

Universidad de Concepción  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Departamento de Zoología



**“Evaluación de la potencial presencia de microplásticos en fecas  
de *Lontra felina* (Molina, 1782) en Chome, región del Biobío,  
Chile”**

FABIANE YUNG RAMÍREZ

SEMINARIO DE TÍTULO PRESENTADO A LA FACULTAD DE CIENCIAS  
NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL  
DE BIÓLOGA

Julio 2023

Concepción, Chile

El Seminario de Título “EVALUACIÓN DE LA POTENCIAL PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS EN FECAS DE *LONTRA FELINA* (MOLINA, 1782) EN CHOME, REGIÓN DEL BIOBÍO, CHILE” de la Srta. “FABIANE YUNG RAMÍREZ” realizado en la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, ha sido aprobado por la siguiente Comisión Evaluadora:

Dr. Mauricio Urbina Foneron

Profesor Guía

Universidad de Concepción

Dr. Iván Hinojosa

Evaluador Externo

Universidad Católica de la Santísima Concepción

Dr. Diego Pérez-Venegas

Evaluador Externo

Universidad de Valparaíso

Dr. Víctor Hernández Santander

Coordinador Seminario de Título

Universidad de Concepción

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

*Por ti, Gonzalo. Estoy cumpliendo.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a mi papá, mamá y hermana por entregarme su apoyo todos estos años y creer en mí; también al resto de mi familia, sobre todo a Camila y Fabiola que siempre me han dado consejo y aliento. Agradezco a mis amigos dispersos en todos lados, a los de distancia y a los cercanos en la región, por cada vez que alguno me alentó con una palabra, una broma o un abrazo.

Al realizar mi práctica en el Centro de Estudios de Mastozoología Marina (CEMM), nació la idea de este proyecto, por lo que doy muchas gracias a Camila Calderón-Quirgas, Andrea Cisterna Concha y todo el equipo que me dio la motivación para realizarlo: guía, consejos, apoyo, y disposición para ser parte de los muestreos. No hubiera sido posible sin la asistencia y ayuda de la capitana en cada navegación, Fernanda Silva de Turismo Chome Aventura.

Muchísimas gracias a mi profesor guía Dr. Mauricio Urbina, por la paciencia, la guía y, sobre todo, la motivación que me ha entregado para terminar esta investigación. A todos los integrantes del Laboratorio de Fisiología Animal Comparada, les agradezco enormemente por la disposición a contestar siempre mis dudas, la preocupación, darme ánimos, lecciones del mundo de las ciencias y, sobre todo, la agradable compañía. Especialmente gracias a Rocío y Javier porque estuvieron siempre. Extrañare sentirme participe del equipo.

Agradezco a Richard Muñoz por la ayuda y guía que me apporto para comprender los factores oceanográficos del área de estudio, y, a mis evaluadores Dr. Iván Hinojosa y Dr. Diego Pérez-Venegas por su disposición y ánimo entregado.

Gracias al Proyecto ANILLO ACT 210073 del Laboratorio de Fisiología Animal Comparada por financiar parte de esta investigación.

Finalmente, nada de esto hubiera sido posible, sin la compañía de todos mis compañeros/as de vida en forma animal: Aby, Chascas, Tofa, Kali, Loti, el clan de gatos y por supuesto, Puppy. Porque con sus diferentes cariños me han impulsado a siempre seguir adelante.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>Hipótesis</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	11
<b>METODOLOGÍA</b> .....	12
<b>Permiso de muestreo</b> .....	12
<b>Área de estudio</b> .....	12
<b>Recolección de muestras</b> .....	14
<b>Preparación de muestras</b> .....	15
<b>Extracción e identificación de potenciales microplásticos</b> .....	17
A) Observación bajo lupa .....	18
B) Análisis mediante $\mu$ FTIR.....	20
<b>Análisis estadístico</b> .....	23
<b>RESULTADOS</b> .....	24
A) Observación bajo lupa .....	24
B) Análisis mediante $\mu$ FTIR.....	25
<b>DISCUSIÓN</b> .....	26
<b>Colores reportados para fibras</b> .....	26
<b>Análisis mediante <math>\mu</math>FTIR</b> .....	27
<b>Zona de estudio</b> .....	28
<b>Fibras antropogénicas</b> .....	30
<b>Celulosa reportada en investigaciones</b> .....	30
<b>Limitaciones metodología</b> .....	33

<b>Sugerencias para estandarización de investigaciones .....</b>	<b>35</b>
<b>Futuros estudios .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>51</b>
Anexo 1: Curvas de deshidratación para las muestras obtenidas en ambos terrenos.....	51
Anexo 2: Espectros $\mu$ FTIR para fibras analizadas. ....	52
Anexo 3: Espectros de referencia de distintos compuestos.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Área de estudio. A) Mapa de Chile. B) Ubicación comuna de Hualpén. C) Extremo de la península de Hualpén. Se indica ubicación de Caleta Chome (★) (36°46'25" S; 73°12'44" O) y sitios de muestreos: i) Los Chilcos norte (zona expuesta) (36°47'1"3 S; 73°12'15"8 O). ii) Los Chilcos norte (zona protegida) (36°47'4"5 S; 73°12'23"0 O). iii) Isla Lilambre (36°17'6"5 S; 73°13'3"0 O).....	13
Figura 2. Hábitat de Lontra felina. A) Muestreo en Isla Lilambre. B) Letrina. ....	14
Figura 3. Secado de muestras. Dentro de cada caja de aluminio se encuentran las muestras separadas envueltas en el mismo material.....	16
Figura 4. Digestión de muestras. Cada una reposa en una disolución de KOH (al 10% m/v), manteniéndose en el horno a 60° por 48 horas. ....	17
Figura 5. Observación bajo lupa. A) Fracción de una muestra en observación. B) Potencial microplástico presentado en una muestra. ....	19
Figura 6. Sujeción de las pinzas de búsqueda y extracción. Se observa que las puntas de las pinzas se encuentran completamente libres de contacto.....	20
Figura 7. Fibras en una muestra con presencia de sales. Se observan dos fibras contenidas en parte de las sales almacenadas en el tubo Eppendorf.....	21
Figura 8. Fibras para analizar bajo el sistema de microscopio de imagen. Se pueden observar las fibras identificadas por el número de muestra y de fibra. Las flechas negras indican zonas con agrupación de cristales en la fibra, que corresponde a las sales.....	23
Figura 9. Cuantificación de p-MP observados bajo lupa. A) Fibras observadas en las muestras según color. B) Total de fibras observadas según color. ....	24
Figura 10. Espectro de $\mu$ FTIR para fibra perteneciente al control de la muestra número 17. T%: Transmitancia. $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda.....	25

Figura 11. Curvas de deshidratación de las muestras correspondientes al primer muestreo (n=5).....	51
Figura 12. Curvas de deshidratación de las muestras correspondientes al segundo muestreo (n=19).....	51
Figura 13. Espectro de $\mu$ FTIR para 9 muestras. T%: Transmitancia. $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda. ....	52
Figura 14. Espectro de $\mu$ FTIR para 10 muestras. T%: Transmitancia. $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda. ....	53
Figura 15. Espectro FTIR de celulosa de nitrato. $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda. Analizada en un Nicolet iS10 FTIR en modo transmisión a una resolución de $4 \text{ cm}^{-1}$ y 100 escaneos. Figurada tomada de CAMEO, 2020. ....	54
Figura 16. Espectro FTIR de celulosa de nitrato. $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda. Analizada en un Nicolet iS10 FTIR en modo transmisión a una resolución de $4 \text{ cm}^{-1}$ y 100 escaneos. Figurada tomada de CAMEO, 2016. ....	55

## ABREVIATURAS

MT	millones de toneladas
MP	microplásticos
FTIR	espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier
ATR	reflectancia total atenuada
p-MP	potenciales microplásticos
PET	tereftalato de polietileno
PA	poliamida
SBR	caucho de butadieno-estireno
PE	polietileno
PAGE	poliacrilamida
PMMA	polimetil metacrilato (acrílico)
PP	polipropileno
PS	poliestireno
PVC	cloruro de polivinilo
MF	microfibras
ABS	acrilonitrilo butadieno estireno
PAN	poliacrilonitrilo
PVA	acetato de polivinilo
PV	polivinilo
PEA	poli (adipato de etileno)
PEU	poli (eter uretano)
PC	policarbonato
PTFE	politetrafluoroetileno

## RESUMEN

Los microplásticos (MP) son partículas contaminantes menores de 5 mm que se presentan en diversas formas y se han reportado en todo el mundo en distintos ambientes y organismos. Parte del impacto ambiental que causan es la ingesta y acumulación de estos (y sus contaminantes) en animales, siendo el estudio de fecas una forma de investigar MP en mamíferos. *Lontra felina*, nutria marina endémica de Perú y Chile en peligro de extinción, presenta reportes de MP en muestras fecales (Perú) y en especies presa, sin existir conocimientos para Chile. Considerando los antecedentes se plantea como hipótesis la presencia de MP en fecas de *Lontra felina*. El área de estudio considero tres sitios cercanos a Caleta Chome (Península de Hualpén, región del Biobío) donde se muestrearon un total de 27 fecas de nutria marina. La mitad de cada muestra fue digerida con Hidróxido de Potasio (KOH) al 10% masa/volumen (m/v) utilizando 20 ml g<sup>-1</sup> peso seco durante 48 horas a 60°C. La observación se realizó bajo estereoscopio extrayendo potenciales microplásticos (p-MP) con pinzas de acero inoxidable, posteriormente se analizó la composición mediante micro espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (μFTIR). Fecas de *L. felina* sólo presentaron fibras, con los colores negro y azul como los más abundantes y celulosa como el material que las compone, por lo que, se rechaza la hipótesis. La presencia de celulosa y ausencia de MP puede ser explicado mediante las condiciones oceanográficas de la zona de estudio además del tipo de dieta que lleva *L. felina*. Investigaciones similares en otros mamíferos demuestran resultados acordes, siendo las fibras de celulosa el material más abundante o incluso el único. Se discuten las limitaciones de metodología, técnicas usadas y falta de estandarización en protocolos para resaltar la necesidad de generar conocimiento respecto a la abundancia, distribución, interacciones y posibles efectos en organismos por parte de contaminantes como MP y fibras.

## ABSTRACT

Microplastics (MP) are pollutant particles smaller than 5 mm that occur in various forms and have been reported worldwide in different environments and organisms. Part of the environmental impact they cause is the ingestion and accumulation of these (and their pollutants) in animals, with the study of feces being a way to investigate MP in mammals. *Lontra felina*, a sea otter endemic to Perú and Chile in danger of extinction, presents reports of MP in fecal samples (Perú) and prey species, without any knowledge for Chile. Considering the antecedents, the presence of MP in feces of *L. felina* is hypothesized. The study area considered three sites near Caleta Chome (Hualpén Peninsula, Biobío region) where a total of 27 sea otter feces were sampled. Half of each sample was digested with Potassium Hydroxide (KOH) at 10% mass/volume (m/v) using 20 ml g<sup>-1</sup> dry weight for 48 hours at 60°C. The observation was made under a stereoscope extracting potential microplastics (p-MP) with stainless steel tweezers, then the composition was analyzed by Fourier transformed infrared micro spectroscopy (μFTIR). *L. felina* feces only presented fibers, with black and blue colors as the most abundant and cellulose as the material that composes them, so the hypothesis is rejected. The presence of cellulose and absence of PM can be explained by the oceanographic conditions of the study area as well as the type of diet that *L. felina* eats. Similar research in other mammals shows consistent results, with cellulose fibers being the most abundant or even the only material. The limitations of methodology, techniques used and lack of standardization in protocols are discussed to highlight the need to generate knowledge regarding the abundance, distribution, interactions and possible effects on organisms by pollutants such as MP and fibers.

## INTRODUCCIÓN

El plástico es un polímero sintético con variados atributos como baja densidad, baja conductividad eléctrica y térmica, y resistencia a la corrosión (Frias & Nash, 2019). La durabilidad otorgada por sus propiedades, el bajo costo de fabricación y las facilidades para ésta, hicieron despegar la producción masiva en 1950 (Geyer, 2020). Mundialmente se elaboran 400 millones de toneladas (MT) de plástico al año y más de un tercio de éste es producido para embalaje, consistiendo la mayoría en productos denominados plásticos de un solo uso (“Single Used Plastics” en inglés) (*Plastic Atlas*, 2019). Se proyecta para el año 2050 que la producción global de este material sería de 1100 MT (Geyer, 2020).

Reconocido como contaminante y con regulaciones en gran mayoría del mundo sobre el uso y desecho del plástico, actualmente, menos del 20% es reciclado (Geyer, 2020). Mal manejo en la producción, distribución, uso y desecho de plástico provoca que termine como un contaminante en diversos medios naturales. En el estudio de Jambeck y colegas (2015) se estimó el plástico desechado anualmente por poblaciones que viven a menos de 50 kilómetros (km) de la costa (a nivel mundial) y potencialmente pudo entrar al mar. Entre 4,8 a 12,7 MT de plástico entraron al océano el 2010, equivalente al 1,7-4,6% del total de plástico desechado durante ese año; sin embargo, los autores aclaran que debido a que no existen estimaciones globales para otras fuentes de ingreso de plástico al mar, se desconoce que fracción representa esta estimación en el total de plástico que ingresa al mar (Jambeck *et al.*, 2015).

En el ambiente marino, el 80% o más de los desperdicios marinos acumulados corresponde a plástico (Derraik, 2002; Barnes *et al.*, 2009). Las fuentes de origen y transferencia del plástico que ingresa al mar pueden ser directas o indirectas. Las redes plásticas de pesca, barcos, botes, acuicultura y otras industrias marinas, pesca recreacional, turismo en costas y bañistas son fuentes contaminantes de plástico, ya sea por desechar de forma directa, pérdida en transporte y/o accidentes; por otro lado, el plástico que ingresa al mar de forma indirecta, corresponde al que tiene procedencia de: ríos, sistemas de descarga de aguas

legales o ilegales, áreas densamente pobladas y áreas industriales (Derraik, 2002; Barnes *et al.*, 2009; Browne *et al.*, 2011; Cole *et al.*, 2011).

Al muestrear macroalgas en la superficie del mar de Sargasso en 1971, se encontraron partículas de plástico con un diámetro de 0,25 a 0,5 centímetros (cm) en su mayoría (Carpenter & Smith, 1972). En 1972, en aguas al sur de Nueva Inglaterra se encontraron esferas de poliestireno (PS) (Carpenter *et al.*, 1972). Décadas después, el término microplásticos (MP) es acuñado como piezas microscópicas de plástico (Thompson, 2004; Cole *et al.*, 2011). Cole y colaboradores (2011) observan la inconsistencia entre diversos autores para definir el tamaño de los microplásticos, llevando a dificultades para la comparación de estudios. Andrady (2011) los define como partículas de plástico que tienen dimensiones que van de unos pocos micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) a 5 milímetros (mm). Las formas principales en las que se presentan son fragmentos, fibras y gránulos (esferas) (Cole *et al.*, 2011), pero, también pueden ser catalogados como pellet, film, filamentos, esponjas y espumas (Frias & Nash, 2019).

