, 30 por especie, se adquirieron en el mercado del puerto pesquero Pucusana (Fig.1) ubicado 58 km al sur de la ciudad de Lima en Perú y se trasladaron en un cooler al laboratorio de Equipamiento Especializado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) - Facultad de Ciencias Biológicas.

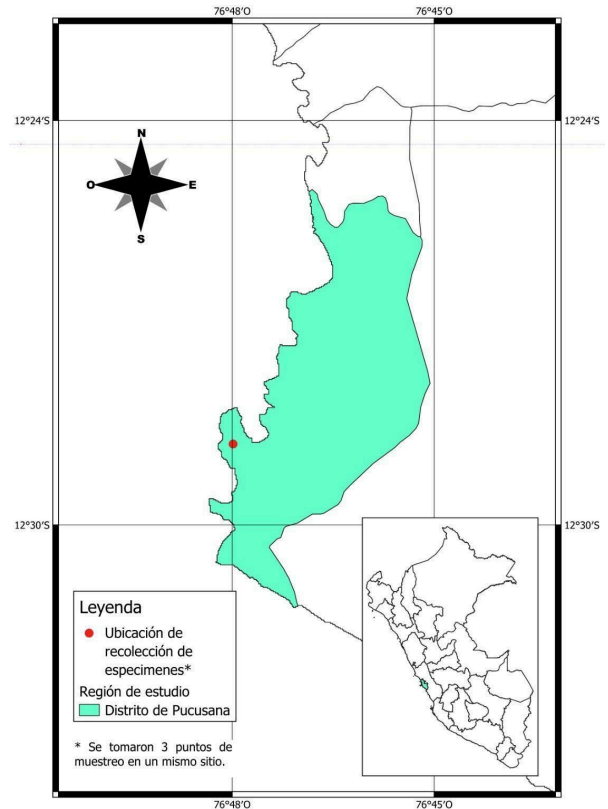


Fig. 1. Localización geográfica del lugar de recolección de muestras de dos especies de peces (*Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi*) y una de molusco (*Aulacomya atra*) en Pucusana, Perú.

B. Preparación de muestra

Se extrajeron los tractos digestivos de ambas especies de peces y el tejido blando (vísceras y el aparato gastrointestinal) del molusco, siendo registrado el peso de estos y sometidos a un proceso de digestión con solución de KOH al 10% con un volumen de 50 mL en cada vaso precipitado por muestra [17]. Las muestras se mantuvieron en una incubadora Beltec Scientific PH-050A a una temperatura de 40 °C durante aproximadamente 72 horas [18]. Se le añadió a cada muestra 30 mL de solución de NaCl al 12% con reposo a temperatura ambiente durante un período de 48 a 72 horas [17, 19] y Tween-20 al 10% para reducir el crecimiento de espuma [16]. Posteriormente, se realizó la filtración al vacío utilizando filtros de fibra de vidrio de 0.45 µm [20], luego colocados en placas Petri para su secado.

C. Observación por microscopía óptica

Los filtros de fibra de vidrio que contenían las partículas filtradas fueron examinados bajo un microscopio estereoscópico Leica EZ4, registrándose el número, color, forma y tamaño de los microplásticos presentes. La

confirmación de microplásticos se realizó mediante el método de la aguja caliente, el cual permite diferenciar las partículas plásticas de otros materiales [20, 21].

El examen visual con estereomicroscopio es uno de los métodos más utilizados para la caracterización de microplásticos en términos de tamaño, forma y cantidad, siendo particularmente adecuado para partículas de mayor tamaño (hasta 50 μm) [20]. Sin embargo, este enfoque depende del juicio humano para distinguir los microplásticos de otras partículas, lo que puede introducir un grado de subjetividad en los resultados. Para minimizar esta limitación, se complementó con el uso de colorantes fluorescentes como el Rojo Nilo, y la experimental Rodamina B, que facilitan la identificación visual de los microplásticos en las muestras analizadas [20].

