

Informe final publicable de proyecto

Remoción de micro y nanoplásticos en aguas residuales urbanas

Código de proyecto ANII: FMV_3_2022_1_172436

Fecha de cierre de proyecto: 01/11/2025

- BENZO CASTIGLIONI, Martin** (Responsable Técnico - Científico)
- BENTOS PEREIRA ARAUJO, Heinkel Yandinoca** (Investigador)
- FORNARO, Laura** (Investigador)
- OLIVERA MARTÍNEZ, Alvaro Daniel** (Investigador)
- PÉREZ BARTHABURU, María Eugenia** (Investigador)
- PÉREZ PARADA, Andrés** (Investigador)
- RODRIGUEZ, Mauricio** (Investigador)

Resumen del proyecto

Los micro y nanoplásticos (MNP) son contaminantes emergentes que están cada vez más presentes en el ambiente. Las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas (PTAR) son una de las principales fuentes de emisión de estas partículas, ya que los procesos convencionales no están diseñados para removerlas de manera eficiente.

Este proyecto buscó generar la capacidad analítica y experimental necesaria para estudiar la presencia de MNP en aguas residuales y avanzar en el desarrollo de procesos que permitan reducir sus emisiones al ambiente. Para ello, se adquirió e instaló equipamiento especializado y se desarrollaron metodologías para su identificación, cuantificación y separación en diferentes fracciones de tamaño.

También se iniciaron ensayos de procesos de tratamiento a escala de laboratorio, como coagulación–floculación, que permitirán en el futuro optimizar condiciones operativas para mejorar la remoción de MNP. Además, se están incorporando líneas de trabajo innovadoras, como el desarrollo de partículas trazadoras y métodos alternativos de detección.

Si bien muchas actividades están aún en desarrollo, los avances alcanzados representan un primer paso clave para consolidar una nueva línea de investigación en Uruguay sobre la ocurrencia de MNP en aguas residuales y otras matrices ambientales, aportando herramientas que en el futuro podrán aplicarse al monitoreo y mejora de procesos de tratamiento que permitan su remoción previa a su descarga al ambiente.

Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / Tratamiento de aguas residuales

Palabras clave: Microplásticos / Nanoplásticos / Aguas residuales /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Antecedentes

Los micro y nanoplásticos (MNP) son contaminantes emergentes cuya presencia en el ambiente ha despertado creciente atención científica, regulatoria y social en los últimos años. Se denomina microplásticos (MP) a las partículas de plástico con dimensiones entre 1 µm y 5 mm, y nanoplásticos (NP) a aquellas menores a 1.000 nm [1]. Estas partículas pueden ser de origen primario, cuando se producen intencionalmente para usos específicos (por ejemplo, microesferas cosméticas, pellets industriales o fibras sintéticas) [2], [3], o secundario, cuando derivan de la fragmentación de objetos plásticos de mayor tamaño sometidos a procesos físicos, químicos y biológicos en el ambiente [4], [5].

Los MNP se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente: se han detectado en aguas superficiales y subterráneas [6]–[8], sedimentos y suelos [5], [9], [10], la atmósfera e incluso en organismos a lo largo de toda la cadena tráfica [11], [12]. Su persistencia, movilidad y capacidad de actuar como vectores de contaminantes químicos —como metales pesados y contaminantes orgánicos persistentes— los convierte en un problema ambiental complejo, con posibles impactos sobre ecosistemas acuáticos y la salud humana [13]–[16]. Estudios recientes han detectado por primera vez microplásticos en sangre humana, lo que confirma la potencial exposición directa de la población a estos contaminantes [17], [18].

La identificación, caracterización y cuantificación de MNP en matrices ambientales representa un desafío técnico importante. No existen aún metodologías estandarizadas internacionalmente, y las técnicas actualmente utilizadas combinan diferentes etapas:

- Aislamiento y fraccionamiento por tamaño, mediante tamizado, filtración en cascada o separación por densidad [19].
- Eliminación de materia orgánica, por digestión química o enzimática [20]
- Identificación y caracterización química, mediante espectroscopías vibracionales (micro-FTIR, micro-Raman) [21]–[23] y/o técnicas termoanalíticas (pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas, Py-GC/MS) [24], [25].
- Caracterización morfológica y de tamaño, mediante microscopías ópticas o electrónicas (TEM) y técnicas de dispersión de luz [21], [26].

Si bien para microplásticos existe un número creciente de publicaciones y métodos aplicados, para nanoplásticos el desarrollo analítico es aún incipiente. Su baja masa, elevada dispersión y la complejidad de las matrices ambientales requieren pasos previos de concentración —por ejemplo, mediante ultrafiltración— para alcanzar niveles detectables [27], [28]. Esto representa un cuello de botella metodológico que ha limitado su estudio a nivel internacional y, más aún, en países de América Latina.

En cuanto a su origen ambiental, múltiples estudios coinciden en que una de las principales fuentes de MNP hacia los ecosistemas acuáticos son las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas (PTAR) [29], [30]. Si bien parte de los MP pueden ser retenidos en distintas etapas de tratamiento, las eficiencias de remoción son variables [30]–[33] y hay pocos trabajos que reportan eficiencias de remoción sobre NP [27], [28]. Sin embargo, estas eficiencias no eliminan completamente los MNP, y dado el gran volumen de efluentes tratados que se descargan diariamente, las PTAR constituyen un vector importante de contaminación difusa. A su vez, los MNP retenidos en lodos también representan un pasivo ambiental de relevancia [10], [34]

En Uruguay, la Administración de Obras Sanitarias del Estado (OSE) es la principal operadora de PTAR. La mayoría de las instalaciones del país emplean procesos convencionales —rejas, desarenado, sedimentación primaria, lagunas aireadas o facultativas y tratamientos biológicos— y, en general, no incluyen tecnologías terciarias avanzadas como filtración por membranas, que presentan altas eficiencias en remoción de MNP pero requieren inversiones y costos operativos elevados. Esto abre una oportunidad tecnológica y de gestión: optimizar la remoción de MNP mediante adaptaciones de bajo costo en procesos ya existentes, especialmente en las etapas de coagulación–floculación y sedimentación [35]–[37], así como en el ajuste de parámetros operativos en sistemas biológicos.

A nivel nacional, no existía previamente una línea de investigación consolidada en detección y cuantificación de MNP en aguas residuales. El presente proyecto surgió para cubrir este vacío, articulando capacidades en desarrollo analítico, síntesis de materiales de referencia y tratamiento de aguas residuales.

Problema de investigación

El problema central abordado por este proyecto es la contribución de las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas a la contaminación por MNP en cuerpos receptores. Dado que los sistemas actuales no están diseñados para remover estas partículas, se estima que constituyen una de las principales vías de emisión hacia el ambiente. Como ya se mencionó, a nivel internacional, aún existen grandes vacíos en el conocimiento sobre:

- La eficiencia real de remoción de MNP, especialmente NP, en cada etapa de tratamiento.
- Las condiciones de operación que optimizan su remoción sin necesidad de introducir tecnologías costosas.
- La interacción entre MNP y la materia orgánica y otros sólidos presentes en aguas residuales.
- La falta de metodologías analíticas robustas para su detección en matrices complejas como aguas residuales urbanas.

En Uruguay, este problema es particularmente relevante ya que:

- Las PTAR no incluyen procesos avanzados de separación.
- No existen datos sobre concentraciones ni emisiones de MNP.
- No hay protocolos analíticos estandarizados ni capacidad instalada para su monitoreo sistemático.

Objetivos

- Objetivo general

Evaluar la ocurrencia de micro y nanoplásticos en plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas, y determinar las condiciones de operación que optimicen su remoción en las diferentes etapas de los procesos habituales de tratamiento.