Según el origen de los MP, estos pueden ser primarios cuando son producidos para tener dimensiones microscópicas y ser utilizados en preparaciones cosméticas, productos de limpieza u otros; y, secundarios, cuando son producto de la fragmentación de plásticos de mayor tamaño (Thompson, 2004; Cole *et al.*, 2011). Considerando las fuentes de origen y transferencia de plástico mencionadas anteriormente, las causas de origen de MP en el océano son: la pérdida de MP primarios en el proceso de fabricación, transporte y/o uso que llegan de forma directa (Andrady, 2011, 2017), y, la fragmentación de plásticos durante el uso o por efecto acumulativo de procesos físicos, biológicos y químicos (Browne *et al.*, 2007; Andrady, 2011, 2017).

Los microplásticos se han registrado en variedad de sistemas acuáticos en todo el mundo: aguas superficiales del océano (Barnes *et al.*, 2009), sedimentos marinos (Thompson, 2004; Barnes *et al.*, 2009), sedimentos de estuarios (Thompson, 2004), playas y líneas de costa (Thompson, 2004; Barnes *et al.*, 2009; Browne *et al.*, 2011; Hidalgo-Ruz & Thiel, 2013) y ríos (Miller *et al.*, 2017; Dris *et al.*, 2018;

Stanton *et al.*, 2019) entre otros. De igual forma, los estudios de MP en Chile se han realizado sobre: la circulación de MP en la columna de agua en las canales Martínez y Baker (Castillo *et al.*, 2020), distribución espacial en los sedimentos marinos del mar interior de Chiloé (Jorquera *et al.*, 2022), el río Biobío (Correa-Araneda *et al.*, 2022) y fiordos en el sur de la Patagonia (Marcus *et al.*, 2024).

El impacto ambiental del plástico en animales considera el enredo en redes de pesca activa o redes fantasmas lo que causa lesiones, sofocación y muerte del individuo, la ingestión del compuesto causando daños internos e inanición y el transporte de especies no nativas a nuevos hábitats (Barnes, 2002; Derraik, 2002; Browne *et al.*, 2007; Cole *et al.*, 2011). Por otro lado, se suma el efecto tóxico de los contaminantes que son transferidos desde el plástico hacia el organismo mediante su ingestión, categorizados en: contaminantes orgánicos persistentes (sigla POPs en inglés) presentes en el agua marina que se adhieren a la superficie del plástico debido a la composición de sustancias hidrofóbicas que posee, aditivos añadidos al plástico durante la fabricación y monómeros residuales en éste (Teuten *et al.*, 2009; Cole *et al.*, 2011; Ivar do Sul & Costa, 2014; Andrady, 2017; Nabi *et al.*, 2022). De esta forma, el plástico actúa como un reservorio y transporte de contaminantes químicos en el ambiente, sin embargo, para los MP esta característica se ve potenciada debido a que poseen una mayor relación de superficie área/volumen que partículas de mayor tamaño (Browne *et al.*, 2007; Nabi *et al.*, 2022), además, debido al pequeño tamaño se considera una mayor disposición para la ingesta, y por ende, acumulación (Cole *et al.*, 2011).

Debido a la dificultad para llevar a cabo investigaciones controladas en vertebrados marinos de gran tamaño, el muestreo oportunista es el que ha permitido demostrar interacciones entre estos organismos y MP, de forma contraria, las investigaciones en invertebrados generalmente se restringen a experimentos controlados en laboratorios (Ivar do Sul & Costa, 2014). Aunque existe gran discusión sobre las concentraciones de MP que se utilizan en los experimentos, algunos de los efectos que se han estudiado son: traslocación y deposición de MP en distintos tejidos de mamíferos marinos (Merrill *et al.*, 2023),

daño intestinal y mortalidad en *Artemia franciscana* (Kim *et al.*, 2021), cambios en la alimentación, función y fecundación en *Calanus helgolandicus* (Cole *et al.*, 2015), alteración en la reproducción de *Crassostrea gigas* (Sussarellu *et al.*, 2016), confusión con presa y reducción en rendimiento y eficiencia como depredador en *Pomatoschistus microps* (Carlos de Sa *et al.*, 2015), alteraciones intestinales en *Dicentrarchus labrax* (Peda *et al.*, 2016), cambios en los parámetros fisiológicos y metabólicos en *Petrolisthes laevigatus* (Urbina *et al.*, 2023), cambios fisiológicos, bioquímicos y moleculares en *Artemia franciscana* (Varo *et al.*, 2019).

El consumo de plástico de forma directa puede ocurrir de forma accidental por el tipo de alimentación que posee el organismo o por selección activa debido a la incorrecta identificación de MP por comida (Ory *et al.*, 2018). El consumo indirecto es resultado de la transferencia trófica cuando presas contaminadas son consumidas por predadores (Farrell & Nelson, 2013; Nelms *et al.*, 2018). Eriksson & Burton (2003) postularon que la acumulación de plásticos en el mamífero marino que estudiaban podía ocurrir mediante la transferencia trófica, por la proximidad de ciertas especies de pez en las que se tenía reportes sobre MP (Donohue *et al.*, 2019). En condiciones de laboratorio se ha evidenciado la transferencia trófica de MP (Farrell & Nelson, 2013), sin embargo, la ocurrencia en animales salvajes y organismos de alto nivel trófico era desconocida hasta la investigación realizada por Nelms y colegas (2018). El estudio fue realizado en un ambiente controlado (santuario de animales) analizando los pescados (*Scomber scombrus*) con que eran alimentadas focas grises, *Halichoerus grypus*, y las fecas de éstas, demostrando por primera vez evidencia empírica para la transferencia trófica de MP desde pescados a un depredador tope marino (Nelms *et al.*, 2018).

Para eliminar microplásticos del sistema interno, varios organismos utilizan el proceso natural de expulsión de material digestible y no digestible, las heces (Perez-Guevara *et al.*, 2021). En carnívoros la materia fecal se presenta en forma cilíndrica o helicoidal, puntiaguda en un extremo, y con subdivisiones (Muñoz, 2010), y se ha evidenciado para diferentes especies de mamíferos, el uso de letrinas, definidas como una acumulación desde dos hasta varios cientos de fecas

resultado del uso repetido del sitio por el mismo o diferentes individuos (Buesching & Jordan, 2022).

De acuerdo con Schilling y colegas “las muestras de heces representan una fuente de datos sobre el estado general de salud de una población” (2015) debido a que pueden ser usadas para estudios de dieta, detección de patógenos, medición de parámetros fisiológicos y estudiar la presencia de compuestos tóxicos y contaminantes, como es el caso del plástico. En mamíferos marinos se han utilizado muestras de heces o partes de ella para realizar diversos estudios, en varios, el estudio de dieta llevo al hallazgo accidental de plástico en las heces, en otros, directamente se estudió al contaminante. Se ha estudiado a *Ursus maritimus* (Iyare *et al.*, 2024) y pinnípedos: *Odobenus rosmarus* (Carlsson *et al.*, 2021), *Phoca vitulina* (Bravo Rebolledo *et al.*, 2013; Hudak & Sette, 2019), *Halichoerus grypus* (Nelms *et al.*, 2018; Hudak & Sette, 2019; Nelms *et al.*, 2019b; Desclos-Dukes *et al.*, 2022), *Monachus monachus* (Hernandez-Milian *et al.*, 2023; McIvor *et al.*, 2023), *Zalophus californianus* (Ortega-Borchardt *et al.*, 2023), *Zalophus wollebaeki* (Moreira-Mendieta *et al.*, 2023), *Phocarcos hookeri* (McMahon *et al.*, 1999), *Arctocephalus gazella* (Goldsworthy *et al.*, 1997; Eriksson & Burton, 2003; Ryan *et al.*, 2016; Garcia-Garin *et al.*, 2020), *Arctocephalus tropicalis* (Goldsworthy *et al.*, 1997; Eriksson & Burton, 2003; Ryan *et al.*, 2016), *Callorhinus ursinus* (Donohue *et al.*, 2019), *Arctocephalus australis* (Perez-Venegas *et al.*, 2018; 2020), *Otaria byronia* (Perez-Venegas *et al.*, 2020; Ayala *et al.*, 2021) y *Arctocephalus phillippii* (Perez-Venegas *et al.*, 2020). Las investigaciones de Perez-Venegas y colaboradores (2018; 2020) en pinnípedos han sido las únicas sobre MP en heces de mamíferos marinos en Chile, sin existir conocimiento sobre la presencia de estos contaminantes en otras especies endémicas como es el caso de *Lontra felina*, nutria marina catalogada “en peligro” de extinción según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Valqui & Rheingantz, 2015), y el Reglamento de Clasificación de Especies (RCE)(D.S. 44/21 MMA).

*L. felina* conocida como chungungo, chinchimen y/o gato de mar, pertenece a la familia Mustelidae, subfamilia Lutrinae, siendo la única especie del género *Lontra* que se encuentra de forma exclusiva en hábitos marinos (Estes, 1986; Ostfeld *et al.*, 1989; Lariviere, 1998), en Perú y Chile. Es la nutria más pequeña con una longitud promedio de 90 cm y cola de 34 cm, un peso que varía entre 3,2-5,8 kilogramos y ausencia de dimorfismo sexual (Lariviere, 1998). Habita el litoral costero rocoso escarpado al proveer galerías y cuevas que utiliza como madriguera (Castilla & Bahamondes, 1979; Valqui, 2012) aunque también puede usar construcciones humanas como muelles, grietas y botes abandonados (Medina-Vogel *et al.*, 2007). Utiliza el marcaje de olor defecando en letrinas o en lugares específicos a la entrada de las cuevas (Valqui *et al.*, 2010; Valqui, 2012), sin embargo, las heces regularmente son lavadas y/o retiradas por el oleaje o mareas altas (Castilla & Bahamondes, 1979). La franja costera que utiliza alcanzaría los 150 metros con una profundidad entre 30 a 40 metros, en tierra la franja no superaría los 30 metros, siendo la zona de mayor uso entre los 20 y 50 metros dentro de la franja costera (Castilla & Bahamondes, 1979; Sielfeld & Castilla, 1999). Su alimentación consiste en crustáceos, peces y moluscos, además de equinodermos y ocasionalmente aves (Castilla & Bahamondes, 1979; Lariviere, 1998; Valqui, 2012), es un depredador oportunista que se alimenta principalmente de especies bentónicas, respondiendo a una variación estacional en la disponibilidad de presas (Sielfeld & Castilla, 1999; Medina-Vogel *et al.*, 2004; Valqui, 2012).

La caza, destrucción de hábitat naturales y contaminación (Castilla & Bahamondes, 1979) junto con la mortalidad accidental en redes de pesca (Mangel *et al.*, 2010), persecución y/o caza con transmisión de enfermedades por parte de especies invasoras (perros, gatos y ratas) (Medina-Vogel *et al.*, 2007; Cursach *et al.*, 2012) y el proceso de urbanización acelerado del litoral costero, son factores críticos para la supervivencia del chungungo. La caza con fines peleteros durante el siglo XX disminuyó sus poblaciones, actualmente se encuentra prohibida en Chile por el artículo 24 de la Ley de Caza de 1973, cuya regulación se rige por la Ley de Caza de Pesca y Acuicultura; además, se encuentra listada en la

Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES) y la Convención de Especies Migratorias (CMS), sin embargo, la caza ilegal se ha evidenciado aún en la actualidad (Córdova & Rau, 2016). El aumento de asentamientos humanos en el litoral costero incluyendo inmobiliarias, industrias y pesquerías han acelerado la degradación y fragmentación de hábitat del chungungo (Medina-Vogel *et al.*, 2008; Valqui, 2012). La presencia de contaminantes en el hábitat de la nutria marina se ha evidenciado a través de la ingesta accidental de veneno para ratas (Mangel *et al.*, 2010), el consumo de basura doméstica (Medina-Vogel *et al.*, 2007) y presencia de plástico en las heces (Poblete *et al.*, 2019; Santillán *et al.*, 2020).

El trabajo de Poblete y colaboradores en Chile (2019) sólo menciona el material plástico dentro de sus registros como material no alimentario pero, no especifica la metodología de recolección de las muestras ni tampoco las dimensiones del material encontrado, por lo que no se considera como reporte de MP en heces de chungungo. En Perú se reportó por primera vez la presencia de fibras, fragmentos y esferas en fecas de la especie, sin embargo, al no especificar el número de muestras ni la cantidad de partículas encontradas, no se tiene conocimiento sobre la concentración del contaminante (Santillán *et al.*, 2020). De las trece especies de nutrias existentes en el mundo sólo tres han evidenciado presencia de microplásticos en materia fecal: *Lontra felina* (Santillán *et al.*, 2020), *Lontra canadensis* (Heun *et al.*, 2022) y *Lutra lutra* (Smiroldo *et al.*, 2019; Tetteh-Wright, 2019; O'Connor *et al.*, 2022). Al estudiar la dieta de la nutria de río norteamericana (*Lontra canadensis*) que habita las cuencas de drenaje del río Mississippi y lago Michigan, se obtuvo que de las 190 fecas muestreadas un 48% poseía material no biológico en forma de perlas, comprobando mediante microscopio electrónico que correspondía a material plástico, sin embargo, mediante la metodología usada no se pudo confirmar el tipo de plástico (Heun *et al.*, 2022). En el río Ticino (Italia) se analizó la dieta de la nutria europea (*Lutra lutra*) confirmando mediante espectroscopía infrarroja transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) que 2 de los 24 potenciales microplásticos (p-MPs) encontrados correspondían a plástico, siendo polietileno tereftalato (PET) y poliamida (PA) los

compuestos hallados, de igual forma, el resto de p-MP son de fuente antrópica pero de origen natural (celulosa y algodón) (Smiroldo *et al.*, 2019). La misma especie se estudió en los ríos Stour y Colne (Inglaterra) encontrando 7 p-MP en forma de perlas en 63 muestras de fecas, siendo confirmada la composición mediante espectroscopía de Raman como caucho de butadieno-estireno (SBR) (Tetteh-Wright, 2019). O'Connor y colaboradores (2022) presentan una investigación de mayor complejidad al compararse con los estudios mencionados anteriormente, trabajaron con las heces de la nutria europea con el objetivo de evaluar las potenciales vías de aporte de microplásticos y su transferencia dentro de la cadena trófica en el río Slaney (Irlanda). Clasificando los sitios de recolección según región, exposición (alta o baja) a MP (cercanía a ciudades, industrias, etc.), el estado de las muestras (seca, intermedia, fresca) y la variación estacional, encontraron 58 p-MP en 53 muestras, de los cuales 40 fueron confirmados mediante micro espectrometría infrarroja transformada por Fourier ( $\mu\text{m-FTIR}$ ) como compuestos plásticos, fibras en su mayoría (O'Connor *et al.*, 2022). Respecto a las condiciones estudiadas sólo encontraron diferencias significativas en la variación estacional, siendo la estación de otoño la que presentó un promedio mayor respecto a la concentración de MP (O'Connor *et al.*, 2022).