D. Preparación y aplicación del tinte

El colorante del estudio, Rodamina B (RhB) se preparó con etanol como solvente en concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ aplicando, posteriormente, 4 mL de la solución en la muestra, dejando reposar durante 30 minutos y enjuagando el filtro en 4 mL de agua ultrapura obtenida del Purificador de agua Direct-Q3 UV de Merck Millipore, que una vez seco se observó en el microscopio de epifluorescencia Nikon Eclipse Ci-E [21, 22].

El Rojo Nilo, colorante usado ampliamente por su interacción hidrofóbica que marca polímeros en colores desde el amarillo al rojo intenso en muestras ambientales y/o biológicas [23, 24, 25], se preparó diluyendo 10 μg en 1 mL de acetona con el que se tiñen las muestras dejando reposar 15 minutos y enjuagando la muestra agua ultrapura obtenida del Purificador de agua Direct-Q3 UV de Merck Millipore para luego observar con el microscopio de epifluorescencia Nikon Eclipse Ci-E [21].

E. Observación de fluorescencia

Se procedió a trasladar las muestras en placas Petri de vidrio selladas con aluminio al laboratorio NIKON (Los Olivos, Lima, Perú), se utilizó el microscopio de epifluorescencia Nikon Eclipse Ci-E equipado con un filtro adecuado para la excitación de rodamina B trabajando con una longitud de onda de excitación de 480 nm y una longitud de onda de emisión de 510 nm, valores dentro del rango óptimo como se reporta en el estudio de Arbués [26].

Las muestras teñidas se colocan sobre portaobjetos de vidrio previamente limpios. Las imágenes fluorescentes se capturaron utilizando una cámara acoplada al microscopio con parámetros estándar de exposición y ganancia. Se empleó el software especializado NIS-Elements D para ajustar el contraste y realizar mediciones del tamaño y la

morfología de los microplásticos. Además, las observaciones se realizaron en un entorno oscuro para evitar interferencias por la luz ambiental.

F. Análisis estadístico

Los datos de microplásticos encontrados en el tracto digestivo de *Mugil cephalus* y *Trachurus murphyi* y el tejido blando de *Aulacomya atra* se presentaron manejando valores promedio de número de microplásticos por individuo \pm el error estándar de la media, el cual se basa en la desviación estándar y proporciona una medida más precisa del promedio por especie.

Asimismo, se calcularon las proporciones (%) de los tipos de microplásticos identificados por especie, así como sus errores muestrales estándar (EE) en el software MINITAB.

Del mismo modo, se contempló la comparación del grado de contaminación por microplásticos de las dos especies de pescados mediante una prueba t de Student para muestras independientes. Aplicando un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$), verificando la normalidad de los datos mediante el test de Anderson-Darling y considerando significativo un valor $p < 0.05$. Todo cálculo realizado en el software MINITAB.

G. Protocolo de seguridad

Las muestras fueron manejadas siguiendo los estándares de higiene y bioseguridad del laboratorio de la UNMSM. Para evitar la contaminación con microfibras sintéticas, se restringió el uso de materiales plásticos en el área de trabajo y se prioriza el uso de prendas de algodón en los procedimientos experimentales. Además, se implementaron medidas de control para minimizar la contaminación cruzada, incluyendo la limpieza previa de superficies con aire filtrado y el uso de guantes de nitrilo [13].

Dado que RhB es una sustancia altamente tóxica y potencialmente carcinogénica, su manipulación, al igual que la del Rojo Nilo, se realizó evitando la inhalación de vapores y la exposición prolongada. Se utilizaron guantes, bata de laboratorio y gafas de seguridad en todo momento. Su almacenamiento se llevó a cabo en envases herméticos y en áreas designadas para sustancias peligrosas. Los residuos generados fueron gestionados de acuerdo con los protocolos de manejo de desechos químicos peligrosos, asegurando su correcta disposición [13].

