



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”



**MONITOREO TOXICOLÓGICO Y MODELAMIENTO MATEMÁTICO DE MICRO Y
NANOPLÁSTICOS EN MODELOS ACUÁTICO Y TERRESTRE**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Karla Del Razo López

Directora de tesis:
Dra. Laura Morales Lara



Febrero 2025



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"

**MONITOREO TOXICOLÓGICO Y MODELAMIENTO MATEMÁTICO DE MICRO Y
NANOPLASTICOS EN MODELOS ACUÁTICO Y TERRESTRE**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Karla Del Razo López

Comité tutorial:

Directora	Dra. Laura Morales Lara
Co-Director	Dr. Jorge Raúl Cerna Cortes
Tutora	Dra. Gladys Linares Fleites
Integrante Comité Tutorial	Dra. Edith Chávez Bravo
Integrante Comité Tutorial	Dr. Victorino Gilberto Serafín Alatríste Bueno

Febrero 2025

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, Dra. Laura Morales Lara, por introducirme al tema de los microplásticos e incentivarme a investigar más, desencadenando un profundo interés que resultó en esta investigación. A mi co-asesor, el Dr. Jorge Raúl Cerna Cortéz, por aclarar mis dudas sobre polímeros, sus aditivos y la importancia del uso de este material. Al Dr. Ricardo Darío Peña Moreno, por siempre escuchar, explicar y replantear mis dudas. Sin ellos, este proyecto no sería la mitad de lo que es hoy.

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONACYT) por su apoyo y patrocinio para la realización de este proyecto. Al Posgrado en Ciencias Ambientales, por brindarme las bases para entender la complejidad de la problemática ambiental, destacando la relación que la humanidad tiene con su entorno. Al Instituto de Ciencias (ICUAP) por incentivar a la comunidad estudiantil a interesarse por la investigación y la divulgación de información. A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por ser el espacio que necesitaba para seguir creciendo y avanzando.

A mi comité tutorial, Dr. Victorino Gilberto Alatraste Bueno, Dra. Gladys Linares y Dra. Edith Chávez Bravo por ayudarme a mejorar mi trabajo buscando nuevas perspectivas. A mis sinodales Dra. Lilia Cedillo Ramírez, Dr. Fortino Bañuelos Romero, Dra. Wendy Argelia García Suastegui, Dra. Lucía López Reyes y Dr. Ricardo Darío Peña Moreno, por ayudarme a corregir y perfeccionar mi investigación.

DEDICATORIAS

A Dios, por siempre abrir mis caminos y permitirme experimentar la vida. A mis padres Carlos Martín Del Razo Lazcano y Olivia López Campos, por siempre esforzarse por darme todo en esta vida y en la siguiente, gracias a su apoyo y su amor incondicional es que puede avanzar sin miedo. A mi hermana, Miranda Del Razo López, por permanecer siempre junto a mí. A mi cuñado, Luis Fernando Rojas Caballero por ser parte de la familia.

A mis abuelos, Raquel Campos Maldonado, Obdulia Lazcano Carrasco, José López de Santiago y Rodolfo Del Razo López, por enseñarme la importancia de aprender y del crecimiento constante. A toda mi gran familia, por interesarse, aconsejarme, impulsarme y apoyarme.

A mis compañeros de generación: Galilea Carbajal Garduño, Alejandra Berenice Galindo Rodríguez, Yessica Azcarate Reyes, Elizabeth Rocío Peña Cirilo, Julián García Aguas y Gabriela Rosales González, por enseñarme que todo conocimiento es importante, por darme un segundo aire y por recorrer este trayecto a mi lado, ustedes me ayudaron a continuar con mis estudios con entusiasmo y alegría.

A mis compañeros de laboratorio: Yessica Linares González, Paloma Montserrat Rosas Licona, Adrián Gustavo Badillo Morales, Sofía García Vargas, Aurora Linares Campos y José Francisco Martínez Miguel. Por enseñarme, por escuchar y por siempre estar cuando necesitaba un respiro o una segunda opinión. Esta investigación es para ustedes, que aportaron la inter- y transdisciplina que necesitaba el trabajo para completarse exitosamente.

A los investigadores y académicos que apoyaron este proyecto; divulgando, resolviendo dudas, enseñando y apoyando. Gracias.

TABLA DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	2
III. MARCO DE REFERENCIA.....	3
3.1 Contaminación por plástico	3
3.2 Antecedentes	5
3.3 Factores que influyen en los efectos dañinos de MPs en diversos organismos.....	7
3.3.1 Aditivos: ftalatos.....	8
3.4 Afectaciones de partículas plásticas a la salud	12
3.5 Modelos animales	14
3.5.1 <i>Daphnia magna</i>	16
3.5.2 Rata Wistar (<i>Rattus norvegicus albinus</i>)	17
3.6 Estrés metabólico	17
3.7 Marco conceptual.....	19
3.7.1 Tipo de investigación.....	20
IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	20
4.1 Preguntas de investigación.....	20
V. HIPÓTESIS.....	21
VI. OBJETIVOS.....	21
6.1 Objetivo general.....	21
6.2 Objetivos específicos	22
VII. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
7.1 Diagrama de trabajo	23
7.2. Desarrollo metodológico	23
7.2.1 Encuesta descriptiva	23
7.2.2 Obtención de muestra plástica comercial.....	25
7.2.3 Caracterización fisicoquímica del material plástico (PVC).....	25
7.2.4 Identificación de la presencia de aditivos en el material plástico comercial estudiado.....	25

7.2.5 Preparación de MNPs, caracterización de forma y tamaño.....	25
7.2.6 Ensayo de toxicidad crónica.....	26
7.2.6.1 Evaluación de toxicidad en <i>Daphnia magna</i>	26
7.2.6.2 Evaluación de parámetros fisiológicos.....	27
7.2.6.3 Evaluación de la toxicidad crónica en <i>Rattus norvegicus</i> cepa Wistar.....	27
7.2.7 Análisis histológico en <i>D. magna</i> y rata cepa Wistar.....	28
7.2.8 Análisis por tomografía de rata cepa Wistar.....	28
7.2.9 Evaluación de la actividad enzimática de quitinasa en <i>D. magna</i>	29
7.2.10 Evaluación del perfil metabólico.....	29
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
8.1 ENCUESTA DESCRIPTIVA	30
8.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL MATERIAL PLÁSTICO PVC .	32
8.2.1 Identificación del tipo de material plástico mediante FTIR.....	32
8.2.2 Identificación de la presencia de aditivos en el material plástico comercial estudiado.....	32
8.2.3 Caracterización de la forma y distribución del tamaño de las partículas plásticas de PVC.....	34
8.3 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LAS MNPS DE PVC EN LOS MODELOS ACUÁTICO Y TERRESTRE	35
8.3.1 Evaluación de efectos adversos de MNPs de PVC en <i>D. magna</i>	35
8.3.1.1 Evaluación de la toxicidad aguda y crónica de MNPs en el desarrollo poblacional de <i>D. magna</i>	35
8.3.1.2 Evaluación de alteraciones sobre parámetros fisiológicos en <i>D. magna</i> : Ritmo cardiaco y torácico.....	39
8.3.1.3 Modelación matemática de la dinámica poblacional de <i>D. magna</i> ..	42
8.3.1.4 Análisis histológico en <i>D. magna</i>	46
8.3.1.5 Alteraciones del perfil metabólico inducidas por la presencia de MNPs de PVC en <i>D. magna</i>	50
8.3.2 Evaluación de efectos adversos de MNPs de PVC en <i>Rattus norvegicus</i> cepa Wistar.....	55
8.3.2.1 Efecto en el peso de ratas cepa Wistar ocasionados por la exposición a MNPs de PVC.....	55

8.3.2.2 Evaluación de alteraciones inducidas por la presencia de MNPs de PVC en rata Wistar, mediante tomografía y RMN.....	56
8.3.2.3 Daño histológico de MNPs de PVC en rata cepa Wistar.....	61
8.4 Comparación de los modelos animales evaluados	69
IX. CONCLUSIONES.....	68
X. REFERENCIAS.....	72
XI. ANEXOS.....	81

Términos

Término	Nombre
CE ₅₀	Concentración efectiva media
µm	Micrómetros (equivalente a 10 ⁻⁶ m)
MPs	Microplásticos
MNPs	Micro- y Nanoplásticos
mm	Milímetros (equivalente a 0.001 m)
nm	Nanómetros (equivalente a 10 ⁻⁹ m)
NP	Nanoplásticos
PS-NP	Nanoplásticos de Poliestireno
PVC	Policloruro de vinilo

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha crecido la preocupación por la presencia de los microplásticos (MPs). Estos representan un problema emergente, con efectos potencialmente dañinos para la salud ambiental, debido a que han sido detectados en océanos, ríos, sedimentos, aguas residuales, agua potable, en aire, así como en diversos alimentos algunos de la canasta básica como la carne. El origen de esta contaminación principalmente se debe a la disposición inadecuada de material plástico que al estar expuesto a diferentes factores fisicoquímicos del entorno se fragmenta, generando cantidades importantes de microplásticos (< 5 mm).

Si bien, el uso de los plásticos es imprescindible en la actualidad, su producción, uso y disposición debe vigilarse para minimizar el impacto que pueden generar en los ecosistemas. El biomonitoreo de los efectos dañinos de estos MPs permitirá caracterizar los efectos adversos que pueden ocasionar en modelos de estudio como el modelo ecotoxicológico *D. magna Strauss*, y terrestre como *Rattus norvegicus albinus*.

Al ser tan diversa la composición de materiales poliméricos, se destaca la importancia de evaluar los efectos de plásticos comerciales no regulados, que comúnmente la población puede adquirir a bajo costo en el comercio informal, lo cual es preocupante, principalmente porque la población humana en edad reproductiva puede ser susceptible a algunos de sus componentes, que pueden ser disruptores endócrinos. El empleo de biomarcadores que permitan la caracterización de los perfiles bioquímicos, metabolómicos e histológicos, puede brindar una mejor evaluación y caracterización del riesgo potencial que la exposición a estos contaminantes emergentes puede generar al ecosistema, y más adelante establecer mejores medidas tanto preventivas como correctivas, así como comprender la importancia que tiene el uso y la disposición de este tipo de materiales indispensables y de empleo cotidiano.

En este trabajo se evaluaron diferentes perfiles tóxicos desarrollados por la exposición a partículas microplásticas (MPs) obtenidas de muestras de plástico comercial no regulado, en modelos biológicos acuático y terrestre.

II. JUSTIFICACIÓN

La presencia de millones de toneladas de MPs en diferentes ecosistemas, predominantemente en sistemas acuáticos, representa un problema ambiental emergente que pone de manifiesto la importancia de caracterizar los efectos dañinos en estos ecosistemas. Para lo cual resulta importante biomonitorizar el efecto potencialmente tóxico que la exposición de micropartículas generadas de plásticos comerciales, principalmente de PVC no regulados y de acceso común, pueden causar a la población. Por lo que esta investigación contribuye a la identificación de afectaciones en sistemas biológicos a través del uso de la tecnología ambiental, permitiendo el desarrollo estrategias que aporten a la apropiada gestión de estos contaminantes.

El biomonitorio de los efectos toxicológicos estará soportado por modelos animales como el modelo ecotoxicológico de agua dulce y consumidor filtrador *Daphnia magna* y el modelo terrestre murino, mediante el empleo de biomarcadores que demuestren perfiles de las alteraciones bioquímicas, metabolómicas, reproductivas e histológicas, los cuales permitan la evaluación de riesgos ante exposiciones crónicas, así como sus impactos para el ecosistema.

Evaluar el potencial efecto ecotoxicológico que presenta la mala disposición de plásticos, el biomonitorio con *D. magna*, y la implementación del modelado matemático predictivo brindará información sobre los riesgos que representan los MPs, permitiendo el desarrollo de mejores estrategias para fomentar el uso y correcto desecho final de plásticos en el medio ambiente.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Contaminación por plástico

Desde su inicio, la raza humana ha dejado residuos tras de sí que marcan su paso, a lo largo de su desarrollo, ha ido inventando, creando e innovando las herramientas que considera necesarias para garantizar su supervivencia. Una de las herramientas que marcaron un gran avance para el ser humano fue el proceso químico de polimerizar los desechos de la industria petroquímica; lo que dio las pautas para crear muchos productos plásticos diferentes y versátiles.

Más adelante, a mediados del siglo XX, se inició como una innovación, el empleo de envases o productos de un solo uso, lo que aumentó de manera notoria la cantidad de desecho plástico generados por las sociedades humanas (Fuhr y Franklin, 2020).

Alrededor del mundo, el uso de materiales plásticos es mayor año con año, tal demanda requiere de una elevada producción, misma que en el 2019 ha excedido los 368 millones de toneladas. Desde el 2008, México ocupa el duodécimo lugar en consumo de plástico y undécimo lugar en su manufactura, produciendo anualmente 7 millones de toneladas de plásticos, destacando que el 48% de las industrias se dedican a la fabricación de envases (Aguirrezabal, 2019). En México, la facturación de este sector productivo del 2013 al 2018 (Figura 1) tiene un peso importante debido a que no solo refleja el creciente desarrollo económico del país, sino que demuestra que es cada vez más necesario considerar medidas pertinentes para controlar y manejar adecuadamente la liberación de los residuos generados.

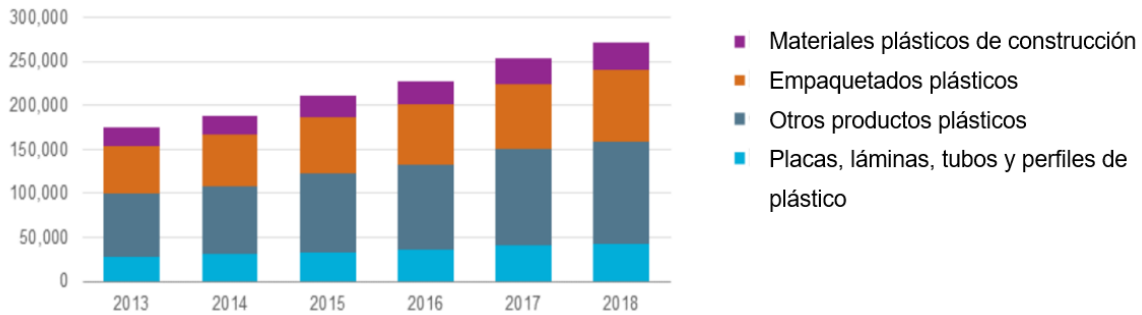


Figura 1. Facturación del sector del plástico en México por categoría (valor en millones de MXN). Adaptado de Aguirrezabal, 2019.

El consumo y necesidades actuales ante el uso de plásticos demandan una productividad elevada. Sin embargo, este material de origen terrestre comúnmente contaminará el medio ambiente acuático, se estima que más de 800 millones de toneladas de plásticos encontrados en los océanos tienen origen terrestre. Cifras del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente muestran que en 2010 se produjeron 275 millones de toneladas de residuos plásticos, de las cuales de 4.8 a 12.7 millones de toneladas pueden además estar lixiviando otros componentes tóxicos en los sistemas acuáticos (Yee *et al.*, 2021).

Si bien el desarrollo, productividad y beneficios de los plásticos es de gran importancia a nivel mundial, es necesario identificar que una proporción importante de ellos los consideramos para un solo uso, lo que incrementa grandemente su disposición inadecuada, ya que son comúnmente desechados en vertederos que tarde o temprano pueden llegar a alguna corriente acuática y arribar al océano.

Estos materiales poseen características particulares que los hacen indispensables en diversas aplicaciones. Esta misma aplicación es la que los vuelven tan persistentes en el medio ambiente. Los plásticos expuestos a diferentes factores ambientales como luz solar, viento, humedad en suelos, lluvias, cambios de temperatura, corrientes oceánicas, entre otros. Estos factores aceleran el proceso de desgaste que puede ser térmica, física, hidrólisis o inclusive debido a diversos efectos mecánicos, fragmentándolos en micropartículas plásticas, lo que incrementa el riesgo de su impacto ambiental. Al encontrarse en el ambiente, los

microplásticos pueden llegar a ser consumidos por animales que serán alimento de depredadores y acumulados a través de la cadena trófica, afectándola (Kögel *et al.*, 2019; Yee *et al.*, 2021).

Los efectos toxicológicos que estos materiales pueden tener en organismos biológicos han sido extensamente documentados en estudios de diversas áreas. El presente proyecto se enfocó particularmente en aportar desde la perspectiva de Tecnología Ambiental al desarrollo de metodologías novedosas que permitan identificar los efectos ecotoxicológicos a través del monitoreo y modelamiento de diferentes variables, los cuales serán explicados a detalle en este documento.

3.2 Antecedentes

En las últimas décadas, el tema de la contaminación causada por los plásticos ha sido ampliamente discutido, se han reportado algunos de los efectos que causan en el ambiente y los problemas que pueden llegar a ocasionar. Sin embargo, como todo material que es expuesto a la intemperie, el plástico se rompe y fragmenta en pequeños pedazos, lo que en el año 2004 el científico Richard Thompson (en colaboración con Marine Conservation Society UK) nombraría como “Microplásticos”. Se considera microplástico (MP) a una partícula derivada del plástico cuyo límite máximo de medición es hasta los 5 mm. El límite inferior no tiene una definición, pero se acepta hasta de 0.1 μm , por debajo del mismo, se considerará como “nanoplástico (NP)” (Leslie *et al.*, 2022).

La formación de microplásticos tiene diversas fuentes, su origen primario puede provenir de derrames industriales o a la creación de MPs para su uso en diversos productos: cosméticos, dermatológicos, de limpieza, entre otros. Se considera como origen secundario las partículas obtenidas de su fragmentación.

De los primeros hallazgos de los MPs, destacan Thompson *et al.*, (2004) por su trabajo “Lost at Sea: Where Is All the Plastic?”, en donde muestran que el desgaste mecánico gradual es un factor muy importante y razón de su presencia en los océanos. El descubrimiento de los MPs fundó el dimensionamiento del tema,

advirtiéndolo sobre los problemas que podría traer a los ecosistemas, al demostrar la presencia de MPs de forma granular aproximadamente de 20 µm de diámetro en sedimentos de playas y flotando en las costas.

Conforme han avanzado los años desde entonces, se han publicado numerosas investigaciones, su principal enfoque era la caracterización de los MPs en ambientes costeros, acuáticos y oceánicos. Entre los años 2004 y 2008 las publicaciones al respecto se referían principalmente a la contaminación de playas con desechos plásticos, y se tenían menos de cien ejemplares. En 2007, Teuten *et al.* evaluaron la capacidad de micropartículas de plástico para adsorber y liberar contaminantes orgánicos hidrofóbicos. Dicho estudio fue de gran importancia por ser pionero en el entendimiento de la interacción entre los MPs con diversos contaminantes que pueden estar presentes en el ambiente.

No fue hasta el año 2014 que en la primera Asamblea del Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP) se destacó la importancia de controlar la contaminación por plásticos y MPs de los océanos. A partir de estas propuestas se establecieron programas científicos y leyes para abordar la problemática. Así, en diciembre de 2015, el entonces presidente de Estados Unidos, Barak Obama firmó la Ley conocida como “Microbead-Free Waters Act” que prohíbe la manufactura, empaquetado y distribución de cosméticos o productos de higiene (como pastas de dientes) que contengan microplásticos, y más adelante, en julio de 2017 se prohíbe la fabricación, venta (a partir de 2018) y uso de productos de consumo que contengan microperlas de plástico.

Dichos programas y leyes impulsaron un mayor interés en la comunidad científica, reflejándose en un aumento de publicaciones que integran cada vez más la participación de varias áreas de la ciencia, lo que ha permitido identificar con una mayor visión el impacto de la presencia de estos desechos en diferentes ecosistemas. En ese mismo año, 2014, se reporta que los MPs pueden ser transferidos a través de diferentes eslabones de las cadenas alimenticias, lo que despertó gran interés por identificar los efectos ecotoxicológicos en diferentes especies expuestas a estos (Teuten *et al.*, 2007; Setälä *et al.*, 2014). Sin embargo,

la amplia gama de efectos observados en los diferentes estudios varía y abarca muchos factores distintos de los que se hablará a continuación.

3.3 Factores que influyen en los efectos dañinos de MPs en diversos organismos

Kögel *et al.*, analizaron 114 publicaciones del impacto de la exposición de MPs en diferentes modelos acuáticos y terrestres, destacó que los resultados pueden ser muy diversos debido a la heterogeneidad de los polímeros estudiados, respecto a su concentración, tamaño, forma, composición y tipo de polímero (2019). Sobre todo, el tamaño de polímero es un factor importante ya que no solo ayudará a clasificarlo, sino que puede provocar diferentes afectaciones a la salud del modelo, por su capacidad para penetrar membranas y acumularse en los tejidos.

También es importante considerar el tiempo y ruta de exposición del organismo expuesto, su etapa de desarrollo y sexo pueden influir en su toxicidad.

Si bien las condiciones ambientales determinarán de manera importante las alteraciones que sufra el material, el problema ambiental se intensifica por su omnipresencia alrededor del mundo, ya que su traslado en el medio acuoso a diferentes ecosistemas y organismos presentes en el mismo es muy factible. La ubicuidad de los plásticos desechados alrededor del mundo se muestra la Figura 2.

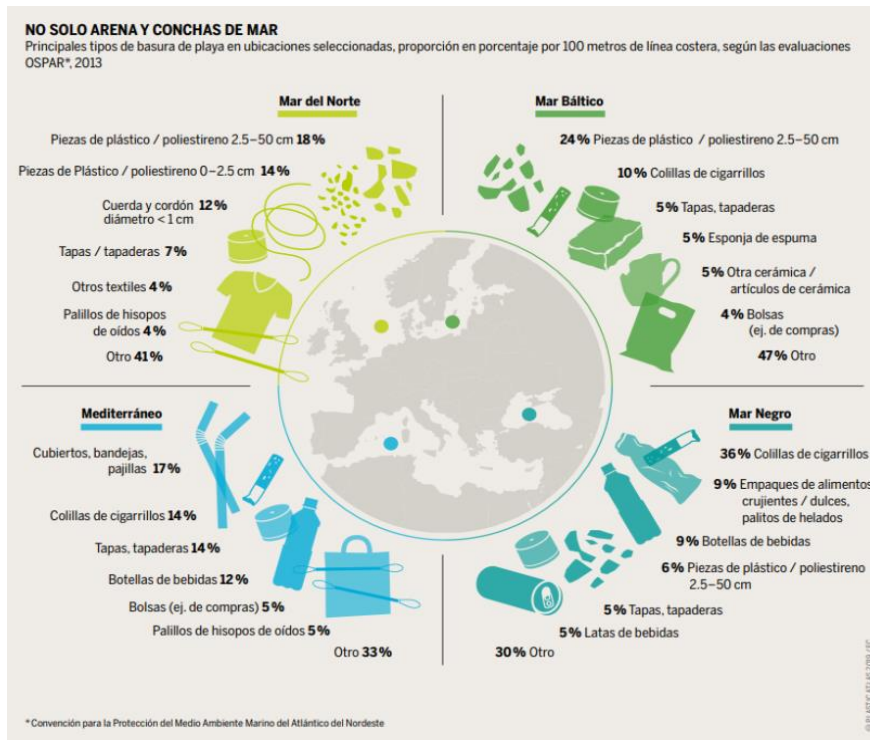


Figura 2. Principales tipos de basura encontradas en diferentes playas alrededor del mundo. Adaptado de Fuhr L. y Franklin M., 2020.

Los factores determinantes para considerar al momento de analizar los efectos dañinos de los MPs son: sus características, el modelo animal y las condiciones ambientales de exposición. Otro elemento importante es la presencia de diferentes aditivos que son incorporados a los polímeros para mejorar sus características, como su durabilidad, color y resistencia, mismos que pueden migrar del material sólido y generar efectos tóxicos en diferentes organismos.

3.3.1 Aditivos: ftalatos

Los ftalatos son sustancias químicas que se aplican para el ablandamiento de plásticos rígidos. Son utilizados en una amplia gama de productos tanto industriales como de consumo, incluyendo algunos materiales plásticos en contacto con alimentos (ELIKA Seguridad Alimentaria, 2022).

Sin embargo, se ha demostrado que los ftalatos tienen una gama de efectos en la salud humana. Existen investigaciones científicas que reportan que los ftalatos

pueden asociarse con disrupciones endócrinas en el cuerpo humano (Segovia Mendoza *et al.*, 2022) y otras afectaciones como una disminución en la fertilidad masculina (Hlisníková *et al.*, 2020; Lovekamp *et al.* 2003), diabetes, cáncer, obesidad y desórdenes metabólicos (Kannan y Vimalkumar, 2021), así como efectos tóxicos en riñón e hígado (Min *et al.*, 2014).

Existen otros efectos que en la actualidad se están evaluando, de los que se dispone de información limitada. No obstante, es de suma importancia moderar o eliminar la exposición a ftalatos presentes en el ambiente dado que al ser considerados disruptores endócrinos, algunos sectores de la población que están en cierto rango de edad pueden sufrir consecuencias hormonales más adelante, como jóvenes en la adolescencia o incluso niños (Zeng, *et al.*, 2023).

Debido a esto, alrededor del mundo, se ha buscado regular y controlar las concentraciones de ftalatos a las que llega a estar expuesta la población humana en los últimos años.

Existen organizaciones como la Comisión de Seguridad de Productos del Consumidor CPSC, y la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos que hoy en día prohíben el uso de ftalatos en ciertos productos como juguetes para niños o infantes que contengan más de un 0.1% en peso de ftalatos.

En 2018, el Reglamento (EU) 2018/2005 de la Unión Europea prohibió la introducción en el mercado de productos que contengan uno o más de los cuatro ftalatos indicados en cantidades superiores al 0.1% en peso del material plástico, que se encuentra en el interior de cualquier tipo de producto. Estas sustancias son: DEHP (bis (2-etilhexil) Ftalato), DBP (Dibutil Ftalato), BBP (Bencil Butil Ftalato) e DIBP (Diisobutil Ftalato); sin embargo, sólo las primeras tres sustancias tenían prohibido el uso en el interior de productos de gran consumo destinados a los niños (Hanari, 2021).

Existen normativas para algunas categorías de productos; el Reglamento (EU) 2018/2005 prevé algunas excepciones como artículos introducidos en el mercado antes del 7 de julio de 2020 en la Unión Europea, lo que puede ser peligroso para

la población, considerando que los productos que ya circulaban anteriormente en ciertos mercados no estaban regulados y son libres de pasar de mano en mano, sobre todo en el comercio de tipo informal (Diario oficial de la Unión Europea, 2018)

En México existen diversas Normas Mexicanas (Tabla 1) que regulan la producción de plásticos y sus propiedades de acuerdo con sus diferentes usos, así como su aprovechamiento.

Tabla 1. Normativa Mexicana referente a la producción de plásticos.

Clave	Título	Definición
NMX-031-CNCP-2009	Industria del plástico – Compuestos de poli(cloruro de vinilo) (PVC) y poli(cloruro de vinilo clorado) (CPVC) – Especificaciones.	Esta norma mexicana establece las especificaciones de los compuestos de poli(cloruro de vinilo) (PVC) y de poli(cloruro de vinilo) clorado (CPVC), empleados en el proceso de extrusión e inyección para la fabricación de la tubería de poli(cloruro de vinilo)(PVC) y poli(cloruro de vinilo) clorado (CPVC) o de copolímeros de cloruro de vinilo que contengan por lo menos 80% de cloruro de vinilo, y los aditivos necesarios para que su manufactura sea más fácil. Los aditivos pueden ser lubricantes, estabilizadores, modificadores, cargas y pigmentos.
NMX-E-019-1968	Método de prueba para la determinación de resistencia a la deterioración por migración de plastificantes en las películas vinílicas.	Este método indica la determinación de resistencia a la deterioración por migración de plastificantes, en las películas vinílicas con y sin soporte.
NMX-E-133-1984	Plásticos para uso agrícola – Plásticos de poli (cloruro de vinilo) – Pérdidas de plastificante en materiales plásticos – Método de prueba.	Establece dos métodos (A y B) para determinación de la pérdida de plastificante en los materiales plásticos de Poli (Cloruro de Vinilo) bajo condiciones definidas de tiempo y temperatura usando carbón activado como medio de inmersión.