También existe evidencia de MP en especies presa del chungungo: *Lithodes santolla* (centolla patagónica), *Merluccius gayi* (merluza común), *Eleginops maclovinus* (róbalo patagónico), *Aplodactylus punctatus* (jerguilla), *Semimytilus algosus* (mejillón enano), *Chiton granosus* (chitón) y *Tegula atra* (caracol negro); especies reportadas como parte de la dieta de *L. felina* en diversos estudios de análisis de dieta (Castilla & Bahamondes, 1979; Ostfeld *et al.*, 1989; Rozzi & Torres-Murra, 1990; Sielfeld, 1990; Sielfeld & Castilla, 1999; Medina-Vogel *et al.*, 2004; Córdova *et al.*, 2009; Poblete *et al.*, 2019). Andrade & Ovando (2017) analizaron el contenido estomacal de 30 centollas patagónicas encontrando en un 27% fibras de color azul en su mayoría, sin embargo, no se hicieron análisis de material. En el trabajo de Pozo y colaboradores (2019) se evidenció la presencia de MP en cinco peces de importancia comercial de la región del Biobío, tres de los cuales son presas de la nutria marina: la merluza común contenía un 10% de MP,

el róbalo patagónico un 30% y la jerguilla un 20%, según el número de individuos analizados por especies, presentaron fibras de colores rojo y blanco y la composición fue categorizada mediante FTIR, siendo polietileno (PE) y PET. Por último, la investigación realizada por De-la-Torre y colegas (2020) comparo la presencia de MP en tres especies de moluscos: el mejillón enano presentó fibras, fragmentos, esferas y films, con el color azul como el más abundante, en cambio, el chitón y caracol negro sólo presentaron fibras y fragmentos siendo rojo el color más abundante; en este estudio sin embargo no se realizaron análisis de material.

Considerando los hallazgos de MP en fecas de nutrias, incluyendo el reporte de Santillán y colaboradores (2020) en *L. felina*, la presencia de MP en especies consumidas por ésta, la ausencia de información sobre la presencia de MP en fecas en nuestro país y, por último, la necesidad de aumentar y profundizar el conocimiento que se tiene sobre la especie para mejorar la toma de decisiones respecto a su conservación se plantea lo siguiente:

### **Hipótesis**

Las heces de *Lontra felina* presentan microplásticos.

### **Objetivos**

➤ Objetivo general:

Evaluar la presencia de microplásticos en fecas de *Lontra felina*.

➤ Objetivos específicos:

1) Identificar la presencia de p-MP en heces de *L. felina*.

2) Analizar el tipo de polímero de los p-MP.

## **METODOLOGÍA**

### **Permiso de muestreo**

Siendo parte del proyecto “Conocimiento y estado de salud de los ecosistemas marinos de la costa de Chile, a través del muestreo de mamíferos marinos como centinelas ambientales” del Centro de Estudios de Mastozoología Marina (CEMM), se tiene el permiso de pesca de investigación autorizado por SUBPESCA (R. EX. N°E-2022-189).

### **Área de estudio**

En la región del Biobío se encuentra la comuna de Hualpén y su península (Fig. 1) es considerada Santuario de la Naturaleza (D.S. 556/76 ME). La Península de Hualpén se encuentra limitada en su mayoría por litoral marino del océano Pacífico, caracterizado por roqueríos (Fig. 2A), acantilados abruptos en algunas zonas y planicies que han sido utilizadas como caletas (GCC Consultores Limitada, 2002), correspondiendo una de estas a Caleta Chome, localidad desde donde se trasladó en bote hacia los sitios muestreados. Éstos, fueron escogidos por la accesibilidad desde el bote y de acuerdo con el conocimiento local, el uso de estos por parte de chungungos.

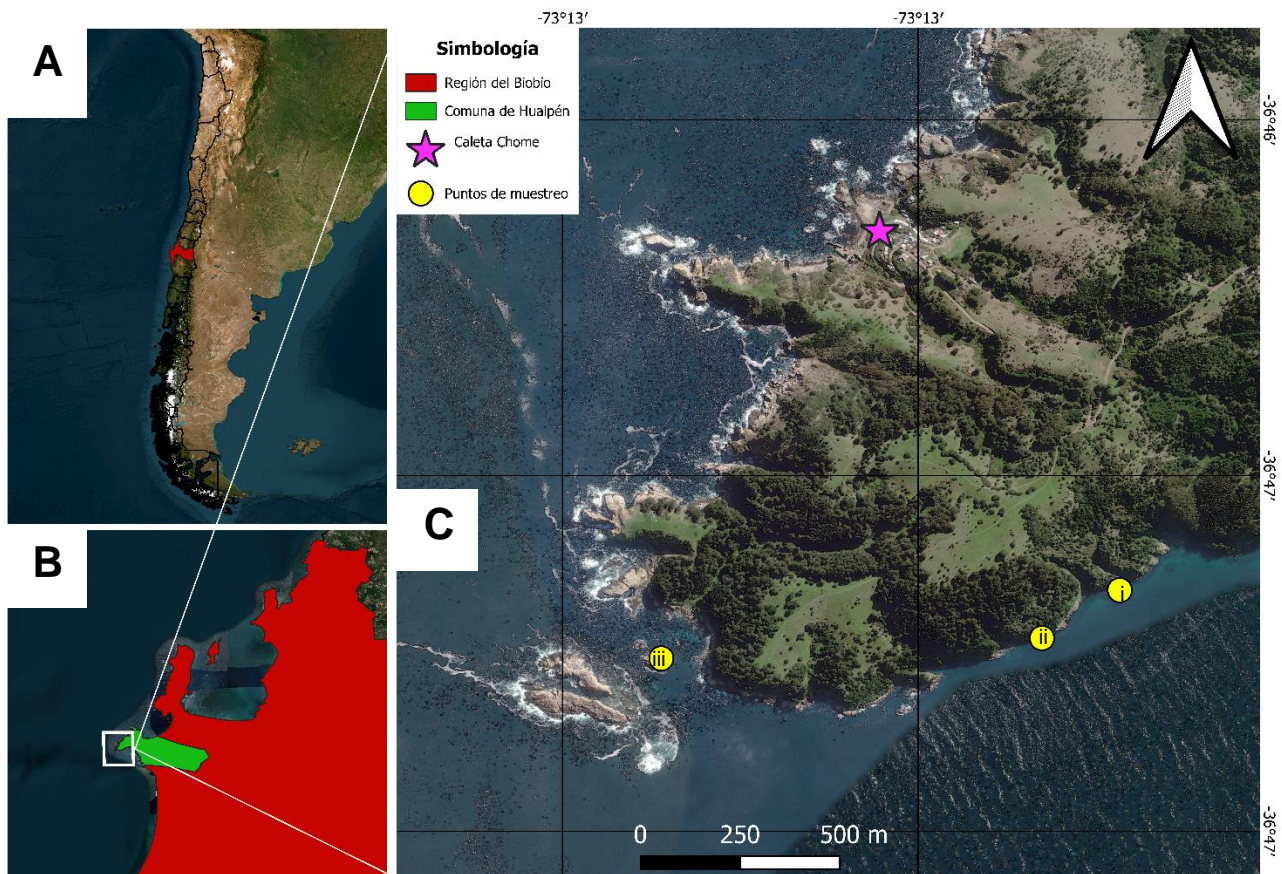


Figura 1. Área de estudio. A) Mapa de Chile. B) Ubicación comuna de Hualpén. C) Extremo de la península de Hualpén. Se indica ubicación de Caleta Chome (★) ( $36^{\circ}46'25''$  S;  $73^{\circ}12'44''$  O) y sitios de muestreos: i) Los Chilcos norte (zona expuesta) ( $36^{\circ}47'1''3$  S;  $73^{\circ}12'15''8$  O). ii) Los Chilcos norte (zona protegida) ( $36^{\circ}47'4''5$  S;  $73^{\circ}12'23''0$  O). iii) Isla Lilambre ( $36^{\circ}17'6''5$  S;  $73^{\circ}13'3''0$  O).

Las condiciones meteorológicas de altas marejadas y fuertes vientos restringieron los muestreos a las fechas en que se tuvieran ventanas de buen clima. Los dos muestreos se realizaron en la estación de primavera en el año 2022, entre las 09 y 13 horas. El primer muestreo se realizó el 09 de Septiembre y considero el sitio Los Chilcos norte (zona expuesta) (Fig. 1. C. i) donde se recolectaron 5 muestras fecales. Para ese día la temperatura media fue de  $9.1^{\circ}\text{C}$ , ausencia de precipitación, humedad relativa de 72% y viento sur (Dirección Meteorológica de Chile). El segundo muestreo realizado el 03 de noviembre del mismo año, considero dos sitios: Los Chilcos norte (zona protegida) (Fig. 1. C. ii) donde se obtuvieron 3 muestras, e Isla Lilambre (Fig.1. C. iii), donde se recogieron 19 fecas,

obteniendo un n total para ambos muestreos de 27. La temperatura media para ese día fue de 12.3°C, ausencia de precipitación, humedad relativa de 82.8% y viento norte (Dirección Meteorológica de Chile).

### Recolección de muestras

Previo a dirigirse al sitio de muestreo se utilizó cubrebocas y guantes de nitrilo. Una vez en el sitio se obtuvieron las coordenadas geográficas mediante GPS.

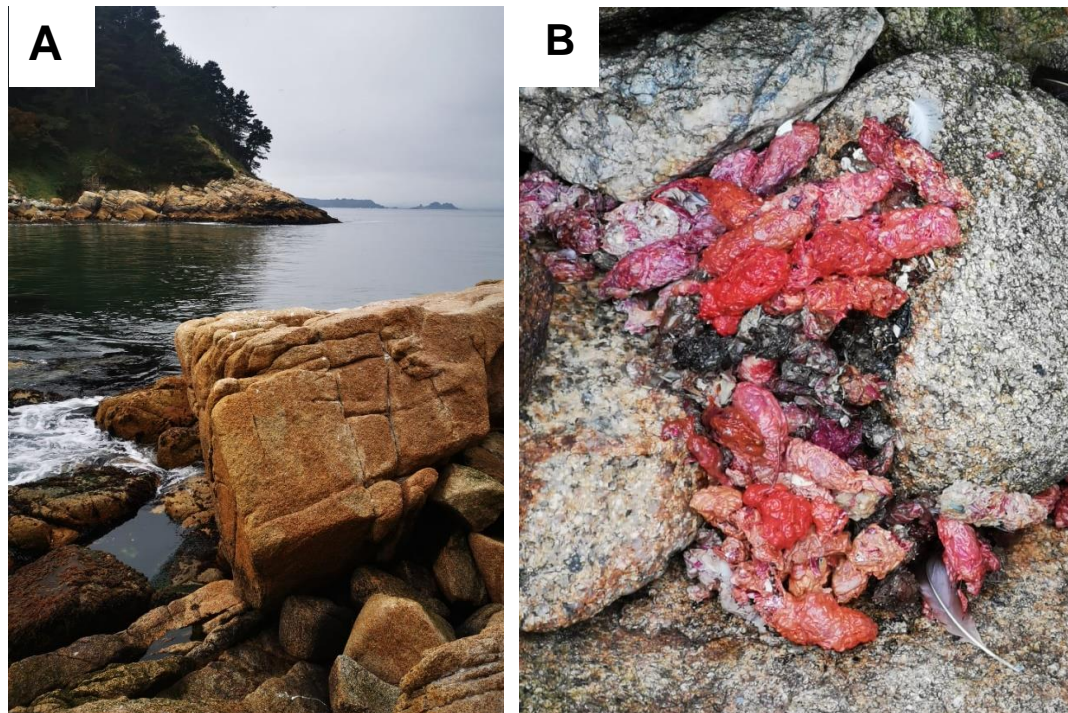


Figura 2. Hábitat de *Lontra felina*. A) Muestreo en Isla Lilambre. B) Letrina.

Las fecas se conforman por uno o varios pellets, de esta forma, por unidad muestral se consideró un pellet de feca aislado o pellets que estuvieran unidos visiblemente. Se recolectaron heces aisladas y en letrinas (Fig. 2B) de fácil acceso, teniendo cuidado de no dañar la estructura de ésta, es decir, se muestrearon fecas en la superficie o bordes, evitando modificar la conformación general de la letrina. Al momento de recolectar cada feca se anotó: el número de la muestra dado por el sobre de aluminio donde se envasó, la fecha, hora de recolección, sitio donde fue recolectada, pertenencia a letrina, estado (fresca o no fresca), color y forma. Las muestras fueron almacenadas en una caja de cartón

forrada interiormente con aluminio. Posterior al guardado y llenado de la planilla, se limpió la pinza/espátula utilizada rociando agua destilada, alcohol y agua destilada (filtrados previamente) para eliminar posibles restos de la muestra y no contaminar la siguiente a recolectar. Al finalizar las muestras se llevaron al Laboratorio de Fisiología Animal Comparada de la Universidad de Concepción y fueron congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **Preparación de muestras**

Se utilizó el cabello recogido, delantal y guantes de nitrilo durante las tareas de laboratorio, se limitó el acceso a personas y las corrientes de aire fueron reducidas al mínimo. Se mantuvo puertas y ventanas cerradas, junto con el extractor de aire apagado en todo momento. El área de trabajo se limpió con alcohol al 70% antes y después de los procedimientos.

Las filtraciones de agua destilada y otros solventes se realizaron utilizando un kit de filtración al vacío con filtro de celulosa de nitrato (80 mm de diámetro con  $0,65\ \mu\text{m}$  de poro). Los instrumentos y materiales se lavaron con agua destilada filtrada previo a su uso.

Usando una balanza (Kern ABJ 220-4 NM, precisión  $0,0001\text{g}$ ) se pesó primero un cuadrado de papel aluminio, luego sobre este, se ubicó una muestra ya retirada del congelador y sin su envoltorio, y se pesó en conjunto. Se realizó el mismo procedimiento con todas las muestras obteniendo los pesos húmedos. La mitad de cada muestra (aprox.) fue almacenada en un tubo Falcon de 50 ml con etanol al 70% para análisis posteriores (no forman parte de este trabajo). La mitad restante se utilizó para el estudio de microplásticos. Las muestras envueltas en aluminio se llevaron al horno (Binder B028-230V<sup>1</sup>) a  $60^{\circ}\text{C}$  donde se mantuvieron entre 6 a 7 días (Fig. 3) y se fueron pesando cada 48/72 horas hasta obtener peso constante (Anexo 1). A este peso se le sustrajo el peso del aluminio donde cada muestra se encontraba, obteniendo de esta forma el peso seco para cada una.



Figura 3. Secado de muestras. Dentro de cada caja de aluminio se encuentran las muestras separadas envueltas en el mismo material.

Para asegurar un tratamiento adecuado de digestión se utilizó una muestra en pruebas de concentración y tiempos de calor aplicados al tratamiento.

La digestión de las muestras se realizó con Hidróxido de Potasio (KOH) al 10% m/v (masa/volumen), utilizando 20 mililitros (ml) de KOH por gramo (g) de muestra seca. Para aquello se calculó la cantidad de volumen a utilizar para el total de muestras (n=26). Considerando un peso total de 39,94 g se debieron preparar 798,80 ml de disolución de KOH. Para calcular la cantidad de masa (g) de pellets de KOH necesaria para preparar la disolución, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \left( \frac{m}{v} \right) = \frac{\text{masa soluto}}{\text{volumen solución}} \times 100\% \quad (1)$$

Al reemplazar en la Ecuación 1 el volumen, se obtiene la cantidad de masa para preparar la disolución, requiriendo 79,9 g de pellets de KOH. Se tuvo especial cuidado al momento de preparar la disolución debido a la reacción exotérmica de ésta, filtrándola una vez haya adquirido la temperatura ambiental.

Cada muestra fue depositada en un frasco de vidrio de 50 o 100 ml según volumen donde se añadió la disolución de KOH al 10%. Cada frasco fue agitado unos segundos y cubierto con aluminio el cual poseía una pequeña abertura en medio para permitir evaporación. Los frascos debidamente rotulados se ingresaron al horno donde se mantuvieron a 60°C por 48 horas (Fig. 4).



