

Proyecto de tesis

Posible presencia de microplásticos en ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas en el Golfo de Nicoya, Pacífico de Costa Rica: Una revisión de las tendencias mundiales y comparación

Coralie Le Picard

Universidad de Costa Rica y Universidad de La Rochelle – Doble Diploma GIACT/GEEL

Tabla de contenido

1. Introducción	2
2. Materiales y métodos	4
2.1. Búsqueda bibliográfica	4
2.2. Estrategia de muestreo	4
2.3. Manipulación en el laboratorio	5
2.4. Las ostras	5
2.5. Los microplásticos	5
2.6. Control de calidad	5
2.7. Análisis estadístico	6
3. Cronograma	6
4. Presupuesto	7
7	
5. Bibliografía	8
6. Anexo	11

1. Introducción

El plástico es un recurso que utilizamos todos los días el cual juega un papel muy importante en nuestra sociedad (PlasticsEurope, 2020). El plástico es principalmente utilizado para el embalaje (39,6%), la construcción (20,4%) y la industria del automóvil (9,6%) (Alvarez-Risco et al., 2021). De acuerdo con PlasticsEurope (2020), la producción mundial de plástico alcanzó en el año 2019 un total de 370 millones de toneladas. Sin embargo, aunque estos conjuntos de cadenas de polímeros de la industria petroquímica fueron en su tiempo muy revolucionarios, son también responsables de una parte importante de la contaminación marina (Andrady, 2017). De hecho, se estima que cada año hay entre 4.8 y 12.7 millones de toneladas de plástico derramado en el mar (EMF, 2017; Geyer et al., 2017; Jambeck et al., 2015).

Entre todos estos desechos podemos encontrar los microplásticos (MPs) que son los plásticos de un tamaño inferior a 5 milímetros (Andrady, 2017; Winton et al., 2020). Estas pequeñas piezas de plástico pueden liberar aditivos en el medio (Fauvelle et al., 2021), pero también adsorber un conjunto de diferentes contaminantes tóxicos haciéndolos más nocivos (Nobre et al., 2015). En efecto, esos últimos pueden, por ejemplo, causar el mal funcionamiento de procesos fundamentales en organismos marinos como su desarrollo, reproducción, supervivencia o alimentación (Bhattacharya et al., 2010; Cole et al., 2014; Devriese et al., 2015; Meeker et al., 2009; Nanthini devi et al., 2022; Ory et al., 2018). Además, uno de los grandes problemas es que los MPs pueden, por su pequeño tamaño, entrar fácilmente en las redes tróficas desde los eslabones más bajos de la cadena (Taha et al., 2021; Worm et al., 2017). En efecto, algunos estudios han demostrado la presencia de MPs en diferentes tipos de zooplancton (Botterell et al., 2022; Sun et al., 2018; Taha et al., 2021). Por lo tanto, los científicos se interesan cada vez más por las posibles consecuencias de la ingestión de MPs por parte de los organismos marinos (**Figura 1 Anexo**), su relación con las especies que ingerimos, y finalmente cómo podría afectar a nuestra salud (Do et al., 2022; Rojas-Jimenez et al., 2022; Valencia-Castañeda et al., 2022; Vital et al., 2021). Y esto implica que algunos investigadores están interesados en estudiar el impacto de estos microplásticos ingeridos indirectamente en la salud humana (Barboza et al., 2020; Bhuyan, 2022; Smith et al., 2018).