- Objetivos específicos

1. Desarrollar y adaptar metodologías analíticas para la detección y cuantificación de MNP en matrices de aguas residuales.
2. Estudiar procesos de tratamiento a escala de laboratorio y evaluar la influencia de condiciones y parámetros operativos sobre la eficiencia de remoción de MNP.
3. Estimar las emisiones de MNP al ambiente a partir de PTAR seleccionadas.
4. Identificar etapas de tratamiento con mayor potencial de optimización y proponer ajustes operativos para aumentar la eficiencia de remoción.
5. Generar herramientas y conocimiento aplicable al monitoreo y gestión de contaminantes emergentes.

Justificación

Este proyecto aborda una problemática ambiental global con un enfoque local aplicado. Los MNP representan una amenaza creciente para los ecosistemas acuáticos y potencialmente para la salud humana. Las PTAR son un punto crítico para mitigar sus emisiones, pero actualmente no existen estrategias específicas de control ni monitoreo.

La justificación científica radica en que el desarrollo y validación de técnicas analíticas robustas permitirá, por primera vez en Uruguay, cuantificar MNP en aguas residuales y estudiar su comportamiento en procesos de tratamiento. Se seleccionó la técnica de pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS) como la más adecuada para la cuantificación de MNP en aguas residuales. Esta técnica permite determinar la masa de MNP de cualquier tamaño y tipo de polímero, siempre que se realice una calibración adecuada y una preparación de muestra apropiada.

El uso de técnicas complementarias —como FTIR, TEM y fluorescencia— proporciona un enfoque analítico integral que permite abordar de forma más completa los desafíos asociados a la identificación y cuantificación de MNP en matrices complejas como las aguas residuales..

La justificación tecnológica está en la posibilidad de optimizar procesos existentes de bajo costo —como coagulación-floculación y sedimentación— para mejorar la remoción de MNP sin requerir inversiones elevadas en nuevas infraestructuras [32], [37], [38].

La justificación estratégica es que el proyecto sienta las bases para una línea de investigación nacional en MNP, inexistente hasta ahora, y fortalece capacidades técnicas que podrán ser transferidas a instituciones públicas y privadas. Además, la infraestructura y metodologías desarrolladas podrán aplicarse a otras matrices ambientales (aguas superficiales, sedimentos, etc.), ampliando el impacto potencial.

Finalmente, la justificación social y ambiental es clara: reducir las emisiones de MNP desde PTAR contribuirá a disminuir la contaminación de ecosistemas acuáticos y, por extensión, la exposición humana a estos contaminantes emergentes.

Relevancia y aplicabilidad

- Los resultados de este proyecto aportan directamente al fortalecimiento de la capacidad nacional para:
- Monitorear contaminantes emergentes.
 - Generar conocimiento técnico aplicable a políticas ambientales.
 - Transferir tecnología analítica a operadores de PTAR y organismos de control.
 - Proveer evidencia científica que contribuya a eventuales futuras regulaciones sobre MNP.

Metodología/Diseño del estudio

Diseño original del estudio

El proyecto fue concebido con un enfoque orientado a evaluar la presencia y remoción de MNP en PTAR de la Región Este de Uruguay. El diseño inicial abarcaba tres grandes líneas complementarias: (1) el desarrollo de metodología analítica para monitoreo de MNP en matrices complejas, en particular, las aguas residuales, (2) el monitoreo de MNP en PTAR reales, mediante el muestreo de aguas residuales crudas, tratadas y lodos, para cuantificar los polímeros predominantes y estimar las emisiones al ambiente, y (2) la optimización de procesos de tratamiento de aguas residuales a escala de laboratorio, para determinar condiciones operativas que mejoran la eficiencia de remoción de MNP

Sin embargo, durante la ejecución se comprobó que el desarrollo de la metodología analítica —que implicó la puesta a punto completa del sistema de Py-GC/MS, núcleo analítico del proyecto— demandaba un desarrollo más prolongado que el estimado, ya que el equipamiento debía ser instalado, acoplado, calibrado y validado desde cero. Esta circunstancia llevó a reformular el cronograma y centrar los esfuerzos en consolidar la infraestructura y los métodos analíticos que sostendrán el monitoreo y la optimización de remoción en etapas futuras. Además, a fines de 2024 el horno de pirólisis, accesorio fundamental para la técnica de pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS), sufrió una avería irreparable, lo que provocó la interrupción de las actividades originalmente planificadas del proyecto y motivó la incorporación de nuevas actividades correctivas.

A continuación se describen los diseños metodológicos correspondientes tanto a las actividades previstas en el plan original como a las actividades correctivas, incluyendo aquellas que se desarrollaron durante la ejecución del proyecto y las que se encuentran actualmente en curso.

1. Desarrollo de materiales de referencia

Si bien esta etapa había comenzado antes del inicio formal de la ejecución del proyecto, parte de las actividades se integraron dentro de su marco de trabajo. Se desarrollaron protocolos de síntesis y caracterización de micro y nanoplásticos (MNP) representativos de los polímeros más abundantes en residuos plásticos: polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), policloruro de vinilo (PVC) y tereftalato de polietileno (PET).

Los MNP se obtuvieron mediante precipitación en no disolvente, ajustando las concentraciones de polímero y surfactante para controlar la morfología y el tamaño de partícula. La caracterización morfológica y dimensional se realizó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), mientras que los procesos de envejecimiento superficial se llevaron a cabo mediante exposición a radiación UV y ozono (UV/O₃), con el objetivo de simular las modificaciones químicas y físicas que los MNP sufren tras su exposición ambiental.

El éxito del envejecimiento se evaluó analizando los cambios en la composición química superficial mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Para evaluar la aplicabilidad de los MNP sintetizados, se realizaron ensayos preliminares de coagulación–floculación, utilizando sulfato de aluminio como coagulante y empleando los MNP envejecidos como materiales modelo para probar su remoción en condiciones controladas de laboratorio.

2. Desarrollo de metodología analítica para el monitoreo de MNP en PTAR

Se seleccionó la técnica de Py-GC/MS como la más adecuada para monitorear MNP en PTAR, por su capacidad de identificar y cuantificar en masa polímeros de cualquier tamaño, incluidos los nanométricos, a partir de su descomposición térmica controlada [25], [39]. Frente a métodos espectroscópicos, que requieren partículas visibles y largos tiempos de análisis, la Py-GC/MS permite una cuantificación global y sensible del contenido polimérico en matrices complejas, siempre que se realicen calibraciones adecuadas y un cuidadoso tratamiento de muestras [9], [18], [27].

La implementación implicó el acople de un horno de pirólisis SGE Pyrojector II a un cromatógrafo de gases Agilent GC/MS 7890B/5977B. Se diseñó un procedimiento de limpieza y pasivación de materiales de cuarzo y vidrio mediante silanización con agentes organosilánicos, con el fin de reducir la adsorción y degradación secundaria de los productos de pirólisis y mejorar la reproducibilidad e intensidad de señal. Este tratamiento se aplicó de forma sistemática a los liners de cuarzo internos del horno de pirólisis, capilares de introducción de muestra y liners del puerto de inyección del GC. Posteriormente se procedió a la caracterización de la pirólisis de los polímeros de interés, centrando el estudio en los cinco materiales plásticos de mayor producción mundial: PE, PP, PS, PVC y PET [40]. Dado que los rangos de las curvas de calibración reportadas en otros trabajos son de nanogramos a microgramos de polímero [9], [18], [27], y no se disponía de una balanza microanalítica que permitiera pesar directamente esas cantidades, se desarrolló un método de preparación de muestras por dilución sólida. Los estándares de MNP de cada polímero —sintetizados mediante un protocolo establecido en etapas previas al proyecto [41]- se mezclaron con carbonato de calcio (CaCO₃), utilizado como material inerte y no reactivo, para permitir la pesada de cantidades mayores y asegurar una dispersión homogénea del polímero. Las mezclas se homogeneizaron mediante molienda en molino de bolas y se emplearon para caracterizar la pirólisis individual de los polímeros PE, PP, PS, PVC y PET, identificando los compuestos marcadores principales y los iones fragmento más representativos de cada uno.