III. RESULTADOS

Los 30 individuos evaluados de cada especie evaluados en el microscopio estereoscópico Leica EZ4 presentaron

microplásticos en sus tractos digestivos (intestinos y estómago), en peces, y en el tejido blando (vísceras y el aparato gastrointestinal), en el molusco bivalvo.

El *Aulacomya atra*, en un individuo, por ejemplo, presentó el valor de 100 microplásticos identificados siendo 94 MP de tipo fibra transparente, 2 bolitas de tecnopor, 2 de tipo plástico irregular, 2 de fibra negra. Los 29 individuos restantes presentaron valores similares en cuanto a la cantidad y morfología de microplásticos encontrados (Fig. 2).

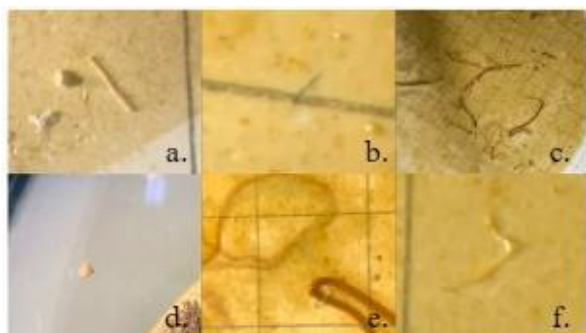


Fig. 2 Morfología de los microplásticos hallados en las especies (*Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi* y *Aulacomya atra*). El tipo fibra transparente (a., c., e. y f.) fueron las más comunes, mientras que las bolitas de tecnopor (d.) y fibra azul (b.) fueron las menos frecuentes.

Para el tracto digestivo del *Mugil cephalus* y *Trachurus murphyi*, los 30 individuos de cada especie presentaron MPs. Como se muestra en la Tabla 1, se registran datos de 131.52 ± 4.46 MPs/ind; 186.04 ± 1.82 MPs/ind y 54.72 ± 2.24 MPs/ind para las especies *Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi* y *Aulacomya atra*, respectivamente.

Tabla 1 Estadísticas descriptivas de microplásticos por especie

Especie	N	Media	Desv. Estándar	Error est.Media
<i>T. murphyi</i>	30	186.04	9.12	1.82
<i>M. cephalus</i>	30	131.52	22.31	4.46
<i>A. atra</i>	30	54.72	11.19	2.24

En todos los casos, la fibra sintética transparente fue el tipo de MP más frecuentemente identificado. Más del 80% de MPs hallados fueron de tipo fibra transparente; asimismo, también se hallaron fibras azules, rojas y negras. En detalle, los valores que presentó cada especie respecto al número de MPs de tipo fibra transparente fue de $82.06\% \pm 8.41\%$ para *Mugil cephalus*, $82.19\% \pm 7.26\%$ para *Trachurus murphyi* y $88.93\% \pm 1.55\%$ para *Aulacomya atra*.

En cuanto a la prueba t de comparación de medias realizada con los valores de las especies de pescado de la Tabla 1, el análisis mostró una diferencia estadísticamente significativa entre ambas especies ($p < 0.05$), con un valor estadístico t de 11.31. El intervalo de confianza del 95% para la diferencia de medias fue de [44.70, 64.34], lo que indica que, en promedio, *T. murphyi* presentó una mayor cantidad de MPs que *M. cephalus*, como se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2 Prueba t de Student para muestras independientes - Minitab

Diferencia	IC de 95% para la diferencia	Valor T	Grados de libertad	Valor P
54.52	(44.69, 64.35)	11.31	31	0.000

Respecto a la prueba de fluorescencia realizada posterior al análisis de MPs en el estereoscópico Leica EZ4, al teñirse las muestras y observarse en el microscopio de epifluorescencia, como se muestra en la Fig. 3, los MPs presentaron fluorescencia en tono verde.