La cuantificación de la contaminación por MPs se ha estudiado en una gran variedad de organismos acuáticos como el arenque *Opisthonema* sp. (Bermúdez-Guzmán et al., 2020), el tiburón *Galeus melastomus* (Alomar & Deudero, 2017) o los corales escleractínicos (Tang et al., 2021) y muchos otros. Hay también estudios en organismos sésiles filtradores como los mejillones (Nalbone et al., 2021) y las ostras (Do et al., 2022; Hammadi et al., 2022; Lee et al.,

2022; Wootton et al., 2022), los cuales pueden encontrarse de manera abundante en muchos lugares del mundo (Pousse et al., 2017). Además, estos organismos pueden estar particularmente expuesto a los MPs biodisponibles en su entorno y acumular grandes cantidades en sus tejidos, lo que los convierten en buenos bioindicadores de contaminación (Lee et al., 2022; Wootton et al., 2022). La ostra es también una fuente de alimentación apreciada por los humanos (Wootton et al., 2022), incluido en Costa Rica donde la contaminación por plástico alcanza umbrales bastante importantes causa de una mala gestión de los desechos (Nuñez Chacón, 2019). Sin embargo, existen pocos datos sobre la cuantificación en MPs en lugares donde la contaminación por plástico es importante, como es el caso de América Latina (ONU, 2018; Sáez & Urdaneta, 2014). No obstante, recientemente se realizó un estudio en el Golfo de Nicoya en la costa pacífica de Costa Rica, que permitió cuantificar los MPs en diferentes especies de moluscos: *Asthenometis asthenodon*, *Leukoma aspérrima*, *Leukoma ecuadoriana*, *Mytella strigata*, *Mytella guyanensis* y *Tagelus affinis* (Rojas-Jimenez et al., 2022). Por lo tanto, realizar un estudio con las ostras podría permitir una comparación de concentración entre estos moluscos y las ostras en Costa Rica, y también comparar la presencia de MPs con otros estudios que se han realizado en ostras en diferentes lugares del mundo. Así, el objetivo de este estudio es determinar el grado de contaminación por microplásticos en las ostras del Golfo de Nicoya, Costa Rica para compararlo con la literatura disponible al nivel local con otros moluscos y a nivel internacional con ostras. Por lo tanto, se plantea la hipótesis que la concentración de MPs en las ostras del Golfo de Nicoya va a ser similar con la de los otros moluscos del golfo porque se encuentran en el mismo entorno, pero va a tener pocas diferencias por culpa de los diferentes metabolismos. Además, podemos pensar que las concentraciones en las ostras del golfo van a ser diferente de las ostras de otros lugares del mundo por culpa de la morfología del territorio y quizás también por la tasa de polución en las aguas que es diferente.

2. Materiales y métodos

2.1. Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica con “Scopus” para crear una base de datos que recogiera las publicaciones que habían medido las concentraciones de MPs en ostras. Se utilizaron las palabras clave "microplastic" AND "oyster" OR "bivalve" OR "mollusc" OR "shellfish", identificando así un total de 596 publicaciones relevantes. Para seleccionar los estudios relevantes, nos basamos en el trabajo de Wootton et al. (2022), quienes crearon diferentes criterios de selección. De hecho, los métodos utilizados en la literatura difieren en muchos puntos, por lo que es importante seleccionar datos que se hayan obtenido con métodos similares para que sean comparables. Por lo tanto, hemos compilado una base de datos de 30 estudios utilizando los siguientes criterios (**Tab.1**).

Tabla 1: Criterios para la selección de los estudios

N°	Criterios utilizados
1	Utilización de ostra como objeto de estudio
2	Un tamaño de muestra de 10 o más individuos
3	Una etapa de digestión química para disolver la materia orgánica
4	Uso de tamices pequeños (<50 µm) para filtrar el material y un microscopio para la identificación inicial de los microplásticos
5	Uso de la garantía de calidad y de los controles de calidad
6	Informar de la carga de plástico en una unidad comparable (microplásticos/gramo de peso húmedo, valor medio de todas las muestras recogidas)

2.2. Estrategia de muestreo

Entre noviembre de 2022 y diciembre de 2022 se llevarán a cabo una compra en un cultivo de un ostricultor del golfo de Nicoya (n = 24) (**Fig.1**). Tras la compra, las ostras se enviarán al Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR) de la Universidad de Costa Rica en San José, a una temperatura de 5-6°C en metal (alternativas al plástico para no introducir un sesgo en el experimento).