Clave	Título	Definición
NMX-E-001-1970	Norma de calidad para películas de poli(cloruro de vinilo) (PVC) sin soporte.	Señala la calidad que deberán cumplir las películas de policloruro de vinilo sin soporte usadas principalmente en la industria automotriz para vestiduras de asientos, forros de puertas, forros de acojinamiento, cielos interiores, capacetes, etc.
NMX-E-006-1968	Método de prueba para la determinación de resistencia al envejecimiento por calor de las películas vinílicas con y sin soporte.	Determina la resistencia al envejecimiento por calor que presentan las películas vinílicas con o sin soporte.
NMX-E-232-CNCP-2014	INDUSTRIA DEL PLÁSTICO – SÍMBOLOS DE IDENTIFICACIÓN DE PLÁSTICOS	Establece y describe los símbolos de identificación que deben tener los productos fabricados de plástico, en cuanto al tipo de material se refiere, con la finalidad de facilitar su selección, separación, acopio, recolección, reciclado y/o reaprovechamiento.
NMX-E-285-NYCE-2021.	Directrices para la recuperación y el reciclaje de residuos plásticos.	Indica especificaciones que debe cumplir el reciclaje de residuos plásticos y requisitos de calidad que se deben considerar en todos los pasos del proceso de reciclado, así como las directrices generales para su inclusión en normas de materiales, métodos de prueba y especificaciones de productos.
NOM-090-STPS-1994	Higiene industrial-Medio ambiente laboral, determinación de Ftalato de Octilo (Ftalato de Di 1-2 Etil Hexilo) en aire, método de cromatografía de gases.	Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento de cromatografía de gases para la determinación de Ftalato de Octilo (Ftalato de Di 1-2 Etil Hexilo) en muestras de aire del medio ambiente laboral.

Nota. Información recopilada principalmente del Diario Oficial de la Federación.

En México no se cuenta con una normativa correspondiente a la regulación de ftalatos para los productos comerciales. García, *et al.*, (2018) reportaron haber encontrado ftalatos en varios componentes de la canasta básica mexicana, en

donde encontraron varios marcadores en productos como cárnicos, productos enlatados, frutas, verduras, aves, mariscos, entre otros.

Existen diversas vías de exposición a los MPs a las que el ser humano está sujeto. La primera vía es de tipo indirecta, donde el MP es ingerido por el ser humano a través de la cadena trófica o por contaminación a los estratos que rodean su entorno como son partículas en el aire, sedimentos, suelos, corrientes acuáticas, entre otros. La segunda vía es por contacto directo, por adquisición de artículos que contengan MPs, como productos cosméticos, maquillajes, artículos de higiene entre otros; o entren en contacto con materiales plásticos de baja calidad o no reglamentados. Se ha reportado que el contacto de estos materiales con alimentos puede promover la presencia de MPs en miel, cerveza, leche, peces, cárnicos y otros comestibles (Díaz, 2020).

La exposición alimentaria, es la mayor fuente de exposición existente, debido a que los alimentos pueden contener pequeñas cantidades de ftalatos a causa de la contaminación ambiental (deposición de partículas presentes en el aire), del contacto con diferentes materiales durante el proceso de producción (mesas de selección, líneas de transporte, etc.) y por contacto con materiales de embalaje (películas plásticas, bandejas, etc.) (ELIKA, Seguridad Alimentaria., 2022).

Artículos básicos para su uso en la alimentación o que son usados con otros fines son libres de circular en los mercados sin ser sometidos a una regulación, y pueden representar un riesgo para la salud no solo de los compradores, sino para el medio ambiente, como lo señalan en su artículo González, *et al.*, (2011) “Se encontraron ftalatos en todas las muestras analizadas de biberones, latas y contenedores plásticos”.

3.4 Afectaciones de partículas plásticas a la salud

En marzo del año 2022, Leslie *et al.*, reportaron el descubrimiento de NP en sangre humana, identificando diversos tipos de plásticos. Los que se encontraron en mayor cantidad fueron el tereftalato de polietileno (PET), polietileno (PE), varios polímeros

del estireno y polimetilmetacrilato (PMMA). También se encontraron valores en concentraciones menores de polipropileno (PP). La concentración de los polímeros identificados fue de 1.6 µg/ml y se ha reportado la presencia de partículas plásticas en muestras humanas de colon (Ibrahim *et al.* 2020) y de tres tipos de partículas de polipropileno en tejidos de placenta (Ragusa *et al.*, 2021), mediante FTIR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier) lo que señala la importancia de evaluar sus efectos en la salud humana, así como en modelos animales de estudio.

En febrero de ese mismo año, Segovia-Mendoza *et al.*, en colaboración con el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de Fuente en Ciudad de México, publicaron estudios preclínicos donde se seleccionaron 14 pacientes voluntarios diagnosticados con Trastorno Depresivo Mayor, así como 53 voluntarios que fueron considerados sanos. En dicho estudio se tomaron muestras sanguíneas de todos los voluntarios y se analizaron con Cromatografía de gases y espectroscopía de masa (CG-SM). En todas las muestras sanguíneas se encontraron cuatro tipos de ftalatos: dietil-hexil-ftalato (DEHP), butil-bencil-ftalato (BBP), di-n-buti ftalato (DBP) y di-etil-ftalato (DEP); así como la presencia de dos bisfenoles: bisfenol A (BPA) y Bisfenol S (BPS).

En donde la concentración de ftalatos entre grupos variaba de diversas maneras, se identificó que las mujeres con trastorno depresivo presentaron mayor concentración de BBP comparado el grupo sano (Figura 3). Segovia-Mendoza *et al.*, en el 2022 señalaron:

“Notablemente, los niveles de BBP fueron significativamente diferentes en el grupo de mujeres con trastorno depresivo ($p=0.0584$), mostrando un aumento significativo (más del 50%) comparado a los hombres”.

Lo cual puede deberse a que las mujeres tienden a ser expuestas a más productos que podrían contener aditivos plásticos como cosméticos y productos de higiene.

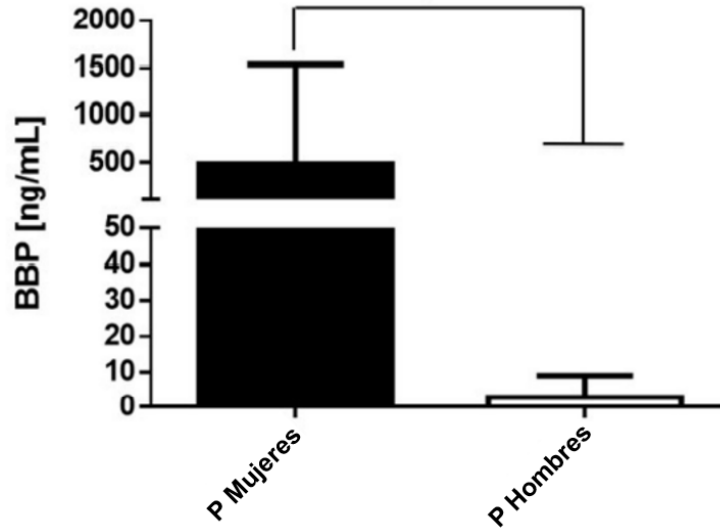


Figura 4. Niveles de ftalatos BBP presentados por pacientes con trastorno depresivo mayor, divididos por género. Tomado de Segovia Mendoza, *et al.*, 2022, Int. J. Environ Res. Public Health (<https://doi.org/10.3390/ijerph19031737>).

Segovia Mendoza *et al.*, (2022) plantearon la posibilidad de que los ftalatos, al ser disruptores endócrinos, podrían estar causando afectaciones a los sistemas neurotransmisores y se propone que la presencia de estos aditivos pueda estar relacionada con la incidencia de trastorno depresivo mayor. Sin embargo, estos hallazgos recientes resaltan la necesidad de continuar investigando las posibles causas, por lo que es necesario realizar pruebas toxicológicas en modelos alternativos de estudio.

3.5 Modelos animales

Maschi *et al.*, en el 2021 definen en el libro “Ciencia y Bienestar de los animales de laboratorio” a un modelo animal como:

“Un objeto animado de imitación, utilizado para investigar circunstancias fisiológicas o patológicas, que se crea y se utiliza en la investigación de la causa, naturaleza y tratamiento de los fenómenos funcionales y de las enfermedades humanas y animales”.

Existe una gran variedad de modelos animales, tanto terrestres como acuáticos, los cuales representan una reproducción parcial o total de una característica o reacción determinada que es importante observar, analizar y extrapolar al ser humano u otros animales de familias taxonómicas similares. Su valor radica en la predicción de efectos dañinos en los componentes bióticos de un ecosistema, la cadena trófica que integran y su bienestar general; por lo que es muy importante la buena selección de un modelo animal. Así mismo, el investigador carga con el peso ético y humano de tratar al animal con el respeto y cuidado que se merece como ser vivo que provee de tan importante información.

Se considera aceptable el uso de animales para la investigación, pruebas y enseñanza únicamente si “contribuye de manera efectiva a la mejor compensación de principios biológicos fundamentales o al desarrollo de conocimientos que, razonablemente, podemos esperar que beneficien a los seres humanos o a los animales” (California Consumer Privacy Act CCPA, ANEXO XV-A, 1998).

Organizaciones como el Consejo Internacional de Organizaciones de Ciencias Médicas (CIOMS), el Consejo Internacional para la Ciencia de Animales de Laboratorio (ICLAS), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE- WOA), al igual que organismos y asociaciones que regulan el manejo de modelos animales en diversos países como Federación Europea de Asociaciones de Animales de Laboratorio (FELASA) en la Unión Europea, han creado procedimientos y reglamentación sobre la experimentación con animales, Los estándares internacionales (Carbone y Ayala, 2021) señalan que:

- A) Los animales deben emplearse únicamente cuando el investigador haya buscado sin éxito encontrar una alternativa aceptable.
- B) Si se deben utilizar animales, ellos deberían mantenerse en condiciones que aseguren su bienestar físico y emocional.
- C) Los animales no se deben someter a angustia o dolor innecesarios.

D) La técnica experimental debe asegurarles toda la protección posible, ya sea para investigación, enseñanza o para pruebas; el costo y la conveniencia no deben tener precedencia sobre el bienestar físico y mental del animal.

Así mismo, el REGLAMENTO DE CREACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DEL COMITÉ PARA EL CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE LABORATORIO de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla estipula que:

“Independientemente de la búsqueda del conocimiento, se acepta que todos los seres vivos son capaces de sufrir y sentir, y que se deben realizar acciones para respetar la vida en todas sus formas y buscar la minimización del sufrimiento.”

Esta investigación se basa en el adecuado manejo de los modelos animales para garantizar que se encuentren en las condiciones óptimas requeridas para brindar una investigación de calidad, y así mismo, para dar el debido respeto a los individuos usados en esta investigación.

3.5.1 *Daphnia magna*

Daphnia es un organismo invertebrado, cladóceros de agua dulce, también llamada pulga de agua, pertenece a la familia de los crustáceos, del Suborden Cladocera. Es un representante importante de las comunidades dulceacuícolas con gran sensibilidad a una amplia gama de compuestos tóxicos, siendo ésta una de las características principales por lo que se ha usado internacionalmente en pruebas de toxicidad. De igual manera, su ciclo de vida corto y su cultivo relativamente fácil en laboratorio, lo que agiliza la realización de pruebas rápidas y económicas. *Daphnia magna* es un modelo ecotoxicológico comúnmente usado en pruebas de toxicidad acuática, es un bioindicador importante de fácil cultivo de laboratorio, relativamente económico, su tamaño relativamente pequeño, no obstante, visible al ojo humano, se reproduce mediante partenogénesis, su ciclo de vida es corto y su fecundidad es elevada (Koivisto, 1995).

Estos crustáceos presentan elevada fertilidad, generando en su desarrollo asexual la liberación de crías hembras, acompañado de incremento de la actividad de la

enzima quitinasa, esta enzima hidroliza la quitina del exoesqueleto en componentes oligo y monoméricos (Telli *et al.*, 2024), desprendiéndose la antigua cutícula que cubría al crustáceo para dar paso a la nueva, proceso conocido como ciclo de muda (Zhang *et al.*, 2021), el cual es regulado por hormonas relacionadas con la reproducción, por lo que la determinación de la actividad de la enzima quitinasa es un biomarcador de utilidad en la evaluación de la reproducción de este cladócero (Qi *et al.*, 2017).

3.5.2 Rata Wistar (*Rattus norvegicus albinus*)

La rata albina es un modelo de estudio desarrollado como el primer animal en estandarizarse para el uso experimental en biología celular y ensayos clínicos. Respecto al empleo del modelo Wistar en la investigación, se ha destacado su uso desde finales del siglo XIX, impulsando a la fecha la investigación biológica, médica y psicológica (Otto *et al.*, 2015).

En estudios de toxicidad, su alto rango de supervivencia, su peso relativamente bajo en comparación con otros modelos, baja incidencia tumoral y fácil adaptación en bioterios, permite controlar las variables ambientales en las experimentaciones. Así mismo, en este modelo animal se ha caracterizado información sobre ensayos genéticos, desarrollo de peso corporal, signos vitales, consumo de agua y comida, hematología, neurotoxicidad, peso de sus órganos, lesiones visibles, conteo de espermatozoides y folículos de ovario, histopatología, reprotoxicidad, entre muchos otros (Weber *et al.*, 2011). La cepa Wistar es la más usada como material experimental en investigación epidemiológica, ensayos clínicos, estudios genéticos, elaboración de mecanismos de señalización, entre otros estudios (Yu y Shang, 2014).

3.6 Estrés metabólico

Un organismo puede ser sujeto a diversos estresores dentro de un medio determinado. Sin embargo, si dicho estrés sobrepasa la capacidad de carga mental, física o emocional del organismo, este puede sufrir una alteración en el metaboloma. Donde la energía necesaria para el funcionamiento o mantenimiento de diversos

sistemas biológicos es redirigida hacia el afrontamiento de estresores, resultando en fluctuaciones en los niveles de metabolitos en el organismo (Perera, Soos y Machin, 2022).

Algunos metabolitos se han usado como indicadores del desarrollo de ciertas enfermedades, por ejemplo:

- El succinato, es un metabolito que sirve como intermediario en el ciclo de Krebs y juega un papel crucial en la producción de energía celular. En esta vía metabólica el succinato, con ayuda de la enzima succinato deshidrogenasa, se convierte en fumarato. Lo que contribuye a la producción de electrones para la cadena de transporte electrónico, donde como resultado final se produce ATP que brinda energía a las células. Además, contribuye como un eje integral para señalar una respuesta inflamatoria en las células macrófagas, quienes son esenciales para el sistema inmune (Berg, Tymoczko y Stryer, 2007). La alteración o deficiencia de este metabolito afecta directamente la producción de ATP, alterando el transporte de electrones en la mitocondria y los almacenes de energía. Lo que incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y provoca daño celular. En los últimos años se ha estudiado y propuesto al succinato como un bioindicador para la detección temprana de disfunciones metabólicas en órganos como tejido adiposo, estómago, páncreas, riñones y algunos músculos que recubren el esqueleto (Fernández, Ceperulo y Vendrell, 2021).

- La Glutamina, es el aminoácido más abundante en el organismo, con diversas funciones. Sirve como fuente de nitrógeno para la síntesis de nucleótidos y otros aminoácidos, participa en la glucogénesis como intermediario auxiliando en la generación de glucosa, contribuye a la eliminación de amoniaco en el ciclo de la urea, brinda energía a las células del sistema inmune y del intestino, y es clave en el metabolismo del cáncer. Los niveles bajos de glutamina en el organismo son asociados con alteraciones en el sistema inmunitario, así como cambios en la estructura y función de la mucosa intestinal y el tejido linfático asociado (Bonet y Grau, 2007).

- Creatina, es el resultado de la unión de tres aminoácidos, almacenada principalmente en los tejidos del músculo y un 5% en el cerebro y corazón. La mitad de los suministros de creatina proviene de alimentos altos en proteínas, mientras que la otra mitad es producida por los riñones, hígado y páncreas. Es una fuente de energía instantánea y constante que permite que los músculos realicen actividades físicas intensivas, ya que ayuda a regenerar el ATP y a disminuir la cantidad de azúcar en sangre. La disminución o ausencia de creatina podría provocar fatiga muscular rápida y pérdida de masa muscular. De igual manera, se le relaciona con ciertos desórdenes neurológicos como el Alzheimer y Parkinson (Trentman, Louissaint y Enahwo, 2024).

- Fosfocreatina, actúa como reservorio de fosfato de alta energía para los músculos, su función principal es regenerar el ATP en los periodos cortos de actividad física intensa, manteniendo un suplemento constante de energía previa a la activación de otros procesos energéticos como el Ciclo de Krebs. La disminución de este metabolito podría provocar debilidad muscular temprana y fatiga (Castro, *et al.*, 2010).

- La asparagina es un aminoácido polar no esencial que actúa como precursor en la síntesis de proteínas (como el AMP, glutamato y pirofosfato) y es intermediaria en el metabolismo del nitrógeno y amonio. Ayuda en la regulación del ciclo celular y señalización de estrés (Pessino, *et al.*, 2024). La deficiencia de asparagina podría comprometer la capacidad de las células para adaptarse a condiciones estresantes y reparar daños, debido a que ayuda en la síntesis proteica.

- Lactato, el producto final de la glucólisis anaeróbica. Algunas de sus funciones son como fuente de energía para tejidos como el corazón y cerebro, como materia prima en el hígado para la generación de más glucosa y como señalizador para regular la actividad celular en situaciones de hipoxia (Benarroch, 2024). Así mismo, promueve la formación y regeneración ósea, al activar vías de señalización que estimulan la expresión de proteínas como colágeno I y la osteocalcina. La alteración de lactato en el organismo puede ocasionar una acidosis láctica, enfermedades mitocondriales y deficiencias en la enzima LDH que a su vez ocasionan fatiga crónica, debilidad

muscular, daños en órganos de alta demanda energética (como corazón y cerebro) y dolores musculares (Li, *et al.*, 2022).

3.7 Marco conceptual

3.7.1 Tipo de investigación

La investigación es de tipo exploratoria, explicativa y correlacional.

Es exploratoria debido a que tanto el fenómeno de los MPs como sus efectos toxicológicos son muy recientes. El descubrimiento de los MPs fue reportado por Thompson en el año de 2004. Sin embargo, no fue hasta una década después que se destacó la importancia de controlar la contaminación por plásticos y MPs de los océanos. Teniendo la cronología en cuenta, los MPs son un problema del que se conoce muy poco, la mayoría de los estudios hasta el día de hoy están enfocados principalmente a criaturas marinas y sus hallazgos en las playas, especialmente en México. Por lo que, es importante la generación de información sobre los efectos toxicológicos de los MPs, sus aditivos y los posibles efectos de sinergia.

Se trata también de una investigación de tipo explicativa, debido a que se busca comprender y analizar los efectos producidos en la salud de los modelos animales, basándose en los efectos toxicológicos reportados en la bibliografía y generando información que ayude a esclarecer la problemática en diferentes escenarios.

Finalmente, la investigación es de tipo correlacional porque se hace una comparación de los efectos toxicológicos observados en ambos modelos animales, tanto terrestres como acuáticos. Además, se planteará la relación entre los efectos causados por MPs en mamíferos, las posibles repercusiones hacia la salud humana y la exposición del ser humano al constante contacto con diferentes productos plásticos y sus aditivos (Kögel *et al.*, 2019; Parmar *et al.*, 1987; Segovia Mendoza *et al.*, 2020; Leslie *et al.*, 2022).

IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Preguntas de investigación

¿Cómo pueden ser caracterizados y monitoreados los riesgos tóxicos de la exposición crónica a micro- y nanopartículas de PVC (MNPs de PVC) en modelos animales acuáticos y terrestres, como *Daphnia magna* y *Rattus norvegicus*, para evaluar su potencial impacto ambiental?

V. HIPÓTESIS

Los riesgos tóxicos a la exposición crónica de MNPs de PVC pueden ser caracterizados y monitoreados en los modelos animales acuático y terrestre, *Daphnia magna* y *Rattus norvegicus*, mediante el empleo de biomarcadores sensibles que demuestran perfiles de alteraciones bioquímicas, metabolómicas, histológicas y reproductivas, demostrando el riesgo potencial que estos materiales pueden generar al medio ambiente.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- Caracterizar y monitorear los riesgos tóxicos asociados a la exposición crónica de nanopartículas de PVC (MNPs de PVC) en los modelos animales acuático (*Daphnia magna*) y terrestre (*Rattus norvegicus*), mediante la utilización de biomarcadores que evidencien alteraciones bioquímicas, metabolómicas, histológicas y reproductivas, con el fin de evaluar su impacto potencial en el medio ambiente.

6.2 Objetivos específicos

- Identificar la exposición a plásticos de una población de estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Caracterizar muestras de material plástico, mediante espectroscopia FTIR, y su contenido de aditivos (DEP, DBP, BBP y DEHP) mediante GC-MS.
- Caracterizar físicamente la forma y distribución de tamaño de las micropartículas obtenidas de la muestra plástica de PVC, mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y microscopía óptica.
- Evaluar los efectos tóxicos crónicos de las muestras de MPs, en los grupos de animales expuestos a una concentración de relevancia ambiental, mediante el biomonitoreo de características de historia de vida, parámetros fisiológicos, perfil metabolómico (espectroscopía de resonancia magnética nuclear), y análisis histológico de *D. magna* y *Rattus norvegicus* cepa Wistar.
- Establecer un modelo matemático que refleje la evolución del daño crónico causado por el contacto con MNPs de PVC sobre la dinámica poblacional de *Daphnia magna*.

VII. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

7.1 Diagrama de trabajo

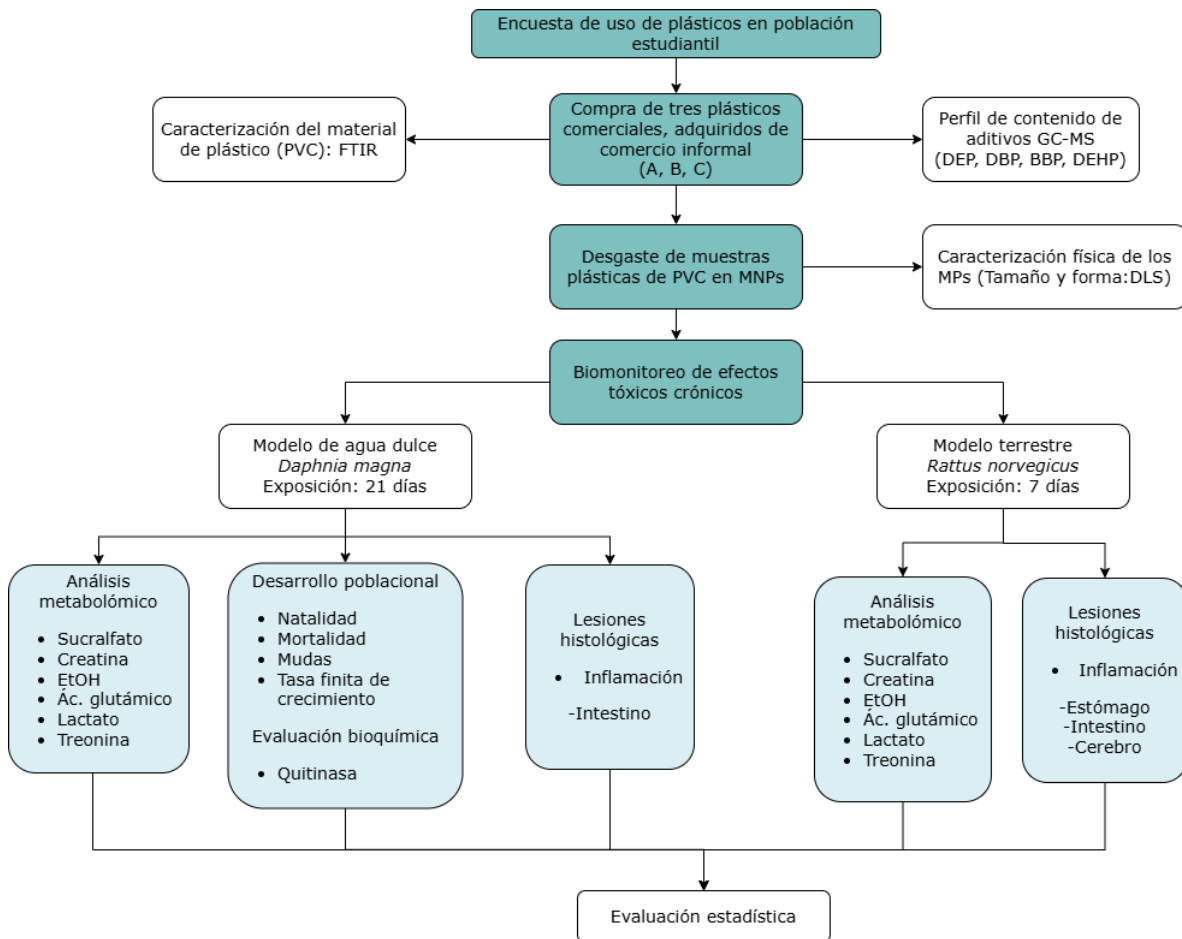


Figura 5. Diagrama de trabajo, elaboración propia.

7.2. Desarrollo metodológico

7.2.1 Encuesta descriptiva

La encuesta fue diseñada para recolectar información relevante sobre la exposición a plásticos en una población de estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

El instrumento de recolección de datos consistió en una encuesta cuantitativa conformada por veintidós preguntas, que abarcaron aspectos relacionados con los hábitos y consumo de productos plásticos en la comunidad estudiantil.

La encuesta se aplicó en línea, utilizando la herramienta Google Forms para facilitar la recopilación de datos en un grupo de compraventa económica, donde interactúa una gran cantidad de estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se eligió el grupo “Nenis BUAP” porque es conformado por estudiantes de 18 a 30 edad, residentes de la ciudad de Puebla y que usan ese espacio público para consumir diversos productos en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

El grupo consta de 68 mil seguidores, sin embargo, se ha observado que las publicaciones con mayor interacción generan en promedio cien reacciones, por lo que la población estimada para la aplicación de la encuesta en línea fue de 100 personas.

Se aplicó la fórmula presentada en la ecuación para estimar el tamaño de una muestra; garantizando un 95% de confianza, y así mismo, un margen de error del 5%, donde se obtuvo que la muestra debería constar de 81 respuestas.

$$\text{Tamaño de muestra } n = \frac{Z^2 p q}{e^2}$$

Ecuación 1. Fórmula para calcular el tamaño de muestra de una población. Donde Z^2 es la abscisa de la curva normal que corta en un área α , e es el nivel deseado de precisión, p es la proporción estimada de un atributo que se desea estudiar en la población y q representa $1-p$. Adaptada de “*Determining sample size*”, de Israel G.D., 1992.

Antes de responder la encuesta, los participantes fueron informados sobre el propósito del estudio y la naturaleza voluntaria de su participación, pidiendo de igual manera que reafirmaran sobre sus estatus como estudiantes BUAP con un “Sí” o

“No”. Se garantizó que las respuestas serían tratadas de manera anónima y utilizadas exclusivamente con fines de investigación académica (INAI 2023).

7.2.2 Obtención de muestra plástica comercial

Se obtuvo una muestra de plástico PVC del comercio informal a partir del resultado de encuestas dirigidas que permitieron evaluar la exposición de los encuestados a los microplásticos y sus aditivos. De igual forma, la aplicación de la encuesta relacionó los resultados del instrumento con los datos obtenidos en el estudio toxicológico bajo el amparo de un modelo simulador, que reconoce la interrelación de varios elementos o variables (Caselles, 2008).

7.2.3 Caracterización espectroscópica del material plástico (PVC)

La composición del material plástico respecto al tipo de polímero se realizó mediante espectroscopia FTIR (Spectrum One, Perkin Elmer) en modo ATR en conjunto con una base de datos (Jemec, 2016). Este método de caracterización es muy útil para polímeros y materiales en general, es una de las técnicas más confiables, ya que produce espectros de alta calidad (Rocha Santos *et al.*, 2022).