Sin embargo, se evidenció como los MPs teñidos con Rojo Nilo (B) presentaron una fluorescencia más intensa y homogénea en comparación con aquellos teñidos con Rodamina B (A), cuya fluorescencia fue más tenue y de menor contraste con el fondo. En las imágenes obtenidas mediante epifluorescencia, se observó que el Rojo Nilo permitió una identificación más clara de los microplásticos, mientras que con Rodamina B algunos fragmentos fluorescieron con menor intensidad.

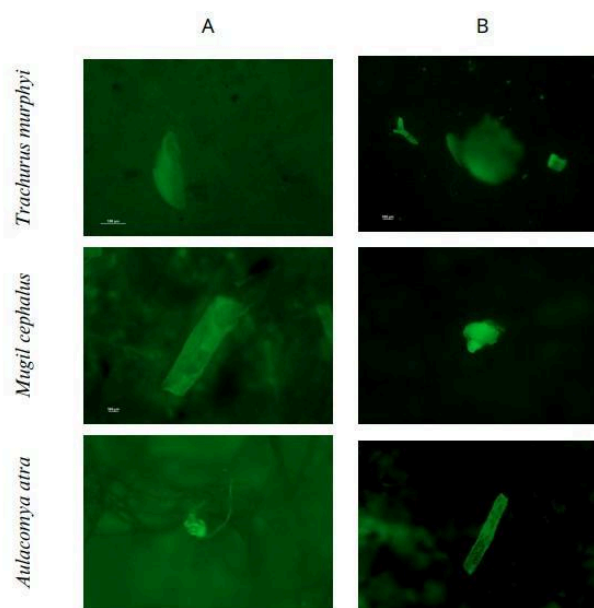


Fig. 3. Observación con fluorescencia de microplásticos. (A) es RhB 100 µg/mL y (B) es Rojo Nilo 10 µg/mL.

IV. DISCUSIÓN

La totalidad de los individuos evaluados de *Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi* y *Aulacomya atra*, obtenidos en el mercado pesquero de Pucusana, presentaron microplásticos en sus tractos digestivos y tejido blando. Esto concuerda con estudios previos como los de Acevedo y Sambolino et al. [27, 28] que señalan la bioacumulación de microplásticos en el tracto digestivo de los peces debido a su alimentación y exposición en el medio acuático. En el caso de *A. atra*, los resultados coinciden con lo reportado por Dellisanti et al. [20], donde se destaca que los moluscos bivalvos, por su alimentación filtradora, son altamente susceptibles a acumular microplásticos en sus tejidos blandos, al punto de ser considerados bioindicadores de contaminación por estas partículas.

Más del 80% de los microplásticos encontrados en las muestras fueron de tipo fibras sintéticas (84.42% en *M. cephalus*, 86.89% en *T. murphyi* y 81.73% en *A. atra*). Estos resultados son consistentes con lo reportado por [28], donde los microplásticos de tipo fibra oscilaron entre el 81% y 87% en especies como *Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus* y *Trachurus trachurus*, esta última de la misma familia que *T. murphyi*. Asimismo, el estudio de Lopes et al. [16] reportó un 80 % de fibras en peces evaluados, aunque con predominancia de colores azul y negro, a diferencia de este estudio, donde la fibra transparente fue la más frecuente.

Los microplásticos fueron identificados visualmente bajo microscopía estereoscópica y confirmados mediante el método de la aguja caliente [29]. Sin embargo, este método presenta limitaciones, ya que la determinación visual tiene un margen de error de hasta el 70 % para partículas menores a 500 μm , y no se realizaron análisis de composición polimérica, lo que introduce incertidumbre sobre la naturaleza de algunas partículas [16].

El análisis estadístico mostró que *T. murphyi* presentó la mayor cantidad de microplásticos. Esto puede estar relacionado con factores como su hábitat, hábitos alimenticios y lugar de captura. El jurel es una especie que se alimenta de macrozooplancton, larvas de peces y pequeños crustáceos [30], lo que sugiere una posible bioacumulación de microplásticos a través de la cadena trófica. Además, dado que los microplásticos tienden a concentrarse en la superficie oceánica debido a su baja densidad, es probable que las especies que habitan esta zona están más expuestas [20].