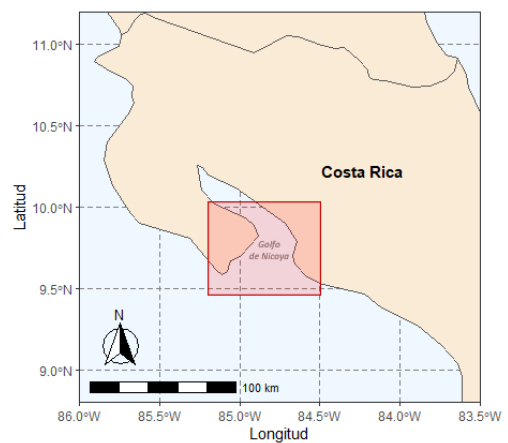


Figure 1: Carta del lugar de estudio, el Golfo de Nicoya, Costa Rica.

2.3. Manipulación en el laboratorio

Para comparar correctamente los datos con los obtenidos de las seis especies de moluscos del Golfo de Nicoya en el estudio de Rojas-Jimenez et al. (2022), realizaremos el mismo proceso de manipulaciones de laboratorio. También haremos una modificación que es la adición de un control de calidad para cumplir con todos los criterios establecidos para la selección de estudios en nuestra búsqueda bibliográfica.

2.4. Las ostras

Las ostras se abrirán para extraer los tejidos blandos, que se enjuagarán con agua destilada para eliminar la materia orgánica externa (MO). A continuación, estos tejidos se disolverán en hidróxido de potasio (KOH) al 10% (48 horas de incubación). La mezcla resultante se filtrará a través de un filtro de microfibra de vidrio "Whatman® GF/C" de 47 mm utilizando una bomba de vacío. Posteriormente, los filtros se colocarán en placas de Petri. Por fin, se entrarán en un horno a 30 °C durante 24 horas para secar los filtros.

2.5. Los microplásticos

Como lo hicieron Rojas-Jimenez et al. (2022), los filtros se examinarán bajo una lupa binocular (DM-143-FBGG, Motic) con un aumento de 10x-40x para identificar los MPs (tamaño entre 0,1-5 mm). Contaremos y distinguiremos fibras, películas y fragmentos y registraremos los colores. Después, se separarán y caracterizarán mediante un Micro-FTIR Perkin Frontier (resolución 2 cm⁻¹, apertura en el rango de 40 μm × 150 μm a 128 μm × 12 μm, rango espectral 3900-900 cm⁻¹). A continuación, se recuperan co-scans para cada MP con un software que se llama Omnic™ Picta™. Y con el software Perkin Elmer Spectrum Image y se compararán con bibliotecas de espectros existentes para identificar el tipo de plástico.

2.6. Control de calidad

Para reducir el riesgo de contaminación por MPs de nuestras muestras procedentes del medio ambiente, se seguirán procedimientos estrictos, como los indicados en el trabajo de Wootton et al. (2022). Los bancos de trabajo y las campanas de humos se limpiarán con agua ultrapura y papel de fibra. Las distintas herramientas se enjuagarán tres veces en agua ultrapura y las manipulaciones se llevarán a cabo bajo campanas de flujo laminar. Cuando las muestras estén potencialmente expuestas, deben cubrirse con papel de aluminio. Para hacer las manipulaciones las personas deberían llevar batas de laboratorio de algodón-poliéster de colores visibles para identificar y eliminar las posibles fibras que podría incorporar las muestras durante el análisis.