7.2.4 Identificación de la presencia de aditivos en el material plástico comercial estudiado

El contenido de ftalatos (Dietil ftalato (DEP), Dibutil ftalato (DBP), Butil bencil ftalato (BBP) y Dietilhexil ftalato (DEHP)) presentes en la muestra de plástico seleccionada para este estudio, se realizó mediante Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS). La muestra se dividió finamente, previo a su análisis, los ftalatos se extrajeron por sonicación y calor. El cromatógrafo se calibró usando una mezcla de referencia con los ésteres de ftalatos (Consumer Product Safety Commission, 2009).

7.2.5 Preparación de MNPs, caracterización de forma y tamaño

El desgaste de plásticos desechados en el medio ambiente puede deberse a diferentes causas como fotodegradación, ruptura mecánica, desgaste por termooxidación, desgaste hidrolítico y biodegradación por microorganismos (Webb *et al.*, 2013). En este trabajo, material plástico de PVC se compró en el comercio

informal, en forma de película plástico, por su empleo común por la población, para envolver diversos alimentos y materiales incluso para su almacenamiento y/o transporte.

La suspensión de MNPs se obtuvo por medio de la molienda 2 g de la película plástica de PVC, en 130 mL agua bidestilada, con ayuda de un taladro a 12,500 rpm, en periodos de 3 h, durante 7 días (Dremel 3000). La suspensión obtenida fue filtrada para remover partículas de mayor tamaño, mismas que fueron desecadas por 24 h para remoción de humedad residual y pesadas. El contenido de plástico presente en la suspensión fue estimado a partir de la diferencia de peso entre el material pesado previo a la molienda y las partículas de mayor tamaño removidas.

La forma y distribución de tamaño de las micropartículas, se analizó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) (LS 13 320 Laser Diffraction Particle Size Analyzer, Beckman Coulter), técnica no invasiva en donde las partículas en un medio dispersante a evaluarse en la región submicrónica, son incididas por un haz de luz láser que se dispersa a diferentes intensidades. Las fluctuaciones de intensidad producen la velocidad del movimiento browniano, lo que permitió evaluar el tamaño de las partículas presentes en la suspensión con el uso de la relación de Stokes-Einstein (Ross, 2010).

7.2.6 Ensayo de toxicidad crónica

7.2.6.1 Evaluación de toxicidad en *Daphnia magna*

La concentración de MNPs para el presente estudio se seleccionó a partir de pruebas de toxicidad aguda. Para ello se empleó la metodología descrita en literatura a fin de establecer la toxicidad de los MNPs en suspensión sobre daphnidos neonatales en atención a la NMX-AA-087-SCFI-2010. El ensayo agudo se inició realizando pruebas exploratorias por triplicado, para determinar diluciones que se encontraran en el intervalo próximo a el valor de EC₅₀. Posteriormente, se realizaron pruebas confirmatorias, donde se expuso un grupo de individuos a diluciones previamente determinadas, considerando grupos control positivo y

negativo durante 48 horas. La mortandad registrada se evaluó con el programa PROBIT para identificar el valor de EC₅₀.

La EC₅₀ estimada a las 48 horas fue de 7 mg/mL. Análogamente, las poblaciones fueron expuestas a concentraciones inferiores a la EC₅₀ (0.20 mg/mL, 0.04 mg/mL y 0.02 mg/mL) por un periodo de veinte días, con conteo manual y recambio de medio cada tercer día a fin de encontrar una concentración subletal adecuada para el posterior ensayo crónico. Finalmente, de los resultados observados, la concentración de 0.04 mg/mL, fue seleccionada para estudios posteriores.

De tal que, el ensayo crónico, se inició con veinte organismos neonatos expuestos a concentración subletal de 0.04 mg MNPs/mL en un volumen final de 120 mL. La población fue observada durante veinte días y monitoreada cada tercer día mediante conteo manual y recambio de medio con evaluación de parámetros de historia de vida. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado.

7.2.6.2 Evaluación de parámetros fisiológicos

La frecuencia cardiaca y movimiento torácico de los organismos fue evaluada a partir de la selección de un daphnido al azar a los 10, 15 y 20 días para el tratamiento y el grupo control. Los daphnidos seleccionados fueron transferidos a un portaobjetos con volumen aproximado de 35 µL a fin de realizar grabaciones del movimiento del corazón y miembros torácicos por un minuto (cámara digital Moticam-X, resolución de 1.3 MP acoplada a microscopio ZEISS® Primo Star con aumento total de 100x). Los videos fueron procesados en el programa Tracker versión 6.0.9; se contabilizó cuadro por cuadro los latidos cardíacos y las contracciones del tórax durante 1 minuto. Todas las mediciones se realizaron por triplicado (Bownik *et al.*, 2017).

7.2.6.3 Evaluación de la toxicidad crónica en *Rattus norvegicus* cepa Wistar

En el caso del modelo terrestre, ratas de la cepa Wistar, se estableció un grupo expuesto a la misma dosis subletal previamente determinada (0.04 mg MNPs/mL) y un grupo control. Cada grupo constó de dos individuos, la suspensión fue

administrada en los bebederos con consumo *ad libitum* y manteniendo condiciones óptimas de temperatura de 24°C, humedad al 50% y ciclos de luz-oscuridad 12-12 horas (Danso *et al.*, 2022). Al final del estudio (día 7), los animales fueron sacrificados por inhalación de dióxido de carbono.

7.2.7 Análisis histológico en *D. magna* y rata cepa Wistar

El análisis histológico se efectuó mediante la técnica propuesta por Dey (2018) y adaptada por Rosas Licon (2023), para el organismo *D. magna*, y el estómago e intestinos de ratas Wistar, individuos y tejidos, respectivamente fueron expuestos en paraformaldehído-PBS al 4% durante un lapso de 7 días. Las muestras se deshidrataron y blanquearon durante 30 minutos en agitación con alcohol etílico, 50% alcohol etílico-50% xilol y xilol 100%.

Los organismos se incluyeron en parafina durante 2 horas con recambio. Pasada la primera hora, posteriormente, se colocaron en moldes metálicos cuadrados con parafina. Las muestras se seccionaron en serie a 5 µm en un microtomo de deslizamiento Leica® SM2010. Las secciones se tiñeron con hematoxilina y eosina, para la posterior visualización del tejido. Para la identificación de estructuras dañadas se tomaron fotografías con una cámara digital Leica® MC170 HD acoplada a un microscopio ZEISS® Primo Star. Con el programa ImageJ se midió la anchura del intestino medio y la pared intestinal, además de la longitud de las microvellosidades. Para el estómago se determinó la morfología.

7.2.8 Análisis por tomografía de rata cepa Wistar

El estudio se desarrolló en el Centro Avanzado de Pruebas Analíticas no Destructivas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se realizó la reconstrucción 3D de una sección coronal próxima al lóbulo frontal de cerebro de ratas Wistar en un tomógrafo Avonix Imaging. Se realizaron 2500 cortes de cada muestra con una energía del haz de 170 kV, una corriente del haz de 162 µA y 27.2 W de poder. Se visualizó la morfología y con el programa ImageJ se midió la longitud de la zona que separa el hipocampo y los cuerpos mamilares, tanto izquierdo y derecho. Además, se obtuvo el área del hipocampo izquierdo y derecho.

7.2.9 Evaluación de la actividad enzimática de quitinasa en *D. magna*

Se recolectaron daphnidos a los días 10, 15 y 20 para el tratamiento a base de MNPs y el grupo control. Los organismos fueron homogeneizados en tampón citrato-fosfato 0.15 M y pH 5.5. Posteriormente centrifugados a 10,000 g por 3 min (4 °C). Se tomaron 200 µL del sobrenadante con posterior incubación a 37 °C con 25 µL de 4-nitrofenil N, 1.5 m de NV-diacetil-hd-quitobiósido (Sigma-Aldrich) durante 50 min. La reacción se detuvo por adición de 25 µL NaOH 0.5 N. El 4-nitrofenol liberado se cuantificó a 405 nm (Zou y Bonvillian, 2004).

Paralelamente, se estimó la concentración de proteína según el método de Bradford. Finalmente, el rendimiento de quitinasa se informó como nmol de nitrofenol liberado por µg proteína en un tiempo de 50 minutos.

7.2.10 Evaluación del perfil metabolómico

El perfil metabolómico se obtuvo mediante resonancia magnética nuclear, a partir de tejido homogenizado de 40 daphnidos en 350 µL de solución tampón de fosfatos (70 mM Na₂HPO₄, 0.025 (p/v) NaN₃, 20mM TSP, pH 7.4 en D₂O) de acuerdo con la metodología propuesta por Deng *et al.*, (2017).

En el caso del modelo terrestre, el análisis se desarrolló a partir de la recolección de muestras sanguíneas directamente del corazón de los organismos. El proceso se efectuó en apego a NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Se tomaron 350 µL de suero en 250 µL de tampón de fosfato (70 mM Na₂HPO₄; 0.025 (p/v) NaN₃; 20mM TSP; pH 7.4 en D₂O).

Ambas muestras se homogeneizaron y se centrifugó a 12000 rpm durante 10 minutos, eventualmente, se tomaron 600 µL de los sobrenadantes y se transfirieron a tubos de RMN de 5 mm. Los espectros de RMN de 1 H se adquirieron utilizando un espectrómetro Bruker Avance Neo, 500 MHz a 298 K. Las resonancias de los metabolitos fueron identificadas de acuerdo con la Base de datos del metaboloma humano (Wishart, *et al.*, 2022).

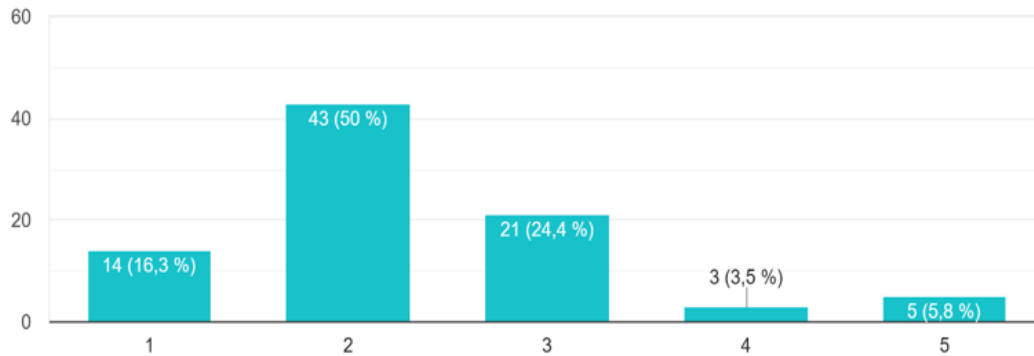
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 ENCUESTA DESCRIPTIVA

El primer objetivo específico de esta investigación conlleva la caracterización fisicoquímica del material plástico seleccionado, para ello, se procedió a la aplicación de una encuesta descriptiva a fin de seleccionar el tipo de material a utilizar en pruebas posteriores.

La encuesta se aplicó a lo largo del mes de abril del 2023 a estudiantes de la comunidad universitaria de la BUAP, 80% fueron de licenciatura. Los datos recabados para los 86 individuos resaltan que, de los encuestados, 29% suele consumir alimentos envueltos con película plástica, de ellos el 48% afirma encontrar el empaque en alimentos del supermercado, el resto alude a mercados y tiendas locales. De ello mismo se destaca la frecuencia de consumo, el 50% de los estudiantes reconoce una constancia de consumo superior a 3 veces por semana (Figura 5).

A 86 respuestas



B 83 respuestas

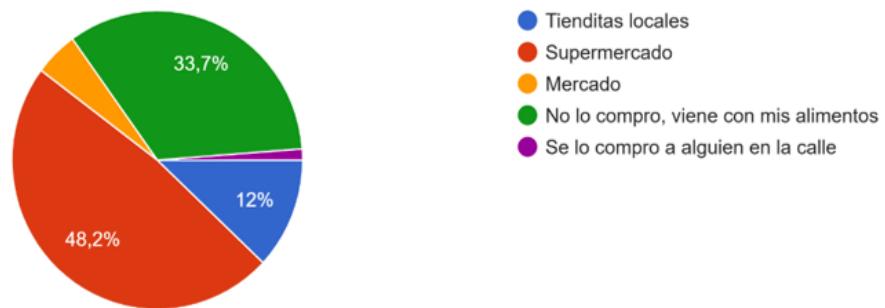


Figura 5. Preguntas realizadas a estudiantes de la BUAP sobre hábitos y consumo de plástico PVC. La gráfica A muestra la frecuencia con la que los estudiantes consumen PVC, basándose en una escala donde 1 es “nunca lo consumo” y 5 es “Siempre lo consumo”. La gráfica B muestra los lugares más frecuentes donde los estudiantes adquieren plástico PVC.

Por tanto, los resultados de este análisis permitieron conocer los hábitos de consumo de material plástico de la comunidad universitaria (ANEXO 1), dado que la gran mayoría de los comestibles suelen ser empacados en plástico (Tood, 2003).

Es de interés identificar el contacto que la población estudiantil tiene con materiales plásticos, dado que se ha reportado que estudiantes en Changsha, China estuvieron expuestos a MPs primarios a través de la dieta, el aire y agua potable, encontrando la presencia de este contaminante en el suero sanguíneo principalmente, así como en la orina de estos estudiantes (Song, *et al.*, 2024).

Siendo de especial interés el material PVC, debido a su potencial contenido de aditivos ftalatos. Dado que se ha reportado por García, *et al.*, (2018) que encontraron la presencia de diversos ftalatos en 23 artículos de la canasta básica mexicana.

A la postre, este análisis desembocó en la selección de película plástica como material de estudio para el presente trabajo.

8.2 CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL MATERIAL PLÁSTICO PVC

8.2.1 Identificación del tipo de material plástico mediante FTIR

La muestra plástica se adquirió del comercio informal ubicado en la Central de Abastos de la ciudad de Puebla, fue una película plástica para envolver alimentos (Muestra A).

La muestra se analizó mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) en un equipo Spectrum One, Perkin Elmer. Basándose en el análisis establecido por Xu *et al.* (2022), se observó que el espectro infrarrojo obtenido, Figura 6, presentó picos característicos del polímero PVC correspondientes a las longitudes de onda de 2957.26, 2928.04, 1429.58, 1379.10, 1331.80, 1251.78, 960.68, 835.88 y 693.70 nm.

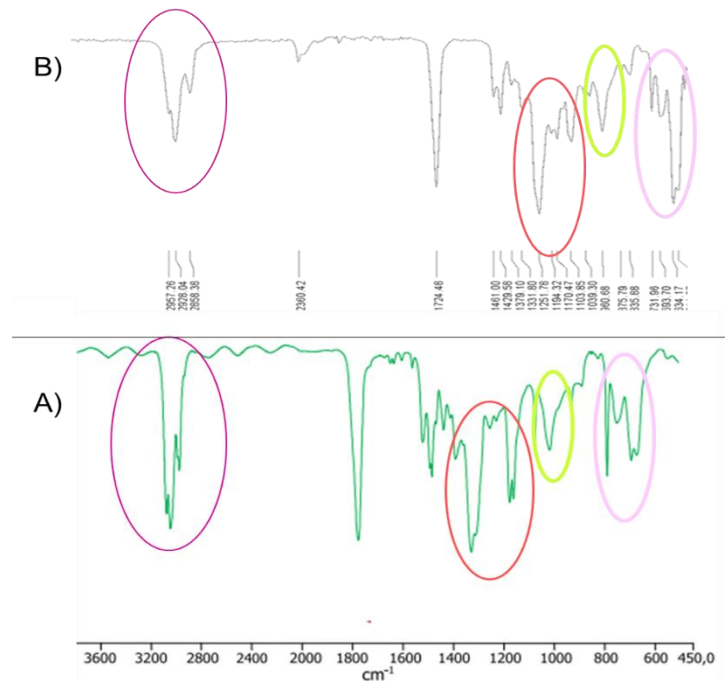


Figura 6. Comparación entre los espectros infrarrojos de la muestra plástica y la literatura. A) espectro infrarrojo de película plástica obtenida de comercio informal. B) espectro infrarrojo característico de PVC reportada por Coltro *et al.*, 2013.

En adición al incremento en el número de señales características, se compararon las bandas obtenidas de la muestra analizada con el espectro infrarrojo reportado por Coltro *et al.*, (2013) para plásticos PVC que contienen diferentes aditivos, de tal comparación, apreciable en la Figura 6, es posible observar que el espectro de la película plástica se equipara al espectro referido, mismo que contiene bandas características de PVC y aditivos tales como ESBO y ftalato DEHT (Coltro, Pitta y Madaleno, 2013).

8.2.2 Identificación de la presencia de aditivos en el material plástico comercial estudiado

Continuando con el proceso de caracterización, la película plástica PVC fue analizada por cromatografía de gases y espectrometría de masas por el método estandarizado CPSC-CH-C1001-09.3 Standard Operating Procedure for Determination of Phthalates y, el contenido de total de ftalatos, fue comparado con los valores permitidos que indica el Reglamento de Registro, Evaluación,

Autorización y Restricción de sustancias químicas (REACH) Europeo en el ANEXO XVII, entrada 51, Restricción de ftalatos, principalmente: bis-2-etilhexil ftalato (DEHP), dibutilftalato (DBP), benzil butil ftalato (BBP) y di-isobutil ftalato (DIBP), en todos los productos destinados al consumo por infantes o menores de edad. De igual manera, prohíbe dichos ftalatos en todo producto que contenga materiales plásticos, incluyendo aquellos usados en exteriores o con constante contacto con la piel. Así, la cantidad de ftalatos presentes en un producto de consumo debe ser menor al 0.1% en comparación al peso del material plástico.

De lo anterior, la muestra fue examinada para ftalatos BBP, DBP, DEHP y di-etil-ftalato DEP. Los resultados se aprecian en la Tabla 2.

Se aprecia que la muestra plástica de PVC solo presentó contenido del ftalato DEHP. A pesar de que el porcentaje de contenido de ftalato se encuentre dentro del rango de la norma impuesta por REACH EU, se destaca su toxicidad, dado que su presencia en sangre humana está relacionada con Trastorno de Depresión Mayor (Segovia Mendoza *et al.*, 2022).

Tabla 2. Resultados obtenidos del análisis por GC-MS en busca de ftalatos en la muestra plástica PVC y en la suspensión obtenida de MNPs.

Muestra	Ftalatos			
	BBP	DBP	DEHP	DEP
Suspensión de MNPs	0.00	0.00	0.00	0.00
Película plástica PVC	0.00	0.00	0.08%	0.00

Nota. Los valores obtenidos fueron comparados con el ANEXO XVII del reglamento de la Unión Europea. Los ftalatos analizados fueron aquellos que regulados por el ANEXO XVII; Butil-benzil-ftalato (BBP), Di-n-butil-ftalato (DBP), Di-2-etilhexil-ftalato (DEHP) y Di-n-butil-ftalato (DEP). Los compuestos se reportaron en porcentaje (m/m).

En el caso del modelo de estudio, *Daphnia magna*, estudios recientes advierten que concentraciones en el rango de los 811 $\mu\text{g/L}$ de DEHP disminuyen la supervivencia, reproducción y respuestas bioquímicas (Le *et al.*, 2019). No obstante, será necesario continuar estudiando el efecto toxicológico causado por la exposición a suspensión de MNPs sobre los modelos animales.

8.2.3 Caracterización de la forma y distribución del tamaño de las partículas plásticas de PVC

Posterior a los estudios de caracterización, se procedió a la obtención de la suspensión de MNPs para los subsecuentes ensayos de toxicidad, misma que fue analizada por dispersión de luz dinámica a fin de establecer que, la turbidez de la suspensión es debida a la presencia de partículas plásticas de PVC (Kögel *et al.*, 2019). Lo mencionado en apego al tercer objetivo específico de la presente investigación.

La Figura 8 muestra los resultados por DLS, se advierte que la turbidez de la suspensión es debida a la presencia de partículas de PVC, para un valor de 116 NTU, se aprecia que el 98.1% de la muestra se caracteriza por un tamaño de partícula de 82.4 nm, el 1.9% restante oscila entre 5.247 micras.

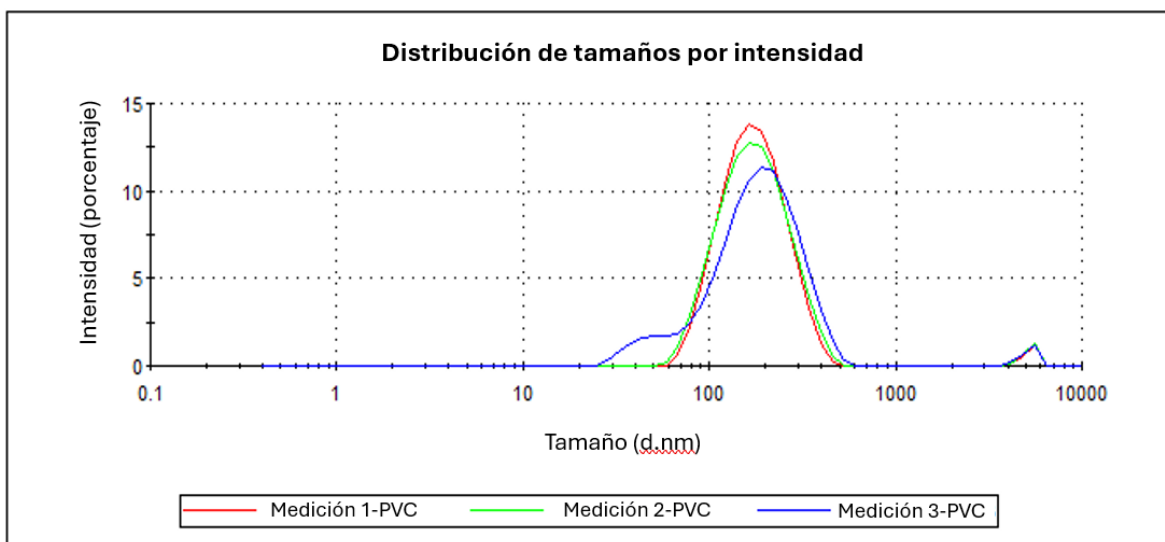


Figura 8. Tamaño de partículas detectadas en suspensión, en relación con la intensidad de lectura.

Estudios recientes han permitido identificar la presencia de micropartículas de 5 y 10 μm en placentas humanas (Ragusa *et al.*, 2021). Estos antecedentes sugieren que las partículas plásticas presentes en la suspensión podrían traspasar tejidos del cuerpo humano, de ahí la importancia de evaluar su toxicidad en diversos modelos de relevancia ambiental como es el caso de *Daphnia magna*, la cual se alimenta a través de filtración, por lo que es capaz de ingerir partículas desde los 200 nm hasta las 80 μm (Sadler *et al.*, 2019). Las nanopartículas presentes en la suspensión son susceptibles de ser ingeridas, no obstante, la mortalidad y adaptabilidad de la población de estos organismos dependerá de la concentración efectiva media.

8.3 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LAS MNPS DE PVC EN LOS MODELOS ACUÁTICO Y TERRESTRE

8.3.1 Evaluación de efectos adversos de MNPs de PVC en *D. magna*

8.3.1.1 Evaluación de la toxicidad aguda y crónica de MNPs en el desarrollo poblacional de *D. magna*

La respuesta que el modelo animal *Daphnia magna* tiene hacia concentraciones determinadas de ciertas sustancias, permite medir la toxicidad en relación con el porcentaje de supervivencia de una población sometida a un estresor.

Tomando como base las condiciones dictadas en la Norma Mexicana NMX-AA-087-SCFI-2010, se realizaron pruebas presuntivas por triplicado con neonatos de 24 h de nacidos. Así pues, la EC_{50} estimada a las 48 horas fue de 7 mg/mL, si bien en la literatura se han reportado diferentes valores de CE_{50} para PVC en el modelo *D. magna*, la concentración aquí obtenida, coincide con la reportada por Eltemsah y Bøhn (2019).

Posteriormente, las poblaciones fueron expuestas a concentraciones inferiores a la EC_{50} : 0.20 mg/mL, 0.04 mg/mL y 0.02 mg/mL por un periodo de veinte días con conteo manual y recambio de medio cada tercer día a fin de encontrar una concentración subletal adecuada para el subsecuente ensayo crónico. Los resultados mostraron impactos en la dinámica poblacional de los daphnidos, especialmente a una concentración de 0.04 mg/mL, misma que fue seleccionada para los subsecuentes ensayos crónicos, tanto en *D. magna* como en rata cepa Wistar.

El cuarto objetivo apremia a la evaluación de los efectos tóxicos crónicos de MNPs sobre en los modelos animales, *D. magna* y rata cepa Wistar, mediante biomonitoreo.

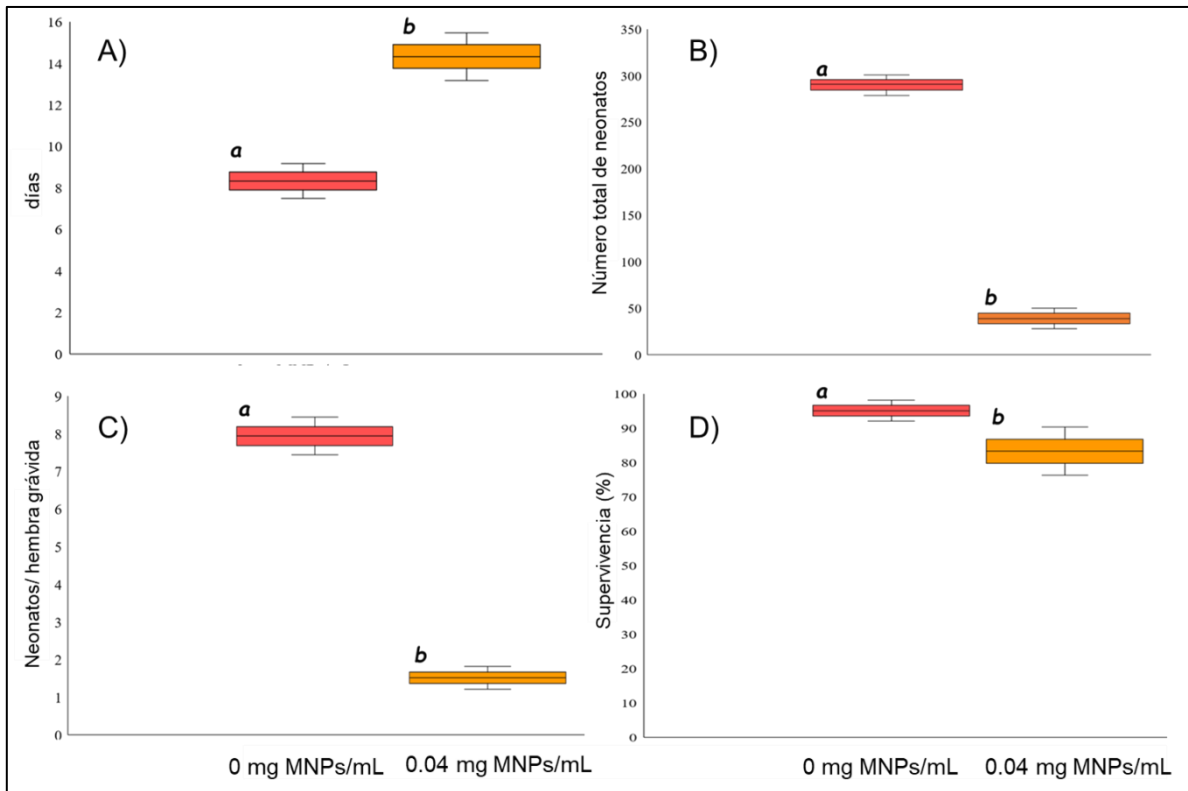


Figura 9. Parámetros de historia de vida de *D. magna* monitoreados durante 21 días. Las cajas de color rojo representan el grupo control y las de color anaranjado el grupo expuesto a 0.04 mg/mL. A) Primera reproducción (días), B) Reproducción Total, C) Fertilidad, D) Supervivencia (%). Los valores son medias \pm desviación estándar. Las distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el caso de *Daphnia*, las pruebas se efectuaron por un periodo de 20 días. La Figura 9 destaca los efectos de MNPs en parámetros de historia de vida. En el caso de la reproducción, se vislumbró un retraso significativo en el primer evento reproductivo ($p < 0.05$) respecto al grupo control; la reproducción total, número total de nacimientos en 20 días, también se vio disminuido en un 86%, ello mismo coincide con la disminución de la fertilidad observada en los ensayos. Así pues, el número promedio de neonatos por hembra grávida a lo largo del estudio también se vio reducido ($p < 0.05$). Estos resultados se equiparan a lo reportado por Zimmerman *et al.* (2020) quienes advierten que micropartículas de PVC inducen alteraciones en la reproducción de daphnidos, lo que disminuye el número de neonatos de 101 a 34 a concentraciones de 100 mg/L y 0 neonatos a una concentración de 500 mg/L.