Figura 4. Digestión de muestras. Cada una reposa en una disolución de KOH (al 10% m/v), manteniéndose en el horno a 60° por 48 horas.

### **Extracción e identificación de potenciales microplásticos**

Para esta sección del trabajo se utilizaron siete muestras tipo ensayo para: observar posible contaminación y errores en la metodología, practicar la búsqueda y extracción de microplásticos con las pinzas, igualar tiempos de búsqueda, notar

el movimiento de los instrumentos y la precaución de no contaminarlos, y demás consideraciones que se debieron tener para lograr una correcta metodología, siendo esta presentada a continuación.

#### A) Observación bajo lupa

Los criterios utilizados para definir microplásticos son: color homogéneo, ausencia de estructuras naturales, y para el caso de fibras, éstas deben ser de espesor constante y sin que se deshilachen en los extremos (Norén, 2007; Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Lusher *et al.*, 2014; Lusher & Hernandez-Milian, 2018). Sin embargo, mientras no se confirme una partícula como microplástico (material especificado) se debe utilizar el término potencial microplástico (p-MP) (Zantis *et al.*, 2021). Al momento de encontrar p-MP se anotó el correspondiente número de la muestra, número de p-MPs, forma y color de cada p-MP.

Previo a comenzar observaciones fue requisito lavar con agua destilada filtrada la placa Petri donde se realizaría la observación y también, los instrumentos para la búsqueda de los p-MP. Para confirmar la limpieza y que estuvieran libres de contaminación alguna, tanto placas como instrumentos se observaron bajo lupa estereoscópica (Modelo MSZ5000-IL-TL).

Cada muestra (Fig. 5) fue trasvasijada en pequeñas cantidades a la placa Petri donde se observó añadiendo un par de mililitros de agua destilada filtrada, facilitando el desprendimiento de estructuras para su visualización y revisión. La placa Petri de cada muestra fue examinada de forma sistemática en un patrón horizontal desde la zona superior a la inferior asegurando la observación de toda la superficie. Se hicieron dos (máximo tres) lavados con agua destilada al frasco contenedor para observar cualquier potencial resto de la muestra adherido a éste y tener la seguridad que se analizó la totalidad de la muestra.

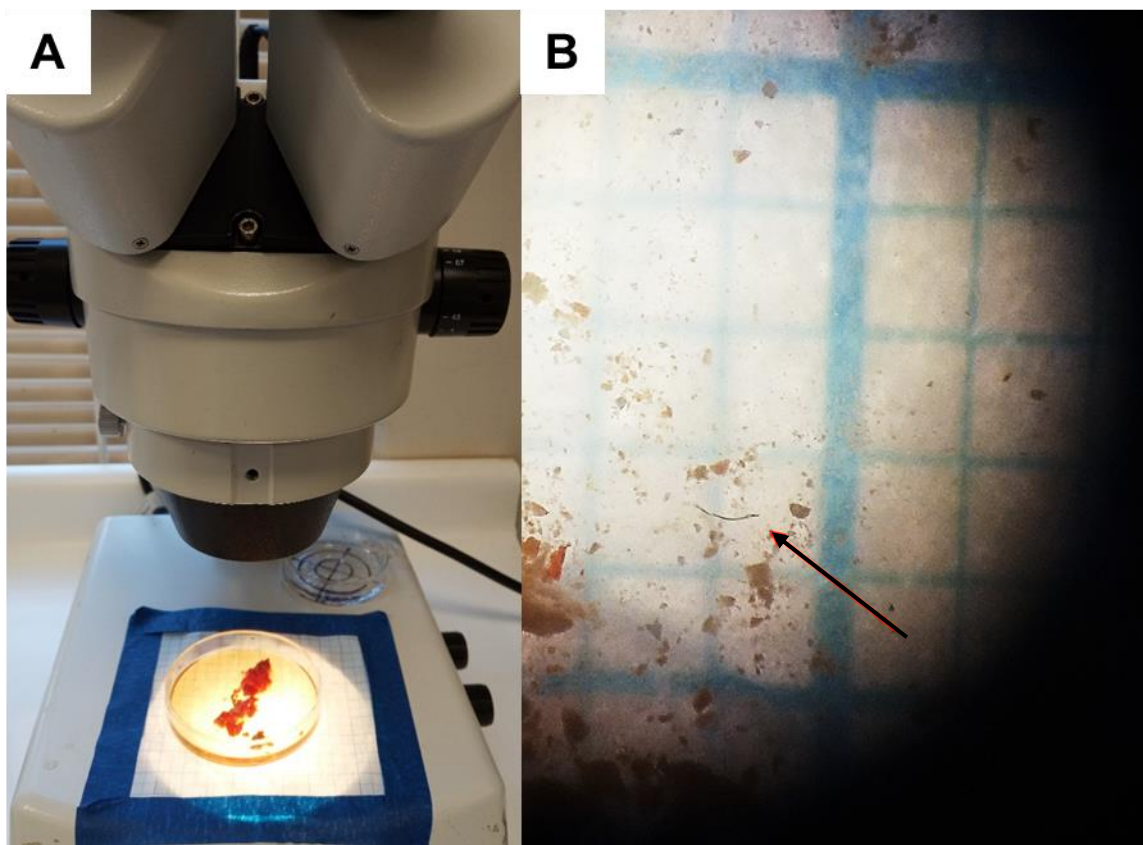


Figura 5. Observación bajo lupa. A) Fracción de una muestra en observación. B) Potencial microplástico presentado en una muestra.

Cercana a cada muestra observada se mantuvo una placa Petri con agua destilada utilizándola como blanco para evaluar posibles contaminantes del aire, la que fue analizada de igual forma que las muestras. Cada fracción de muestra y blanco tuvieron tiempos similares de observación.

Se utilizaron pinzas antiestáticas ESD de acero inoxidable (Fig. 6) para facilitar la búsqueda, desprendimiento y/o rotura de estructuras, y, extracción de los p-MP, tanto en las muestras como en sus respectivos blancos. Al momento de utilizarlas se tuvo el máximo cuidado de que éstas no tocan superficies para evitar contaminación. Debido al complejo manejo de las pinzas para extraer un p-MP, y el aumento máximo de la lupa, el tamaño mínimo de p-MP analizado en este trabajo corresponde a las 200  $\mu\text{m}$ .

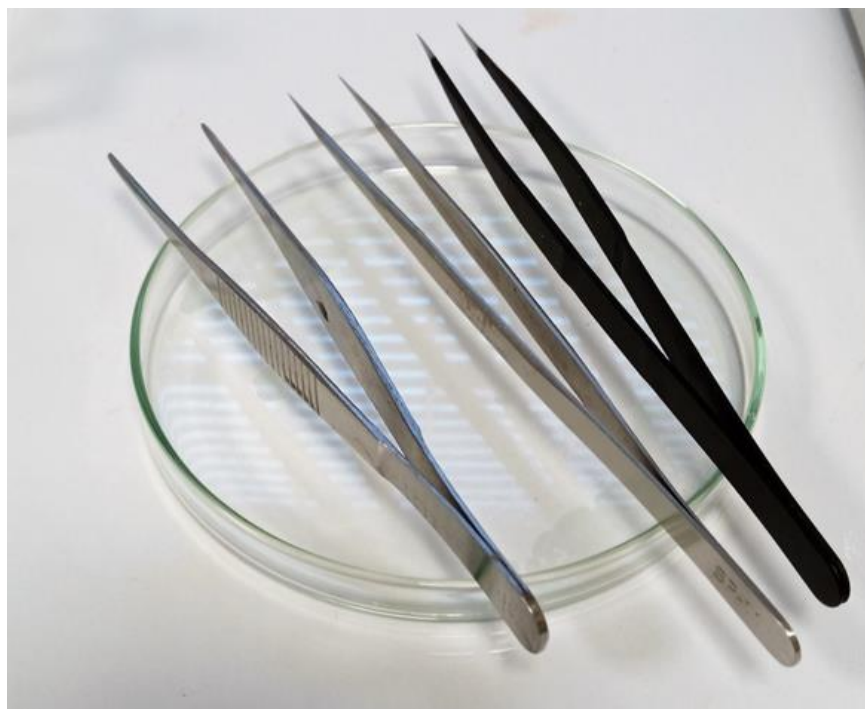


Figura 6. Sujeción de las pinzas de búsqueda y extracción. Se observa que las puntas de las pinzas se encuentran completamente libres de contacto.

Los p-MP se almacenaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml con agua destilada filtrada debidamente rotulados.

Para una correcta estandarización de los resultados, para cada muestra se sustrajo el número de p-MP encontrados en su correspondiente blanco que compartieran forma y color (O'Connor *et al.*, 2022; Bergami *et al.*, 2023), considerando el resultado de esta diferencia el total.

#### B) Análisis mediante $\mu$ FTIR

Previo a la micro espectroscopía infrarroja transformada de Fourier ( $\mu$ FTIR), los tubos Eppendorf fueron ubicados destapados en el horno a 60° por 48 horas para eliminar el agua destilada.

De las 19 muestras analizadas, se escogieron las con mayor abundancia de p-MP para ser analizadas mediante  $\mu$ FTIR en el Centro de Microscopía Avanzada. Por separado, se extrajeron las fibras de los tubos Eppendorf bajo microscopio

(Modelo Nikon SMZ18). Se observó que las muestras estaban dispersas en sales formadas dentro de los tubos (Fig. 7), dificultando la extracción.

Para el análisis mediante  $\mu$ FTIR las fibras se ubicaron sobre un disco de Bromuro de Potasio (KBr) y fueron procesadas en el sistema de imagen microscópico (Spotlight 400 FT-IR Imaging System).

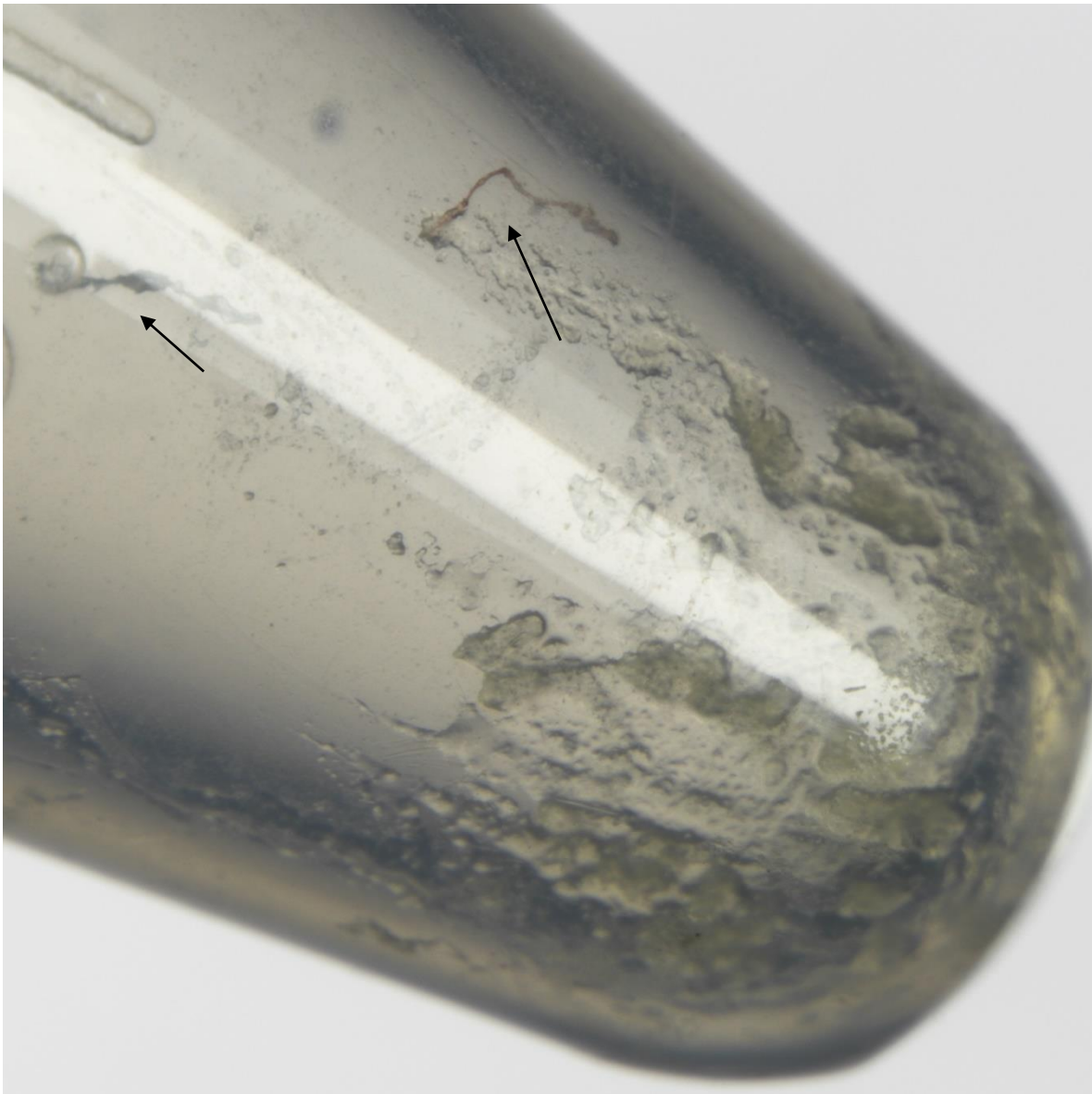


Figura 7. Fibras en una muestra con presencia de sales. Se observan dos fibras contenidas en parte de las sales almacenadas en el tubo Eppendorf.

En la Fig. 8 se observan las fibras de una muestra, en cada una se seleccionó la región que tenía menos impurezas para que el equipo generara el espectro. El área analizada para obtener cada espectro fue de 100x100  $\mu\text{m}$ , con una resolución espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ , intervalo de 2  $\text{cm}^{-1}$  y un rango espectral de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ . El espectro fue obtenido de un promedio de 16 escaneos. Una corrección de base substrayendo señales de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  se realizó de forma automática por el equipo. La identificación del compuesto se hizo estudiando las bandas principales de los espectros y la comparación entre estos y los de la librería de referencia del centro.