El uso de colorantes fluorescentes facilita la visualización de microplásticos, siendo el Rojo Nilo una de las opciones más utilizadas debido a su afinidad de adsorción en la superficie de los polímeros y su intensa

emisión de fluorescencia tras la excitación [31]. No obstante, su disponibilidad puede verse limitada por restricciones económicas y logísticas. En este estudio, se evaluó la Rodamina B como alternativa viable. Se observó que los microplásticos teñidos con Rojo Nilo presentaron mayor intensidad y homogeneidad en la fluorescencia, facilitando su identificación, mientras que los teñidos con Rodamina B mostraron fluorescencia más tenue y menor contraste con el fondo.

A pesar de esta diferencia, la Rodamina B resultó efectiva en la tinción de microplásticos pequeños (<5 mm), especialmente aquellos de color blanco y transparente. Esto confirmado por sus antecedentes de fluorescencia positiva en muestras de partículas y polímeros artificiales adquiridos por comercio y en muestras ambientales de agua de río [22]. Además, su estabilidad en soluciones como KOH, empleadas en la digestión de materia orgánica, refuerza su potencial aplicabilidad en estudios de microplásticos en biota marina [22]. Se trabajó con una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ en etanol, obteniéndose una fluorescencia máxima de 24 horas y con una longitud de onda de excitación entre 450-510 nm y de emisión entre 495-575 nm en filtro verde, en concordancia con lo registrado por Arbués y Ribeiro et al. [26, 31]. No obstante, es necesario optimizar la concentración de Rodamina B para mejorar su intensidad de fluorescencia y su aplicabilidad en estudios futuros.

V. CONCLUSIÓN

Los resultados confirmaron la presencia de microplásticos en la totalidad de los individuos analizados de *Mugil cephalus*, *Trachurus murphyi* y *Aulacomya atra*, obtenidos en el mercado pesquero de Pucusana. Esto es preocupante, ya que indica una contaminación extendida en especies marinas de consumo humano. En particular, *A. atra*, un molusco bivalvo ampliamente comercializado y cuyo tejido blando es altamente consumido. La ingesta directa de este organismo por los consumidores humanos podría representar un riesgo de exposición, ya que los MPs pueden actuar como vectores de contaminantes químicos y bioacumulativos, con posibles efectos adversos en la salud.

En cuanto a la metodología, se realizó una evaluación preliminar del uso de Rodamina B como colorante para la detección de microplásticos mediante epifluorescencia, explorando su viabilidad como alternativa al Rojo Nilo. Sin embargo, se observó que los microplásticos teñidos con Rojo Nilo presentaron mayor intensidad y homogeneidad en la fluorescencia, facilitando su identificación, mientras que los teñidos con Rodamina B mostraron fluorescencia más tenue y menor contraste con el fondo, lo que podría dificultar su visualización en ciertos casos. Dado que la Rodamina B permitió la detección de microplásticos, aunque con menor intensidad que el Rojo Nilo, se recomienda

realizar estudios adicionales para determinar la concentración óptima que mejore su eficacia.

Estos hallazgos aportan evidencia sobre la contaminación por microplásticos en especies marinas de consumo humano en Perú, resaltando la necesidad de optimizar las metodologías de detección y comprender mejor los riesgos asociados a la exposición humana a estos contaminantes.