Los efectos descritos en la reproducción pueden ser confirmados por medio del empleo de biomarcadores, como la actividad enzimática de quitinasa. Lo mencionado como cumplimiento del cuarto objetivo específico del presente trabajo. Así pues, la actividad de esta enzima se relacionó con los eventos reproductivos de una comunidad de daphnidos a partir del proceso de muda. Los resultados se observan en la Figura 10, como 4-nitrofenol liberado del sustrato (μmol) durante la reacción por proteína (mg) por tiempo (50 min).

La tendencia en el comportamiento del biomarcador deja ver su relación con los eventos reproductivos a los 10, 15 y 20 días, principalmente en el grupo control cuyos aumentos en la actividad de quitinasa coinciden con aumentos en el número de neonatos liberados. Análogamente, se distinguen afecciones en la actividad reproductiva del grupo expuesto a MNPs, que coinciden con lo descrito en el análisis población, por tanto, se aprecia una disminución significativa respecto al control en la actividad enzimática.

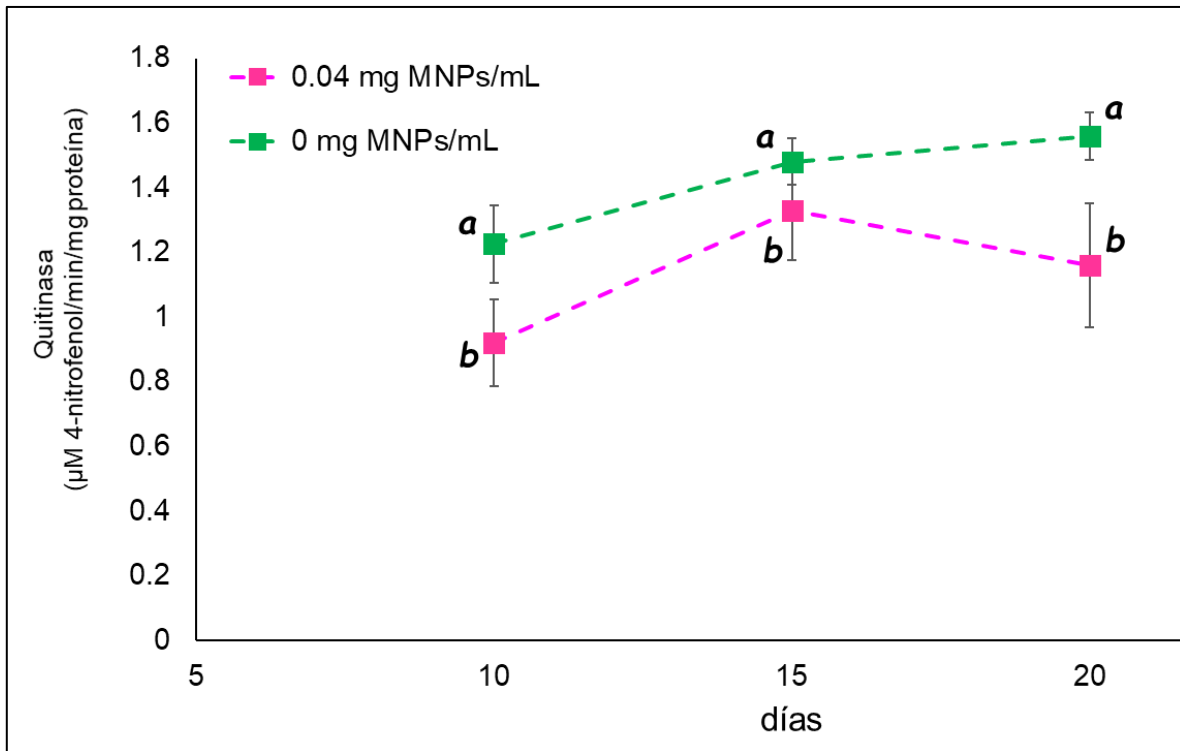


Figura 10. Comportamiento de la actividad enzimática de quitinasa. Las letras representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Esta disminución respecto al grupo control pueden deberse a una disminución energética general, puesto que, la exposición a microplásticos, afecta el comportamiento alimenticio de *Daphnia*, dado que estos no pueden distinguir microplásticos de tamaño similar al de su alimento (Pan *et al.*, 2022); esto mismo reduce el almacenamiento de energía de carbohidratos y proteínas, lo que compromete el balance energético, de tal que, los procesos reproductivos y de crecimiento, se ven mermados en pos del consumo de energía destinada a la supervivencia (Zhang *et al.*, 2023).

De lo anterior, se reconoce que los MNPs impactan en el proceso de muda de *D. magna*, lo que hace de la actividad enzimática de quitinasa un buen biomarcador de respuesta ante tales estresores.

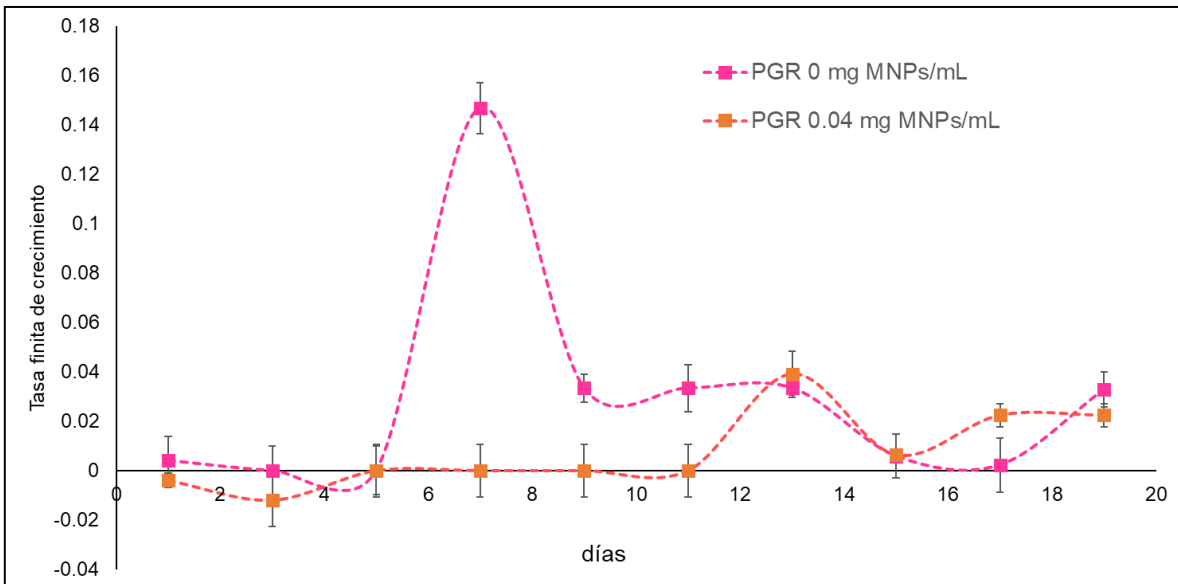


Figura 11. Tasa finita de crecimiento poblacional de *D.magna* dependiente de la concentración de MNPs después 20 días de observación.

De igual forma, se atisba una disminución en la supervivencia de la población, alrededor del 13%, respecto al control ($p < 0.05$). Estos resultados se ven respaldados por el comportamiento de la tasa finita de crecimiento poblacional (PGR), la cual presenta valores negativos al inicio del estudio ($p < 0.05$), debido a que la tasa de mortalidad excedió la tasa de natalidad, Figura 11. Lo anterior es comparable con el caso de estudio presentado por Martins y Guilhermino, (2018), donde *Daphnias* adultas fueron expuestas a MPs y presentaron muertes tempranas a los cuatro días de prueba, lo que más adelante conllevó a la extinción total de la población.

8.3.1.2 Evaluación de alteraciones sobre parámetros fisiológicos en *D. magna*: Ritmo cardiaco y torácico

Continuando con el cumplimiento del cuarto objetivo, se evaluó la tendencia del ritmo cardiaco y torácico en daphnidos expuestos a las MNPs de PVC a los 10, 15 y 20, más un grupo control; los individuos fueron seleccionados al azar. Tal comportamiento es apreciable en las Figura 12 y 13 respectivamente.

Durante un minuto, se registraron los datos correspondientes al ritmo cardiaco y movimientos de garra torácica, en el grupo control y en individuos del grupo expuesto a MNPs durante 10, 15 y 20 días, basándose en la metodología propuesta por Bownik, 2017.

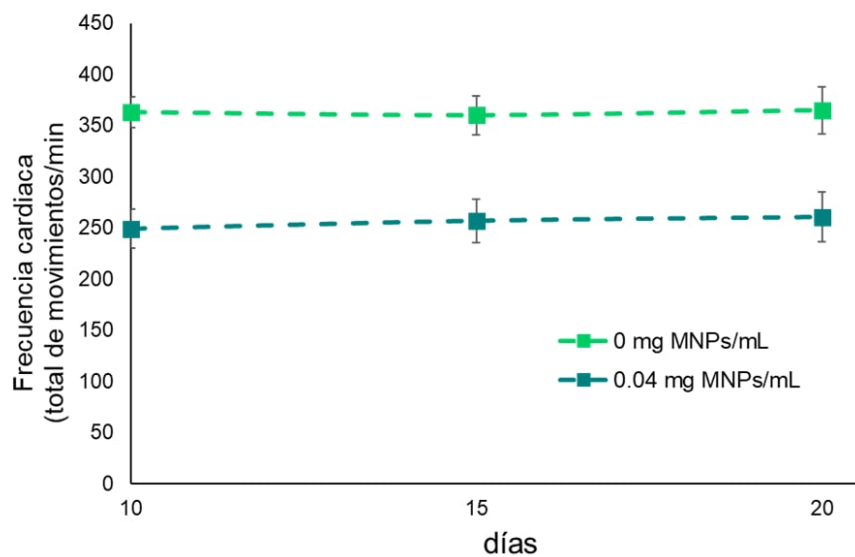


Figura 12. Ritmo cardiaco registrado para los grupos experimental y control, a los 10, 15 y 20 días.

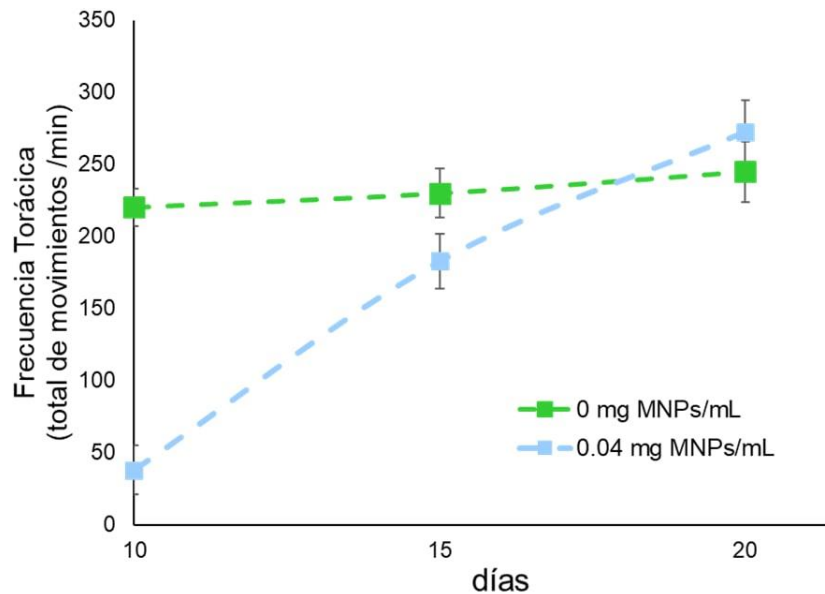


Figura 13. Movimientos de garra torácica registrados para los grupos experimental y control, a los 10, 15 y 20 días.

Los parámetros fisiológicos del grupo expuesto durante 10 días varían visiblemente con los del grupo control. Observando que los MNPs de PVC provocaron una disminución tanto del ritmo cardiaco de un 82.4%, como del movimiento de apéndice torácico en un 29.7%. Los datos registrados para la exposición a 10 días presentaron una diferencia promedio de 173.2 latidos para ritmo cardiaco y 107.8 movimientos de garra torácica para frecuencia torácica.

En el trabajo de Xu *et al.*, (2020) se reportó disminución en el ritmo cardiaco y movimiento de garra torácica en *D.magna* al ser expuesta a NPs de poliestireno en una concentración de 50 mg/L. Esta concentración es mayor que la presentada en este estudio (40 mg/L), evidenciando el efecto negativo que los MNPs de PVC pueden tener sobre el modelo animal acuático; cabe señalar que el tipo de polímero del que está compuesto un MP o NP es un factor de toxicidad que puede determinar el grado de daño en individuos expuestos (Kögel, 2019).

A los 15 días de exposición se aprecia una disminución del 18.32% en el ritmo cardiaco de los individuos en el grupo expuesto, en comparación con el grupo control, y un aumento en los movimientos de garra torácica en un 31.46%.

El incremento del ritmo cardíaco en *Daphnia magna* está relacionado con consumo de energía, por lo tanto, activación de los metabolismos implicados y una señal de estrés en el individuo. Además, cambio en el ritmo del apéndice torácico puede ser un indicativo de cambio en el consumo alimenticio, lo que puede afectar el desempeño energético (Rosenkranz 2010), como se apreció en los resultados de 20 días de exposición.

A los 20 días el ritmo cardíaco del grupo expuesto aumenta un 20.7% más que el control, mientras que el movimiento de garra torácica disminuye en un 27.5% en comparación al control.

Las afectaciones observadas en los sujetos de estudio indican efectos adversos en la salud de los individuos. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Wang *et al.*, (2022) quienes identificaron que la exposición a MPs reduce de manera significativa el ritmo cardíaco, así como la supervivencia. Así mismo, demostraron que los MPs se acumulan en el intestino de *D.magna*.

8.3.1.3 Modelación matemática de la dinámica poblacional de *D.*

magna

En un inicio para modelar el comportamiento del crecimiento poblacional en *Daphnia magna*, tanto del grupo expuesto como del grupo control, se consideró la función Gompertz. La cual es una ecuación que describe la evolución temporal de la población de una especie, basada en un crecimiento logístico. Este enfoque es comúnmente utilizado cuando se asume que el crecimiento de la población está limitado por factores ambientales, como capacidad de carga (Dawed, Koya y Goshu, 2014).

Sin embargo, en el caso del comportamiento del grupo expuesto a MNPs se pudo observar una falta de ajuste significativa a la función. Por lo que fue necesario modificar un modelo logístico, compuesto por una curva sigmoideal y parámetros de la función (Ecuación 2) para describir apropiadamente la dinámica poblacional en ambos grupos; a través del software RStudio (Figura 14).

$$y = \frac{A}{(1 + e^{(-Bx+C)})} + D$$

Ecuación 2. Función logística modificada. Donde A representa la capacidad de carga del sistema, B el número de neonatos por hembra grávida, C la pendiente de crecimiento poblacional y D condición inicial de la reproducción.

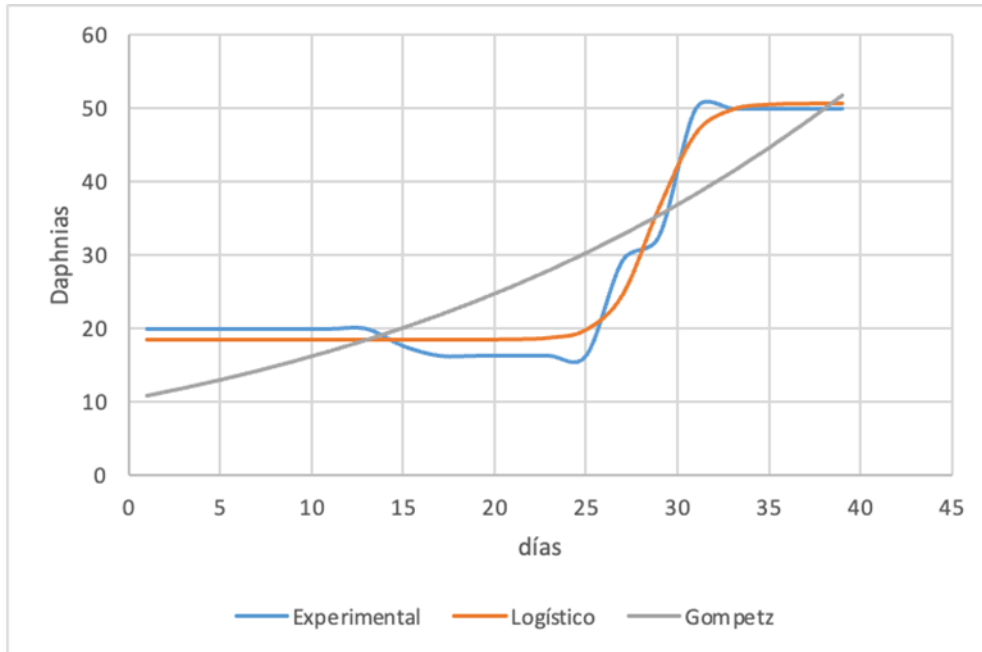


Figura 14. Ajuste de la función logística modificada (Anaranjado), junto con la función de Gompertz (Grisaceo), al comportamiento observado del grupo expuesto (Azulado). Se incrementaron los días teóricos de experimentación de 21 a 40 días para predecir mejor el comportamiento de la curva.

Así mismo, se determinaron los parámetros A, B, C y D a través del método de optimización de los softwares Excel y RStudio. Obteniendo subsecuentemente valores que reflejaron la dinámica poblacional en ambos grupos (Tabla 3).

Tabla 3. Valores obtenidos de la optimización de los parámetros poblacionales de los grupos control y expuesto.

Variable	Control	Expuesto	Definición
A	104.052467	32.1532	Carga del sistema
B	17.3567488	0.8457	Neonatos por hembra
C	173.53439	24.2839	Pendiente
D	28.4457519	18.4949	Condición inicial

De acuerdo con los valores obtenidos en la anterior Tabla 3, el modelo matemático predice que una exposición crónica a MNPs-PVC puede resultar en que el sistema no pueda soportar un número de individuos mayor a 32 daphnidos. A diferencia del grupo control donde el sistema podría conformarse por hasta 104 individuos.

En el caso del parámetro B se reflejó que en el grupo control cada hembra grávida puede tener hasta 17 neonatos durante un periodo de 40 días. Mientras que en el grupo expuesto solo se tendría 1 solo neonato por hembra, lo que concuerda con los parámetros de historia de vida registrado en la Figura 9C y refleja que en un periodo de exposición prolongado la reproducción podría no mejorar.

Los valores resultantes de la optimización evidencian el impacto negativo sobre los parámetros poblacionales puede provocar la exposición crónica a MNPs de PVC, en el modelo acuático *Daphnia magna*.

Los parámetros de error estimado, valor t y P fueron obtenidos, observando que los valores de P fueron menores a 0.05. Lo que los vuelve estadísticamente significativos y denota que el modelo opera con un nivel de confianza del 95% (Tabla 4).

Tabla 4. Datos obtenidos de la modelación del comportamiento del grupo expuesto en el programa RStudio.

Parámetros				
VARIABLES	Estimado	Error Std.	Valor t	Pr(> t)
A	32.1532	1.5497	20.748	5.43e-13 ***
B	0.8457	0.2079	4.068	0.000894 ***
C	24.2839	5.9440	4.085	0.000862 ***
D	18.4949	0.7131	25.935	1.69e-14 ***

Finalmente, el modelo matemático realizó una predicción sobre el número máximo y mínimo de individuos presentes en el grupo expuesto, en un periodo prolongado (40 días), basándose en la capacidad de carga del sistema, como se observa en la Figura 15 y la Tabla 5.

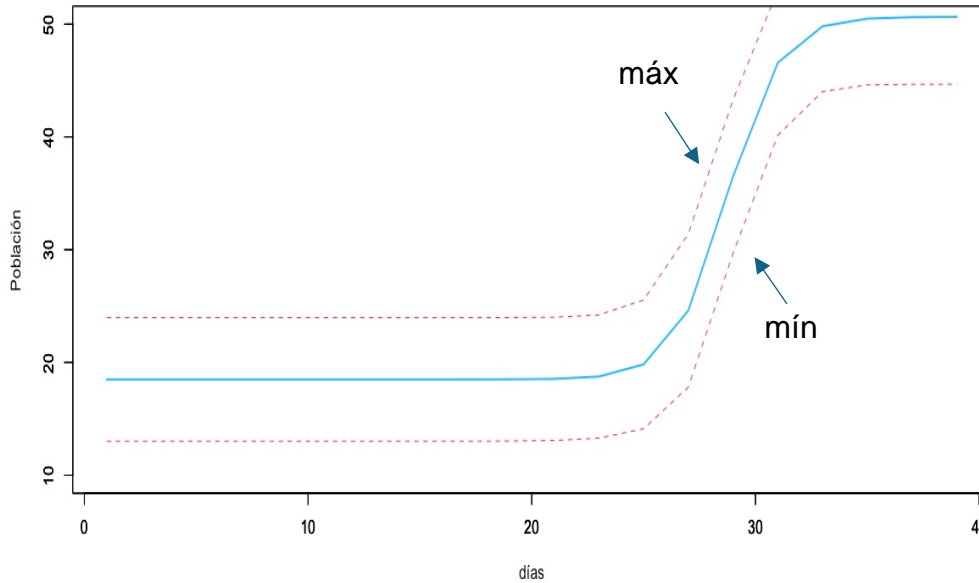


Figura 15. Ajuste de la función logística modificada para el grupo expuesto (azulado) y, valores máximos y mínimos predichos por el modelo matemático.

Tabla 5. Datos obtenidos de la modelación del comportamiento de los datos.

t	ajuste	min	Máx
1	18.49488	13.01738	23.97238
2	18.49488	13.01738	23.97238
3-8	18.49488	13.01738	23.97238
9	18.49648	13.0196	23.97337
10	18.50357	13.02883	23.97832
11	18.542	13.075	24.009
12	18.74895	13.28763	24.21027
13	19.82713	14.11672	25.53754
14	24.60442	17.80961	31.39922
15	36.50317	29.7028	43.30354
16	46.58286	40.15337	53.01236
17	49.81286	44.02491	55.60081
18	50.49083	44.60749	56.37416
19	50.61896	44.66826	56.56967

8.3.1.4 Análisis histológico en *D. magna*

La exposición aguda (48 horas) a microplásticos mostró una alteración ligera en la morfología del intestino medio de *Daphnia magna* (Figura 16. 1a y b, 2a y b), evidenciada por una ligera reducción en el grosor de este tejido en comparación con el grupo control, aunque sin diferencias significativas ($p > 0.05$) (Figura 17). No se observaron signos de que el organismo buscara compensar factores de estrés, típicos frente a la toxicidad, como la secreción de mucosidad o la renovación celular de enterocitos. La ausencia de secreción de mucus podría implicar una incapacidad de los tejidos para activar mecanismos protectores que minimicen el daño causado (Song *et al.*, 2024). Asimismo, la falta de multiplicación de los enterocitos sugiere una limitada respuesta regenerativa del epitelio intestinal, en este periodo de exposición aguda, lo cual podría comprometer la funcionalidad del intestino en exposiciones crónicas (Choi y Augenlicht, 2024).

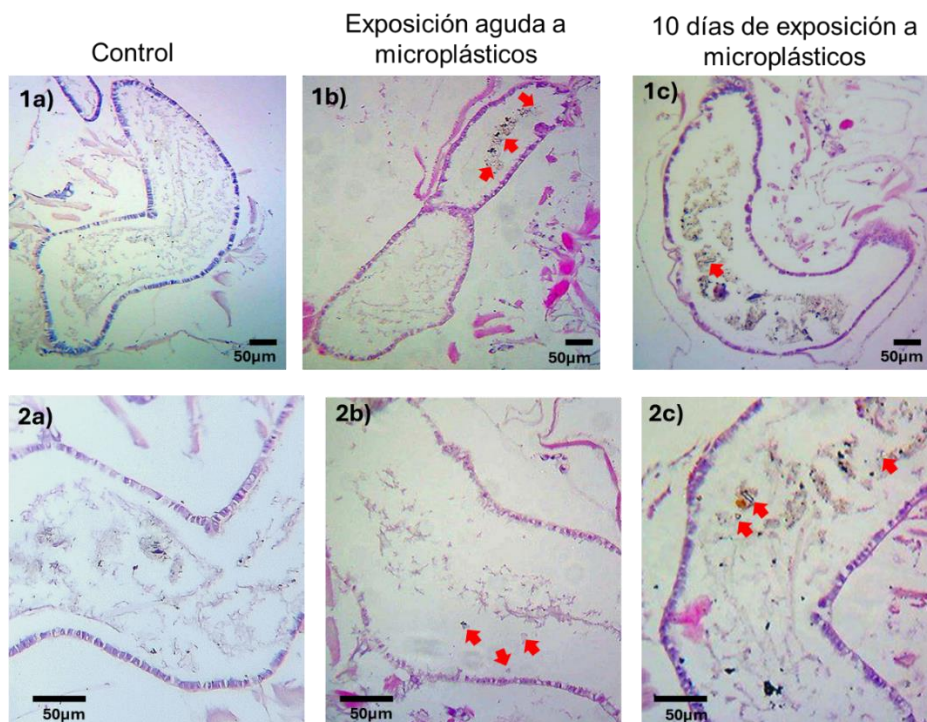


Figura 16. Cortes histológicos del intestino medio de *D. magna* expuestos a microplásticos. 1a) Intestino de grupo control observado a 10x. 1b) Grupo de exposición aguda a MNPs, intestino a 10x. 1c) Grupo expuesto durante 10 días a MNPs, intestino a 10x. 2a) Intestino de grupo control a 40x. 2b) Grupo de exposición aguda a MNPs, intestino a 40x. 2c) Grupo

expuesto durante 10 días de exposición a microplásticos, intestino a 40x. Las flechas rojas indican microplásticos.

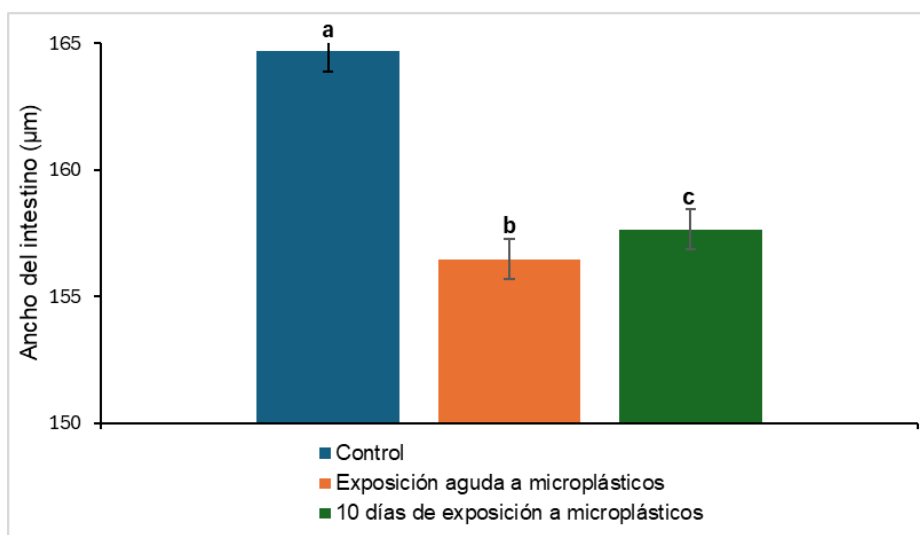


Figura 17. Medidas que correspondientes al grosor (μm) de intestino medio de *D. magna*, en grupos control, expuesto a toxicidad aguda y crónica de MNPs. Diferencias significativas señaladas por letras (Anova $P > 0.05$).