4. Presupuesto

	ACTIVIDADES Y MATERIALES	Número	COSTO (USD)	COSTO PERSONAL (USD)	FINANCIAMIENTO	
					COSTO (USD)	INSTITUCION
C A M P O	Carro	x1	220	-	-	
	Comida	x4	50	50	-	
	Cajas de metal	x1	20	20	120	
	Ostras	24	20	20	25	
L A B O R A T O R I O	Agua destilada	2,5 L	6	-	6	UCR
	Agua ultrapura	2,5 L	25	-	25	UCR
	Aluminio	x1	3	3	3	
	Hidróxido potásico	1L	63	-	63	UCR
	Toallitas sin pelusa	1	10	-	10	UCR
	Whatman® GF/C 47 mm	x100	100	-	100	UCR
	DM-143-FBGG, Motic	1	1650	-	adquirido	UCR
Micro-FTIR Frontier Perkin	x1	not found	-	adquirido	UCR	
Total (USD)			2167	93	207	

5. Bibliografía

- Alomar, C., & Deudero, S. (2017). Evidence of microplastic ingestion in the shark *Galeus melastomus Rafinesque*, 1810 in the continental shelf off the western Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 223, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.015>
- Alvarez-Risco, A., Estrada-Merino, A., Rosen, M. A., Vargas-Herrera, A., & Del-Aguila-Arcentales, S. (2021). Factors for implementation of circular economy in firms in covid-19 pandemic times: The case of Peru. *Environments - MDPI*, 8(9), 1–16. <https://doi.org/10.3390/environments8090095>
- Andrady, A. L. (2017). The plastic in microplastics: A review. *Marine Pollution Bulletin* 119, 1, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082>
- Barboza, L. G. A., Lopes, C., Oliveira, P., Bessa, F., Otero, V., Henriques, B., Raimundo, J., Caetano, M., Vale, C., & Guilhermino, L. (2020). Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Science of The Total Environment*, 717, 134625. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.134625>
- Bermúdez-Guzmán, L., Alpízar-Villalobos, C., Gatgens-García, J., Jiménez-Huezo, G., Rodríguez-Arias, M., Molina, H., Villalobos, J., Paniagua, S. A., Vega-Baudrit, J. R., & Rojas-Jimenez, K. (2020). Microplastic ingestion by a herring *Opisthonema* sp. in the Pacific coast of Costa Rica. *Regional Studies in Marine Science*, 38, 101367. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101367>
- Bhattacharya, P., Lin, S., Turner, J. P., & Ke, P. C. (2010). Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. *Journal of Physical Chemistry C*, 114(39), 16556–16561. <https://doi.org/10.1021/JP1054759>
- Bhuyan, M. S. (2022). Effects of Microplastics on Fish and in Human Health. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 250. <https://doi.org/10.3389/FENVS.2022.827289/BIBTEX>
- Botterell, Z. L. R., Bergmann, M., Hildebrandt, N., Krumpfen, T., Steinke, M., Thompson, R. C., & Lindeque, P. K. (2022). Microplastic ingestion in zooplankton from the Fram Strait in the Arctic. *Science of the Total Environment*, 831, 154886. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154886>
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific Reports* 2014 4:1, 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep04528>
- Devriese, L. I., van der Meulen, M. D., Maes, T., Bekaert, K., Paul-Pont, I., Frère, L., Robbens, J., & Vethaak, A. D. (2015). Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. *Marine Pollution Bulletin*, 98(1–2), 179–187. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2015.06.051>