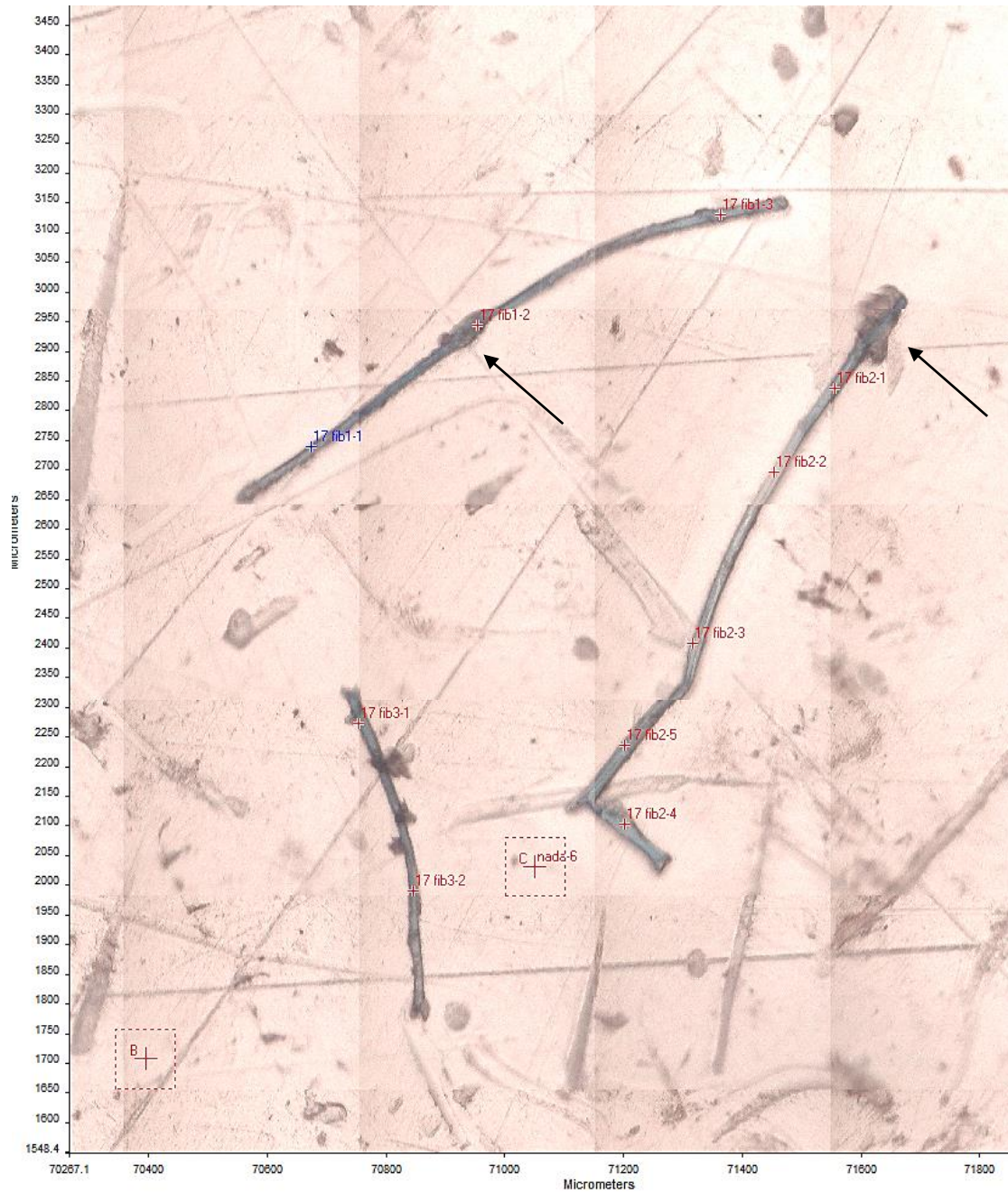


Figura 8. Fibras para analizar bajo el sistema de microscopio de imagen. Se pueden observar las fibras identificadas por el número de muestra y de fibra. Las flechas negras indican zonas con agrupación de cristales en la fibra, que corresponde a las sales.

### Análisis estadístico

Dado el objetivo de la investigación, no se realizaron análisis estadísticos.

## RESULTADOS

### A) Observación bajo lupa

De 19 muestras analizadas se encontraron p-MP en 12 de ellas (63,16%), con una abundancia promedio de 1 p-MP muestra<sup>-1</sup> y una concentración total de 0,53 p-MP g<sup>-1</sup> peso seco. Las fibras fueron la única forma presente y fueron categorizadas en los colores: azul, negro, rojo, transparente, blanco, e indeterminado cuando no fue posible clarificar el color. En la Fig. 8 se cuantifica los p-MP encontrados en las muestras y el total de p-MP, diferencia entre las muestras y sus respectivos blancos.

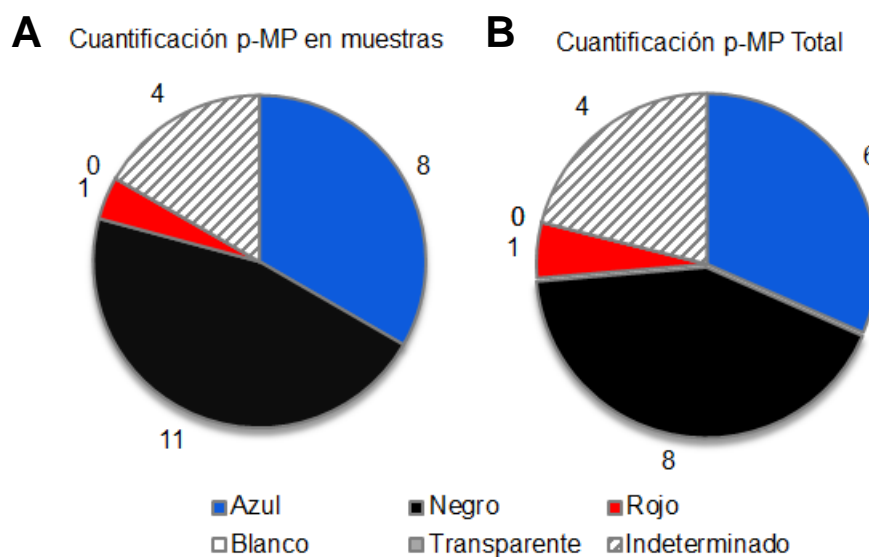


Figura 9. Cuantificación de p-MP observados bajo lupa. A) Fibras observadas en las muestras según color. B) Total de fibras observadas según color.

Dado que se trabajó con aproximadamente la mitad de cada muestra (ver Metodología) y la distribución de contaminantes no se debe asumir de forma homogénea, los resultados presentados pueden ser no representativos del total de la muestra.

## B) Análisis mediante $\mu$ FTIR

Se analizaron 7 muestras (13 fibras) y el control de una de las muestras (4 fibras). En la Fig. 10 se presenta el espectro correspondiente a una de las fibras analizadas, los espectros de las otras fibras analizadas se muestran de forma conjunta en Anexos (Anexo 2).

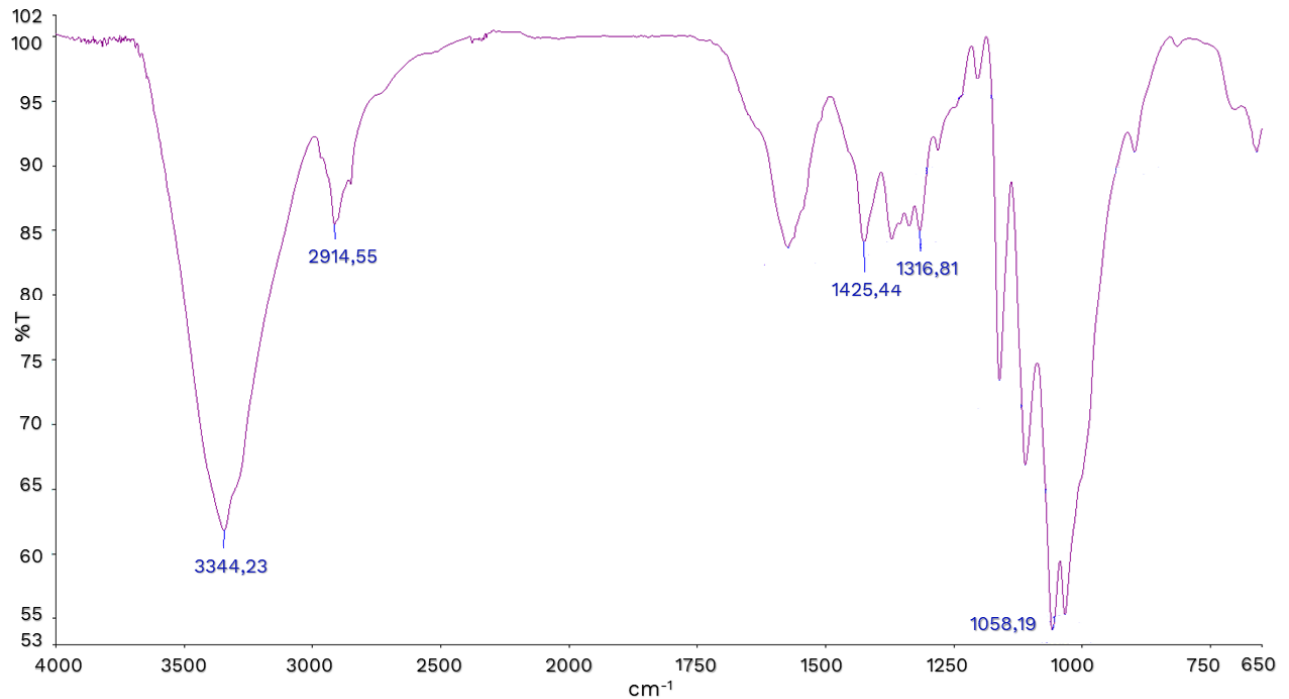


Figura 10. Espectro de  $\mu$ FTIR para fibra perteneciente al control de la muestra número 17. T%: Transmitancia.  $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda.

El análisis del espectro de la Fig. 10 y las otras fibras analizadas concluyó una composición de celulosa (referencia en Anexo 3) en base a las bandas típicas de este material.

## DISCUSIÓN

### Colores reportados para fibras

Los microplásticos en forma de fibras son la forma más abundante en el ambiente marino (Wright *et al.*, 2013; Barrows *et al.*, 2018; Gago *et al.*, 2018; Suaria *et al.*, 2020). Los tres colores con mayor abundancia reportados tanto para agua marina, sedimentos y biota son azul y negro, y luego rojo, existiendo diferencias leves entre los diversos estudios (Gago *et al.*, 2018; Santini *et al.*, 2022). En la revisión de Zantis y colaboradores (2021) en los estudios de fecas se evidencia que la mayoría reporto fragmentos como la forma más dominante, aunque se menciona que algunas investigaciones sólo encontraron fibras y, generalmente, los colores se informan para el conjunto de partículas encontradas. En las investigaciones en nutrias, fibras fueron reportadas en el trabajo de Santillán y colegas (2020) para *Lontra felina* y, en la investigación de O'Connor y colaboradores (2022) en fecas de *Lutra Lutra* fueron el 85% de los MP encontrados. En Chile, en el trabajo de Pérez-Venegas y colaboradores del año 2018, las fibras fueron la única forma presente siendo el 45% de color azul, por otro lado, en la investigación del año 2020 se encontraron fragmentos, pero las fibras mantuvieron la abundancia y preponderancia del color azul (Perez-Venegas *et al.*, 2018; 2020). En *Zalophus wolfebaeki*, las fibras fueron la forma más frecuente de MP encontrados y en conjunto los colores más predominantes fueron azul y negro (Moreira-Mendieta *et al.*, 2023); en *Zalophus californianus* el 92% encontrado correspondió a fibras y los colores azulados y negros fueron los más abundantes (Ortega-Borchardt *et al.*, 2023); en *Monachus monachus* las fibras tuvieron una prevalencia del 88,9% y el color azul el más frecuente (McIvor *et al.*, 2023); en *Halichoerus grypus* las fibras correspondieron al 61% de las partículas detectadas y los colores azul y negro los más abundantes (Desclos-Dukes *et al.*, 2022); en *Callorhinus ursinus* los fragmentos fueron más abundantes que las fibras, éstas estuvieron presentes en el 41% de las muestras presentándose en diversos colores (Donohue *et al.*, 2019); en el trabajo de Nelms y colaboradores (2018) con *Halichoerus grypus* las fibras fueron el 31% de los MP encontrados con el negro como el color más común, en

un segundo trabajo sobre la misma especie, el 76,5% de los MP detectados correspondieron a fibras y los colores azul, rojo y negro los más abundantes para el conjunto de MP (Nelms *et al.*, 2019). Por último, el trabajo más reciente en un mamífero marino *Ursus maritimus*, reportó la presencia de MP en fecas colectadas de forma tradicional y fecas halladas en el colon de animales cazados, tanto en forma de fragmentos y fibras, pero sin mencionar el color de éstos (Iyare *et al.*, 2024). En fecas de aves las fibras también se han encontrado como la forma más abundante: en *Pygoscelis papua* el 58% con los colores azul y transparente como los más comunes (Bessa *et al.*, 2019) y en *Aptenodytes patagonicus* el 77% con colores negro, gris y azul (Le Guen *et al.*, 2020). Conforme a la Fig. 9B los colores negro y azul fueron los más abundantes con una variación mínima entre ambos, similar a los reportes mencionados anteriormente, mientras que para el color rojo sólo se caracterizó una fibra, las posibles explicaciones a esto se tratarán luego.

### **Análisis mediante $\mu$ FTIR**

El análisis del espectro de  $\mu$ FTIR se realiza mediante cada equipo en conjunto con la librería de referencia que se posea, siendo importante que la persona encargada de llevar los análisis tenga los conocimientos adecuados, puesto que, no existen librerías estándar para investigadores y librerías comerciales pueden presentar referencias inexactas (Cai *et al.*, 2019). Al analizar la Fig. 10 se puede descartar el compuesto celulosa de nitrato (Anexo 3), material de los filtros utilizados, debido a la ausencia de depresiones que demuestran los grupos nitro ( $\text{NO}_2$ ) entre los 1300 a 1600  $\text{cm}^{-1}$  (Larkin, 2011). En la región de los enlaces simples (4000 a 2500  $\text{cm}^{-1}$ ) se presentan dos bandas, la primera de 3344  $\text{cm}^{-1}$  representa el estiramiento del grupo hidroxilo (OH) característico de la celulosa y la segunda de 2914  $\text{cm}^{-1}$  dado por el estiramiento del enlace carbono hidrógeno (C-H) (Chung *et al.*, 2004; Portella *et al.*, 2016). Cercano a los 1600  $\text{cm}^{-1}$  se presenta una depresión debido a la absorción de moléculas de agua (Chung *et al.*, 2004; Geminiani *et al.*, 2022). Las bandas en los 1425 y 1316  $\text{cm}^{-1}$  refieren al movimiento vibracional del enlace C-H, por otro lado, la gran depresión en los 1058  $\text{cm}^{-1}$  correspondería al estiramiento C-O (Chung *et al.*, 2004; Geminiani *et*

*al.*, 2022). Esta banda puede ser utilizada para comprobar la naturaleza de la fibra según Cai y colegas (2019), de manera que si se encuentra ausente o atenuada correspondería a una fibra semi sintética, mientras que, si se presenta de forma acentuada como en el espectro analizado, correspondería a una fibra natural, siendo este el caso para la celulosa. Se debe considerar que la espectroscopia vibracional presenta una fuerte relación respecto al ambiente de las moléculas que examina, debido a que éstas presentarán distintas rotaciones y se expondrán de diferente forma dependiendo del estado de la materia en que se encuentren (Larkin, 2011). Existe evidencia de las limitaciones respecto al uso de espectroscopía mediante FTIR al analizar fibras textiles, la variación entre los distintos espectros que pueden ser producidos del análisis de fibras del mismo tipo (Stanton *et al.*, 2019) y las bandas de baja intensidad que pueden exhibir materiales naturales (al compararse con sintéticos) propensas a la interferencia causada por tintes (Geminiani *et al.*, 2022) son algunas limitaciones. Junto con lo mencionado, la presencia de humedad y sales de KOH en las fibras analizadas, explicarían las notorias diferencias observadas en los espectros de las Figuras 13 y 14. Debido a la posibilidad de que materiales similares presenten espectros semejantes (Geminiani *et al.*, 2022) e informar un tipo incorrecto de celulosa, los resultados de este trabajo se reportan como fibras naturales de celulosa sin especificar el tipo de éstas.