La exposición aguda y crónica a MNPs en *Daphnia magna* ocasionó modificaciones en la morfología del intestino medio. En la Figura 18, se observa una reducción marcada en el grosor de la pared intestinal tras la exposición aguda, con una disminución acentuada después de 10 días de exposición crónica ($p < 0.05$). Estos cambios podrían reflejar un adelgazamiento en el tejido intestinal, debido al estrés causado por exposición a MNPs.

En la Figura 19, se observó una reducción significativa en la longitud de las microvellosidades intestinales en el grupo expuesto durante 24 horas, en comparación con el control ($p < 0.05$). Se ha reportado, que organismos tratados con microplásticos experimentan necrosis celular, con la consecuente pérdida de microvellosidades y desintegración completa de uniones estrechas (Shaoyong *et al.*, 2024).

Sin embargo, tras 10 días de exposición, la longitud de las microvellosidades se recuperó parcialmente, alcanzando valores similares a los del grupo control. Este

hallazgo sugiere una posible respuesta adaptativa del epitelio intestinal a la exposición prolongada (Gambino *et al.*, 2020). A pesar de estas alteraciones estructurales (Figura 20), los enterocitos conservaron su morfología típica cuboidea a lo largo de todas las condiciones experimentales, lo que indica que, aunque la funcionalidad del epitelio puede estar comprometida, no se observó una pérdida significativa de integridad celular.

En conjunto, los datos reflejan el impacto de la toxicidad por microplásticos, especialmente en la arquitectura de las microvellosidades, cuya reducción podría afectar la capacidad de absorción de nutrientes y la homeostasis intestinal de *D. magna* (Gambino *et al.*, 2020).

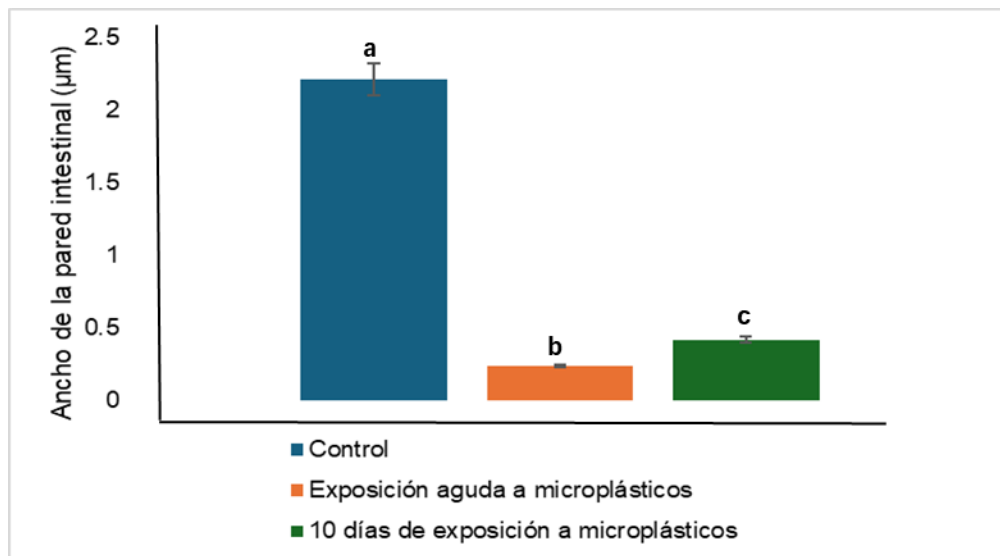


Figura 18. Grosor de pared intestinal de *D. magna* expuesta a toxicidad aguda y crónica de MNPs. Diferencias significativas señaladas por letras (Anova $P < 0.05$).

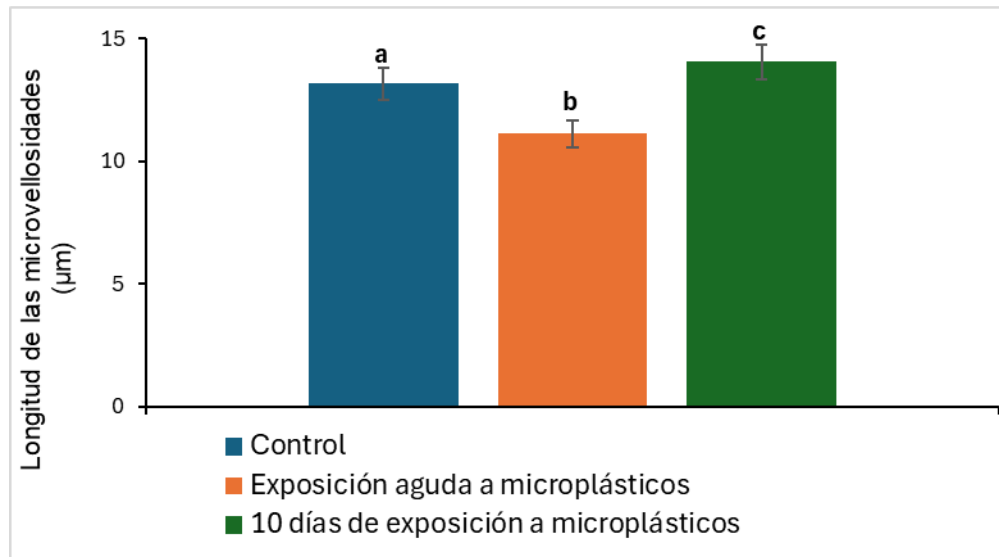


Figura 19. Longitud (μm) de las microvellosidades de la pared intestinal de *D. magna* expuesta a toxicidad aguda y crónica de MNPs. Diferencias significativas señaladas por letras (Anova $P < 0.05$).



Figura 20. Cambios histológicos en la pared intestinal de *D. magna* expuestos a microplásticos. a) Intestino del control visto a 100x. b) Exposición aguda a microplásticos, intestino visto a 100x. c) 10 días de exposición a microplásticos, intestino visto a 100x. Las flechas moradas indican las microvellosidades.

8.3.1.5 Alteraciones del perfil metabolómico inducidas por la presencia de MNPs de PVC en *D. magna*

Un grupo correspondiente al control y otro correspondiendo a individuos expuestos a MNPs fueron recolectados, donde en cada grupo se tenían cuarenta *Daphnidos* de 10 días de edad. Los individuos fueron lavados con solución isotónica Hartmann, seguido de esto se retiró toda el agua y se agregaron 200 μL de una mezcla de

agua isotónica con sal sódica de ácido-d4 de 3- (trimetilsilil)propiónico (TSP). El tejido fue homogeneizado durante 2 minutos y posteriormente, el homogenado fue centrifugado a 12,000 rpm por 10 min a 4 °C. Se recolectaron 200 µL del sobrenadante y junto con 250 µL de Buffer de fosfatos se transfirieron a un tubo RMN de 5 mm (Deng, *et al.*, 2020).

Las muestras fueron analizadas en un equipo Bruker AV500 (Bruker Co., Germany) a 298 K, obteniendo espectros de ^1H -NMR.

En total fueron detectados once metabolitos, de los cuales ocho se consideraron representativos para el grupo control y siete para el grupo expuesto (ANEXO 2).

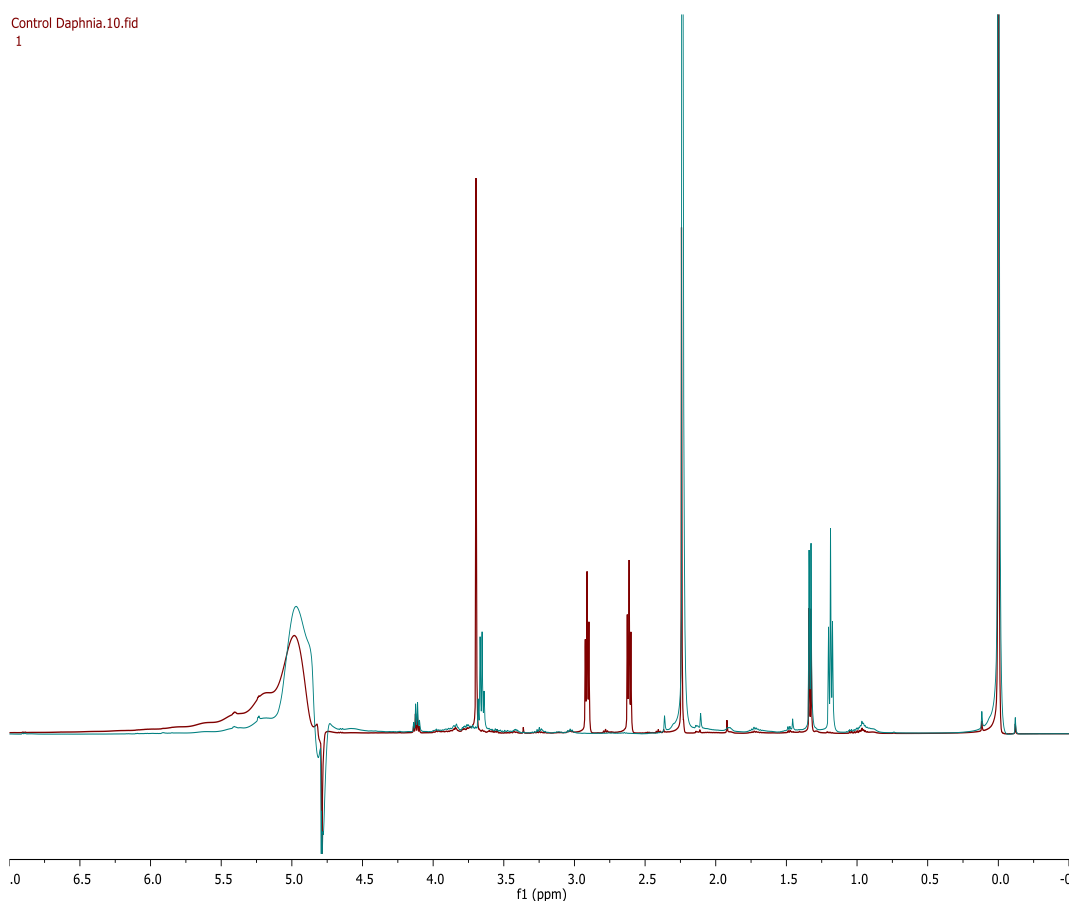


Figura 21. Perfiles metabolómicos detectado en *D.magna*, *ex vivo*, RMN ^1H (500 MHz). El espectro de color rojo representa los metabolitos detectados para el grupo control, mientras que el espectro de color azulado representa los metabolitos en el grupo expuesto a MNPs.

Basándose en los resultados contemplados en la Figura 21, a continuación, se profundizará en los resultados que se consideraron de interés para la investigación.

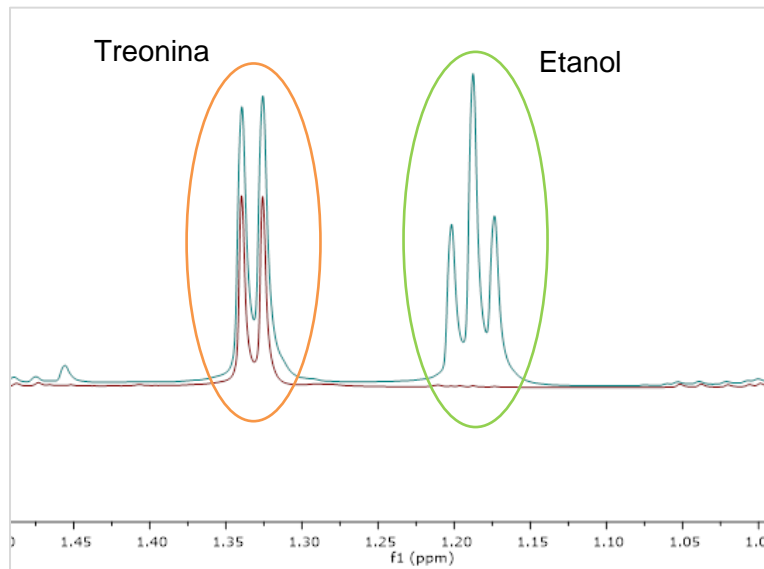


Figura 22. Señales detectadas para treonina (señalado con anaranjado), en los grupos control (rojo) y expuesto (azulado), en un desplazamiento químico de 1.33 ppm. Y una señal correspondiente a etanol (señalado con verde), en 1.18 ppm, para el grupo expuesto (BMRB, 2016).

En la anterior figura 22, se observa que la señal correspondiente al grupo expuesto (roja) fue detectada con mayor intensidad que la del grupo control (azulada). Esto se debe a que la treonina se encontraba en una mayor cantidad en el homogenado del grupo expuesto.

La treonina es un aminoácido indispensable para el organismo, tiene efectos mediáticos vitales en la síntesis proteica, metabolismo energético y absorción de nutrientes. Así mismo se le ha asociado como un promotor del crecimiento, salud intestinal y sistema inmune (Canfield y Bradshaw, 2019).

Cuando el tracto intestinal se encuentra inflamado, la treonina ayuda a regular la diferenciación celular del sistema inmune, por lo que un exceso de este aminoácido como se contempla en los resultados puede reducir el área de las microvellosidades intestinales e incrementar el rango de apoptosis en células del epitelio intestinal

(Tang, *et al.*, 2021). Los resultados podrían indicar que tanto la salud intestinal como el metabolismo energético podrían verse comprometidos.

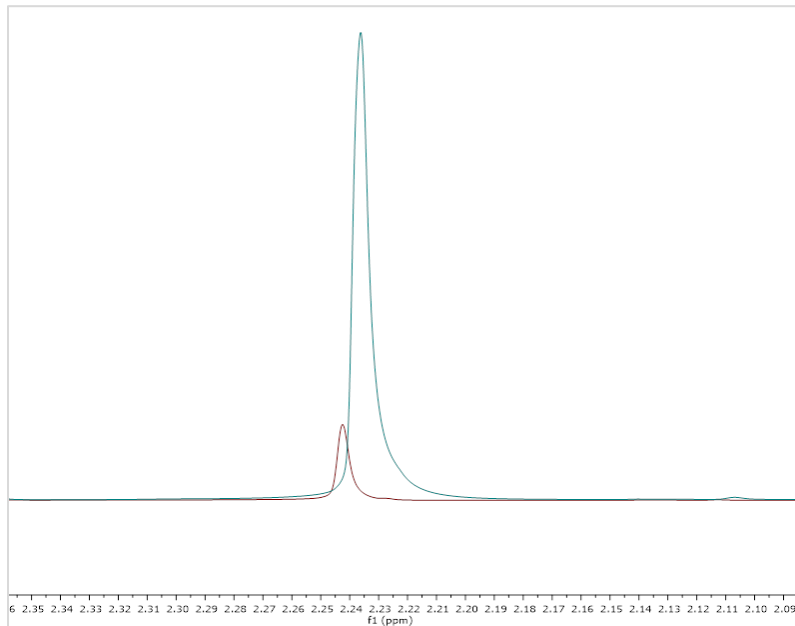


Figura 23. Señales detectadas para ácido glutámico, en los grupos control (rojo) y expuesto (azulado), en un desplazamiento químico de 2.2 ppm (BMRB, 2016).

Como se contempla en la Figura 23, se detectaron señales asignadas al ácido glutámico, en un desplazamiento químico de 2.2 ppm, tanto para el grupo control como el expuesto a MNPs. No obstante, se observa que la señal detectada en el grupo expuesto tiene mayor intensidad que la del control.

El ácido glutámico es un aminoácido excitador principal del sistema nervioso, se le ha señalado como biomarcador metabólico de enfermedades cardiacas. Por lo que, tomando en cuenta los parámetros fisiológicos registrados a los 10 días de exposición, podría relacionarse la intensidad de la señal del ácido glutámico con la disminución del ritmo cardiaco registrado, evidenciando las afectaciones al bienestar del individuo.

Se ha identificado como el inhibidor más potente de la síntesis de glutatión, por lo que glutamato circulante puede alterar la estabilidad redox de células y tejidos

(Vaarhorst, *et al.*, 2014). Dado lo anterior la alta intensidad de la señal de ácido glutámico también, podría considerarse como un biomarcador de posibles daños en el tejido de las paredes celulares.

Se ha reportado que en *Daphnia pulex*, receptores de glutamato como el NMRD (receptor N-metil-D-aspartato) son capaces de unir glutamato para ejercer su efecto en el sistema nervioso. Están involucrados en comportamientos complejos como memoria y aprendizaje, en la función reproductiva y la transducción sensorial ante el estímulo del medio ambiente de invertebrados (Camp, *et al.*, 2020).

Como se puede observar en la Figura 22, también se detectó la presencia de etanol en el homogenado correspondiente al grupo expuesto. NMRD también es capaz de unir etanol, actuando como un modulador inhibitorio de su función, lo que podría explicar su importante presencia en el homogenado de daphnidos tratados previamente con MNPs. Así también, la presencia destacada de glutamato se podría relacionar con la posible activación excesiva de estos canales, lo que podría involucrar la activación de la degradación neuronal, ya que este receptor es un fuerte candidato como sensor neuronal en la regulación de procesos endócrinos (Traynelis, *et al.*, 2010; Wirkner, *et al.*, 1999; Wirkner, *et al.*, 2000; Woodward, 1999).

La RMN para el estudio de la ecotoxicogenómica en *D.magna* se ha mostrado como una herramienta útil para la visualización y análisis de las afectaciones que la exposición a MNPs puede causar, ampliando el panorama sobre los potenciales mecanismos de afectaciones toxicológicas.

8.3.2 Evaluación de efectos adversos de MNPs de PVC en *Rattus norvegicus* cepa Wistar

8.3.2.1 Efecto en el peso de ratas cepa Wistar ocasionados por la exposición a MNPs de PVC

Los individuos fueron divididos en dos grupos, tratamiento (0.04 mg MNPs/mL) y control (0 mg MNPs/mL) dispuestos en 3 contenedores, a fin de evitar factores por demás estresantes en los organismos. La exposición se prolongó por un periodo de

7 días, los individuos fueron pesados y observados diariamente. En la Figura 24, se observan diferencias entre los pesos registrados para ambos grupos.

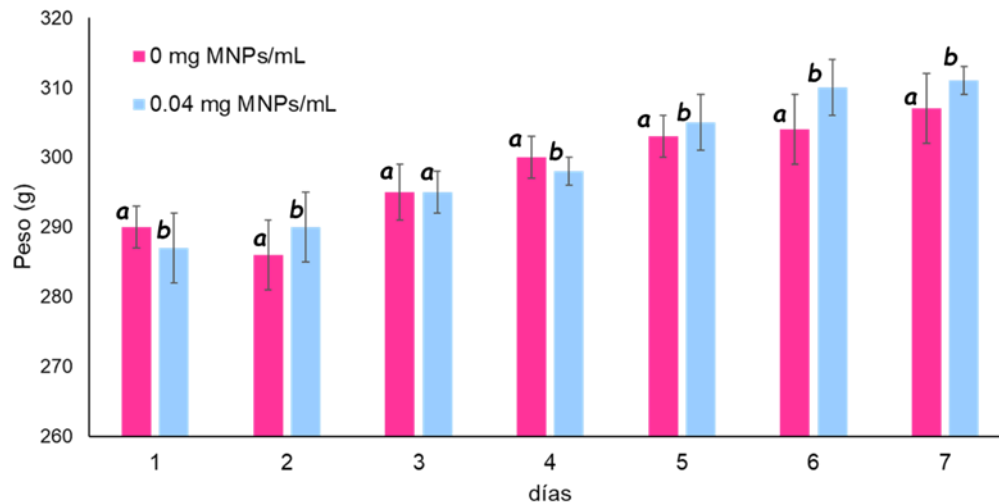


Figura 24. Peso de ratas expuestas a MNPs por un periodo de 7 días. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Se aprecian diferencias significativas respecto al control ($p < 0.05$), a excepción del tercer día. Estudios similares, con exposición crónica de MNPs en modelos como rata Wistar o *Mus musculus*, han reportado pérdidas de peso para los organismos expuestos; no obstante, la exposición prolongada, ocasionó disminuciones mínimas respecto al grupo control en los días 1 y 4 (Figura 24) (Deng, *et al.*, 2014; Lu, *et al.*, 2018; Jin, 2021).

Se sugiere que los MNPs pudieron ocasionar trastornos metabólicos, dado que estos tienden a depositarse en la mucosa intestinal, lo que resultaría en alteraciones en la absorción de nutrientes y posible acumulación de grasas (Okamura, *et al.*, 2023). Ello explicaría los ligeros aumentos de peso (aproximadamente 3%) en individuos expuestos a MNPs.

8.3.2.2 Evaluación de alteraciones inducidas por la presencia de MNPs de PVC en rata Wistar, mediante tomografía computarizada y RMN

Se obtuvieron imágenes tomográficas del tejido cerebral de rata Wistar, tanto de individuos del grupo control como del grupo expuesto. En los individuos correspondientes al grupo expuesto a microplásticos se contemplaron regiones con calcificaciones cerebrales (Figura 25B).

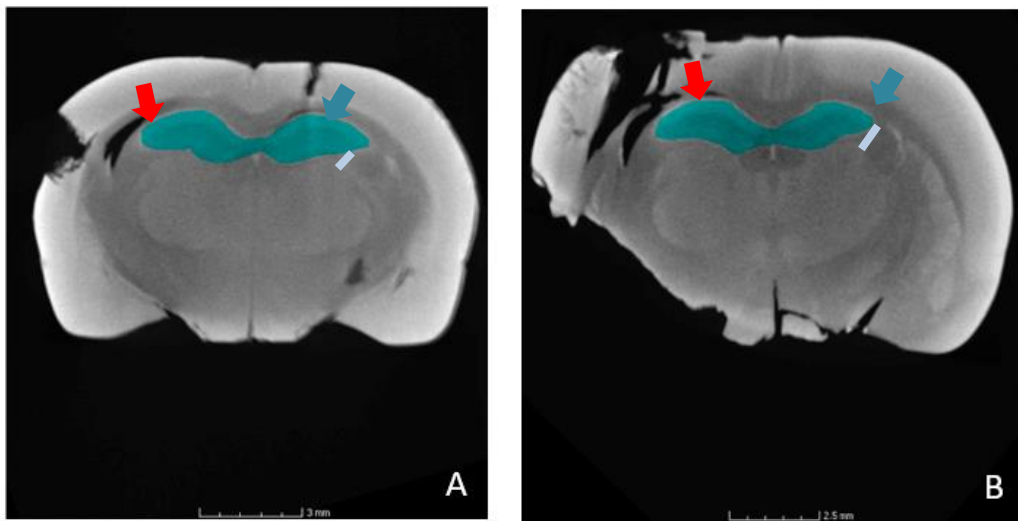


Figura 25. Tomografía de la sección coronal próxima al lóbulo frontal de cerebro de ratas Winstar. A) Grupo control. B) Exposición crónica de 10 días con MNPs. La flecha roja representa el hipocampo izquierdo, la flecha morada el hipocampo derecho y región en azul la separación entre el hipocampo y los cuerpos mamilares.

Aunque no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en la separación entre hipocampo y cuerpos mamilares (Figuras 25 A y B), se detectó la reducción en el área del hipocampo. Por lo que, el área superficial del hipocampo en ambos hemisferios fue medida con ayuda del software ImageJ, y se compararon las mediciones para ambos grupos (Figura 26).

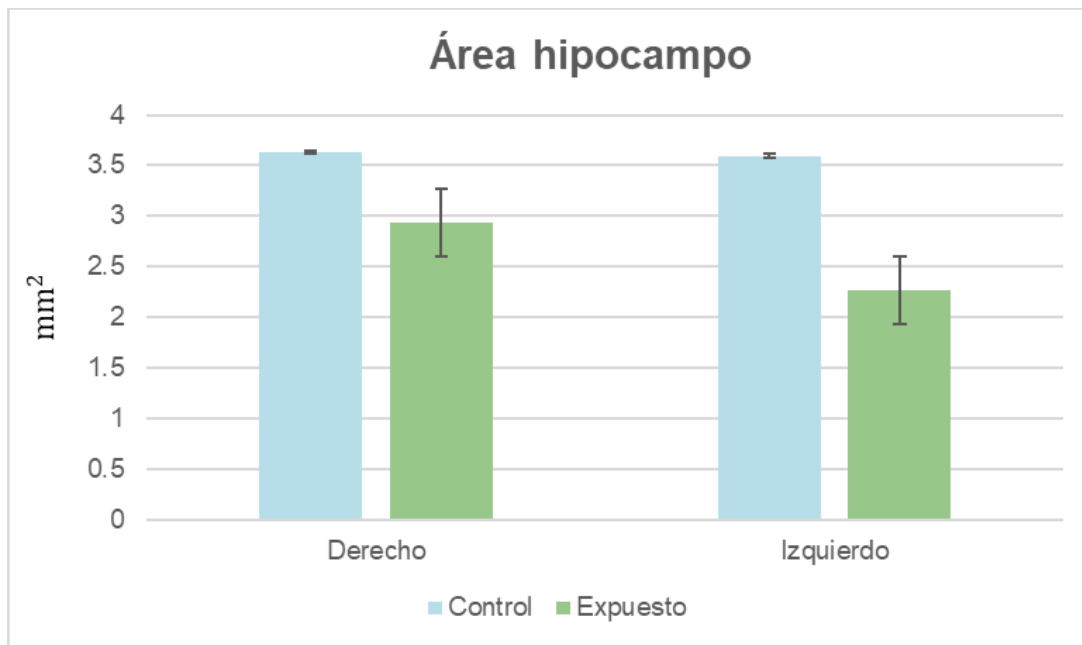


Figura 26. Gráfica comparativa, entre los grupos control y expuesto, de la medición del hipocampo en los hemisferios derecho e izquierdo del cerebro.

Se observó que en promedio el área medida del hipocampo se redujo un 19.12% en el hemisferio derecho y 36.88% en el izquierdo.

De acuerdo con la información recopilada por Zurub *et al.* (2024), se sugiere que la exposición a microplásticos puede afectar el área del hipocampo, especialmente durante las primeras etapas de desarrollo. Se puede provocar una disminución de la proliferación neuronal en el hipocampo y una neurogénesis alterada.

En modelos que involucran exposición gestacional, la descendencia exhibió recuentos reducidos de células madre neurales y anomalías estructurales en el hipocampo, lo que indica una posible contracción o retraso en el desarrollo de esta región del cerebro. Estos cambios en el hipocampo estaban relacionados con déficits cognitivos, que afectan notablemente a la memoria y los procesos de aprendizaje, funciones que dependen en gran medida de la salud del hipocampo.

Previamente se ha mencionado en la literatura que la exposición de ratones a MNPs de Poliestireno (PS) indicó causar una neurodegeneración primaria similar al Parkinson. “Las respuestas observadas en varias células del cerebro se asociaron

principalmente a un desorden en el metabolismo energético y una disfunción de la mitocondria en células cerebrales, acompañado de una turbulencia inflamatoria” (Liang, *et al.* 2022).

Este hallazgo fue complementado con un análisis de espectroscopía por resonancia magnética nuclear de metabolómica (RMN), como se observa en la Figura 27.