Esta información se utilizó para construir curvas de calibración a partir de las respuestas instrumentales de los compuestos marcadores seleccionados para cada polímero. Además, se evaluaron dos estándares internos —fluoruro de polivinilideno (PVDF) y poli(4-cloroestireno) (P4CS)— con el propósito de compensar posibles variaciones inherentes al método y al desempeño instrumental [42], [43]. Se generaron curvas de calibración con distintas combinaciones de marcador/estándar interno para cada polímero, con el objetivo de identificar las configuraciones que ofrecieran una cuantificación más robusta y reproducible. Asimismo, se estudió el efecto de la matriz en la respuesta analítica mediante la construcción de curvas adicionales en presencia de agua residual sintética, preparada de acuerdo con las guías de la OECD [44], lo que permitió evaluar la influencia de los componentes inorgánicos y orgánicos del medio sobre la señal de los compuestos marcadores.

3. Desarrollo del protocolo de preparación de muestras

Dada la baja masa de polímero en muestras ambientales, fue necesario desarrollar un protocolo de pretratamiento y concentración previo al análisis. Se implementó un sistema de filtración secuencial en cascada, con mallas de acero inoxidable de 1 mm y 20 µm, que permite dividir las muestras en dos fracciones: microplásticos grandes (1 mm–20 µm) y micro y nanoplásticos pequeños (<20 µm).

La fracción más fina obtenida tras la filtración se concentra mediante ultrafiltración, lo que permite reducir el volumen de muestra y alcanzar concentraciones dentro de los límites de cuantificación instrumentales. Este proceso se encuentra actualmente en desarrollo y se realiza utilizando un cartucho de ultrafiltración de fibra hueca (Sartorius, Re-use Investigator 24", 100 kDa, 1.0 mm, 0.28 m²), adquirido con los fondos del proyecto. Finalmente, esta etapa incluye el diseño de un procedimiento de eliminación de materia orgánica por digestión química, necesario para minimizar interferencias durante la cuantificación de MNP. Sin embargo, debido al tiempo adicional requerido para la puesta a punto del método analítico y a la avería del horno de pirólisis, el desarrollo de este paso se reprogramó para etapas posteriores al período del proyecto.

4. Desarrollo de nuevos trazadores y técnicas complementarias

A fines de 2024, el horno de pirólisis (SGE Pyrojector II) utilizado en la técnica de pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS) sufrió una avería irreparable, ya que el modelo se encuentra actualmente discontinuado por el fabricante. Si bien se está actualmente en proceso de adquisición de un nuevo horno de pirólisis (EGA/PY 3030D de Frontier Lab), se estima su instalación para mediados de 2026.

Con el fin de dar continuidad al proyecto y avanzar en algunas de las actividades originalmente previstas, se planteó la incorporación de nuevas líneas de trabajo orientadas a disponer de metodologías alternativas que permitieran evaluar la remoción de MNP en los distintos tratamientos a escala de laboratorio. En este marco, se desarrollaron dos nuevas líneas experimentales, ambas basadas en el marcado de los MNP para posibilitar su seguimiento mediante técnicas indirectas. Estas metodologías permitirán continuar con los ensayos de remoción mientras se gestiona la sustitución del equipo de pirólisis dañado, y además aportarán información complementaria a la obtenida mediante la técnica de Py-GC/MS, contribuyendo a una comprensión más integral de los procesos de remoción de MNP a escala de laboratorio.

La primera línea experimental consiste en la síntesis de nanopartículas núcleo-cáscara de óxido de cobre recubiertas con polietileno (CuO@PE), que pueden detectarse mediante espectrofotometría o análisis de metales, previa digestión química. Las nanopartículas de CuO se sintetizaron mediante el método de precipitación húmeda [45]–[47], y posteriormente se funcionalizó su superficie con ácido oleico [48], con el objetivo de aumentar su afinidad por matrices poliméricas hidrofóbicas como el PE.

Actualmente se están ensayando diferentes estrategias de encapsulación, sin antecedentes en la literatura, entre ellas la emulsión–precipitación y la precipitación controlada de PE sobre las nanopartículas de CuO (nucleación heterogénea). Estas metodologías buscan obtener partículas estables con una capa polimérica uniforme, que permitan su aplicación como trazadores modelo de MNP en procesos de remoción a escala de laboratorio.

La segunda línea experimental se basa en el marcado fluorescente de MNP con Rojo Nilo, lo que permite su cuantificación mediante espectrofluorometría o a través de inyección en flujo acoplada a detector de fluorescencia (HPLC-FLD). Actualmente se están ensayando diferentes estrategias de marcado, que incluyen la incorporación del tinte durante la síntesis de los MNP [49], y el proceso combinado de hinchado–difusión [50], [51], con el objetivo de lograr una señal fluorescente estable y representativa que permita el seguimiento cuantitativo de las partículas durante los ensayos de remoción.

Ambas estrategias constituyen alternativas analíticas complementarias a la Py-GC/MS, capaces de estimar la eficiencia de remoción de MNP en procesos de tratamiento sin requerir la pirólisis para la detección.

Resultados, análisis y discusión

1. Desarrollo de materiales de referencia

El trabajo sobre el desarrollo de micro- y nanoplásticos (MNP) de referencia tuvo como objetivo obtener partículas representativas de las presentes en aguas residuales, tanto en su composición como en su comportamiento coloidal.

Se empleó un método de precipitación por no-solvente, que consistió en la disolución del polímero en un solvente adecuado y su posterior precipitación mediante la adición controlada de un segundo solvente en el cual el polímero es insoluble. Esta estrategia permitió sintetizar partículas de PE, PP, PS, PVC y PET en un amplio rango de tamaños (20–3500 nm, determinado por TEM), con morfología granular y tamaño ajustable mediante la concentración del polímero y del surfactante empleados durante la síntesis. Se halló que tanto aumentar la concentración de polímero en la síntesis, como agregar un surfactante (Tween 60), promueve la generación de partículas de mayor tamaño.

Con el fin de reproducir las condiciones ambientales, las partículas se envejecieron artificialmente mediante exposición a radiación UV y ozono (UV/O₃), lo que produjo un incremento en los índices de carbonilo, hidroxilo y C=O determinados por FTIR, obteniéndose espectros comparables a los de plásticos naturalmente envejecidos tras su exposición ambiental. También se sintetizaron MNP utilizando plásticos naturalmente degradados recolectados en playas como material de partida; sin embargo, este procedimiento generó partículas con características similares a las obtenidas a partir de polímeros vírgenes no envejecidos. El proceso de envejecimiento artificial dio lugar a partículas con mayor hidrofiliidad y capacidad de dispersión en agua, observándose una dispersión significativamente mejor en los polímeros envejecidos respecto a los no envejecidos.

Las pruebas de dispersión en diferentes medios evidenciaron que los MNP no envejecidos en agua desionizada (DW) tienden a agregarse y flotar, produciendo bajas turbideces, mientras que los envejecidos y aquellos dispersos en agua residual filtrada (FWW) mostraron turbideces considerablemente mayores y suspensiones estables. Estos resultados confirman que tanto el envejecimiento superficial como la presencia de materia orgánica disuelta en FWW favorecen la estabilización coloidal de los MNP, probablemente debido a la formación de una eco-corona, es decir, una capa de macromoléculas orgánicas adsorbidas sobre la superficie de los MNP que modifica su química superficial y comportamiento interfacial.