### **Zona de estudio**

La zona de estudio, como se observa en la Fig. 1C, corresponde al costado expuesto de la Península de Hualpén, en la abertura noreste del Golfo del Arauco (GA). Considerando la estructura del paisaje de la zona y el conjunto de condiciones meteorológicas y oceanográficas, se explican distintos procesos que ocurren en la costa y se deben incluir para la interpretación de los resultados obtenidos. Estos procesos se deben considerar de forma general, puesto que a diario van a existir variaciones en la descarga del río, dirección e intensidad del viento y otros factores, utilizando datos promedios y muchas veces históricos para la explicación de estos fenómenos. Las descargas del río Biobío alcanzan los

mayores valores en meses de invierno (Junio-Septiembre) y los menores valores en los meses de verano (Diciembre-Marzo), tienen efecto en la salinidad, estratificación vertical y dirección e intensidad de las corrientes en el GA, por último, la zona de influencia que tendrá en el GA está directamente relacionada a la amplitud de la descarga (Vergara *et al.*, 2023). La actividad del anticiclón del Pacífico Sur (APS) en los meses de primavera y verano reduce las precipitaciones, lo que conlleva una disminución en la descarga del río Biobío favoreciendo la surgencia costera, condicionada por la dirección de los vientos meridionales y en menor medida, vientos zonales, ocurre aproximadamente desde Septiembre hasta Diciembre (Sobarzo *et al.*, 2007). La predominancia e intensidad de los vientos sur/suroeste favorecen el ascenso de las aguas formando un movimiento antihorario en el GA, la corriente norte permite la entrada de aguas por el lado oeste del GA y la salida en dirección este del GA (Parada *et al.*, 2001), zona donde se encuentra el área de estudio. Por último, Correa-Araneda y colegas (2022) estudiaron la presencia de MP en el río Biobío analizando 18 sitios desde su origen hasta la desembocadura en el GA, encontrando fragmentos ( $37\pm 6$  partículas  $m^{-3}$ ) y fibras de MP ( $7\pm 2$  partículas  $m^{-3}$ ) en todos los sitios muestreados a excepción de dos que no presentaron fibras, además, se caracterizó mediante FTIR las partículas de 4 sitios correspondiendo a siete tipos de polímeros (PAGE, PE, PET, PMMA, PP, PS y PVC).

El primer muestreo de Septiembre se realizó luego de una temporada de marejadas altas lo que afectó la disponibilidad de muestras debido al efecto de remoción de las olas. El segundo muestreo realizado en el mes de Noviembre se enmarca en un periodo de descarga mínima del río Biobío y surgencia costera, la corriente norte conduce las aguas con menor concentración de  $O_2$ , menor temperatura y mayor cantidad de nutrientes. Las fibras de celulosa poseen una densidad de  $1,50\text{ g cm}^{-3}$  (Sanchez-Vidal *et al.*, 2018), mayor a la de los polímeros plásticos y al agua marina, tendiendo a hundirse. Las aguas profundas que ascienden durante la surgencia pueden traer consigo fibras de celulosa depositadas anteriormente, esto apoyado por datos que demuestran que la principal fibra encontrada en los sedimentos marinos son fibras de celulosa

(Sanchez-Vidal *et al.*, 2018), incluso en Chile es reportando para sedimentos marinos en fiordos del sur, caracterizando mediante FTIR aproximadamente el 60% de los p-MP encontrados, de los cuales el 45% se correspondió con materiales similares a la celulosa y un 20% similares al algodón (Jorquera *et al.*, 2022). Las fibras de celulosa y sus distintos tipos tienen un origen principal en la industria textil, al igual que los MP, éstas pueden llegar al océano por dispersión a través del aire (Stanton *et al.*, 2019) o través de las descargas de plantas de tratamientos de agua debido a los efluentes de las lavadoras (Browne *et al.*, 2011; Zambrano *et al.*, 2019). Browne y colegas (2011) reportaron que tejidos de poliéster pueden generar más de 1900 fibras por lavado, sin embargo, la investigación realizada por Zambrano y colaboradores (2019) reveló que los tejidos basados en celulosa (algodón, rayón, compuesto poliéster-algodón) liberan mayor cantidad de fibras que tejidos de poliéster con las mismas estructuras de fabricación.

### **Fibras antropogénicas**

Suaria y colegas (2020) estudiaron fibras presentes en el océano alrededor del mundo y de la submuestra analizada mediante  $\mu$ FTIR, el 91,8% correspondió a fibras naturales de origen animal o de plantas y el 8,2% a fibras sintéticas. Las fibras textiles generalmente se clasifican en base al origen que posean siendo “naturales” cuando son de origen celulósico (plantas), proteínico (animal) o mineral y “fabricadas por el hombre” cuando son artificiales (regeneradas) o sintéticas (polímeros de plástico) (Cesa *et al.*, 2017). Se utiliza también el concepto de fibras extruidas, debido a la forma en que son fabricadas al hacer pasar un polímero fundido a través de una apertura de sección transversal fija resultando en fibras individuales de diámetro uniforme, siendo estas exclusivamente las fibras sintéticas y regeneradas (Stanton *et al.*, 2019).

### **Celulosa reportada en investigaciones**

Al comparar la presencia de celulosa en fecas de *Lontra felina* con investigaciones realizadas en otras nutrias, el trabajo realizado por Smioldo y colaboradores

(2019) es el único que reporta la presencia de celulosa. En 101 muestras fecales analizadas de *Lutra lutra* se encontraron 24 p-MP de los cuales la mayoría correspondía a huevos de sapo, reportan una partícula de PET y otra de PA, y celulosa y algodón como fuente antropogénica, pero de origen natural sin presentar mayor detalle. A pesar de diferencias entre las presas consumidas por *Lontra felina* y *Lutra lutra*, ambas especies consumen especies acuáticas y semiacuáticas (en el caso de *L. lutra*) y habitan lugares cercanos a zonas antropogénicas, lo que explicaría que en sus fecas se hallen compuestos celulósicos. Al comparar los resultados presentados en esta investigación con los estudios en pinnípedos que caracterizaron mediante espectrometría infrarroja p-MP y reportan fibras celulósicas como uno de los compuestos encontrados se tiene: la investigación de Perez-Venegas y colegas (2020) encontró microfibras (MF) en su mayoría seguido de fragmentos presentando una concentración de 2-15 partículas  $g^{-1}$  (peso húmedo), analizaron las partículas de 6 muestras mediante  $\mu$ FTIR confirmado un 51,5% correspondiente a algodón y 30% a polímeros (PET y nylon), mientras que el 18,5% restante lo clasifican como no concluyente aunque mencionan que los espectros presentaron bandas típicas de celulosa; en *Zalophus wollebaeki* se encontraron 253 p-MP en un 37% de las heces muestreadas (n=180) con una concentración de  $0,04 \pm 0,05$  partículas  $g^{-1}$  (peso húmedo) siendo las fibras la forma más abundante seguido de fragmentos y films, mediante  $\mu$ FTIR se analizaron 46 partículas reportando un 17% para celulosa y correspondiendo el resto a una variedad de polímeros sintéticos (PP-PE, PP, PE, PVC) (Moreira-Mendieta *et al.*, 2023); en *Zalophus californianus* se muestrearon 48 fecas dentro de las cuales se encontraron 294 p-MP en una concentración de  $0,14 \pm 32$  partículas  $g^{-1}$  (se asume peso húmedo al no ser informado) presentando un 92% de fibras y 8% de fragmentos, de las partículas analizadas mediante  $\mu$ ATR-FTIR el 66% se categorizó como polímeros naturales de celulosa (n=152) y algodón, el porcentaje restante correspondieron a variedad de polímeros sintéticos y semisintéticos (PET, PP, PE, ABS, PAN, PVA, PV, PEA, PEU, viscosa) (Ortega-Borchardt *et al.*, 2023). En aves, una investigación en fecas del pingüino rey encontró sólo fibras en una concentración de  $21,9 \pm 5.8$  MF  $g^{-1}$  (peso seco) con

presencia en el 77% de las muestras (n=47), de 264 fibras encontradas 236 fueron analizadas mediante  $\mu$ ATR-FTIR correspondiendo 84,7% a fibras de origen celulósico (celulosa, algodón), 3% lana y 12,3% a fibras sintéticas y semisintéticas (acrílico, PET, PP, viscosa), la celulosa fue el polímero más abundante (46,6%) (Le Guen *et al.*, 2020). La ausencia de MP en fecas de un mamífero marino depredador tope como lo es *Lontra felina* no es novedad. Garcia-Garin y colegas (2020) esperaban encontrar MP en las fecas de *Arctocephalus gazella* (Isla Decepción, Antártica) debido a previos estudios que demostraron la presencia de MP en especies pelágicas de la red trófica que habita el Estrecho de Bransfield, sin embargo, 10 p-MP encontrados en 42 fecas correspondían a minerales de silicato y quitina. En estudios de órganos en mamíferos marinos, los análisis de estómagos de las especies *Atlantic walrus* y *Pusa hispida* no reportaron partículas antropogénicas, considerando los p-MP encontrados como contaminación dentro del laboratorio debido a las similitudes que compartían las muestras y controles (Jardine *et al.*, 2023a; 2023b).

En investigaciones de otros grupos de animales en los que se han reportado fibras celulósicas se tiene: muestras de intestino (n=38) y músculo (n=19) de cuatro tiburones (*Carcharhinus leucas*, *Sphyrna lewini*, *Galeocerdo cuvier* y *Carcharodon carcharias*) reportan un 92% de fibras de las cuales las celulósicas (algodón y viscosa) se categorizaron en el 70% de las muestras de intestino y 83% de las muestras de músculo, siendo los porcentajes restantes PET (Lu *et al.*, 2024); en estómagos e intestinos de *Harpagifer antarcticus* y *Harpagifer bispinis* se encontraron 358 MF y 1 forma irregular de MP, de lo cual 42 MF fueron analizadas mediante  $\mu$ FTIR encontrando fibras de celulosa como el material predominante en un 67,7% y 72,7% para cada especie, los otros compuestos categorizados correspondieron a PET, acrílico y pelos similares a la lana, junto con 6 partículas indeterminadas para *H. antarcticus* (Ergas *et al.*, 2023); en tractos digestivos de *Sparus aurata* se encontraron fibras exclusivamente mientras que en *Cyprinus carpio* fibras y fragmentos, para ambos peces las partículas caracterizadas consistieron en algodón, lana, fibras semisintéticas (viscosa, lyocell y lino), fibras sintéticas (nylon, PA, PE, PC, PTFE), fibras compuestas y fragmentos de PTFE

(Savoca *et al.*, 2021); en tractos digestivos de *Boops boops* el 63,3% de los individuos presentó fibras que fueron analizadas mediante micro espectroscopía de Raman ( $\mu$ Raman) y microscopia electrónica de barrido con detector de rayos x (SEM-EDX) las cuales correspondieron a viscosa (Savoca *et al.*, 2019); en tractos digestivos de *Zoarces viviparus* se encontraron solo fibras de las cuales una submuestra fue analizada mediante FTIR en las que se encontró celofán y polímeros en base a proteínas (quitina/quitosano) (Wesch *et al.*, 2016); en el trabajo de Remy (2015) 235 tractos intestinales de crustáceos que habitan las praderas formadas por la planta acuática *Posidonia oceánica* fueron analizados encontrando 91 potenciales fibras artificiales, de los cuales se categorizaron 11 mediante espectroscopía Raman correspondiendo a viscosa; por último, Bergami y colaboradores (2023) analizaron 36 individuos de *Neobuccinum eatoni* encontrando 19 p-MP de los cuales 14 fueron categorizados por  $\mu$ FTIR encontrando PET, viscosa y material compuesto de celulosa y PA. Los trabajos anteriormente citados demuestran la presencia de fibras celulósicas en muestras de fecas y órganos en distintos grupos de organismos considerando mamíferos marinos, aves, tiburones, peces, crustáceos y una especie de gasterópodo. Aunque los reportes de fibras de origen natural como la celulosa son variables, este material está presente en forma natural y en forma extruida como fibras semisintéticas, notando además que en diversas investigaciones se reportan fibras que presentan composición mixta.

### **Limitaciones metodología**

Pérez-Guevara y colegas (2021) destacan en trabajos de campo la importancia de que las muestras fecales a utilizar deben ser tomadas inmediatamente después de la deposición, evitando las heces que ya se encuentran en el ambiente debido a la posible contaminación externa. El diseño experimental de esta investigación consideró el ambiente y naturaleza del chungungo, cuyo tiempo de estadía en madrigueras es de aproximadamente el 80% (Medina-Vogel *et al.*, 2006; Medina-Vogel *et al.*, 2007), mismo tiempo oculto de la vista de investigadores, junto con las facilidades de acceso, permanencia en los sitios de muestreo, y climatología

durante los meses propuestos para desarrollar los muestreos, no fue posible realizar la investigación con esa recomendación. Por otro lado, se debe mencionar que en terreno se observó que el “estado de la fecca” no se podía utilizar como dato a causa de que algunas heces aparentaban ser frescas por encontrarse humedecidas por efecto del mar o directamente en pozas de agua dejadas por las mareas altas. El muestrear sitios diferentes se hizo para aumentar el n de la investigación, debido a las cercanías entre sitios no se puede estudiar diferencias entre estos ya que se encuentran dentro del rango de kilómetros de dispersión que puede tener el chungungo (<4.5 kilómetros de largo)(Medina-Vogel *et al.*, 2007; Medina-Vogel *et al.*, 2008).

En este trabajo no se utilizaron controles negativos y los blancos para controlar la contaminación por aire se utilizaron sólo durante el análisis de muestra, al utilizar mayor cantidad de controles y en las distintas etapas se puede tener mayor conocimiento de la potencial contaminación, así como mejoras en la estandarización de los resultados. Se debe considerar que la detección de p-MP viene dada por la capacidad humana de poder detectarlos, de manera que, partículas de colores “naturales” puede ser subestimadas (Nelms *et al.*, 2018; Perez-Guevara *et al.*, 2021), en este caso, las fecas de chungungo presentan coloración rosácea debido en gran parte al consumo de *Allopetrolisthes punctatus*, por lo que, partículas de colores rojo, blanco y transparentes pueden haber sido subestimadas al ser confundidas con estructuras naturales propias de las presas que conforman parte de la dieta. De forma general las investigaciones sobre MP analizan una submuestra de p-MP mediante instrumentos de espectroscopía infrarroja debido al alto costo de estos análisis y al tiempo que conlleva la preparación de las muestras anterior a éste. Previo al análisis mediante  $\mu$ FTIR se escogieron las muestras con mayor abundancia de p-MP, dado que las fibras se recolectaron en tubos Eppendorf con agua destilada filtrada, fue necesario ubicarlos en el horno para evaporar el agua y obtener las fibras completamente secas, sin embargo, el tiempo de permanencia no fue el ideal. Las Figuras 7 y 8 demuestran que se obtuvieron fibras húmedas e incluso con presencia de sales de KOH que dificultaron el análisis, éstas sales se generaron al momento de la

evaporación del agua destilada, agua que debe haber contenido una pequeña fracción de la disolución de KOH, debido a que al momento de extraer las fibras de las muestras éstas se encontraban empapadas en la disolución. Una solución a este problema sería limpiar las fibras al momento de la extracción en agua destilada y centrifugarlas por 30 segundos para eliminar cualquier elemento adherido a éstas (Savoca *et al.*, 2019).