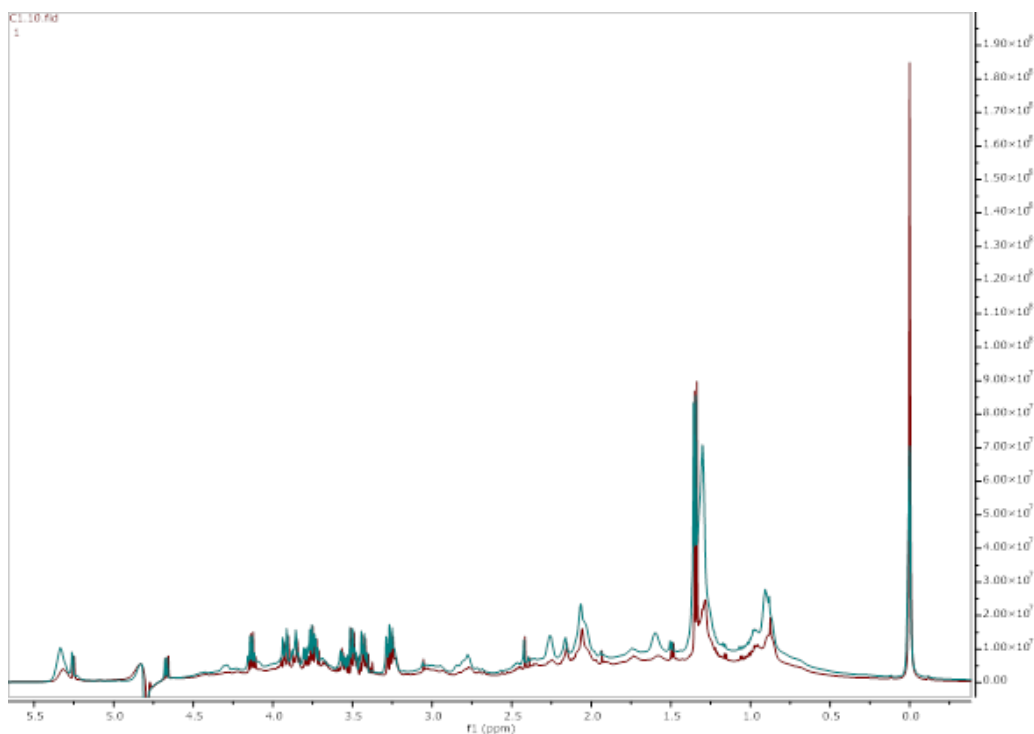


Figura 27. Perfiles metabolómicos detectado en rata Wistar, RMN ^1H (500 MHz). El espectro de color rojo representa los metabolitos detectados para el grupo control, mientras que el espectro de color azulado representa los metabolitos en el grupo expuesto a MNPs.

Del ensayo, fueron detectados un total 20 metabolitos representativos para el grupo control y 14 para el grupo expuesto a MNPs (ANEXO 3). En el que se resalta la ausencia de succinato, glutamina, creatina, asparagina, fosfocreatina y lactato, que son indicadores de posibles afectaciones al sistema inmune y el metabolismo energético (Figuras 28 y 29).

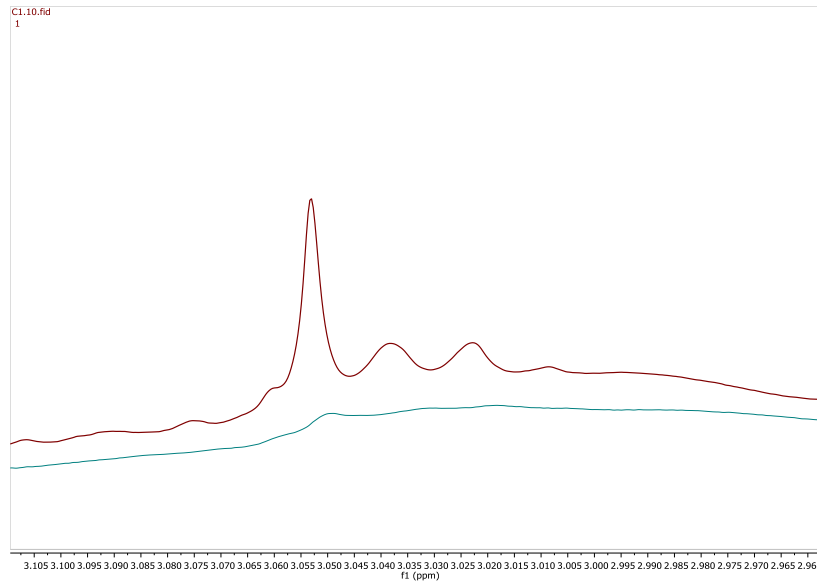


Figura 28. Señales detectadas para creatina, en los grupos control (rojo) y expuesto (azulado), en un desplazamiento químico de 3.04 ppm (BMRB, 2016).

La deficiencia de creatina es un indicador de alteraciones al tejido óseo, favoreciendo la translocación de calcio desde los huesos hacia el cerebro, lo que explica la presencia de las calcificaciones observadas (Liu *et al.*, 2023). Estos resultados sugieren que la exposición prolongada a microplásticos podría inducir cambios metabólicos significativos, comprometiendo tanto la homeostasis ósea como la función cerebral, con la consiguiente acumulación anormal de calcio en el sistema nervioso central.

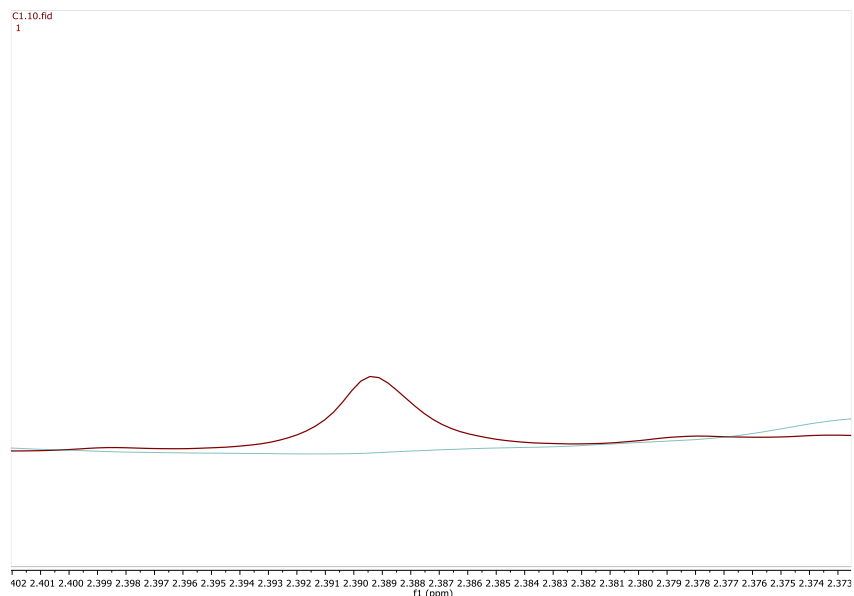


Figura 29. Señales detectadas para ácido glutámico, en los grupos control (rojo) y expuesto (azulado), en un desplazamiento químico de 2.39 ppm (BMRB, 2016).

La escasez de metabolitos, como creatina, succinato y lactato, es indicador de afecciones en la producción de energía (ATP) vital para que las proteínas realicen distintas funciones importantes en el organismo. Indica, además, una alteración en el metabolismo de aminoácidos, síntesis de proteínas, deficiencias energéticas y en la incapacidad de manejar un estrés metabólico. Lo anterior conlleva un inadecuado funcionamiento del sistema inmune, desarrollo de problemas neurológicos, desequilibrio en el metabolismo intestinal, leucemia, fallo hepático y, en el caso de la ausencia de glutamina, posible desarrollo de células cancerígenas. (Sharon et al. 2014).

Las evidencias presentadas de estrés metabólico y daños en el tejido cerebral demuestran que la exposición a MNPs de PVC en el modelo animal Rata Wistar puede acarrear graves consecuencias para la salud de los individuos.

8.3.2.3 Daño histológico de MNPs de PVC en rata cepa Wistar

Respecto al análisis del estómago de rata, en los cortes histológicos presentados, se observan diferencias en la morfología del estómago entre los grupos control y los expuestos a microplásticos durante 10 días.

En el grupo control (Figura 30A), las capas que conforman la estructura gástrica (mucosa, submucosa y muscular) se encuentran intactas y con una morfología característica. Además, se visualizan eritrocitos dentro de los vasos sanguíneos, lo que evidencia una vascularización normal.

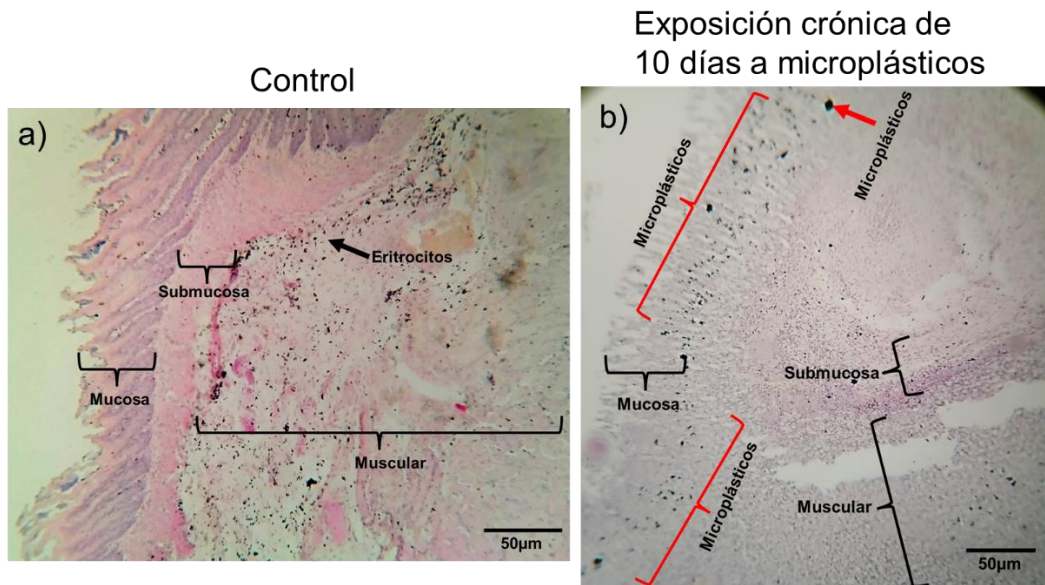


Figura 30. Representación de cortes histológicos del estómago de rata. a) Corte histológico del estómago de rata control, donde se visualizan las capas que conforman el órgano. La flecha negra señala la presencia de eritrocitos. b) Corte histológico del estómago de rata expuesto durante 10 días a microplásticos, mostrando las capas que conforman el estómago. Las señales rojas indican la presencia de microplásticos.

Por otro lado, en el estómago de ratas Wistar expuestas a MNPs (Figura 30B), se identificó la presencia de estos, distribuidos en todas las capas del tejido. Este hallazgo sugiere que los microplásticos pueden atravesar las barreras gástricas y penetrar profundamente en la estructura del órgano (Zhu *et al.*, 2023).

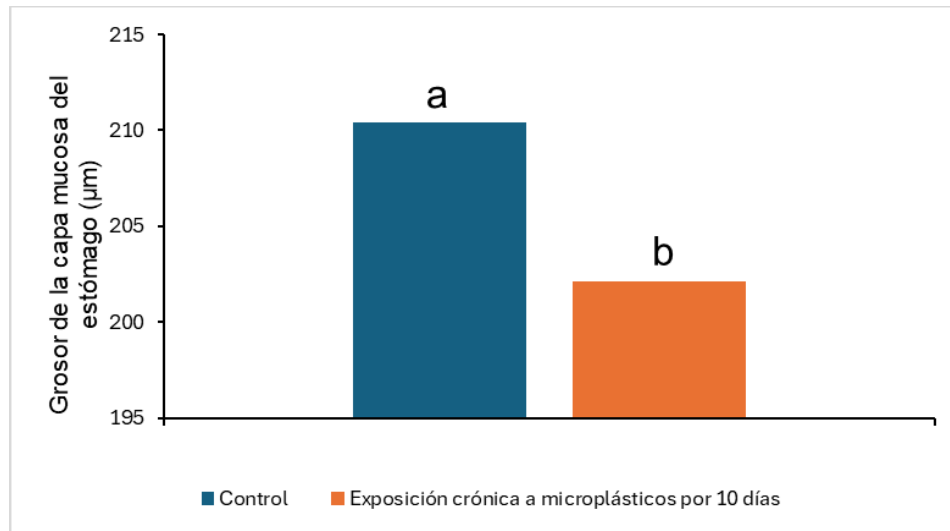


Figura 31. Grosor promedio de la capa mucosa del estómago (μm) en ratas cepa Wistar control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias significativas señaladas por letras (t de student $P > 0.05$).

Además, se observa una pequeña reducción en la anchura de la capa mucosa (Figura 31) (aunque sin diferencias significativas $P > 0.05$), que constituye la principal barrera protectora del estómago frente a agentes externos y que desempeña un papel crucial en la secreción de mucus y enzimas digestivas (Herath *et al.*, 2020). La capa muscular aumentó de tamaño ante la presencia de microplásticos, pero no significativamente (Figura 32).

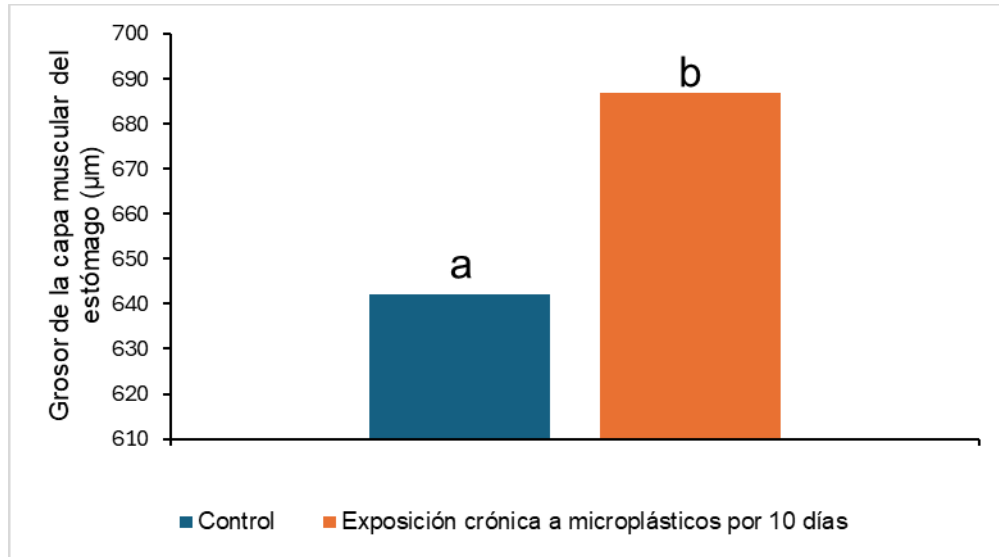


Figura 32. Grosor promedio de la capa muscular del estómago (µm) en ratas cepa Wistar control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias significativas señaladas por letras (Mann-Whitney $P > 0.05$).

Así mismo, se redujo significativamente la anchura de la capa submucosa ($p < 0.05$) (Figura 33). Esta disminución puede ser indicativa de un proceso de desgaste o daño asociado.

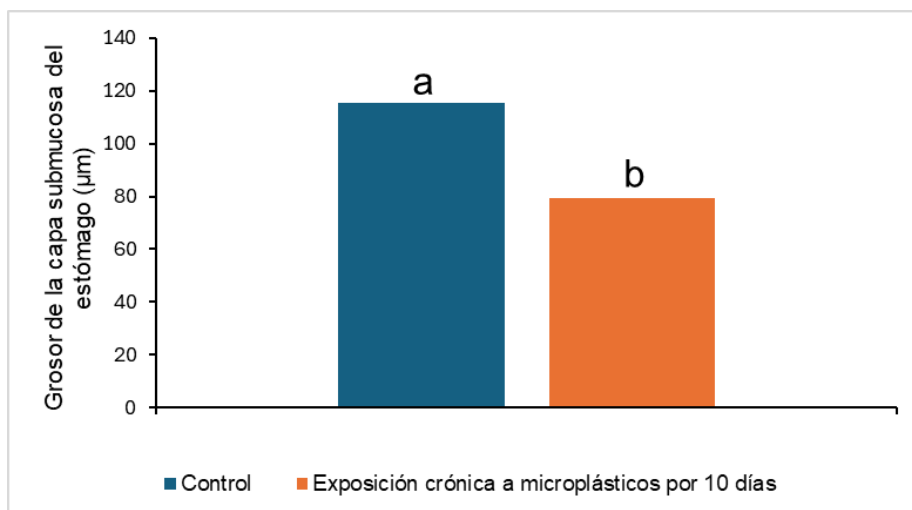


Figura 33. Grosor promedio de la capa submucosa del estómago (µm) en ratas control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias significativas señaladas por letras (t de student $P < 0.05$).

Es posible la generación de implicaciones graves para la función gástrica, como una menor capacidad de defensa (Hagen, 2021), una alteración en la secreción y función de enzimas digestivas (Tan *et al.*, 2020), así como posibles respuestas inflamatorias crónicas (Wallace, 2008). Incluso, se ha reportado que los microplásticos podrían predisponer al tejido a lesiones, como úlceras, y a disfunciones en el proceso digestivo a largo plazo (Tong *et al.*, 2022).

Sobre los efectos de la exposición a microplásticos en la morfología del intestino grueso de rata, el análisis revela diferencias importantes. En el grupo control (Figura 34A), las capas que conforman el intestino (mucosa, submucosa y muscular) muestran una estructura organizada y bien definida, con enterocitos intactos, sin evidencias de alteraciones en la integridad tisular. La presencia de eritrocitos indica al igual que en estomago la microcirculación activa.

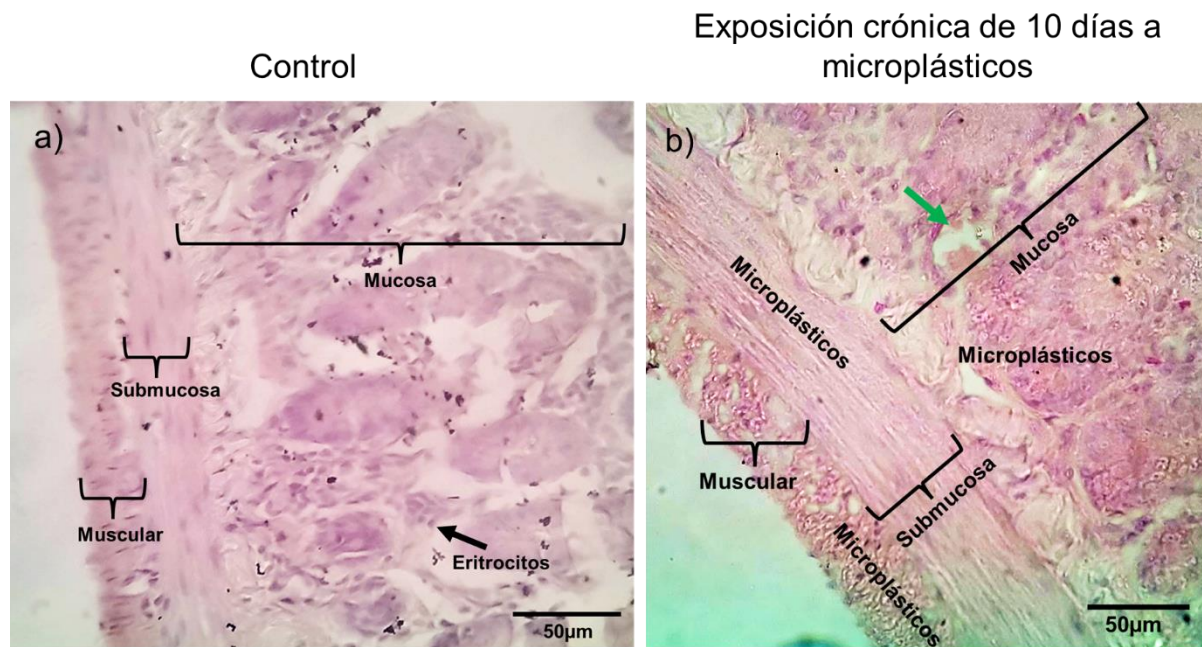


Figura 34. Representación histológica del intestino grueso de rata. A) Corte histológico de intestino grueso de rata control, donde se observan las capas que conforman el órgano. La flecha negra señala la presencia de eritrocitos. B) Corte histológico de intestino grueso de rata expuesta durante 10 días a microplásticos, mostrando las capas del intestino. La flecha verde señala la pérdida de uniones celulares en enterocitos y las manchas transparentes evidencian la presencia de microplásticos distribuidos en el tejido.

Por el contrario, el grupo expuesto a microplásticos (Figura 34 B) presenta cambios notables en la estructura del intestino. Se observan microplásticos distribuidos de manera generalizada en todas las capas del tejido intestinal, como lo indican las manchas transparentes. La capa mucosa, mostró alteración en la morfología de los enterocitos, generando células amorfas. Este deterioro compromete la superficie de absorción intestinal y podría llevar a deficiencias en la asimilación de nutrientes esenciales (Ayala, Frisancho y Chacón, 2004).

Además, se identificó una pérdida de uniones celulares entre los enterocitos. Este daño en la cohesión celular no solo altera la integridad del epitelio, sino que también puede facilitar la translocación de sustancias nocivas hacia las capas más profundas, promoviendo inflamación y daño sistémico (Ghosh *et al.*, 2021). Por otro lado, fue notable el aumento en la anchura del intestino (Figura 35), pared intestinal (Figura 36), y capa mucosa (Figura 37), estas características es signo de distensión en el órgano.

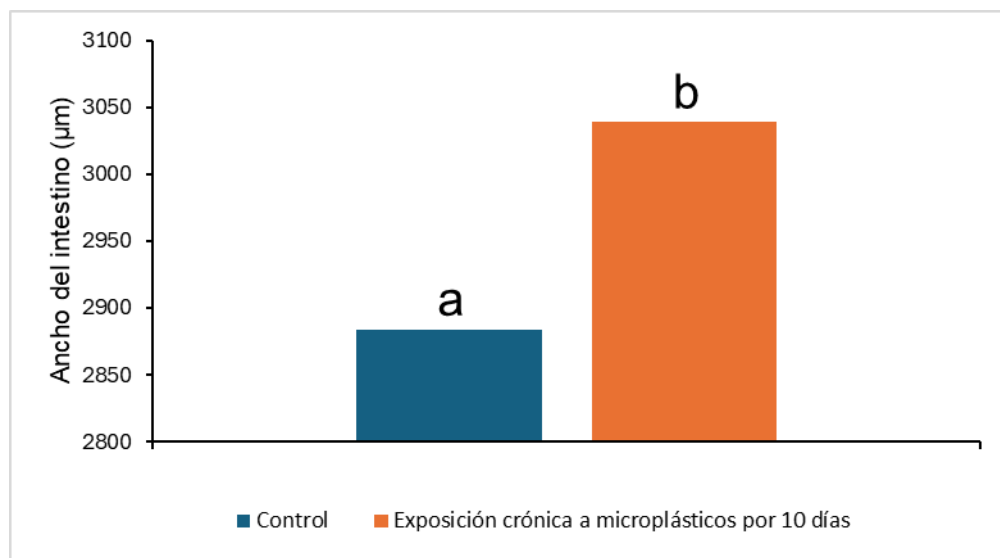


Figura 35. Grosor promedio del intestino grueso (µm) en ratas control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias estadísticamente significativas señaladas por letras (Mann-Whitney $P > 0.05$).

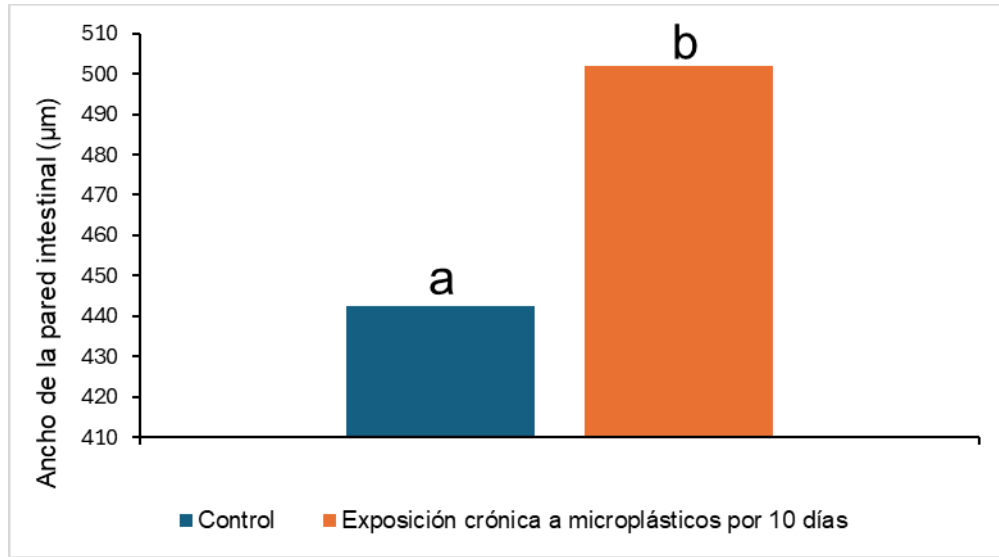


Figura 36. Grosor promedio de la pared intestinal (μm) en ratas control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias estadísticamente significativas señaladas por letras (t de student $P > 0.05$).

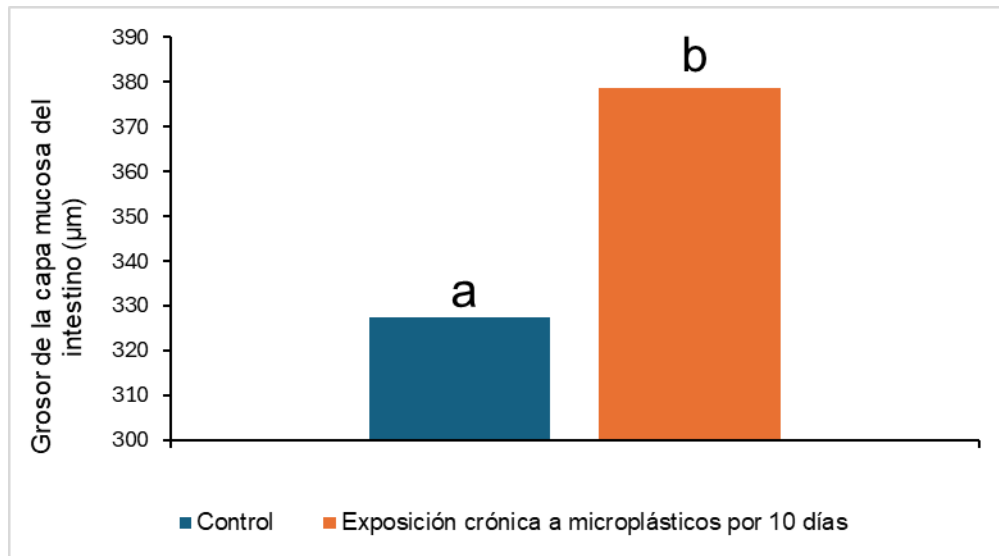


Figura 37. Grosor promedio de la capa mucosa del intestino grueso (μm) en ratas control y a exposición crónica a microplásticos durante 10 días. Diferencias estadísticamente significativas señaladas por letras (t de student $P > 0.05$).

Estas alteraciones estructurales sugieren que la exposición a microplásticos no solo tiene un impacto físico en la morfología del intestino, sino que también podría estar asociada con consecuencias funcionales adversas. Los microplásticos se han

asociado a cuestiones relacionados con: posible disbiosis del microbioma intestinal (Sofield, Anderton y Gorecki, 2024), inflamación crónica (Agrawal *et al.*, 2024) y estrés oxidativo (Zeng *et al.*, 2024). Este estudio resalta la necesidad de evaluar de manera integral los efectos de los microplásticos en la salud intestinal y su potencial impacto en la salud general de los organismos expuestos.

8.4 Comparación de los modelos animales evaluados

Los modelos estudiados para evaluar la toxicidad de MNPs de PVC, *Daphnia magna* y rata Wistar proveen información importante para esta investigación, a través de diversos aspectos.

Daphnia magna es un bioindicador altamente sensible al medio que lo rodea, dado su reducido ciclo de vida y alto rendimiento reproductivo. Es un modelo ecotoxicológico ideal para determinar no solo la toxicidad aguda de sustancias inidentificadas, sino sus afectaciones generacionales y poblacionales (Martins y Guilhermino, 2018).

Por otro lado, rata Wistar es de los modelos de estudio más usados en la investigación moderna, por lo que existe una amplia base de datos sobre su comportamiento, hábitos, fisiología y ciclo de vida; así como su similitud al ser humano (Hickman, *et al.*, 2016).

Tanto *D.magna* como rata Wistar presentaron graves afectaciones a la exposición a MNPs. Se evidenció daño a la morfología de las paredes intestinales en ambos modelos, así como la detección de ausencia de ciertos metabolitos vitales para la síntesis de proteínas y para el apropiado metabolismo energético.

Se observó el impacto sobre órganos de suma importancia para el bienestar de los organismos, en *D.magna* se evidenció la alteración del ritmo cardíaco en exposición crónica. Así mismo fue sustentado por la intensidad de señal observada para ácido glutámico en NMR.