- Do, V. M., Dang, T. T., Le, X. T. T., Nguyen, D. T., Phung, T. V., Vu, D. N., & Pham, H. V. (2022). Abundance of microplastics in cultured oysters (*Crassostrea gigas*) from Danang Bay of Vietnam. *Marine Pollution Bulletin*, 180. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.113800>
- EMF. (2017). The new plastics economy: rethinking the future of plastics and catalysing action.
- Fauvelle, V., Garel, M., Tamburini, C., Nerini, D., Castro-Jiménez, J., Schmidt, N., Paluselli, A., Fahs, A., Papillon, L., Booth, A. M., & Sempéré, R. (2021). Organic additive release from plastic to seawater is lower under deep-sea conditions. *Nature Communications*, 12(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24738-w>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7). https://doi.org/10.1126/SCIADV.1700782/SUPPL_FILE/1700782_SM.PDF
- Hammadi, M. al, Knuteson, S., Kanan, S., & Samara, F. (2022). Microplastic pollution in oyster bed ecosystems: An assessment of the northern shores of the United Arab Emirates. *Environmental Advances*, 8, 100214. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100214>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Lee, H. C., Khan, M. M., Yusli, A. A., Jaya, N. A., & Marshall, D. J. (2022). Microplastic accumulation in oysters along a Bornean coastline (Brunei, South China Sea): Insights into local sources and sinks. *Marine Pollution Bulletin*, 177, 113478. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.113478>
- Meeker, J. D., Sathyanarayana, S., & Swan, S. H. (2009). Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2097–2113. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0268>
- Nalbone, L., Cincotta, F., Giarratana, F., Ziino, G., & Panebianco, A. (2021). Microplastics in fresh and processed mussels sampled from fish shops and large retail chains in Italy. *Food Control*, 125, 108003. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108003>
- Nanthini devi, K., Raju, P., Santhanam, P., & Perumal, P. (2022). Impacts of microplastics on marine organisms: Present perspectives and the way forward. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 48(3), 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2022.03.001>
- Nobre, C. R., Santana, M. F. M., Maluf, A., Cortez, F. S., Cesar, A., Pereira, C. D. S., & Turra, A. (2015). Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Pollution Bulletin*, 92(1–2), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.050>

- Nuñez Chacón, M. (2019). Urge mayor gestión de residuos plásticos en Costa Rica. *Semanario Universidad*.
- ONU. (2018, October 12). Cómo La Basura Afecta Al Desarrollo de América Latina - Noticias ONU | PDF | Residuos | Vertedero. <https://es.scribd.com/document/561158652/Como-la-basura-afecta-al-desarrollo-de-America-Latina-Noticias-ONU>
- Ory, N., Chagnon, C., Felix, F., Fernández, C., Ferreira, J. L., Gallardo, C., Garcés Ordóñez, O., Henostroza, A., Laaz, E., Mizraji, R., Mojica, H., Murillo Haro, V., Ossa Medina, L., Preciado, M., Sobral, P., Urbina, M. A., & Thiel, M. (2018). Low prevalence of microplastic contamination in planktivorous fish species from the southeast Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 211–216. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2017.12.016>
- PlasticsEurope. (2020). Plastics-the Facts 2020 An analysis of European plastics production, demand and waste data. *EPRO*, 1-64. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2020/>
- Pousse, É., Lefebvre, S., Richard, M., Barillé, L., Jean, F., & Flye-Sainte-Marie, J. (2017). Modélisation basée sur la théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB) de la cinétique de bioaccumulation des toxines paralysantes (PST) par l'huître. *Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin*.
- Rojas-Jimenez, K., Villalobos-Rojas, F., Gatgens-García, J., Rodríguez-Arias, M., Hernández-Montero, N., & Wehrmann, I. S. (2022). Presence of microplastics in six bivalve species (Mollusca, Bivalvia) commercially exploited at the Pacific coast of Costa Rica, Central America. *Marine Pollution Bulletin*, 183, 114040. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114040>
- RStudio Team (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R
- Sáez, A., & Urdaneta, J. A. (2014). Manejo de residuos sólidos en América Latina y el Caribe. *Omnia Año*, 20(3), 1315–8856.
- Smith, M., Love, D. C., Rochman, C. M., & Neff, R. A. (2018). Microplastics in Seafood and the Implications for Human Health. *Current Environmental Health Reports*, 5(3), 375. <https://doi.org/10.1007/S40572-018-0206-Z>
- Sun, X., Liu, T., Zhu, M., Liang, J., Zhao, Y., & Zhang, B. (2018). Retention and characteristics of microplastics in natural zooplankton taxa from the East China Sea. *Science of the Total Environment*, 640–641, 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.308>
- Taha, Z. D., Md Amin, R., Anuar, S. T., Nasser, A. A. A., & Sohaimi, E. S. (2021). Microplastics in seawater and zooplankton: A case study from Terengganu estuary and offshore waters, Malaysia. *Science of the Total Environment*, 786, 147466. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147466>
- Tang, J., Wu, Z., Wan, L., Cai, W., Chen, S., Wang, X., Luo, J., Zhou, Z., Zhao, J., & Lin, S. (2021). Differential enrichment and physiological impacts of ingested

microplastics in *scleractinian* corals in situ. *Journal of Hazardous Materials*, 404, 124205. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124205>