Con el fin de verificar la aplicabilidad de las partículas como materiales de referencia en procesos de tratamiento de aguas residuales, se realizaron ensayos de coagulación/floculación utilizando sulfato de aluminio (120 mg L⁻¹) como coagulante. Las eficiencias de remoción dependieron fuertemente del medio, mostrando valores más altos en FWW, lo cual se atribuye a la formación de la eco-corona, la cual fomenta la producción de flóculos de mayor tamaño que sedimentan más rápido.

Los MNP obtenidos son materiales de referencia ambientalmente relevantes, pues reproducen propiedades físicas y químicas de los plásticos presentes en efluentes reales. El estudio evidenció que el medio de ensayo determina la aglomeración y, por tanto, las eficiencias de remoción observadas. El uso de FWW o matrices sintéticas que la simulen es esencial para estimar remociones representativas en condiciones de planta. Este desarrollo proporciona una base sólida para evaluar tecnologías de tratamiento y calibrar métodos analíticos de cuantificación.

Los resultados de esta etapa fueron publicados en el artículo “Developing Environmentally Relevant Micro- and Nanoplastics to Assess Removal Efficiencies in Wastewater Treatment Processes”, en la revista Environmental Science: Nano (2025, 12, 748–761) [41]. El trabajo constituye un aporte pionero en la región para la generación de materiales de referencia de micro- y nanoplásticos ambientalmente relevantes, y sienta las bases para la evaluación de su comportamiento y remoción en procesos de tratamiento de aguas residuales, tanto a escala de laboratorio como en sistemas reales.

2. Desarrollo de metodología analítica para el monitoreo de MNP en PTAR

El segundo eje de trabajo se orientó a optimizar la técnica de pirólisis–cromatografía gaseosa/espectrometría de masas (Py-GC/MS) para la cuantificación de MNP en matrices complejas como las aguas residuales. El trabajo abordó sistemáticamente tres desafíos principales: la variabilidad instrumental causada por reacciones secundarias en superficies de vidrio, la selección de estándares internos robustos y de bajo costo, y la evaluación de los efectos de matriz en las curvas de calibración.

La silanización sistemática de capilares, liners de cuarzo y del inyector con diclorodimetilsilano (DMDCS) redujo drásticamente la reactividad superficial. Las repeticiones consecutivas mostraron mejoras de reproducibilidad superiores al 60 % y aumentos de sensibilidad de hasta 8 veces para compuestos aromáticos (p-tolileno en PS e indeno en PVC). Estos resultados confirmaron que la adsorción y degradación de productos de pirólisis sobre superficies activas era una fuente crítica de variabilidad y que la deactivación es un requisito para obtener señales estables y comparables entre polímeros.

Se compararon PVDF y P4CS como estándares internos poliméricos. Ambos presentaron pirólisis bien definidas y ausencia de interferencias con los productos de los polímeros objetivo. Aunque PVDF proporcionó una mayor sensibilidad, su reproducibilidad fue inferior. P4CS demostró respuestas más consistentes entre réplicas y menor susceptibilidad a efectos de matriz, por lo que se definió como el estándar preferido para aguas residuales.

Las curvas de calibración obtenidas utilizando CaCO₃ como matriz no reactiva mostraron excelente linealidad (R² > 0.96) en amplios rangos de concentración: PE (0.13–30 mg g⁻¹), PP (0.05–10 mg g⁻¹), PS (0.02–5 mg g⁻¹) y PVC (0.05–10 mg g⁻¹). Los límites de cuantificación oscilaron entre 0.02 y 0.3 mg g⁻¹, equivalentes a 0.1–1 µg inyectados, valores comparables con los mejores reportados en la literatura [18], [27], [43], [52]. En el caso del PET, ninguno de los compuestos de pirólisis identificados presentó intensidad ni reproducibilidad suficientes para una cuantificación confiable, lo que confirma la mayor complejidad analítica de este polímero bajo condiciones de pirólisis. El uso de CaCO₃ como diluyente sólido inerte permitió trabajar con masas del orden de miligramos, evitando la necesidad de microbalanzas y asegurando una preparación reproducible de las mezclas, además de mantener la linealidad de la respuesta y prevenir reacciones catalíticas indeseadas.

La comparación entre las curvas de calibración obtenidas en CaCO₃ y en una matriz de agua residual sintética permitió cuantificar el efecto de matriz, expresado como el porcentaje de variación de la respuesta del analito en presencia de dicha matriz. Un valor negativo indica supresión de señal, mientras que un valor positivo refleja una amplificación o mejora de la señal, ambos originados por interacciones entre los componentes de la matriz y los productos de pirólisis que afectan la eficiencia de transferencia al sistema GC/MS. Los efectos fueron inferiores al ±20 % para concentraciones altas, pero se observó mejora de señal a bajas concentraciones, especialmente en los marcadores aromáticos, lo que sugiere interacciones con materia orgánica que modifican la eficiencia de pirólisis y la transferencia al GC.

Los análisis de muestras reales de influente y efluente con agregado de estándares de MNP demostraron la aplicabilidad del método. Se logró obtener por al menos una combinación de compuesto marcador/estándar interno, recuperaciones promedio adecuadas (70 – 110 %), confirmando la robustez del enfoque combinando silanización, estándar interno y calibración adaptada a la matriz.

Los resultados de esta etapa se volcaron en el artículo titulado “Optimizing Key Aspects of Pyrolysis–Gas Chromatography/Mass Spectrometry for Micro- and Nanoplastics Analysis in Wastewaters: Towards Robust Quantification Methods”, el cual se encuentra en proceso de revisión final por sus autores y será sometido a publicación en una revista internacional arbitrada en los próximos meses.

Este trabajo resume los avances logrados en la optimización de la técnica de Py-GC/MS, consolidando una metodología reproducible y sensible, y sentando las bases para la futura cuantificación de la presencia de MNP en las distintas corrientes de las PTAR.

4. Desarrollo de nuevos trazadores y técnicas complementarias

Estas actividades se encuentran actualmente en desarrollo.

4.1. Marcado de los MNP con núcleo de óxido de cobre (CuO)

Entre los avances alcanzados dentro del marco del proyecto, se destaca la síntesis de nanopartículas de CuO, que actuarán como núcleo marcador de los MNP funcionalizados. Las nanopartículas se obtuvieron mediante precipitación de una solución de nitrato cúprico (Cu(NO₃)₂) con hidróxido de sodio (NaOH), seguida de una etapa de calcinación. Se ensayaron diferentes temperaturas de calcinación (300, 400 y 600 °C), y las partículas se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), confirmando una morfología granular. Los resultados evidenciaron que la temperatura de calcinación influye significativamente en el tamaño de partícula: los diámetros medios obtenidos fueron 19.3 ± 5.1 nm (300 °C), 54 ± 19 nm (400 °C) y 195 ± 59 nm (600 °C).

A partir de estos resultados, se diseñaron procedimientos de recubrimiento con PE con el objetivo de obtener partículas núcleo-cáscara cuya densidad global se encontrara dentro del rango de densidades del PE (0.91–0.97 g cm⁻³). De esta forma, se intenta que el recubrimiento no altere sus propiedades de sedimentación ni su comportamiento en medios acuosos.