REFERENCES

- [1] Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2021). Guía para inventarios de basura marina y microplásticos. <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/migration/pa/UNDP-PA-Inventarios-Basura-Marina--Microplasticos-2022.pdf>
- [2] Debbarma, N., Gurjar, U., Ramteke, K., Shenoy, L., Nayak, B., Bhushan, S., Geethalakshmi, V., & Xavier, M. (2022). Abundance and characteristics of microplastics in gastrointestinal tracts and gills of croaker fish (*Johnius dussumieri*) from off Mumbai coastal waters of India. *Marine Pollution Bulletin*, 176, 113473.
- [3] Cordova, M. R., Riani, E., & Shimoto, A. (2020). Microplastics ingestion by blue panchax fish (*Aplocheilichthys* sp.) from Ciliwung Estuary, Jakarta, Indonesia. *Marine Pollution Bulletin*, 161, 111763. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2020.111763>
- [4] Castañeta, G., Gutiérrez, A., Nacaratte, F., & Manzano, C. (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), 142–157. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.37.3.4>
- [5] Buteler, M. (2019). ¿Qué es la contaminación por plástico y por qué nos afecta a todos? Desde La Patagonia Difundiendo Saberes, 16(28), 56–60.
- [6] Iñiguez, M. (2019). *Estudio de la contaminación marina por plásticos y evaluación de contaminantes derivados de su tratamiento* [Tesis Doctoral, Universidad de Alicante]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=221646>
- [7] Rivas, M., & Garelli, O. (2021, March 10). Impacto de la contaminación por plásticos en la biodiversidad y patrimonio biocultural de México. <https://mx.boell.org/es/2021/03/10/impacto-de-la-contaminacion-por-plasticos-en-la-biodiversidad-y-patrimonio-biocultural>
- [8] Farré, C. (2022, August 3). *Microplásticos: qué son y qué efectos tienen en la salud y la economía*. <https://eleconomista.com.ar/actualidad/microplasticos-son-efectos-tienen-salud-economia-n55210#:~:text=Per%C3%B3n%20pl%C3%A1stico%20marina,seg%C3%BAn%20el%20informe%20del%20Pnuma>
- [9] Iannacone, J., Principe, F., Minaya, D., Panduro, G., Carhuapoma, M., & Alvaríño, L. (2021). Microplásticos en peces marinos de importancia económica en Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(2), e20038. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I2.20038>
- [10] Expósito, N., Rovira, J., Sierra, J., Gimenez, G., Domingo, J., & Schuhmacher, M. (2022). Levels of microplastics and their characteristics in molluscs from North-West Mediterranean Sea: Human intake. *Marine Pollution Bulletin*, 181, 113843. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.113843>
- [11] Polidoro, B., Lewis, T., & Clement, C. (2022). A screening-level human health risk assessment for microplastics and organic contaminants in near-shore marine environments in American Samoa. *Heliyon*, 8(3), e09101. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E09101>
- [12] Huang, W., Song, B., Liang, J., Niu, Q., Zeng, G., Shen, M., Deng, J., Luo, Y., Wen, X., & Zhang, Y. (2021). Microplastics and associated contaminants in the aquatic environment: A review on their ecotoxicological effects, trophic transfer, and potential impacts to human health. *Journal of Hazardous Materials*, 405, 124187. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2020.124187>
- [13] Caldwell, J., Taladriz-Blanco, P., Lehner, R., Lubskyy, A., Ortuso, R., Rothen-Rutishauser, B., & Petri-Fink, A. (2022). The micro-, submicron-, and nanoplastic hunt: A review of detection methods for plastic particles. *Chemosphere*, 293, 133514. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.133514>
- [14] Mohan, K., & Lakshmanan, V. (2023). A critical review of the recent trends in source tracing of microplastics in the environment. *Environmental Research*, 239, 117394. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2023.117394>
- [15] Malafaia, G., Luz, T., Ahmed, M., Karthi, S., & Araújo, A. (2022). When toxicity of plastic particles comes from their fluorescent dye: a preliminary study involving neotropical *Physalaemus cuvieri* tadpoles and polyethylene microplastics. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 6, 100054.