Valencia-Castañeda, G., Ruiz-Fernández, A. C., Frías-Espericueta, M. G., Rivera-Hernández, J. R., Green-Ruiz, C. R., & Páez-Osuna, F. (2022). Microplastics in the tissues of commercial semi-intensive shrimp pond-farmed *Litopenaeus vannamei* from the Gulf of California ecoregion. *Chemosphere*, 297, 134194. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134194>

Vital, S. A., Cardoso, C., Avio, C., Pittura, L., Regoli, F., & Bebianno, M. J. (2021). Do microplastic contaminated seafood consumption pose a potential risk to human health? *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112769. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112769>

Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.

Winton, D. J., Anderson, L. G., Roccliffe, S., & Loiselle, S. (2020). Macroplastic pollution in freshwater environments: Focusing public and policy action. *Science of the Total Environment*, 704, 135242. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135242>

Wootton, N., Sarakinis, K., Varea, R., Reis-Santos, P., & Gillanders, B. M. (2022). Microplastic in oysters: A review of global trends and comparison to southern Australia. *Chemosphere*, 307, 136065. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136065>

Worm, B., Lotze, H. K., Jubinville, I., Wilcox, C., & Jambeck, J. (2017). Plastic as a Persistent Marine Pollutant. *Annual Review of Environment and Resources*, 42, 1–26. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102016-060700>

6. Anexo

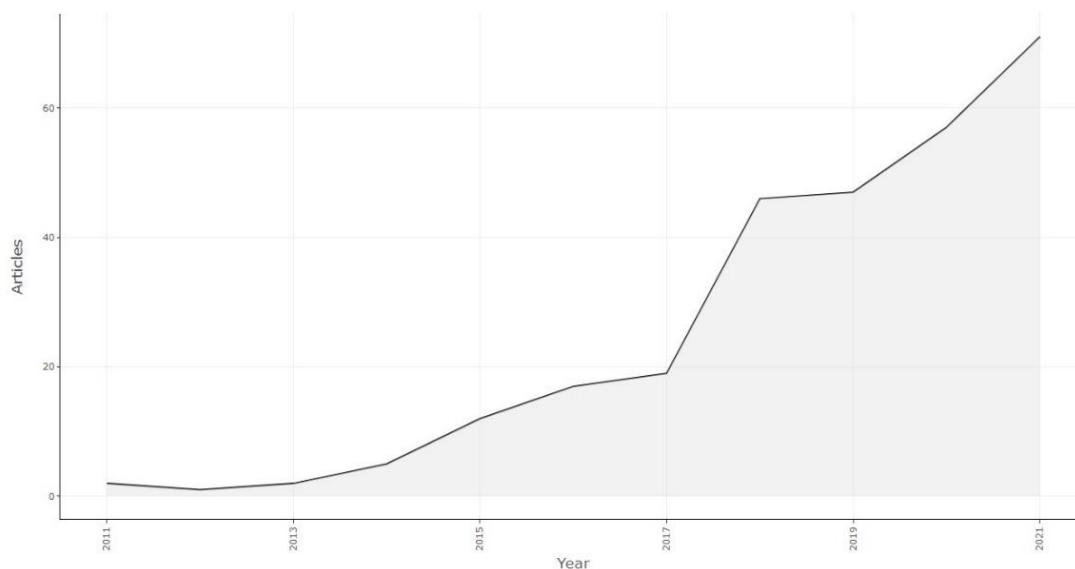


Figura 1: Evolución de los artículos en el tiempo sobre el tema de las ostras y de la ingestión de microplásticos