El recubrimiento de las nanopartículas de CuO con PE se ensayó, en una primera instancia, incorporando las nanopartículas durante la síntesis original de los MNP sin recubrimiento, con el objetivo de promover la nucleación heterogénea. Este enfoque buscó que el PE precipitara directamente sobre la superficie de las nanopartículas de CuO, en lugar de formar núcleos independientes de polímero. Se evaluaron distintas condiciones experimentales, variando los parámetros clave de la síntesis: concentración de PE, relación PE/CuO, y relación solvente (tolueno)/antisolvente (etanol). Sin embargo, en todos los casos se observó un recubrimiento parcial de las nanopartículas de CuO, obteniéndose una mezcla heterogénea en la que una fracción de las partículas resultó efectivamente recubierta, mientras que la mayoría permaneció separada de la matriz polimérica o con recubrimiento incompleto.

Por esta razón, se está ensayando un método alternativo de recubrimiento, basado en la formación de una emulsión asistida por ultrasonido entre agua y una solución de PE en tolueno y las nanopartículas de CuO previamente dispersas. Posteriormente, la emulsión se enfría para inducir la solidificación del PE, seguida de la evaporación controlada del solvente, de modo de favorecer la formación de partículas núcleo-cáscara CuO@PE. Este procedimiento permitió aumentar la eficiencia del recubrimiento respecto al método anterior; sin embargo, aún se observan nanopartículas sin recubrir, por lo que la técnica se encuentra en etapa de ajuste de las condiciones experimentales con el fin de optimizar la cobertura y uniformidad del recubrimiento polimérico.

4.2.) Marcado de los MNP con tinte fluorescente

En paralelo, se está desarrollando una segunda línea de marcado basada en el uso del tinte fluorescente Rojo Nilo (Nile Red), con el objetivo de permitir la detección y cuantificación de los MNP a partir de su señal fluorescente (longitud de excitación alrededor de 530 nm y emisión en el rango de 580–630 nm, dependiendo del medio y la polaridad del entorno).

Se están evaluando dos estrategias de marcado:

- (i) incorporar el tinte durante la síntesis de los MNP mediante el método de precipitación por no-solvente, análogo al utilizado para las partículas de CuO; y
- (ii) hinchar el polímero en una solución de Rojo Nilo en un solvente apropiado (por ejemplo, tolueno para PE o tetrahidrofurano para PS), seguida de la adición de un segundo solvente que promueva el re-colapso del polímero sin desplazar el tinte incorporado.

Estas actividades se encuentran en una etapa incipiente de desarrollo, por lo que aún no se han obtenido resultados concluyentes respecto a la eficiencia del marcado ni la estabilidad de la fluorescencia en las partículas obtenidas.

La finalidad de la obtención de MNP marcados es su utilización en ensayos de remoción a escala de laboratorio (por ejemplo, mediante procesos de coagulación/floculación), empleando métodos indirectos de cuantificación que permitan seguir la concentración de MNP durante el tratamiento. En el caso de las partículas con núcleo de CuO, la determinación de la concentración de cobre disuelto tras digestión química permitirá correlacionarla con la concentración de MNP presentes en la muestra. Por su parte, para los MNP marcados con Rojo Nilo, la intensidad de fluorescencia registrada por fluorometría o cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia (HPLC-FLD) se utilizará para establecer una correlación cuantitativa entre la señal fluorescente y la concentración de MNP en el medio.

De esta forma, será posible evaluar la eficiencia de remoción de MNP en los diferentes procesos de tratamiento de aguas residuales ensayados a escala de laboratorio, y posteriormente comparar dichos resultados con las eficiencias determinadas en PTAR reales, una vez restablecida la capacidad analítica para la aplicación de la técnica de Py-GC/MS.

Conclusiones y recomendaciones

1. Síntesis general del proyecto

El proyecto tuvo como objetivo general evaluar la ocurrencia de MNP en PTAR urbanas, y determinar las condiciones de operación que optimicen su remoción en las distintas etapas de los procesos habituales de tratamiento. Si bien el cumplimiento total del objetivo general no fue posible dentro del período de ejecución, debido principalmente a los tiempos requeridos para la implementación de la metodología analítica de cuantificación y a la avería del equipo de pirólisis, los avances logrados son altamente significativos. Estos resultados sientan las bases para la continuidad del proyecto y la consolidación de una línea de investigación inédita en el país, orientada al estudio de MNP en matrices ambientales complejas.

Durante la ejecución del proyecto se abordaron de forma integrada dos ejes principales de trabajo: (1) el desarrollo de materiales de referencia de MNP representativos de los polímeros más abundantes en residuos plásticos; y (2) la optimización de la metodología analítica de Py-GC/MS para la identificación y cuantificación de MNP en aguas residuales. Paralelamente, se implementaron técnicas de caracterización morfológica (TEM) y composicional (FTIR), se adquirió e instaló equipamiento para monitoreo de parámetros de tratamiento (DBO, DQO, SST, N y P), complementarios a los análisis de MNP, y se desarrollaron estrategias alternativas de marcado (MNP-CuO y MNP-Rojo Nilo) para continuar los ensayos de remoción a escala de laboratorio mientras se gestiona la reposición del horno de pirólisis.

De esta forma, el proyecto permitió instalar capacidades analíticas e instrumentales únicas en Uruguay para el estudio de MNP, así como formar al equipo de investigación del proyecto en un área emergente de relevancia ambiental y sanitaria creciente.

2. Conclusiones científicas y técnicas

El proyecto permitió consolidar las bases para una línea de investigación integral sobre MNP en aguas residuales, abordando desde la generación de materiales de referencia hasta el desarrollo y optimización de metodologías analíticas para su cuantificación y seguimiento en procesos de tratamiento.

En primer lugar, se estableció un protocolo reproducible de síntesis de MNP representativos de los polímeros más abundantes en residuos plásticos (PE, PP, PS, PVC y PET), mediante un proceso de precipitación por no-solvente que permitió controlar el tamaño y la morfología de las partículas dentro del rango micro- y nanométrico. El envejecimiento superficial artificial (UV/O₂) permitió reproducir las modificaciones químicas observadas en plásticos degradados ambientalmente, incrementando su hidrofiliicidad y capacidad de dispersión acuosa. Estos materiales demostraron un comportamiento coloidal similar al de los MNP presentes en efluentes reales y resultaron adecuados para ensayos de remoción, donde se verificó que la presencia de materia orgánica en el medio incrementa la estabilidad de las suspensiones y la eficiencia de coagulación/floculación.

Los resultados obtenidos constituyen los primeros materiales de referencia ambientalmente relevantes desarrollados en la región, y proporcionan una base experimental sólida para evaluar la eficiencia de las tecnologías de tratamiento de aguas residuales en la remoción de MNP. Además, estos materiales representan un insumo fundamental para la calibración y validación de la técnica de Py-GC/MS, fortaleciendo la trazabilidad y comparabilidad de los análisis realizados.

En segundo lugar, se optimizó la técnica de Py-GC/MS, una herramienta sin antecedentes de aplicación en la región para el análisis de MNP en matrices complejas. Esta técnica demostró ser particularmente adecuada para la cuantificación en masa de MNP de cualquier tamaño y composición polimérica, siempre que se empleen calibraciones adecuadas y una correcta preparación de muestra. Su implementación requirió un proceso integral de instalación y ajuste del sistema, incluyendo la adaptación del horno de pirólisis, la silanización de los componentes de vidrio y cuarzo en contacto con los gases de pirólisis, y la selección de compuestos marcadores y estándares internos apropiados para cada polímero.

La silanización sistemática de los componentes del sistema redujo drásticamente la variabilidad instrumental y mejoró la sensibilidad, permitiendo obtener curvas de calibración lineales y reproducibles en amplios rangos de concentración (R² > 0.96) para PE, PP, PS y PVC, con límites de cuantificación de 0.02–0.3 mg g⁻¹. La comparación entre calibraciones en matriz inerte y en aguas residuales sintéticas mostró efectos de matriz menores al ±20 %, confirmando la robustez del método.