- [16] Lopes, C., Ambrosino, A., Figueiredo, C., Caetano, M., Santos, M., Garrido, S., & Raimundo, J. (2023). Microplastic distribution in different tissues of small pelagic fish of the Northeast Atlantic Ocean. *Science of The Total Environment*, 901, 166050. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.166050>
- [17] Fang, C., Zheng, R., Chen, H., Hong, F., Lin, L., Lin, H., Guo, H., Bailey, C., Segner, H., Mu, J., & Bo, J. (2019). Comparison of microplastic contamination in fish and bivalves from two major cities in Fujian province, China and the implications for human health. *Aquaculture*, 512, 734322. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734322>
- [18] Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C., Romano, N., Ho, Y., & Salamatinia, B. (2017). A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of The Total Environment*, 578, 485–494. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.10.213>
- [19] Hossain, M., Sobhan, F., Uddin, M., Sharifuzzaman, S., Chowdhury, S., Sarker, S., & Chowdhury, M. (2019). Microplastics in fishes from the Northern Bay of Bengal. *Science of The Total Environment*, 690, 821–830. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.07.065>
- [20] Dellisanti, W., Leung, M., Lam, K., Wang, Y., Hu, M., Lo, H. S., & Fang, J. (2023). A short review on the recent method development for extraction and identification of microplastics in mussels and fish, two major groups of seafood. *Marine Pollution Bulletin*, 186, 114221. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.114221>
- [21] De Witte, B., Catarino, A. I., Vandecasteele, L., Dekimpe, M., Meyers, N., Deloof, D., Pint, S., Hostens, K., Everaert, G., & Torrelee, E. (2022). Feasibility Study on Biomonitoring of Microplastics in Fish Gastrointestinal Tracts. *Frontiers in Marine Science*, 8, 794636.
- [22] Tong, H., Jiang, Q., Zhong, X., & Hu, X. (2021). Rhodamine B dye staining for visualizing microplastics in laboratory-based studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(4), 4209–4215. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10801-4>
- [23] Karakolis, E. G., Nguyen, B., You, J. B., Rochman, C. M., & Sinton, D. (2019). Fluorescent Dyes for Visualizing Microplastic Particles and Fibers in Laboratory-Based Studies. *Environmental Science and Technology Letters*, 6(6), 334–340. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00241>
- [24] Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. (2017). A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7, 44501. <https://doi.org/10.1038/srep44501>
- [25] Prata, J., Reis, V., Matos, J., da Costa, J., Duarte, A., & Rocha-Santos, T. (2019). A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT). *Science of The Total Environment*, 690, 1277–1283. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.07.060>
- [26] Arbués, A. (2022). *Evaluación de posibles estrategias basadas en la tinción fluorescente combinada con técnicas de separación para la detección de nanoplasticos* [Universidad Zaragoza].

- <https://zagan.unizar.es/record/111165/files/TAZ-TFG-2022-269.pdf>
- [27] Acevedo, S. (2020). Metodologías de extracción de microplásticos en tractos gastrointestinales de *Scylliorhinus canicula* [Tesis de Licenciatura, Universidad Católica de Valencia]. <https://riucv.ucv.es/handle/20.500.12466/1135>
- [28] Sambolino, A., Iniguez, E., Herrera, I., Kaufmann, M., Dinis, A., & Cordeiro, N. (2023). Microplastic ingestion and plastic additive detection in pelagic squid and fish: Implications for bioindicators and plastic tracers in open oceanic food webs. *Science of The Total Environment*, 894, 164952. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.164952>
- [29] Lusher, A., Welden, N., Sobral, P., & Cole, M. (2017). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9, 1346. <https://doi.org/10.1039/c6ay02415g>
- [30] Mar del Perú. (2023, May 23). Jurel. https://mardelperu.pe/articulos_wikipesca/principales-pesqueras-marin-as-en-el-peru/jurel/
- [31] Ribeiro, F., Duarte, A. C., & da Costa, J. P. (2024). Staining methodologies for microplastics screening. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 172, 117555. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2024.117555>