En rata Wistar se observó la ausencia de metabolitos esenciales en el grupo expuesto tales como el glutamato, el succinato y la creatina, denotando alteraciones

en estructuras óseas y metabolismo energético; corroborado con tomografías de tejido cerebral donde se presentaron calcificaciones y una posible reducción del hipotálamo en el hemisferio izquierdo.

La ventaja que *Daphnia magna* presenta, sin embargo, es su alta tasa de reproducción por partenogénesis y adaptabilidad. Siendo su elevada sensibilidad lo que lo hace un excelente modelo animal, de gran importancia para la investigación biológica y ambiental. “Por su elevada cantidad de genes en común con el ser humano, se busca identificar su papel como un modelo para la salud humana” (Anaraki, *et al.*, 2020).

Debido a que *Daphnia magna* se encuentra en la base de la cadena alimenticia se muestra ideal para evaluar el impacto que un contaminante puede tener sobre la salud de un ecosistema, lo que la convierte en un biomarcador esencial (Borgatta, *et al.*, 2015).

IX. CONCLUSIONES

La exposición a plásticos se identificó para el 50 % de la población estudiantil encuestada, destacando el consumo de productos envueltos en películas plásticas más de tres veces por semana, uno de los polímeros de alto consumo fue el polímero PVC.

El análisis realizado mediante FTIR, y GC-SM permitió confirmar que la muestra plástica obtenida de comercio informal se reconoce como policloruro de vinilo (PVC), la cual contiene el aditivo plastificante ftalato DEHP cuya presencia no excede los parámetros dictados por REACH EU.

La exposición crónica a MNPs en el organismo modelo *D. magna* afectó parámetros de historia de vida asociados a reproducción, morfología y fisiología, que repercuten en la supervivencia de la población.

El modelo matemático logístico modificado, que se ajustó satisfactoriamente a los datos experimentales predijo que la exposición de los individuos a MNPs durante tiempo prolongado podría retrasar severamente el tiempo de reproducción,

afectando el tamaño de la población y disminuyendo la capacidad de carga del sistema.

El análisis metabolómico, en el modelo *Daphnia magna* mostró que los MNPs inducen incremento de treonina, lo que sugiere que el metabolismo energético del organismo y la salud intestinal podrían estar comprometidos. El aumento de ácido glutámico podría ser un bioindicador de alteraciones cardíacas y daños en la estructura del tejido celular.

Ratas Wistar expuestas a MNPs mostraron ausencia de creatina, succinato y lactato, lo que podría generar deficiencias energéticas y descompensación en el funcionamiento del organismo. La deficiencia de creatina podría ser un indicador de alteraciones en tejido óseo, como las calcificaciones cerebrales identificadas mediante tomografía computarizada.

El análisis histológico en ambos modelos reveló alteraciones en la morfología intestinal y disminución en la producción de mucus. La disminución de la longitud de las microvellosidades intestinales en *D. magna*, y la disminución del ancho de la capa submucosa del estómago en rata podría predisponer al tejido a presentar lesiones, que comprometan la capacidad de absorción de nutrientes y defensa inmunológica de la pared intestinal en ambos modelos animales.

Alteraciones de la homeostasis del metabolismo energético en rata, también se reflejaron mediante la ausencia de los metabolitos: succinato, lactato y creatina, importantes en la producción de ATP, por lo que la exposición a MNPs de PVC en un periodo prolongado, comprometería su salud.

Los riesgos tóxicos a la exposición crónica de MNPs de PVC fueron caracterizados y monitoreados en los modelos animales acuático y terrestre, *D. magna* y *Rattus norvegicus*, mediante el empleo de biomarcadores sensibles que demostraron perfiles de alteraciones bioquímicas, metabolómicas, histológicas y reproductivas, denotando así el riesgo potencial que estos materiales pueden generar al medio ambiente.

X. REFERENCIAS

Agrawal, M., Vianello, A., Picker, M., Simon-Sánchez, L., Chen, R., Estevinho, M. M. y Vollertsen, J. (2024). Micro-and nano-plastics, intestinal inflammation, and inflammatory bowel disease: A review of the literature. *Science of The Total Environment*, 176228

Aguirrezabal, I. (2019). Estudios de mercados y otros documentos de comercio exterior. Ficha sector. *Plástico en México 2019*. ICEX España Exportación e Inversiones, 3-6.

Análisis de agua- Evaluación de toxicidad aguda con Daphnia magna, straus (Crustacea-Cladocera)-Metodo de prueba. Norma oficial mexicana NOM-087-SCFI-2010. Diario Oficial de la Federación, 03 de marzo de 2011.

Anaraki, M.T., Lysak D.h., Soong R., Simpson M.J., Sprail M., et al. (2020). NMR Assigment of the In Vivo Daphnia magna Metabolome. *Analyst*, 17(2020), 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0AN01280G>.

Ayala, E., Frisancho, O., y Chacón Yupanqui, P. (2004). Cambios histológicos del íleon distal en diarrea crónica asociada con anemia megaloblástica. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 24(2), 117-121.

Benarroch, E. (2024). What Is the Role of Lactate in Brain Metabolism, Plasticity, and Neurodegeneration?. *Neurology Journals*, 102 (9). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000209378>.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L. y Stryer, L. (2007). Bioquímica. México. *Editorial Reverté*.

Bonet, A. y Grau, T. (2007). La glutamina, un aminoácido casi indispensable en el enfermo crítico. *Medicina Intensiva*, 31 (7). [https://doi.org/10.1016/S0210-5691\(07\)74845-3](https://doi.org/10.1016/S0210-5691(07)74845-3).

Borgatta, M., Hernández, C., Decosterd, L.A., Chèvre, N. y Waridel, P. (2015). Shotgun Ecotoxicoproteomics of Daphnia pulex: Biochemical Effects of the Anticancer Drug Tamoxifen. *J. Proteome Res*, 2015(14), 279-291 [dx.doi.org/10.1021/pr500916m](https://doi.org/10.1021/pr500916m).

Bownik, A., Pawlock, M. y Sokolowska, N. (2017). Effects of neonicotinoid insecticide acetamiprid on swimming velocity, heart rate and thoracic limb movement of Daphnia magna. *Pol. J. Natur. Sc.*, 32(3), 481-493.

Camp, A.A., Yun, J., Chambers, S.A., Haeba, M H., y LeBlanc, G. A. (2020). Involvement of glutamate and serotonin transmitter systems in male sex determination in Daphnia pulex. *Journal of insect physiology*, 121, 104015. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104015>.

Canfield, C.A. y Bradshaw, P.C. (2019). Amino acids in the regulation of aging and aging-related diseases. *Translational Medicine of Aging*, 3 (2019), 70-89.

California Consumer Privacy Act. (1998). ANEXO XV-A, Principios éticos de la investigación con animales. [Manual CCPA]. 1, 306. <https://ccac.ca>.

Carbone, C. y Ayala, M.A. (2021). Estándares internacionales. Legislación. CICUAL. Carbone C., Ayala. M. A., Cagliada M. P. (Eds.), *Ciencia y Bienestar de los Animales de Laboratorio*, 20-21. EDULP.

Caselles, A. (2008). MODELIZACIÓN Y SIMULACIÓN DE SISTEMAS COMPLEJOS. Publicacions de la Universitat de València, 4-5.

Castro, P., Gabrielli, L., Verdejo, H., Greig, D., Mellado, R., Concepción R., *et al.* (2010). Metabolismo energético del corazón y sus proyecciones en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca. *Rev. Méd. Chile*, 138 (8). <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872010000800014>.

Choi, J., y Augenlicht, L. H. (2024). Intestinal stem cells: guardians of homeostasis in health and aging amid environmental challenges. *Experimental & Molecular Medicine*, 56(3), 495-500.

Coltro, L., Pitta, J. B. y Madaleno, E. (2013). Performance evaluation of new plasticizers for stretch PVC films. *Polymer Testing*, 32 (2013), 272-278. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.11.009>

Consumer Product Safety Commission. (2009). *CPSC-CH-C1001-09.3 Standard operating procedure for determination of phthalates*. U.S. Consumer Product Safety Commission. https://www.cpsc.gov/s3fs-public/pdfs/blk_pdf_CPSC-CH-C1001-09-3.pdf

Danso, I. K., Woo, J.H. y Lee, K. (2022). Pulmonary Toxicity of Polystyrene, Polypropylene, and Polyvinyl Chloride Microplastics in Mice. *Molecules*, 27 (2022), 7926, 2. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27227926>.

Dawed, M.Y., Koya, P.R. y Goshu, A.T. (2014). Mathematical Modelling of Population Growth: The Case of Logistic and Von Bertalanffy Models. *Open Journal of Modelling and Simulation*, 2, 113-126. <http://dx.doi.org/10.4236/ojmsi.2014.24013>.

De Coen, W.M., Janssen, C.R., y Segner, H. (2001). The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing V. In vivo alterations in the carbohydrate metabolism of *Daphnia magna* exposed to sublethal concentrations of mercury and lindane. *Ecotoxicology and environmental safety*, 48(3), 223–234. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.2009>.

Deng, Y., Zhang, Y., Lemos, B., Y Ren, H. (2017). Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Scientific reports*, 7, 46687. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep46687>

Dey, P. (2018). Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology. *Springer Singapore*. <http://doi.org/10.1007/978-981-10-8252-8>.

Diaz Basantes, M.F., Conesa, J.A. y Fullana, A. (2020). Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants. *Sustainability*, 12, 5514. <https://doi.org/10.3390/su12145514>

ELIKA, Seguridad Alimentaria. (2022). Ftalatos. Comunidad Autónoma Vasca, España. Recuperado de: <https://www.elika.eus/>.

Eltemsah, Y.S. y Bøhn, T. (2019). Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on juvenile and adult *Daphnia magna*. *Elsevier*, 254 (2019), 8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.087>

Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animals de laboratorio. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación, 21 de agosto de 2001.

Fernández Veledo, S., Ceperulo Malladré, V. y Vendrell, J. (2021). Rethinking succinate: an unexpected hormone-like metabolite in energy homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 32(9), 680-692. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.06.003>.

Fuhr, L. y Franklin, M. (2020). Atlas del plástico, datos y cifras del mundo de los polímeros sintéticos. *Fundación Heinrich Böll y Break Free From Plastic*, 1 (2020). Recuperado de: mx.boell.org.

Gambino, G., Falleni, A., Nigro, M., Salvetti, A., Cecchetti, A., Ippolito, C., *et al.* (2020). Dynamics of interaction and effects of microplastics on planarian tissue regeneration and cellular homeostasis. *Aquatic Toxicology*, 218, 105354.

García Fábila, M.M., Chávez, A.A., Bustamante Montes, P., Reyes García, A. y Sánchez Meza, J.C. (2018). Ftalatos en alimentos de la canasta básica mexicana. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, 9(21), 1180 - 1191.

Gastell, P.P. y Pérez de Alejo, J. (2000). Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cubana Med Milit*, 29 (3), 192-198.

Ghosh, S., Whitley, C.S., Haribabu, B., y Jala, V.R. (2021). Regulation of intestinal barrier function by microbial metabolites. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 11(5), 1463-1482.

González Castro, M.I., Olea Serrano, M.F., Rivas Velasco, A.M., Medina Rivero, E., Ordoñez Acevedo, L.G. y de León Rodríguez, A. (2011). Phthalates and bisphenols migration in Mexican food cans and plastic food containers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(6), 627–631. DOI: [10.1007/s00128-011-0266-3](https://doi.org/10.1007/s00128-011-0266-3).

Guía para la elaboración del aviso de privacidad en el área de recursos humanos, Sector público. Instituto Nacional de Transparencia, Acceso a la Información y Protección de Datos Personales (INAI). https://home.inai.org.mx/_GuiaAP-RRHH.

Hanari, N., Orihara, Y. y Matsumaya, S. (2021). Certified Reference Material for the Quantification of Phthalates in Polyvinyl Chloride Resin (NMIJ CRM 8152). *Analytical letters*, 54 (11), 1746-1758. DOI: 10.1080/00032719.2020.1822373.

Hall, J.E. y Guyton, A.C. (13 Ed.) (2016). Guyton and Hall textbook of medical physiology. *Elsevier*, 726.

Herath, M., Hosie, S., Bornstein, J.C., Franks, A.E., y Hill Yardin, E.L. (2020). The role of the gastrointestinal mucus system in intestinal homeostasis: implications for neurological disorders. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 248.

Hickmann, D.L., Johnson, J., Vemulapalli, T.H., Crisler, J.R. y Sheperd R. (2016). Commonly Used Animal Models. Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students. *Elsevier*, 25(2016), 117–175. DOI: 10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4.

Higiene industrial-Medio ambiente laboral, determinación de Ftalato de Octilo (Ftalato de Di 1-2 Etil Hexilo) en aire, método de cromatografía de gases. NOM-090-STPS-1994. Diario Oficial de la Federación, 05 de diciembre de 1995.

Hlisníková, H., Petrovicova, I., et al. (2020). Effects and Mechanisms of Phthalates' Action on Reproductive Processes and Reproductive Health: A Literature Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 17(2020), 6811. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17186811>.

Holecek, M. (2024). Origin and Roles of Alanine and Glutamine in Gluconeogenesis in the Liver, Kidneys, and Small Intestine under Physiological and Pathological Conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25(13), 7037. <https://doi.org/10.3390/ijms25137037>.

Ibrahim, Y.S., Tuan Anuar, S., Azmi, A.A., Wan Mohd Khalik, W.M.A., Lehata, S., Hamzah, S.R., Ismail, D., Ma, Z.F., et al. (2020). Detection of microplastics in human colectomy specimens. *J.G.H. Open*, 5(1), 116-121. DOI: 10.1002/jgh3.12457

INDUSTRIA DEL PLÁSTICO-DIRECTRICES PARA LA RECUPERACIÓN Y EL RECICLAJE DE RESIDUOS PLÁSTICOS. NMX-E-285-NYCE-2021. Diario Oficial de la Federación, 21 de febrero de 2022.

INDUSTRIA DEL PLÁSTICO – COMPUESTOS DE POLI(CLORURO DE VINILO) (PVC) Y POLI(CLORURO DE VINILO CLORADO) (CPVC) – ESPECIFICACIONES (CANCELA A LAS NMX-E-031-SCFI-2000 Y NMX-E-182-1990). NMX-E-031-CNCP-2009. Diario Oficial de la Federación, 05 de septiembre de 2009.

INDUSTRIA DEL PLÁSTICO – SÍMBOLOS DE IDENTIFICACIÓN DE PLÁSTICOS. NMX-E-232-CNCP-2011. Diario Oficial de la Federación, 23 de febrero de 2015.

Israel G.D. (1992). Determining sample size. University of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, PEOD-6, 1-5.

Jemec, A., Horvat, P., Kunej, U., Bele, M. y Kržan, A. (2016). Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental pollution*, 219 (1987), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.037>.

Jin, H., Ma, T., Sha, X., Liu, Z., Zhou, Y., Meng, X., Chen, Y., Han, X., y Ding, J. (2021). Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *Journal of hazardous materials*, 401, 123430. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123430>.

Kannan, K. y Vimalkumar, K. (2021). A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Front. Endocrinol*, 12, 724989. DOI: 10.3389/fendo.2021.724989.

Kögel, T., Bjørøy, O., Toto, B., *et al.* (2019). Micro- and nanoplastic toxicity on aquatic life: Determining factors. *Science of the Total Environment, Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136050>

Koivisto, S. (1995). Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests?. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 90(2), 263–267. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)00029-q](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)00029-q)

Ksiazek, E. (2023). Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. *Molecules*, 29(1). DOI:10.3390/molecules29010022.

Labine, L.M. y Simpson M.J. (2021). Targeted Metabolomic Assessment of the Sub-Lethal Toxicity of Halogenated Acetic Acids (HAAs) to *Daphnia magna*. *Metabolites*, 11(2). DOI: 10.3390/metabo11020100.

Le, T.P.D., Nguyen, V.T., Vo, T.M.C., Bui, N.H. y Dao, T.S. (2019). Transgenerational effects of the plasticizer di-2-ethylhexyl phthalate on survival, growth, and reproduction of *Daphnia magna*. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*. 61(4). DOI:10.31276/VJSTE.

Leslie, H.A., van Velzen, M. J. M., Brandsma, S.H., *et al.* (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International, Elsevier Ltd*, 3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>.

Li, X., Yang, Y., Lin, X., Fu, X., *et al.* (2022). Lactate metabolism in human health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(305). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01151-3>.

Liang, B., Huang, Y., Zhong, Y., Li, Z., *et al.* (2022). Brain single-nucleus transcriptomics highlights that polystyrene nanoplastics potentially induce Parkinson's disease-like neurodegeneration by causing energy metabolism disorders in mice. *J. Hazard Mater*, 15(430). DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.128459.

Liu, T., Yu, H., Wang, S., Li, H., Du, X., y He, X. (2023). Chondroitin sulfate alleviates osteoporosis caused by calcium deficiency by regulating lipid metabolism. *Nutrition & metabolism*, 20(1), 6.

Lovekamp Swan, T. y Davis, B.J. (2003). Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ. Health Perspect*, 111 (2003), 139–145. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.5658>.

Lu, L., Wan, Z., Luo, T., Fu, Z. y Jin Y. (2018). Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *Science of the Total Environment*, 631(2018), 449-458.

Maity, S., Jannasch, A., Adamec, J., Gribskov, M., Nalepa, T., et al. (2012). Metabolite profiles in starved diporeia spp. using liquid chromatography-mass spectrometry (Lc-Ms) based metabolomics. *Biochemistry*, 2012, 32(2), 239–248.

Maschi, F. (2021). Modelos animales. Carbone C., Ayala. M.A., Cagliada M.P. (Eds.), *Ciencia y Bienestar de los Animales de Laboratorio*. (253-258). EDULP.

Martins, A. y Guilhermino, L. (2018). Transgenerational effects and recovery of microplastics exposure in model populations of the freshwater cladoceran *Daphnia magna* Straus. *Science of the Total Environment*, 631(2018), 421-428. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.054>

Método de prueba para la determinación de resistencia a la deterioración por migración de plastificantes en las películas vinílicas. Norma Mexicana NMX-E-019-1968. Diario oficial de la Federación, 4 de junio de 1968.

Método de prueba para la determinación de resistencia al desgaste de películas vinílicas con y sin soporte. Norma Mexicana NM-E-008-1968. Diario Oficial de la Federación,

Método de prueba para la determinación de resistencia al envejecimiento por calor de las películas vinílicas con y sin soporte. D.N.G.E-006-1968. Diario oficial de la Federación, 4 de junio de 1968.

Min, A., Liu, F., Yang, X. y Chen, M. (2014). Benzyl butyl phthalate exposure impairs learning and memory and attenuates neurotransmission and CREB phosphorylation in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 71, 81–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.05.021>.

Navik, U., Sheth, V.G., Khurana, A., Jawalekar, S.S., Allawadhi, P., et al. (2021). Methionine as a double-edged sword in health and disease: Current perspective and future challenges. *Ageing Research Reviews*, 72 (2021), 101500. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101500>.

Norma de calidad para películas de poli-cloruro de vinilo sin soporte (Cancela a la DGN-E-1-1969), NMX-E-001-1970. Diario Oficial de la Federación, 03 de septiembre de 1970.

Okamura, T., Hamaguchi, M., Hasegawa, Y., Hashimoto, Y., Majima, S., Senmaru, T., et al. (2023). Oral exposure to polystyrene microplastics of mice on

a normal or high-fat diet and intestinal and metabolic outcomes. *Environmental health perspectives*, 131(2), 027006.

Ostrovsky, Y. (1986). Endogenous ethanol--its metabolic, behavioral and biomedical significance. *Alcohol*, 3(4), 239-47. DOI: 10.1016/0741-8329(86)90032-7

Otto, G.M., Franklin, C.L. y Clifford, C.B. (2015). Biología y enfermedades en ratas. En Fox J. G., *et al.* (Ed.), *Laboratory animal medicine*. American College of Laboratory Animal Medicine. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00004-3>

Pan, Y., Long, Y., Hui, J., Xiao, W., Yin, J., Li, Y., *et al.* (2022). Microplastics can affect the trophic cascade strength and stability of plankton ecosystems via behavior-mediated indirect interactions. *Journal of Hazardous Materials*, 430, 128415.

Parmar, D., Srivastava, S.P. y Seth, P.K. (1987). Effect of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) on hepatic mixed function oxidases in different animal species. *Toxicology Letters*, 40(1988), 209-217. DOI: 10.1016/0378-4274(88)90043-4.

Parnetti, L., Mignini, F., Tomassoni, D., Traini, E. y Amenta, F. (2007). Cholinergic precursors in the treatment of cognitive impairment of vascular origin: ineffective approaches or need for re-evaluation?. *J Neurol Sci.*, 257(1), 264-269. DOI: 10.1016/j.jns.2007.01.043.

Perera, A., Soos, C. y Machin, K. (2022). Identification of Metabolomic Biomarkers of Long-Term Stress Using NMR Spectroscopy in a Diving Duck. *Metabolites*, 12(4). doi: 10.3390/metabo12040353.

Pessino, G., Lonati, L., Scotti, C., Calandra, S., Cazzalini, O., Iaria, O., *et al.* (2024). Differential effect of asparagine and glutamine removal on three adenocarcinoma cell lines. *Heliyon*, 10(2024). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35789>.

Plásticos para uso agrícola – Plásticos de poli (cloruro de vinilo) – Pérdidas de plastificante en materiales plásticos – Método de prueba. Norma Mexicana NMX-E-133-1984. Diario Oficial de la Federación, 22 de junio de 1984.

Qi, S., Liu, X., Zhu, L., Chen, X., y Wang, C. (2017). Racemic, R-, and S-tebuconazole altered chitinase and chitobiase activity of *Daphnia magna*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 53(3), 171–175. DOI:10.1080/03601234.2017.1399245.

Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., *et al.* (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*, 146(2021) 106274, 0160-4120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106274>.

Reglamento (EU) 2018/2005 de la Comisión, de 17 de diciembre de 2018, relativo al anexo XVII para la Restricción de Químicos (REACH) concernientes al ftalato de bis(2-etilhexilo) (DEHP), el ftalato de dibutilo (DBP), el ftalato de bencilo butilo (BBP) y el ftalato de diisobutilo (DIBP). Diario Oficial de Unión Europea. 18 de diciembre de 2018.

Rocha Santos, T., Costa, M.F. y Mouneyrac, C. (2022). Handbook of Microplastics in the Environment. *Springer Nature Switzerland AG* 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-39041-9>.

Rosas Licona, P.M. (2023). Evaluación del impacto ecotoxicológico de distintas formulaciones comerciales del fenoxi-herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético en el modelo de agua dulce *Daphnia magna*. (Tesis de licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Rosenkranz P.W. (2010). The ecotoxicology of nanoparticles in *Daphnia magna*. (Tesis doctoral). Edinburgh Napier University, Edinburgh.

Ross Hallett F. (2010). Scattering and Particle Sizing Applications. En Lindon, J.C. (Ed.), *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. (p. 29-34) Academic Press.

Ruzzo, E.K., Capo, J.M., Ben Zeev, et al. (2013). Deficiency of asparagine synthetase causes congenital microcephaly and a progressive form of encephalopathy. *Neuron*, 80(2). DOI: 10.1016/j.neuron.2013.08.013.

Sadler, D.E., Brunner, F.S. y Plaisto, S.J. (2019). Temperature and clone-dependent effects of microplastics on immunity and life history in *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 255(2019), 113178, 1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113178>.

Shaoyong, W., Sun, L., Gan, Y., Jin, H., Wang, W., Yin, L., et al. (2024). Sight of Aged Microplastics Adsorbing Heavy Metal Exacerbated Intestinal Injury: A Mechanistic Study of Autophagy-Mediated Toxicity Response. *ACS nano*, 18(42), 28849-28865.

Shinji, J., Okutsu, T., Jayasankar, V., Jasmani, S. y Wilder, M.N. (2021). Metabolism of amino acids during hyposmotic adaptation in the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Amino Acids*, 43(5), 1945-1954. DOI: 10.1007/s00726-012-1266-2.

Segovia Mendoza, M., Palacios Arreola, M.I., Pavón, L., et al. (2022). Environmental Pollution to Blame for Depressive Disorder?. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, MDPI, 19, 1737. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19031737>.

Setälä, O., Fleming Lehtinen, V. y Lehtiniemi, M. (2014). Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environ. Pollut*, 2014 (185), 77–83.

Sharon, G., Garg, N., Debelius, J., Knight, R., Dorrestein, P.C., y Mazmanian, S.K. (2014). Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell metabolism*, 20(5), 719–730. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.016>

Sofield, C.E., Anderton, R.S., y Gorecki, A.M. (2024). Mind over Microplastics: Exploring Microplastic-Induced Gut Disruption and Gut-Brain-Axis Consequences. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(5), 4186-4202.

Song, Y., Zhang, J., Yang, L., Huang, Y., Zhang, N. y Ma, G. (2024). Internal and external microplastic exposure in young adults: A pilot study involving 26 college students in Changsha, China. *Environmental Research*, 263 (2024) 120250, 1-2. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.120250>.

Taha, D.A., De Moor, C.H., Barrett, D.A. y Gershkovich, P. (2014). Translational insight into statin-induced muscle toxicity: from cell culture to clinical studies. *Translational Research* 164 (2), 85-109. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.01.013>.

Tan, H., Yue, T., Xu, Y., Zhao, J., y Xing, B. (2020). Microplastics reduce lipid digestion in simulated human gastrointestinal system. *Environmental science & technology*, 54(19), 12285-12294.

Tang, Q., Tan, P., Ma, N. y Ma, X. (2021). Physiological Functions of Threonine in Animals: Beyond Nutrition Metabolism. *Nutrients*, 2021(13), 2592. <https://doi.org/10.3390/nu13082592>.

Telli, A., Darem, S., Gacem, M. y Hadj Khelil, A. (2024). Chitinases production and their application. En Abd-Elsalam K., et al., (Eds), *Fungal Secondary Metabolites*, 197. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95241-5.00003-4>.

Teuten, E.L., Rowland, S.J., Galloway, T.S. y Thompson, R.C. *Potential for plastics to transport hydrophobic contaminants. Environ. Sci. Technol*, 2007 (41), 7759–7764.

The Metabolomics Innovations Centre. (2016). Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRB). [Base de datos]. <http://www.bmrb.wisc.edu>.

Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., et al. (2004). Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *BREVIA, Science*, 304 (5672), 1. DOI: 10.1126/science.1094559.

Tong, X., Li, B., Li, J., Li, L., Zhang, R., Du, Y., y Zhang, Y. (2022). Polyethylene microplastics cooperate with *Helicobacter pylori* to promote gastric injury and inflammation in mice. *Chemosphere*, 288, 132579.

Tood, W.G. (2003). Variable that Affect/Control HighDensity Polyethylene film Oxygen-Moisture Barrier. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 19(2003), 209-200.

Traynelis, S.F., Wollmuth, L.P., McBain, C.J., Menniti, F.S., Vance, K.M., Ogden, K.K., Hansen, K.B., Yuan, H., Myers, S.J., y Dingledine, R. (2010). Glutamate

receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacological reviews*, 62(3), 405–496. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>

Trentman, C., Louissaint, L. y Enahwo, O. (2024). Chapter 1 Acarbosa-Creatine. En G. Cooper et al. (Eds.), *A Clinician's Evidence-Based Guide to Supplements* [Ebook]. Springer Nature Switzerland AG 2024. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-66885-2>.

United States Statutes at Large. (2015) Microbead-Free Waters Act of 2015. Volume 129, 114th Congress, 1st Session. U.S. Government Publishing Office. Obtenido de: <https://www.congress.gov/bill/114th-congress/house-bill/1321/text>.

Vaarhorst, A.A., Verhoeven, A., Weller, C.M., Böhringer, S., Göröler, S., Meissner, A., Deelder, A.M., Henneman, P., Gorgels, A.P., van den Brandt, P.A., et al. (2014). A metabolomic profile is associated with the risk of incident coronary heart disease. *American heart journal*, 168(1), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.01.019>.