La evaluación de dos estándares internos, PVDF y P4CS, permitió identificar a este último como el más adecuado para análisis en matrices complejas, debido a su mayor estabilidad y menor susceptibilidad a interferencias. El método se validó en muestras con agregados conocidos de MNP de influente y efluente, alcanzando recuperaciones entre 70 y 110 %, y demostrando su aplicabilidad a la cuantificación de MNP en aguas residuales.

En conjunto, el desarrollo analítico alcanzado establece una metodología sensible, reproducible y transferible, que servirá como base para la cuantificación futura de MNP en diferentes corrientes de tratamiento y para la comparación entre procesos convencionales y alternativos.

Actualmente se trabaja en el desarrollo del protocolo de preparación de muestras, que incluye la concentración de MNP mediante ultrafiltración y la eliminación de interferencias asociadas a la materia orgánica antes del análisis. Estas etapas son esenciales para habilitar la aplicación del método en el monitoreo futuro de la concentración de MNP en las diferentes corrientes de las PTAR, permitiendo así evaluar de manera integral la eficiencia de los procesos de tratamiento.

Finalmente, se iniciaron dos líneas complementarias de desarrollo de trazadores experimentales, orientadas al seguimiento indirecto de MNP con el propósito de evaluar el desempeño de diferentes tratamientos en su remoción a escala de laboratorio: (i) partículas núcleo-cáscara CuO@PE, que permitirán la cuantificación a partir del análisis de cobre tras digestión química; y (ii) MNP marcados con Rojo Nilo, detectables por fluorescencia. Ambos desarrollos se encuentran en etapa de optimización, pero representan un avance estratégico para continuar los estudios de remoción mientras se restablece la técnica de Py-GC/MS.

En su conjunto, los resultados del proyecto aportan metodologías, materiales y capacidades analíticas inéditas en Uruguay, constituyendo un marco de referencia para futuras investigaciones sobre la ocurrencia, comportamiento y remoción de MNP en sistemas de tratamiento de aguas residuales y matrices ambientales afines.

3. Dificultades y aprendizajes

El principal obstáculo fue la avería irreparable del horno de pirólisis (SGE Pyrojector II), equipo central de la técnica de Py-GC/MS, actualmente discontinuado comercialmente. Esto interrumpió la validación de la metodología en muestras ambientales reales y la cuantificación de MNP en PTAR, obligando a redirigir esfuerzos hacia el desarrollo de metodologías alternativas de marcado.

Otra dificultad significativa fue la complejidad y extensión temporal del proceso de puesta a punto de la técnica Py-GC/MS, un aspecto no previsto en la planificación inicial del proyecto, dado que se estimaba que su implementación sería más directa. El trabajo requirió instalar y adaptar un sistema de pirólisis desde cero, acoplarlo al cromatógrafo de gases, realizar la silanización de los componentes de vidrio y cuarzo, seleccionar compuestos marcadores y estándares internos adecuados, y evaluar de manera sistemática el efecto de matriz. No obstante, este proceso permitió construir un conocimiento profundo y transferible, generando una base metodológica sólida y reproducible que podrá aplicarse y expandirse en futuros estudios de cuantificación de MNP en matrices ambientales complejas.

Entre los aprendizajes más relevantes se destaca la importancia de la reproducibilidad instrumental en técnicas térmicas; la necesidad de desarrollar materiales de referencia propios y la adaptación de metodologías internacionales a matrices locales.

4. Proyecciones a futuro

- Reposición del horno de pirólisis: se encuentra en proceso de adquisición un nuevo horno de pirólisis, que permitirá restablecer la capacidad analítica para la aplicación de la técnica Py-GC/MS, retomando así las actividades de monitoreo y cuantificación de MNP en aguas residuales
- Desarrollo de protocolos de preparación de muestras: se continuará con la optimización de los procedimientos de concentración mediante ultrafiltración y la eliminación de materia orgánica por digestión química, etapas necesarias para lograr una cuantificación confiable en matrices complejas.
- Optimización de procesos de remoción a escala de laboratorio y piloto: se profundizará en el estudio de la remoción de MNP por coagulación/floculación, empleando los materiales de referencia sintetizados, tanto marcados como no marcados, para determinar las condiciones operativas que maximicen la eficiencia de remoción.
- Aplicación en PTAR reales: una vez restablecida la técnica analítica, se prevé reanudar el muestreo y análisis de aguas residuales en plantas urbanas, aplicando el método desarrollado para cuantificar la concentración de MNP en las diferentes corrientes y evaluar la eficiencia global de remoción y las emisiones al ambiente.
- Difusión y transferencia de resultados: se continuará con la publicación de artículos científicos en revistas internacionales arbitradas y la presentación de resultados en congresos y eventos académicos, fortaleciendo la visibilidad y el impacto del trabajo desarrollado.

5. Impacto e importancia del proyecto

El proyecto representa un avance estratégico en la investigación ambiental nacional, al introducir por primera vez en Uruguay la capacidad de síntesis, caracterización y cuantificación de micro- y nanoplásticos. Los resultados alcanzados posicionan al CURE-Rocha como referente nacional y regional en el tema, y la infraestructura adquirida abre nuevas oportunidades para la investigación en contaminantes emergentes y eficiencia de tecnologías de tratamiento convencional y alternativo.

Más allá de los resultados técnicos, el proyecto generó capacidades humanas, analíticas e institucionales que perdurarán más allá de su ejecución formal. Las técnicas, protocolos y materiales desarrollados constituyen una base metodológica sólida para futuras investigaciones, que aportarán a la formulación de políticas públicas basadas en evidencia sobre contaminación por plásticos en aguas residuales.

En suma, aunque el objetivo general no se cumplió completamente dentro del período previsto, los logros obtenidos son sustanciales, innovadores y con proyección a largo plazo. El proyecto sentó las bases científicas y técnicas necesarias para alcanzar la meta original en las siguientes etapas, y consolidó una línea de trabajo que aportará conocimiento clave sobre la ocurrencia, comportamiento y remoción de MNP en sistemas de tratamiento de aguas residuales, contribuyendo así a la protección ambiental y sanitaria del país.

Productos derivados del proyecto

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
Artículo científico	Developing environmentally relevant micro- and nanoplastics to assess removal efficiencies in wastewater treatment processes	Martín Benzo, María Eugenia Pérez Barthaburu, Andrés Pérez-Parada, Álvaro Olivera y Laura Fornaro		https://hdl.handle.net/20.500.12381/5232	Finalizado
Artículo científico	Optimizing key aspects of Micro- and Nanoplastics Analysis in Wastewaters by Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Towards a Robust Quantification Method	Martín Benzo, Andrés Pérez-Parada, Heinkel Bentos-Pereira, María Eugenia Pérez-Barthaburu y Laura Fornaro			En proceso
Póster	Identification of micro and nanoplastics in municipal wastewaters by means of Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry	Martín Benzo, Andrés Pérez-Parada, Heinkel Bentos-Pereira, María Eugenia Pérez-Barthaburu y Laura Fornaro		https://www.researchgate.net/publication/380570603_Identification_of_micro_and_nanoplastics_in_municipal_wastewaters_by_means_of_Pyrolysis-Gas_ChromatographyMass_Spectrometry?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7InBhZ2UiOiJwcm9maWxIiwicHJldmlvdXNQYWdlIjoicHJvZmlsZSIsInBvc2l0aW9uIjoicGFnZUNvbnRlbnQifX0	Finalizado
Presentación en evento	Reliable detection of micro- and nanoplastics in wastewaters	Martín Benzo, Andrés Pérez-Parada, Heinkel Bentos-Pereira, María Eugenia Pérez-Barthaburu y Laura Fornaro		https://watersafety2024.org/wp-content/uploads/2024/09/C31020-F1-6390545-Outline_Paper_-_Martin_Benzo.pdf	Finalizado

Referencias bibliográficas

[1] "ISO 24187:2023 Principles for the analysis of microplastics present in the environment." Geneva, Switzerland, 2023.