Wang, P., Li, Q.Q., Hui, J., Xiang, Q.Q., Yan, H. y Chen, L.Q. (2022). Metabolomics reveals the mechanism of polyethylene microplastic toxicity to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 307(2). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135887>

Wallace, J.L. (2008). Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself?. *Physiological reviews*, 88(4), 1547-1565.

Webb, H.K., Arnott, J., Crawford, R.J. e Ivanova, E.P. (2013). Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). *Polymers*, 2013 (5), 1-18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>

Weber, K., Razinger, T., Hardisty, J.F., et al. (2011). *Differences in Rat Models Used in Routine Toxicity Studies*. *International Journal of Toxicology*. 30(2). 162-173. doi:10.1177/1091581810391818.

Wirkner, K., Poelchen, W., Köles, L., Mühlberg, K., Scheibler, P., Allgaier, C., y Illes, P. (1999). Ethanol-induced inhibition of NMDA receptor channels. *Neurochemistry international*, 35(2), 153–162. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(99\)00057-1](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(99)00057-1)

Wirkner, K., Eberts, C., Poelchen, W., Allgaier, C., y Illes, P. (2000). Mechanism of inhibition by ethanol of NMDA and AMPA receptor channel functions in cultured rat cortical neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 362(6), 568–576. <https://doi.org/10.1007/s002100000262>

Wishart, D.S., Guo, A.C., Oler, E., et al. (2022) *HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022*. *Nucleic Acids Res.* Jan 7 (50). Recuperado de: <https://hmdb.ca/>.

Woodward J.J. (1999). Ionotropic glutamate receptors as sites of action for ethanol in the brain. *Neurochemistry international*, 35(2), 107–113.

Xu, G.E., Cheong, R.S., Liu, L., Hernandez, L.M., Azimzada, A., Bayen, S. y Tufenkji N. (2020). Primary and Secondary Plastic Particles Exhibit Limited Acute Toxicity but Chronic Effects on *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol*, 2020(54), 6859–6868.

Xu, J. L., *et al.* (2022). Microplastic Characterization by Infrared Spectroscopy. Rocha-Santos T., Costa M. y Mouneyrac C. (Eds.), *Handbook of Microplastics in the Environment*. (P. 79- 91). Springer Nature.

Yee, M.S.L., Hii, L.W., *et al.* (2021). Impact of Microplastics and Nanoplastics on Human Health. *Nanomaterial*, 11 (496). DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11020496>.

Yu, S. y Shang, P. (2014). A review of bioeffects of static magnetic field on rodent models. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 114(1), 14-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2013.11.002>.

Zhang, X., Yuan, J., Li, F. y Xiang, J. (2021). Chitin Synthesis and Degradation in Crustaceans: A Genomic View and Application. *Marine drugs* 2021, 19, 153. <https://doi.org/10.3390/md19030153>.

Zhang, S., Wu, H. y Hou, J. (2023). Progress on the Effects of Microplastics on Aquatic Crustaceans: A Review. *Int. J. Mol. Sci*, 24 (2023).

Zhu, L., Xie, C., Chen, L., Dai, X., Zhou, Y., Pan, H., y Tian, K. (2023). Transport of microplastics in the body and interaction with biological barriers and controlling of microplastics pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 255, 114818.

Zeng, F., Zhang, L., Deng, F. y Lou S. (2023). Early-life exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate: Role in children with endocrine disorders. *Front. Cell Dev. Biol.* 11:1115229. DOI: 10.3389/fcell.2023.1115229

Zeng, G., Li, J., Wang, Y., Su, J., Lu, Z., Zhang, F., y Ding, W. (2024). Polystyrene microplastic-induced oxidative stress triggers intestinal barrier dysfunction via the NF- κ B/NLRP3/IL-1 β /MCLK pathway. *Environmental Pollution*, 345, 123473.

Zimmerman, L., Göttlich, S., Oehlmann, J. y Wagner M. (2020). What are the drivers of microplastic toxicity? Comparing the toxicity of plastic chemicals and particles to *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 267 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115392>.

Zou, E., y Bonvillain, R. (2004). Chitinase activity in the epidermis of the fiddler crab, *Uca pugilator*, as an in vivo screen for molt-interfering xenobiotics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 139(4), 225–230. DOI: 10.1016/j.cca.2004.11.003.

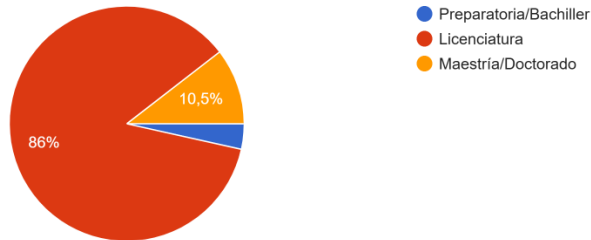
Zurub, R.E., Cariaco, Y., Wade, M.G., y Bainbridge, S.A. (2024). Microplastics exposure: implications for human fertility, pregnancy and child health. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1330396.

XI. ANEXOS

ANEXO 1 - ENCUESTA DESCRIPTIVA

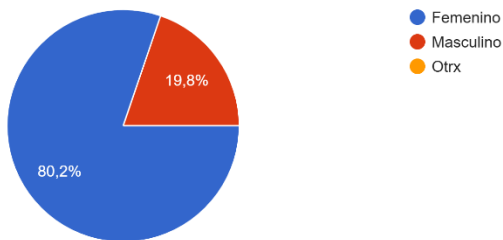
Nivel de estudios actual

86 respuestas



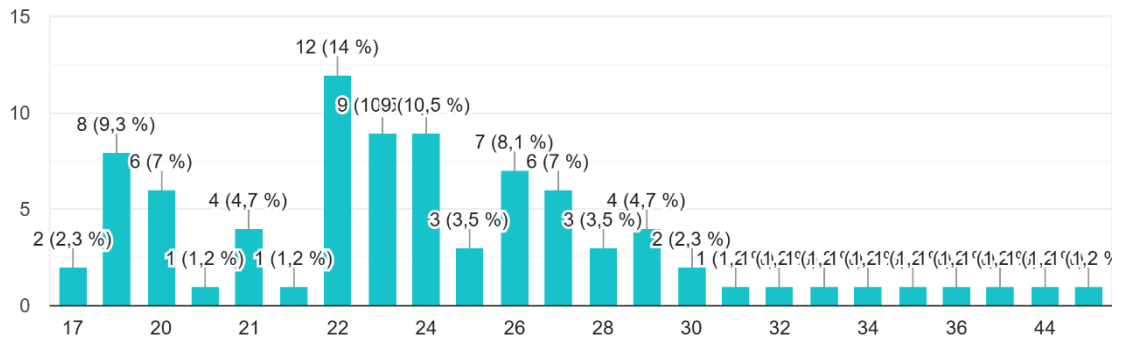
¿Con cuál genero te identificas?

86 respuestas

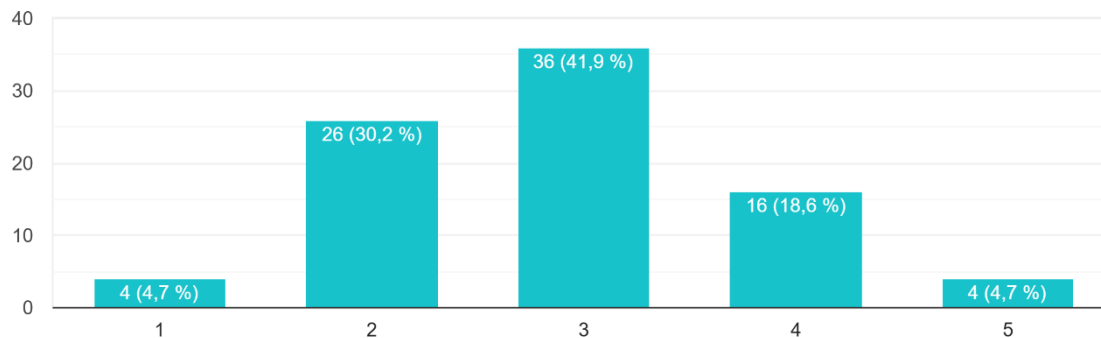


Edad

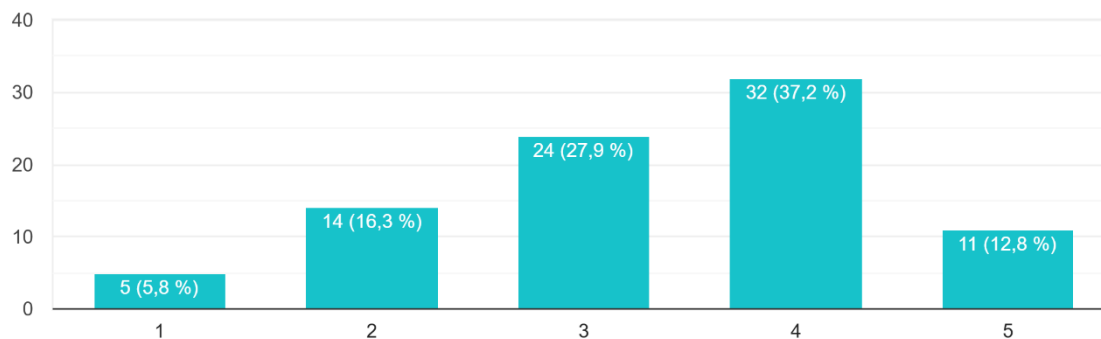
86 respuestas



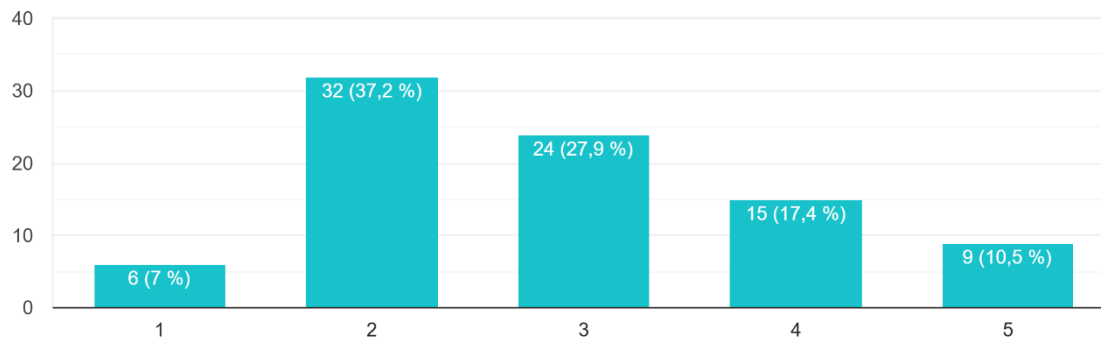
Señala en esta escala la frecuencia con la que consumes los siguientes plásticos, siendo el 1 Nunca lo consumo, 2 Casi no lo consumo, 3 De vez ... y 5 Siempre. **Empaques de alimento (PS)**
86 respuestas



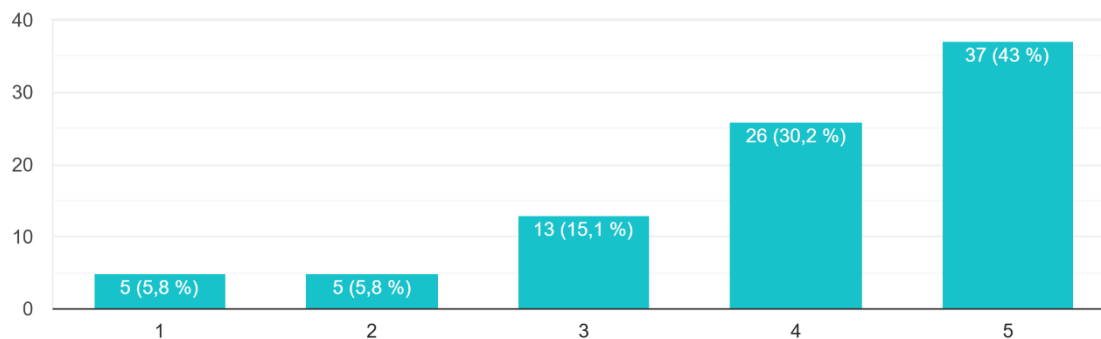
Señala en esta escala la frecuencia con la que consumes los siguientes plásticos, siendo el 1 Nunca lo consumo, 2 Casi no lo consumo, 3 De vez e...e y 5 Siempre. **Botellas de bebidas (PET)**
86 respuestas



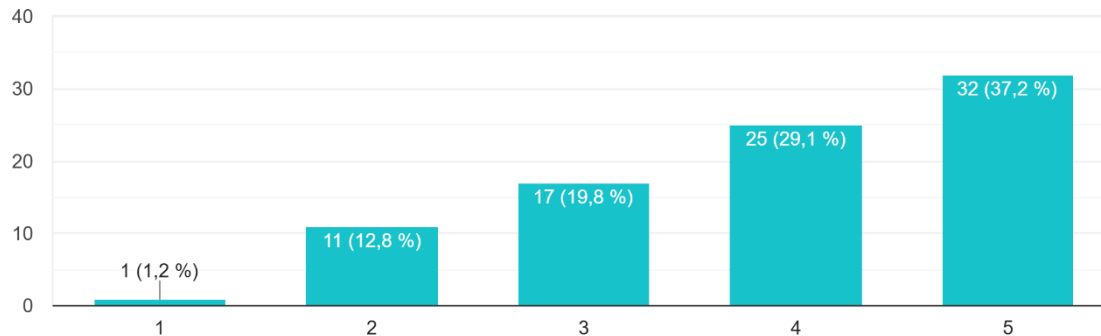
Señala en esta escala la frecuencia con la que consumes los siguientes plásticos, siendo el 1 Nunca lo consumo, 2 Casi no lo consumo, 3 De vez...5 Siempre. Platos y vasos desechables (HDPE)
86 respuestas



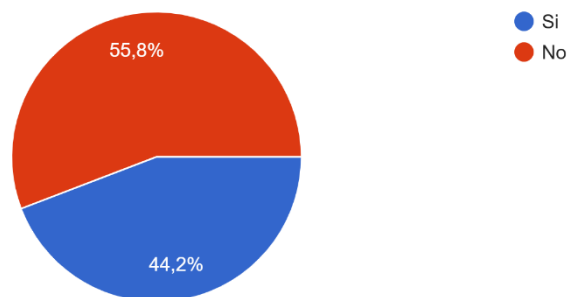
Señala en esta escala la frecuencia con la que consumes los siguientes plásticos, siendo el 1 Nunca lo consumo, 2 Casi no lo consumo, 3 De vez e...re y 5 Siempre. Bolsas plásticas (LDPE)
86 respuestas



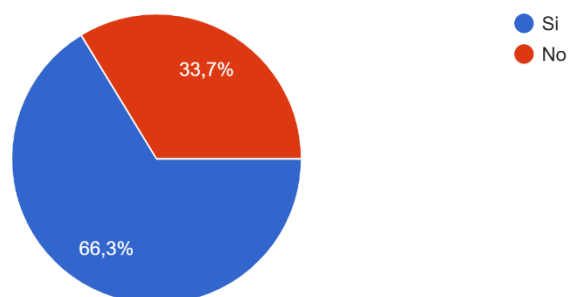
Señala en esta escala la frecuencia con la que consumes los siguientes plásticos, siendo el 1 Nunca lo consumo, 2 Casi no lo consumo, 3 De vez e...e. Ropa, juguetes, cepillos de dientes (Otros)
86 respuestas



Si comes tortillas, cuando las compras ¿Te las entregan envueltas en una película plástica?
86 respuestas

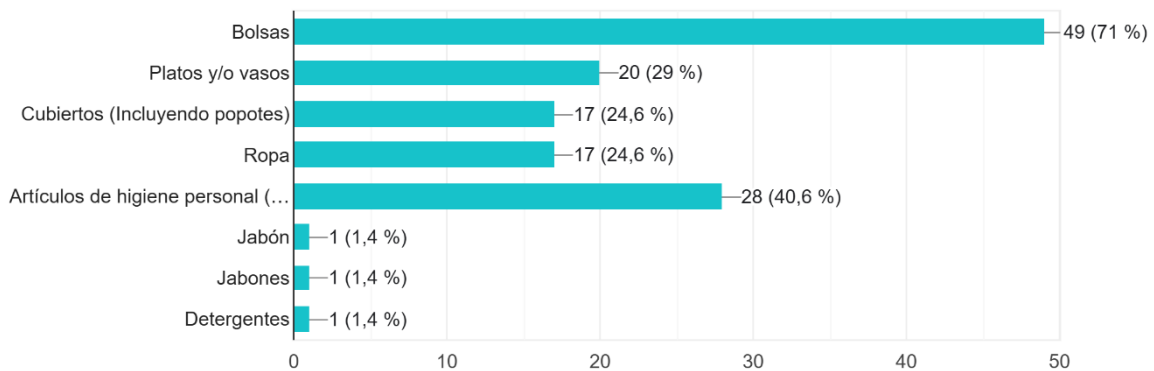


¿Usas algún producto que sea biodegradable?
86 respuestas



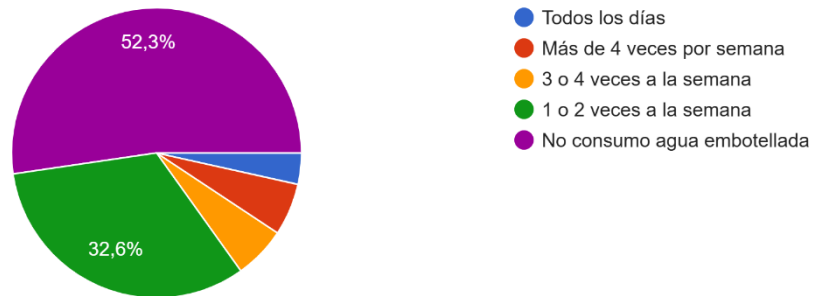
Suponiendo que sí consumes biodegradables. ¿De qué tipo serían?

69 respuestas



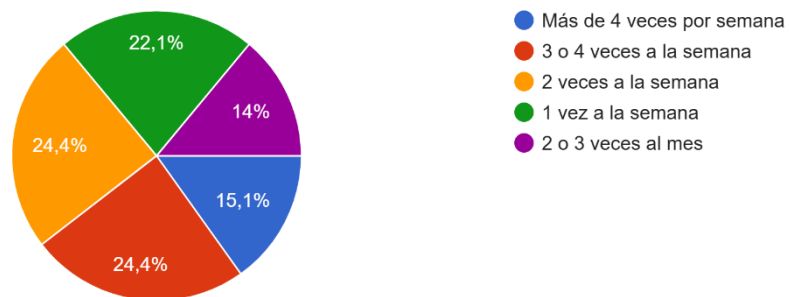
¿Cuántas veces a la semana consumes agua embotellada? (Sin tomar en cuenta garrafones)

86 respuestas



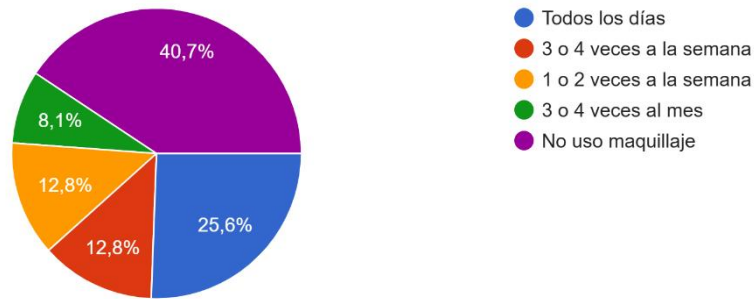
¿Qué tan seguido consumes alimentos que ya vienen empacados? (Exceptuando comida pedida para llevar). Ej. Botanas, embutidos, dulces, entre otros.

86 respuestas



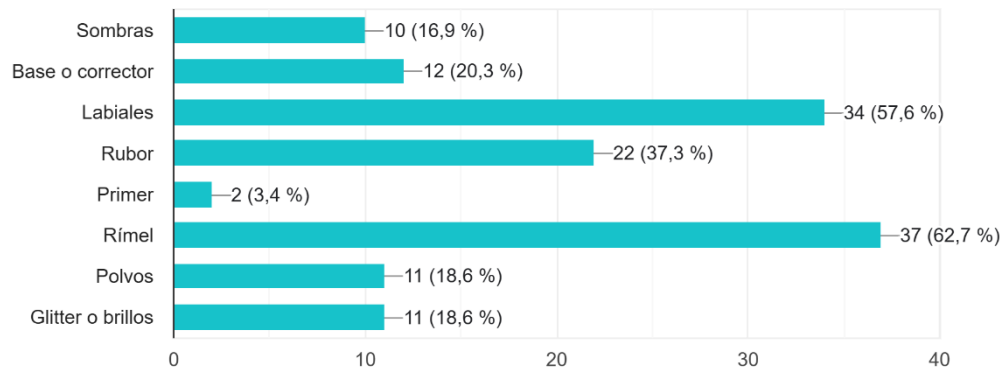
¿Qué tan seguido usas maquillaje?

86 respuestas



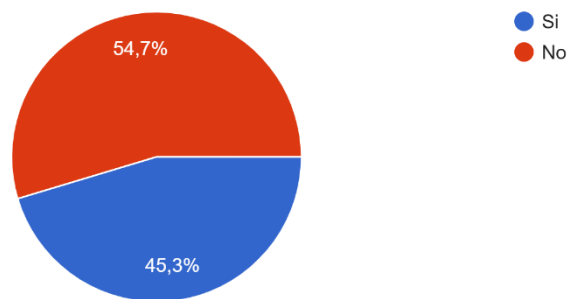
Asumiendo que usas maquillaje, ¿Cuál es el maquillaje que usas con más frecuencia? (Puedes seleccionar más de uno)

59 respuestas



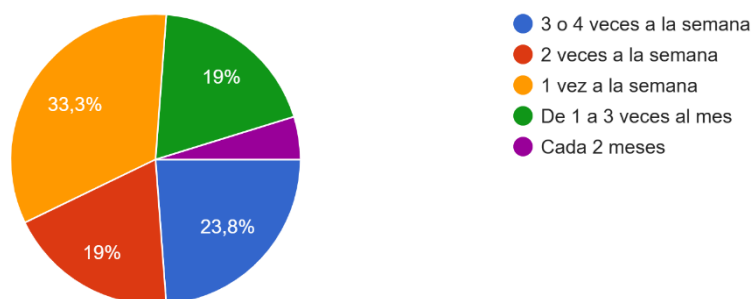
¿Exfolias tu cara?

86 respuestas



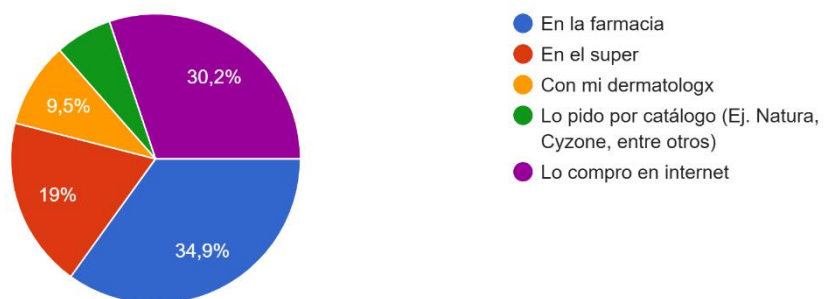
Si contestaste sí a la anterior pregunta, ¿Qué tan seguido lo haces?

42 respuestas



¿Dónde compras tu tratamiento dermatológico?

63 respuestas



ANEXO 2- Tabla de metabolitos detectados en modelo acuático

Metabolito	Desplazamiento químico ¹ H	Señal	Intensidad de señal		Papel biológico
			Contr.	Exp.	
Etanol	1.18 (t)	Control: No Expuesto: Si	7.5x10 ⁷	0	La presencia de etanol en el organismo es poco común. Exceptuando condiciones como estrés, inanición, enfriamientos, etc. ¹
Treonina	1.133(d)	Control: Si Expuesto: Si	6.25x10 ⁷	7.5x10 ⁷	Mediador en síntesis proteica, metabolismo energético y absorción de nutrientes. Asociado como un promotor del crecimiento, la salud intestinal y del sistema inmune. ²
Alanina	1.48 (d)	Control: No Expuesto: Si	1.0x10 ⁷	0	Componente de más del 60% del reservorio libre de aminoácidos α en el plasma (junto con glutamina). Regulador de glucosa en sangre. ³

Metabolito	Desplazamiento químico ¹ H	<i>Daphnia magna</i>	Intensidad de señal		Papel biológico
			Cont.	Exp.	
Ácido glutámico	2.2 (s)	Control: Si Expuesto : Si	7.5x10 ⁷	7.5x10 ⁷	Aminoácido esencial, productor de moléculas importantes como antioxidantes, otros aminoácidos, donantes de metilo y fosfolípidos. ⁴ En crustáceos es usado como una reserva metabólica durante el proceso de muda. ⁵
Ácido pirúvico	2.39	Control: No Expuesto : Si	0	1.5x10 ⁷	Compuesto intermediario del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, principalmente degradación de glucosa. Su aumento se ha observado como indicador de daño crónico en exposiciones prolongadas con tóxicos como mercurio e insecticidas. ⁶
Ácido cítrico	2.61	Control: Si Expuesto : No	7.5x10 ⁷	0	Ácido carboxílico esencial en el ciclo de Krebs. Se ha reportado que tóxicos como acetatos halogenados/ácidos acéticos, incluidos monofluoroacetato y trifluoroacetato alteran el ciclo del ácido cítrico en <i>D. magna</i> . ^{7,8}

Metabolito	Desplazamiento químico ¹ H	<i>Daphnia magna</i>	Intensidad de señal		Papel biológico
			Cont.	Exp.	
Asparagina	2.97	Control: Si Expuesto: No	7.5x10 ⁷	0	Metabolito esencial asociado con el desarrollo y la función apropiada del cerebro. ⁹
Glicerofosforilcolina	3.65	Control: No Expuesto: Si	0	5.0x10 ⁷	Precursor a la acetilcolina, transporta colina al cerebro. ¹⁰ Su incremento se ha relacionado con fallas en tejido muscular, como falta de fuerza e incremento de daño en tejido muscular. ¹¹
Prolina	4.12 (t)	Control: Si Expuesto: Si	1.0x10 ⁷	1.5x10 ⁷	Aminoácido usado por células musculares en crustáceos para la osmorregulación. ¹²

Nota. Valores obtenidos de Anaraki et al., 2013. ¹ Ostrovsky, 1986; ² Tang, 2021; ³ Holecek, 2024; ⁴ Navik, 2021; ⁵ Maity, 2012; ⁶ De Coen, 2001 piruvato; ⁷ Ksiazek, 2023; ⁸ Labine, 2021; ⁹ Ruzzo, 2013; ¹⁰ Parnetti, 2007; ¹¹ Taha, 2014; ¹² Shinji, 2012.

ANEXO 3- Tabla de metabolitos detectados en modelo terrestre

Metabolito	Desplazamiento químico ¹ H	<i>Rattus norvegicus</i>	Intensidad de señal		Papel biológico
			Contr.	Exp.	
Succinato	2.39 (s)	Control: Si Expuesto: No	1.00x10 ⁷	0	Intermediario del ciclo de Krebs, productor de ATP. Señaliza respuesta inflamatoria en el sistema inmune. ^{1,2}
Glutamina	2.41 (s)	Control: Si Expuesto: No	1.50x10 ⁷	0	Precursor de la glucosa. Precursor de energía para células inmunológicas e intestinales. ³
Creatina	3.04 (s)	Control: Si Expuesto: No	0.50x10 ⁷	0	Fuente instantánea de energía, ayuda a regenerar ATP y disminuir azúcar en sangre. Indicador de desórdenes neurológicos. ⁴
Asparagina	3.90 (m)	Control: Si Expuesto: No	1.50x10 ⁷	0	Precursor de la síntesis de proteínas, intermediaria en metabolismo de nitrógeno y amonio. ⁵
Lactato	4.11 (q)	Control: Si Expuesto: No	2.00x10 ⁷	0	Producto final de la glucólisis anaerobia, fuente de energía para cerebro y corazón, materia prima para glucosa en hígado. Promueve regeneración ósea. ⁶

Nota. Valores obtenidos de Deng, Y., et al. (2017).

¹Berg, 2007; ²Fernández, 2021; ³Bonet, 2007; ⁴Trentman, 2023; ⁵Pessino, 2024; ⁶Benarroch, 2022