[2] A. Jemec Kokalj, D. Kuehnelt, B. Puntar, A. Žgajnar Gotvaj, and G. Kalčikova, "An exploratory ecotoxicity study of primary microplastics versus aged in natural waters and wastewaters," Environ. Pollut., vol. 254, 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2019.112980.

[3] L. M. Hernandez, N. Yousefi, and N. Tufenkji, "Are there nanoplastics in your personal care products?," Environ. Sci. Technol. Lett., vol. 4, no. 7, pp. 280–285, 2017, doi: 10.1021/acs.estlett.7b00187.

[4] C. Sorasan et al., "Generation of nanoplastics during the photoaging of low-density polyethylene," Environ. Pollut., vol. 289, no. May, p. 117919, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.envpol.2021.117919.

[5] A. B. Silva, A. S. Bastos, C. I. L. Justino, J. P. da Costa, A. C. Duarte, and T. A. P. Rocha-Santos, "Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review," Anal. Chim. Acta, vol. 1017, pp. 1–19, 2018, doi: 10.1016/j.aca.2018.02.043.

[6] E. Hendrickson, E. C. Minor, and K. Schreiner, "Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior As Determined via Microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR," Environ. Sci. Technol., vol. 52, no. 4, pp. 1787–1796, 2018, doi: 10.1021/acs.est.7b05829.

[7] A. L. Andrad, "Microplastics in the marine environment," Mar. Pollut. Bull., vol. 62, no. 8, pp. 1596–1605, 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.

[8] D. Eerkes-Medrano, R. C. Thompson, and D. C. Aldridge, "Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs," Water Res., vol. 75, pp. 63–82, May 2015, doi: 10.1016/j.watres.2015.02.012.

[9] G. Dierkes, T. Lauschke, S. Becher, H. Schumacher, C. Földi, and T. Ternes, "Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography," Anal. Bioanal. Chem., vol. 411, no. 26, pp. 6959–6968, 2019, doi: 10.1007/s00216-019-02066-9.

[10] E. D. Okoffo et al., "Identification and quantification of selected plastics in biosolids by pressurized liquid extraction combined with double-shot pyrolysis gas chromatography–mass spectrometry," Sci. Total Environ., vol. 715, no. January, p. 136924, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136924.

[11] M. Smith, D. C. Love, C. M. Rochman, and R. A. Neff, "Microplastics in Seafood and the Implications for Human Health," Curr. Environ. Heal. reports, vol. 5, no. 3, pp. 375–386, 2018, doi: 10.1007/s40572-018-0206-z.

- [12] J. C. Prata, J. P. da Costa, I. Lopes, A. C. Duarte, and T. Rocha-Santos, "Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review," *Sci. Total Environ.*, vol. 665, pp. 400–405, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.132>.
- [13] C. Yong, S. Valiyaveetil, and B. Tang, "Toxicity of Microplastics and Nanoplastics in Mammalian Systems," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 17, no. 5, p. 1509, Feb. 2020, doi: [10.3390/ijerph17051509](https://doi.org/10.3390/ijerph17051509).
- [14] H. Jin et al., "Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice," *J. Hazard. Mater.*, vol. 401, p. 123430, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123430>.
- [15] A. Banerjee and W. L. Shelver, "Micro- and nanoplastic induced cellular toxicity in mammals: A review," *Sci. Total Environ.*, vol. 755, p. 142518, Feb. 2021, doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.142518](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142518).
- [16] K. Blackburn and D. Green, "The potential effects of microplastics on human health: What is known and what is unknown," *Ambio*, vol. 51, no. 3, pp. 518–530, 2022, doi: [10.1007/s13280-021-01589-9](https://doi.org/10.1007/s13280-021-01589-9).
- [17] H. A. Leslie, M. J. M. van Velzen, S. H. Brandsma, A. D. Vethaak, J. J. Garcia-Vallejo, and M. H. Lamoree, "Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood," *Environ. Int.*, vol. 163, no. March, p. 107199, 2022, doi: [10.1016/j.envint.2022.107199](https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199).
- [18] M. Brits et al., "Quantitation of micro and nanoplastics in human blood by pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry," *Microplastics and Nanoplastics*, vol. 4, no. 1, 2024, doi: [10.1186/s43591-024-00090-w](https://doi.org/10.1186/s43591-024-00090-w).
- [19] M. Funck, A. Yildirim, C. Nickel, J. Schram, T. C. Schmidt, and J. Tuerk, "Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GC–MS," *MethodsX*, vol. 7, 2020, doi: [10.1016/j.mex.2019.100778](https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.100778).
- [20] A. Dyachenko, J. Mitchell, and N. Arsem, "Extraction and identification of microplastic particles from secondary wastewater treatment plant (WWTP) effluent," *Anal. Methods*, vol. 9, no. 9, pp. 1412–1418, 2017, doi: [10.1039/c6ay02397e](https://doi.org/10.1039/c6ay02397e).
- [21] I. Sierra, M. Rodriguez-Chialanza, R. Faccio, D. Carrizo, L. Fornaro, and A. Pérez-Parada, "Identification of microplastics in wastewater samples by means of polarized light optical microscopy," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, no. 7, pp. 7409–7419, 2020, doi: [10.1007/s11356-019-07011-y](https://doi.org/10.1007/s11356-019-07011-y).
- [22] K. Enders, R. Lenz, C. A. Stedmon, and T. G. Nielsen, "Abundance, size and polymer composition of marine microplastics ?10 ?m in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution," *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 100, no. 1, pp. 70–81, 2015, doi: [10.1016/j.marpolbul.2015.09.027](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.027).
- [23] A. Bianco, L. Carena, N. Peitsaro, F. Sordello, D. Vione, and M. Passananti, "Rapid detection of nanoplastics and small microplastics by Nile-Red staining and flow cytometry," *Environ. Chem. Lett.*, vol. 21, no. 2, pp. 647–653, 2023, doi: [10.1007/s10311-022-01545-3](https://doi.org/10.1007/s10311-022-01545-3).
- [24] L. Hermabessiere et al., "Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, no. 25, pp. 6663–6676, 2018, doi: [10.1007/s00216-018-1279-0](https://doi.org/10.1007/s00216-018-1279-0).
- [25] A. Dehaut, L. Hermabessiere, and G. Duflos, "Microplastics Detection Using Pyrolysis-GC/MS-Based Methods," in *Handbook of Microplastics in the Environment*, Cham: Springer International Publishing, 2022, pp. 141–175.
- [26] C. Schwaferts, R. Niessner, M. Elsner, and N. P. Ivleva, "Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 112, pp. 52–65, Mar. 2019, doi: [10.1016/j.trac.2018.12.014](https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.014).
- [27] E. D. Okoffo and K. V. Thomas, "Mass quantification of nanoplastics at wastewater treatment plants by pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry," *Water Res.*, vol. 254, no. 1, p. 121397, May 2024, doi: [10.1016/j.watres.2024.121397](https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121397).
- [28] Y. Xu et al., "Assessing the Mass Concentration of Microplastics and Nanoplastics in Wastewater Treatment Plants by Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 57, no. 8, pp. 3114–3123, 2023, doi: [10.1021/acs.est.2c07810](https://doi.org/10.1021/acs.est.2c07810).
- [29] P. R. Rout et al., "Micro- and nanoplastics removal mechanisms in wastewater treatment plants: A review," *J. Hazard. Mater. Adv.*, vol. 6, no. December 2021, p. 100070, 2022, doi: [10.1016/j.jhazadv.2022.100070](https://doi.org/10.1016/j.jhazadv.2022.100070).
- [30] I. Ali et al., "Micro- and nanoplastics in wastewater treatment plants: Occurrence, removal, fate, impacts and remediation technologies – A critical review," *Chem. Eng. J.*, vol. 423, no. December 2020, p. 130205, Nov. 2021, doi: [10.1016/j.cej.2021.130205](https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130205).
- [31] S. Abi Farraj, M. Lapointe, R. S. Kurusu, Z. Liu, B. Barbeau, and N. Tufenkji, "Targeting nanoplastic and microplastic removal in treated wastewater with a simple indicator," *Nat. Water*, vol. 2, no. 1, pp. 72–83, Jan. 2024, doi: [10.1038/s44221-023-00177-3](https://doi.org/10.1038/s44221-023-00177-3).
- [32] M. Lapointe, J. M. Farnier, L. M. Hernandez, and N. Tufenkji, "Understanding and Improving Microplastic Removal during Water Treatment: Impact of Coagulation and Flocculation," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 54, no. 14, pp. 8719–8727, 2020, doi: [10.1021/acs.est.0c00712](https://doi.org/10.1021/acs.est.0c00712).
- [33] W. Liu et al., "A review of the removal of microplastics in global wastewater treatment plants: Characteristics and mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 146, p. 106277, 2021, doi: [10.1016/j.envint.2020.106277](https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106277).
- [34] X. Liu, W. Yuan, M. Di, Z. Li, and J. Wang, "Transfer and fate of microplastics during the conventional activated sludge process in one wastewater treatment plant of China," *Chem. Eng. J.*, vol. 362, no. November 2018, pp. 176–182, 2019, doi: [10.1016/j.cej.2019.01.033](https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.033).
- [35] Y. Zhang, A. Diehl, A. Lewandowski, K. Gopalakrishnan, and T. Baker, "Removal efficiency of micro- and nanoplastics (180 nm–125 ?m) during drinking water treatment," *Sci. Total Environ.*, vol. 720, 2020, doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.137383](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137383).
- [36] D. Adib, R. Mafigholami, H. Tabeshkia, and T. R. Walker, "Optimization of polypropylene microplastics removal using conventional coagulants in drinking water treatment plants via response surface methodology," *J. Environ. Heal. Sci. Eng.*, vol. 20, no. 1, pp. 565–577, 2022, doi: [10.1007/s40201-022-00803-4](https://doi.org/10.1007/s40201-022-00803-4).
- [37] Y. Zhang et al., "Improving nanoplastic removal by coagulation: Impact mechanism of particle size and water chemical conditions," *J. Hazard. Mater.*, vol. 425, p. 127962, 2022, doi: [10.1016/j.jhazmat.2021.127962](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127962).
- [38] A. Murray and B. Örmeci, "Removal Effectiveness of Nanoplastics (<400 nm) with Separation Processes Used for Water and Wastewater Treatment," *Water*, vol. 12, no. 3, p. 635, Feb. 2020, doi: [10.3390/w12030635](https://doi.org/10.3390/w12030635).
- [39] H. Cai, E. G. Xu, F. Du, R. Li, J. Liu, and H. Shi, "Analysis of environmental nanoplastics: Progress and challenges," *Chem. Eng. J.*, vol. 410, p. 128208, 2021, doi: [10.1016/j.cej.2020.128208](https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128208).
- [40] PlasticEurope, "Plásticos – Situación en 2019," *Plast. Eur.*, p. 46, 2019.
- [41] M. Benzo, M. E. Perez Barthaburu, A. Perez-Parada, Á. Olivera, and L. Fornaro, "Developing environmentally relevant micro- and nanoplastics to assess removal efficiencies in wastewater treatment processes," *Environ. Sci. Nano*, vol. 12, pp. 748–761, 2024, doi: [10.1039/d4en00250d](https://doi.org/10.1039/d4en00250d).
- [42] M. Fischer and B. M. Scholz-Böttcher, "Microplastics analysis in environmental samples-recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data," *Anal. Methods*, vol. 11, no. 18, pp. 2489–2497, 2019, doi: [10.1039/c9ay00600a](https://doi.org/10.1039/c9ay00600a).
- [43] T. Lauschke, G. Dierkes, P. Schweyen, and T. A. Ternes, "Evaluation of poly(styrene-d5) and poly(4-fluorostyrene) as internal standards for microplastics quantification by thermoanalytical methods," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 159, p. 105310, 2021, doi: [10.1016/j.jaap.2021.105310](https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105310).
- [44] OCED, "Simulation test - aerobic sewage treatment 303A," *OCED Publ. Paris*, no. January, pp. 1–4, 2001.
- [45] I. Ahmad and M. Kumar, "A brief review on synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its applications," *Int. J. Phys. Appl.*, vol. 7, no. 1, pp. 188–193, 2025, doi: [10.33545/26647575.2025.v7.i1b.161](https://doi.org/10.33545/26647575.2025.v7.i1b.161).
- [46] I. Z. Luna, L. N. Hilary, A. M. S. Chowdhury, M. A. Gafur, N. Khan, and R. A. Khan, "Preparation and Characterization of Copper Oxide Nanoparticles Synthesized via Chemical Precipitation Method," *OALib*, vol. 02, no. 03, pp. 1–8, 2015, doi: [10.4236/oalib.1101409](https://doi.org/10.4236/oalib.1101409).
- [47] K. Phiwidang, S. Suphankij, W. Mekprasart, and W. Pecharapa, "Synthesis of CuO nanoparticles by precipitation method using different precursors," *Energy Procedia*, vol. 34, pp. 740–745, 2013, doi: [10.1016/j.egypro.2013.06.808](https://doi.org/10.1016/j.egypro.2013.06.808).
- [48] M. Ghashghae, M. Fallah, and A. Rabiee, "Superhydrophobic nanocomposite coatings of poly(methyl methacrylate) and stearic acid grafted CuO nanoparticles with photocatalytic activity," *Prog. Org. Coatings*, vol. 136, no. August, p. 105270, 2019, doi: [10.1016/j.porgcoat.2019.105270](https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105270).
- [49] L. M. Johnson et al., "Fabrication of polyethylene terephthalate (PET) nanoparticles with fluorescent tracers for studies in mammalian cells," *Nanoscale Adv.*, vol. 3, no. 2, pp. 339–346, 2021, doi: [10.1039/d0na00888e](https://doi.org/10.1039/d0na00888e).
- [50] W. S. Lee, H. Kim, Y. Sim, T. Kang, and J. Jeong, "Fluorescent Polypropylene Nanoplastics for Studying Uptake, Biodistribution, and Excretion in Zebrafish Embryos," *ACS Omega*, vol. 7, no. 2, pp. 2467–2473, 2022, doi: [10.1021/acsomega.1c06779](https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06779).
- [51] A. Villacorta et al., "Fluorescent labeling of micro/nanoplastics for biological applications with a focus on "true-to-life" tracking," *J. Hazard. Mater.*, vol. 476, no. March, 2024, doi: [10.1016/j.jhazmat.2024.135134](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135134).
- [52] Z. Steinmetz, A. Kintzi, K. Muñoz, and G. E. Schaumann, "A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 147, no. December 2019, p. 104803, 2020, doi: [10.1016/j.jaap.2020.104803](https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104803).

Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)