### **Sugerencias para estandarización de investigaciones**

Comparar investigaciones sobre MP y/o fibras sea cual sea la matriz de estudio es complejo debido a las diferencias en las metodologías y presentación de resultados. La contaminación de las muestras puede ocurrir durante el muestreo, preparación y análisis de éstas, por lo que, se sugiere el uso de controles en todas las etapas de investigación, junto con el correspondiente análisis (Perez-Guevara *et al.*, 2021; Zantis *et al.*, 2021). Protocolos validados que impidan la contaminación de muestras por parte de la indumentaria que lleven los investigadores, deberían ser exigidos en las investigaciones sobre MP sugieren Scopetani y colegas (2020) y al considerar fibras naturales y semi sintéticas en estudios de contaminación antropogénica, se puede utilizar vestimenta de colores que usualmente no son reportados en muestras ambientales como naranja o rosado (Athey & Erdle, 2022). Respecto a la digestión de muestras se sugiere utilizar bajas temperaturas por la menor probabilidad de destrucción de fibras naturales o semisintéticas (Athey & Erdle, 2022). Los reportes de MP y/o fibras en fecas de animales varían en la forma de ser presentados por lo que la interpretación de los resultados es compleja y dificultosa, por ejemplo: se presentan promedios para el conjunto de muestras o sólo para las muestras positivas (Perez-Guevara *et al.*, 2021), se informa el número de muestras y no siempre se presenta el volumen de esta o a la inversa (Perez-Guevara *et al.*, 2021), no se reporta la totalidad de compuestos encontrados, etc. Se sugiere reportar: el número total de muestras analizadas junto con el número de muestras positivas como también el número total de partículas encontradas, además de, partículas por gramo especificando si es peso seco o húmedo (Zantis *et al.*, 2021).

En las investigaciones sobre MP las fibras antropogénicas de origen natural no siempre son reportadas en los datos (Barrows *et al.*, 2018; Concato *et al.*, 2023), y no siempre se caracteriza químicamente las partículas encontradas de forma que la abundancia de fibras de microplásticos probablemente ha sido sobreestimada (Suaria *et al.*, 2020) existiendo una subestimación en la abundancia de fibras antrópicas de origen natural (Barrows *et al.*, 2018; Concato *et al.*, 2023). Otro factor que provoca falsas estimaciones es la suposición sobre las fibras regeneradas, que al ser fabricadas por extrusión y procesadas de forma industrial se han considerado como sintéticas, lo que dentro del contexto de fibras textiles no es correcto (Cesa *et al.*, 2017; Concato *et al.*, 2023). Sólo las fibras sintéticas deberían ser consideradas microplástico como tal (Cesa *et al.*, 2017), sin embargo, la falta de coherencia en el uso de conceptos ha llevado que a fibras de origen natural y semi sintéticas sean reportadas dentro de los MP en gran mayoría de estudios. Por último, junto con las limitaciones que existen al utilizar metodologías como la espectrometría para estudiar fibras textiles, el uso de librerías acotadas y su algoritmo de búsqueda, puede generar una evaluación incorrecta del espectro, por ende, incorrecta identificación de la fibra (Kappler *et al.*, 2018; Cai *et al.*, 2019; Geminiani *et al.*, 2022). Gran parte de los autores recalcan la necesidad urgente de estandarizar los protocolos de investigación y reporte de resultados en investigaciones de contaminantes antropogénicos tanto en MP como fibras.

### **Futuros estudios**

Al igual que los MP, las fibras naturales contienen contaminantes, ya sea, por químicos añadidos durante su fabricación como tinturas y agentes de protección o por compuestos adsorbidos del agua marina (Ladewig *et al.*, 2015; Suaria *et al.*, 2020; Athey & Erdle, 2022; Geminiani *et al.*, 2022; Concato *et al.*, 2023). Debido a la percepción común sobre que los compuestos de celulosa se biodegradan (Dris *et al.*, 2018) el estudio de fibras antropogénicas ha sido descuidado en investigaciones sobre la contaminación marina (Ladewig *et al.*, 2015). Se desconocen los tiempos de degradación de fibras en ambientes acuáticos

(Sanchez-Vidal *et al.*, 2018) así como los efectos que podrían causar los contaminantes de éstas y el consumo y acumulación en la biota, siendo necesario enfocar los estudios en la caracterización de fibras antropogénicas, las propiedades físicas y químicas, los contaminantes que puedan poseer y los efectos de consumo y potencial acumulación (Santini *et al.*, 2022; Concato *et al.*, 2023).

La aparición de fibras de celulosa en fecas de chungungo puede sugerir la transferencia trófica desde presas contaminadas, aunque no se debe descartar el consumo directo accidental ni potenciales fuentes de contaminación de las heces debido al medio ambiente o vestimenta de los investigadores durante la recolección. Santos y colaboradores (2021) explican que el volumen y la distribución de plástico en el ambiente junto con las estrategias de alimentación de los organismos determinan el encuentro entre ambos, además, la susceptibilidad de la interacción y/o ingesta de MP guiará el potencial de los MP para causar daño en el organismo (Wright *et al.*, 2013). Este razonamiento se puede aplicar de igual forma para otros contaminantes como lo son las fibras textiles, en este caso, las fibras de celulosa. Confirmar si un organismo ha consumido las partículas de forma directa o indirecta es difícil (Au *et al.*, 2017) y la investigación en presas ofrece una herramienta para entender mejor el consumo indirecto (Moore *et al.*, 2022). Para explorar los niveles de contaminación y postular la transferencia trófica como fuente de contaminación, es necesario estudiar de forma simultánea muestras fecales del depredador, presas y medio ambiente (considerando diversos sustratos como también investigadores) (Le Guen *et al.*, 2020; Ortega-Borchardt *et al.*, 2023). También se deben evaluar metodologías innovadoras que puedan aportar eficiencia e información más específica como lo es el protocolo propuesto por Nelms y colegas (2019) donde combinan técnicas moleculares e identificación de MP. Utilizando metabarcoding de ADN presente en las fecas al mismo tiempo que el estudio de MP investigaron la relación potencial entre dieta y abundancia de MP de un depredador tope mamífero marino, obteniendo resultados que sugerían relación (Nelms *et al.*, 2019). Consecuentemente, para evaluar contaminantes que pueden estar afectando a *Lontra felina* y hallar una

relación a través de la dieta, es necesario expandir el estudio a otras matrices además de las muestras fecales: presas, sustrato donde se encuentran las fecas, agua marina, entre otros; entendiendo además los factores que determinan la distribución y abundancia de los contaminantes, expandir el estudio a mayores escalas temporales y espaciales es recomendado.

## CONCLUSIONES

Las heces de *Lontra felina* que habita las cercanías de Caleta Chome no presentaron microplásticos, rechazando la hipótesis planteada. Se hallaron exclusivamente fibras con abundancia de colores que siguen las tendencias reportadas y al ser analizadas mediante  $\mu$ FTIR fueron categorizadas como fibras de celulosa. Investigaciones recientes han demostrado que la abundancia de estas fibras en los medios acuáticos ha sido subestimada debido a un conjunto de factores como metodologías usadas y ausencia de reportes. Las condiciones oceanográficas y meteorológicas del Golfo de Arauco durante los muestreos podrían explicar la ausencia de microplásticos y la presencia de celulosa, considerando principalmente la surgencia como factor. Debido a que la celulosa es de mayor densidad que polímeros plásticos y el agua marina esta tenderá a hundirse, sin embargo, la surgencia costera eleva aguas profundas hacia la superficie. Se considera además que la gran mayoría de presas que forman parte de la dieta del chungungo son bentónicas, por lo que, tendrían mayor potencial de encuentro en ingerir celulosa. Los resultados de esta investigación presentan similitudes con diversos estudios alrededor del mundo que han reportado fibras de celulosa en conjunto a la presencia de microplásticos o de forma exclusiva: en heces de mamíferos marinos y aves, y en órganos de tiburones, peces, crustáceos y gasterópodos. Respecto a la metodología utilizada mejoras deben ser implementadas para realizar investigaciones de forma más eficiente y con mayor credibilidad en los resultados. Las investigaciones que se realizan en microplásticos y los recientes estudios en fibras, apuntan a la dificultad para comparar investigaciones debido a la falta de estandarización en protocolos y reporte de resultados, haciendo necesario el desarrollo de metodologías que estandaricen las distintas etapas de investigación en contaminantes. Se debe generar conocimiento de todos los contaminantes incluyendo fibras y MP, estudiando abundancia, distribución e interacciones y efectos en el medio ambiente y organismos, enfatizando la investigación en transferencia trófica como factor de ingesta de estos contaminantes.

## REFERENCIAS

- Andrade, C. & Ovando, F. (2017). First record of microplastics in stomach content of the southern king crab *Lithodes santolla* (Anomura: Lithodidae), Nassau bay, Cape Horn, Chile. *Anales Instituto Patagonia*, 45(3), 59-65.
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596-1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- Andrady, A. L. (2017). The plastic in microplastics: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 119(1), 12-22. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082>
- Athey, S. N. & Erdle, L. M. (2022). Are We Underestimating Anthropogenic Microfiber Pollution? A Critical Review of Occurrence, Methods, and Reporting. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(4), 822-837. <https://doi.org/10.1002/etc.5173>
- Au, S. Y., Lee, C. M., Weinstein, J. E., van den Hurk, P. & Klaine, S. J. (2017). Trophic transfer of microplastics in aquatic ecosystems: Identifying critical research needs. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13(3), 505-509. <https://doi.org/10.1002/ieam.1907>
- Ayala, F., Cardeña, M. & Cárdenas-Alayza, S. (2021). Registro preliminar de microplásticos en fecas del león marino sudamericano (*Otaria byronia* [de Blainville 1820]) recolectadas en Punta San Juan, Perú. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*(37). <https://doi.org/10.20937/rica.53745>
- Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C. & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Barnes, D. K. A. (2002). Invasions by marine life on plastic debris. *Nature*, 416, 808-809.
- Barrows, A. P. W., Cathey, S. E. & Petersen, C. W. (2018). Marine environment microfiber contamination: Global patterns and the diversity of microparticle origins. *Environmental Pollution*, 237, 275-284. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.062>
- Bergami, E., Ferrari, E., Loder, M. G. J., Birarda, G., Laforsch, C., Vaccari, L. & Corsi, I. (2023). Textile microfibers in wild Antarctic whelk *Neobuccinum eatoni* (Smith, 1875) from Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Environmental Research*, 216(Pt 2), 114487. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114487>
- Bessa, F., Ratcliffe, N., Otero, V., Sobral, P., Marques, J. C., Waluda, C. M., Trathan, P. N. & Xavier, J. C. (2019). Microplastics in gentoo penguins from the Antarctic region. *Scientific Reports*, 9(1), 14191. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50621-2>
- Bravo Rebolledo, E. L., Van Franeker, J. A., Jansen, O. E. & Brasseur, S. M. (2013). Plastic ingestion by harbour seals (*Phoca vitulina*) in The Netherlands. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1-2), 200-202. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.035>
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T. & Thompson, R. (2011). Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks.

- Environmental Science & Technology*, 45(21), 9175-9179.  
<https://doi.org/10.1021/es201811s>
- Browne, M. A., Galloway, T. & Thompson, R. (2007). Microplastic-An emerging contaminant of potential concern? *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(4), 559–566. <https://doi.org/10.1002/ieam.5630030412>
- Buesching, C. & Jordan, N. (2022). The Function of Carnivore Latrines: Review, Case Studies, and a Research Framework for Hypothesis Testing. In E. Do Linh San, J. Sato, J. Belant, & M. Somers (Eds.), *Small Carnivores: Evolution, Ecology, Behaviour, and Conservation* (1th ed.). Wiley-Blackwell.
- Cai, H., Du, F., Li, L., Li, B., Li, J. & Shi, H. (2019). A practical approach based on FT-IR spectroscopy for identification of semi-synthetic and natural celluloses in microplastic investigation. *Science of The Total Environment*, 669, 692-701. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.124>
- CAMEO. (2016). Cellulose nitrate FTIR. In. Museum of Fine Arts Boston. Scientific Research Laboratory.
- CAMEO. (2020). Cellulose FTIR. In. Museum of Fine Arts Boston. Scientific Research Laboratory.
- Carlos de Sa, L., Luis, L. G. & Guilhermino, L. (2015). Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): confusion with prey, reduction of the predatory performance and efficiency, and possible influence of developmental conditions. *Environmental Pollution*, 196, 359-362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.026>
- Carlsson, P., Singdahll-Larsen, C. & Lusher, A. L. (2021). Understanding the occurrence and fate of microplastics in coastal Arctic ecosystems: The case of surface waters, sediments and walrus (*Odobenus rosmarus*). *Science of The Total Environment*, 792, 148308. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148308>
- Carpenter, E. J., Anderson, S. J., Harvey, G. R., Miklas, H. P. & Peck, B. B. (1972). Polystyrene Spherules in Coastal Waters. *Science*, 178(4062), 749-750. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.749>
- Carpenter, E. J. & Smith, K. L. (1972). Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Science*, 175(4027), 1240-1241.
- Castilla, J. C. & Bahamondes, I. (1979). Observaciones conductuales y ecológicas sobre *Lutra felina* (Molina) 1782 (Carnivora: Mustelidae) en las zonas Central y Centro-Norte de Chile. *Archivos de Biología y Medicina Experimentales*, 12, 119-132.
- Castillo, C., Fernandez, C., Gutierrez, M. H., Aranda, M., Urbina, M. A., Yanez, J., Alvarez, A. & Pantoja-Gutierrez, S. (2020). Water column circulation drives microplastic distribution in the Martinez-Baker channels; A large fjord ecosystem in Chilean Patagonia. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111591. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111591>
- Cesa, F. S., Turra, A. & Baroque-Ramos, J. (2017). Synthetic fibers as microplastics in the marine environment: A review from textile perspective with a focus on domestic washings. *Science of The Total Environment*, 598, 1116-1129. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.172>

- Chung, C., Lee, M. & Choe, E. (2004). Characterization of cotton fabric scouring by FT-IR ATR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 58(4), 417-420. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.005>
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C. & Galloway, T. S. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental Science & Technology*, 49(2), 1130-1137. <https://doi.org/10.1021/es504525u>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C. & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588-2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Concato, M., Panti, C., Bains, M., Galli, M., Giani, D. & Fossi, M. C. (2023). Detection of anthropogenic fibres in marine organisms: Knowledge gaps and methodological issues. *Marine Pollution Bulletin*, 191, 114949. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114949>
- Córdova, O. & Rau, J. R. (2016). Interacción entre la pesca artesanal y el depredador de alto nivel trófico *Lontra felina* en Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 51(3), 621-627. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572016000300013>
- Córdova, O., Rau, J. R., Suazo, C. G. & Arriagada, A. (2009). Estudio comparativo de la ecología alimentaria del depredador de alto nivel trófico *Lontra felina* (Molina, 1782) (Carnivora: Mustelidae) en Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 44, 429-438.
- Correa-Araneda, F., Perez, J., Tonin, A. M., Esse, C., Boyero, L., Diaz, M. E., Figueroa, R., Santander-Massa, R., Cornejo, A., Link, O., Jorquera, E. & Urbina, M. A. (2022). Microplastic concentration, distribution and dynamics along one of the largest Mediterranean-climate rivers: A whole watershed approach. *Environmental Research*, 209, 112808. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112808>
- Cursach, J. A., Rau, J. R., Ther, F., Vilugrón, J. & Tobar, C. N. (2012). Sinantropía y conservación marina: el caso del chungungo *Lontra felina* en el sur de Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 47(3), 593-597. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572012000300022>
- De-la-Torre, G. E., Apaza-Vargas, D. M. & Luis Santillán, L. (2020). Microplastic ingestion and feeding ecology in three intertidal mollusk species from Lima, Peru. *Revista de biología marina y oceanografía*, 55(2), 167-171. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2020.55.2.2502>
- Derraik, J. G. B. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 842-852.
- Desclos-Dukes, L., Butterworth, A. & Cogan, T. (2022). Using a non-invasive technique to identify suspected microplastics in grey seals (*Halichoerus grypus*) living in the western North Sea. *Veterinary Record*, 190(11), e1484. <https://doi.org/10.1002/vetr.1484>
- Donohue, M. J., Masura, J., Gelatt, T., Ream, R., Baker, J. D., Faulhaber, K. & Lerner, D. T. (2019). Evaluating exposure of northern fur seals, *Callorhinus ursinus*, to microplastic pollution through fecal analysis. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.036>

- Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V. & Tassin, B. (2018). Synthetic and non-synthetic anthropogenic fibers in a river under the impact of Paris Megacity: Sampling methodological aspects and flux estimations. *Science of The Total Environment*, 618, 157-164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.009>
- Ergas, M., Figueroa, D., Paschke, K., Urbina, M. A., Navarro, J. M. & Vargas-Chacoff, L. (2023). Cellulosic and microplastic fibers in the Antarctic fish *Harpagifer antarcticus* and Sub-Antarctic *Harpagifer bispinis*. *Marine Pollution Bulletin*, 194(Pt B), 115380. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115380>
- Eriksson, C. & Burton, H. (2003). Origins and biological accumulation of small plastic particles in fur seals from Macquarie Island. *Ambio*, 32(6), 380-384. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-32.6.380>
- Estes, J. A. (1986). Marine Otters and Their Environment. *Ambio*, 15, 181-183.
- Farrell, P. & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, 177, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>
- Frias, J. & Nash, R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145-147. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022>
- Gago, J., Carretero, O., Filgueiras, A. V. & Vinas, L. (2018). Synthetic microfibers in the marine environment: A review on their occurrence in seawater and sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 365-376. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.070>
- Garcia-Garin, O., Garcia-Cuevas, I., Drago, M., Rita, D., Parga, M., Gazo, M. & Cardona, L. (2020). No evidence of microplastics in Antarctic fur seal scats from a hotspot of human activity in Western Antarctica. *Science of The Total Environment*, 737, 140210. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140210>
- GCC Consultores Limitada (2002). *Plan de Manejo Santuario de la Naturaleza Península de Hualpén*.
- Geminiani, L., Campione, F., Corti, C., Luraschi, M., Motella, S., Recchia, S. & Rampazzi, L. (2022). Differentiating between Natural and Modified Cellulosic Fibres Using ATR-FTIR Spectroscopy. *Heritage*, 5(4), 4114-4139. <https://doi.org/10.3390/heritage5040213>
- Geyer, R. (2020). Production, use, and fate of synthetic polymers. In *Plastic Waste and Recycling* (pp. 13-32). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817880-5.00002-5>
- Goldsworthy, S., Hindell, M. & Crowley, H. (1997). Diet and diving behaviour of sympatric fur seals *Arctocephalus gazella* and *A. tropicalis* at Macquarie Island. *Marine Mammal Research in the Southern Hemisphere*, 1, 151-163.
- Hernandez-Milian, G., Tsangaris, C., Anestis, A., Fossi, M. C., Baini, M., Caliani, I., Panti, C., Bundone, L. & Panou, A. (2023). Monk seal faeces as a non-invasive technique to monitor the incidence of ingested microplastics and potential presence of plastic additives. *Marine Pollution Bulletin*, 193, 115227. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115227>
- Heun, C. M., Schley, H. L. & Crimmins, S. M. (2022). River Otter Feeding Habits in Wisconsin, U.S.A.: Evidence of Microbead Contamination. *American Midland Naturalist*, 187, 279–286.

- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C. & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060-3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Hidalgo-Ruz, V. & Thiel, M. (2013). Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): a study supported by a citizen science project. *Marine Environmental Research*, 87-88, 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.02.015>
- Hudak, C. A. & Sette, L. (2019). Opportunistic detection of anthropogenic micro debris in harbor seal (*Phoca vitulina vitulina*) and gray seal (*Halichoerus grypus atlantica*) fecal samples from haul-outs in southeastern Massachusetts, USA. *Marine Pollution Bulletin*, 145, 390-395. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.020>
- Ivar do Sul, J. A. & Costa, M. F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution*, 185, 352-364. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.036>
- Iyare, P. U., Vanderlip, H. L., Dias, M., Provencher, J. F., Zou, S., Lougheed, S. C., Van Coeverden de Groot, P. J., Whitelaw, G., Branigan, M., Dyck, M. & Orihel, D. M. (2024). An assessment of microplastics in fecal samples from polar bears (*Ursus maritimus*) in Canada's North. *Arctic Science*. <https://doi.org/10.1139/as-2023-0060>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A. L., Narayan, R. & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771.
- Jardine, A. M., Matthews, C. J. D., Provencher, J. F., Hornby, C., Gamberg, M., Bourdages, M. P. T., Alexander, D., Naullaq, M. & Vermaire, J. C. (2023). No microplastics detected in the first assessment of Atlantic walrus stomachs from Nunavut, Canada. *Arctic Science*. <https://doi.org/10.1139/as-2023-0002>
- Jardine, A. M., Provencher, J. F., Insley, S. J., Tauzer, L., Halliday, W. D., Bourdages, M. P. T., Houde, M., Muir, D. & Vermaire, J. C. (2023). No accumulation of microplastics detected in western Canadian ringed seals (*Pusa hispida*). *Marine Pollution Bulletin*, 188, 114692. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114692>
- Jorquera, A., Castillo, C., Murillo, V., Araya, J., Pinochet, J., Narvaez, D., Pantoja-Gutierrez, S. & Urbina, M. A. (2022). Physical and anthropogenic drivers shaping the spatial distribution of microplastics in the marine sediments of Chilean fjords. *Science of The Total Environment*, 814, 152506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152506>
- Kappler, A., Fischer, M., Scholz-Bottcher, B. M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Fischer, D., Eichhorn, K. J. & Voit, B. (2018). Comparison of mu-ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(21), 5313-5327. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>
- Kim, L., Kim, S. A., Kim, T. H., Kim, J. & An, Y. J. (2021). Synthetic and natural microfibers induce gut damage in the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Aquatic Toxicology*, 232, 105748. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105748>

- Ladewig, S. M., Bao, S. & Chow, A. T. (2015). Natural Fibers: A Missing Link to Chemical Pollution Dispersion in Aquatic Environments. *Environmental Science & Technology*, 49(21), 12609-12610. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04754>
- Lariviere, S. (1998). *Lontra felina*. *Mammalian Species*, 575, 1-5. <https://doi.org/10.2307/3504377/2600421>
- Larkin, P. (2011). *Infrared And Raman Spectroscopy*. ELSEVIER.
- Le Guen, C., Suaria, G., Sherley, R. B., Ryan, P. G., Aliani, S., Boehme, L. & Brierley, A. S. (2020). Microplastic study reveals the presence of natural and synthetic fibres in the diet of King Penguins (*Aptenodytes patagonicus*) foraging from South Georgia. *Environment International*, 134, 105303. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105303>
- Lu, H. C., Smith, J. L., Ziajahromi, S. & Leusch, F. D. L. (2024). Microplastics and other anthropogenic fibres in large apex shark species: Abundance, characteristics, and recommendations for future research. *Chemosphere*, 349, 140957. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140957>
- Lusher, A. L., Burke, A., O'Connor, I. & Officer, R. (2014). Microplastic pollution in the Northeast Atlantic Ocean: validated and opportunistic sampling. *Marine Pollution Bulletin*, 88(1-2), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.08.023>
- Lusher, A. L. & Hernandez-Milian, G. (2018). Microplastic Extraction from Marine Vertebrate Digestive Tracts, Regurgitates and Scats: A Protocol for Researchers from All Experience Levels. *Bio-Protocol*, 8(22). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3086>
- Mangel, J. C., Whitty, T., Medina-Vogel, G., Alfaro-Shigueto, J., Cáceres, C. & Godley, B. J. (2010). Latitudinal variation in diet and patterns of human interaction in the marine otter. *Marine Mammal Science*, 27(2). <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2010.00414.x>
- Marcus, L., Mardones, J. I., Rioseco, J. T., Pinochet, J., Montes, C., Corredor-Acosta, A., Moreno-Meynard, P., Garces-Vargas, J., Jorquera, E., Iriarte, J. L. & Urbina, M. A. (2024). Evidence of plastic pollution from offshore oceanic sources in southern Chilean Patagonian fjords. *Science of The Total Environment*, 911, 168706. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168706>
- McIvor, A. J., Pires, R., Lopes, C., Raimundo, J., Campos, P. F., Pais, M. P., Canning-Clode, J. & Dinis, A. (2023). Assessing microplastic exposure of the Critically Endangered Mediterranean monk seal (*Monachus monachus*) on a remote oceanic island. *Science of The Total Environment*, 856(Pt 2), 159077. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159077>
- McMahon, C. R., Holley, D. & Robinson, S. (1999). The diet of itinerant male Hooker's sea lions, *Phocarctos hookeri*, at sub-Antarctic Macquarie Island. *Wildlife Research*, 26(6). <https://doi.org/10.1071/wr98079>
- Medina-Vogel, G., Bartheld, J. L., Pacheco, R. A. & Rodríguez, C. D. (2006). Population assessment and habitat use by marine otter *Lontra felina* in southern Chile. *Wildlife Biology*, 12(2), 191-199. [https://doi.org/10.2981/0909-6396\(2006\)12\[191:Paahub\]2.0.Co;2](https://doi.org/10.2981/0909-6396(2006)12[191:Paahub]2.0.Co;2)

- Medina-Vogel, G., Boher, F., Flores, G., Santibañez, A. & Soto-Azat, C. (2007). Spacing Behavior Of Marine Otters (*Lontra Felina*) In Relation To Land Refuges And Fishery Waste In Central Chile. *Journal of Mammalogy*, 88, 487-494.
- Medina-Vogel, G., Delgado-Rodríguez, C., Alvarez, R. E. & Bartheld, J. L. (2004). Feeding Ecology Of The Marine Otter (*Lutra Felina*) In A Rocky Seashore Of The South Of Chile. *Marine Mammal Science*, 20, 134-144.
- Medina-Vogel, G., Merino, L. O., Monsalve Alarcón, R. & Vianna, J. d. A. (2008). Coastal–marine discontinuities, critical patch size and isolation: implications for marine otter conservation. *Animal Conservation*, 11(1), 57-64. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2007.00151.x>
- Merrill, G. B., Hermabessiere, L., Rochman, C. M. & Nowacek, D. P. (2023). Microplastics in marine mammal blubber, melon, & other tissues: Evidence of translocation. *Environmental Pollution*, 335, 122252. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122252>
- Miller, R. Z., Watts, A. J. R., Winslow, B. O., Galloway, T. S. & Barrows, A. P. W. (2017). Mountains to the sea: River study of plastic and non-plastic microfiber pollution in the northeast USA. *Marine Pollution Bulletin*, 124(1), 245-251. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.028>
- Moore, R. C., Noel, M., Etemadifar, A., Loseto, L., Posacka, A. M., Bendell, L. & Ross, P. S. (2022). Microplastics in beluga whale (*Delphinapterus leucas*) prey: An exploratory assessment of trophic transfer in the Beaufort Sea. *Science of The Total Environment*, 806(Pt 1), 150201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150201>
- Moreira-Mendieta, A., Garcia-Garin, O., Munoz-Perez, J. P., Urquia, D. O., Drago, M., Borrell, A. & Paez-Rosas, D. (2023). Detection and quantification of microplastic pollution in the endangered Galapagos sea lion. *Science of The Total Environment*, 896, 166223. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166223>
- Muñoz, A. (2010). *Huellas y Signos de Mamíferos de Chile*. CEA Ediciones.
- Nabi, G., Ahmad, S., Ullah, S., Zada, S., Sarfraz, M., Guo, X., Ismail, M. & Wanghe, K. (2022). The adverse health effects of increasing microplastic pollution on aquatic mammals. *Journal of King Saud University - Science*, 34(4). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102006>
- Nelms, S. E., Galloway, T. S., Godley, B. J., Jarvis, D. S. & Lindeque, P. K. (2018). Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution*, 238, 999-1007. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.016>
- Nelms, S. E., Parry, H. E., Bennett, K. A., Galloway, T. S., Godley, B. J., Santillo, D., Lindeque, P. K. & Kurle, C. (2019). What goes in, must come out: Combining scat-based molecular diet analysis and quantification of ingested microplastics in a marine top predator. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(10), 1712-1722. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.13271>
- Norén, F. (2007). *Small plastic particles in Swedish West Coast Waters*.
- O'Connor, J. D., Lally, H. T., Mahon, A. M., O'Connor, I., Nash, R., O'Sullivan, J. J., Bruen, M., Heerey, L., Koelmans, A. A., Marnell, F. & Murphy, S. (2022). Microplastics in

- Eurasian otter (*Lutra lutra*) spraints and their potential as a biomonitoring tool in freshwater systems. *Ecosphere*, 13(7). <https://doi.org/10.1002/ecs2.3955>
- Ortega-Borchardt, J. A., Ramirez-Alvarez, N., Rios Mendoza, L. M., Gallo-Reynoso, J. P., Barba-Acuna, I. D., Garcia-Hernandez, J., Egido-Villarreal, J. & Kubenik, T. (2023). Detection of microplastic particles in scats from different colonies of California sea lions (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico: A preliminary study. *Marine Pollution Bulletin*, 186, 114433. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114433>
- Ory, N., Chagnon, C., Felix, F., Fernandez, C., Ferreira, J. L., Gallardo, C., Garces Ordonez, O., Henostroza, A., Laaz, E., Mizraji, R., Mojica, H., Murillo Haro, V., Ossa Medina, L., Preciado, M., Sobral, P., Urbina, M. A. & Thiel, M. (2018). Low prevalence of microplastic contamination in planktivorous fish species from the southeast Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 211-216. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.016>
- Ostfeld, R. S., Ebensperger, L. A., Klosterman, L. L. & Castilla, J. C. (1989). Foraging, Activity Budget and Social Behavior of the South American Marine Otter *Lutra felina* (Molina 1782). *National Geographic Research*, 5, 422-438.
- Parada, C. E., Sobarzo, M. A., Figueroa, D. & Castro, L. (2001). Circulación del Golfo de Arauco en un período de transición estacional: Un nuevo enfoque. *Investigaciones Marinas*, 29(1), 11-23.
- Peda, C., Caccamo, L., Fossi, M. C., Gai, F., Andaloro, F., Genovese, L., Perdichizzi, A., Romeo, T. & Maricchiolo, G. (2016). Intestinal alterations in European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exposed to microplastics: Preliminary results. *Environmental Pollution*, 212, 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.083>
- Perez-Guevara, F., Kutralam-Muniasamy, G. & Shruti, V. C. (2021). Critical review on microplastics in fecal matter: Research progress, analytical methods and future outlook. *Science of The Total Environment*, 778, 146395. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146395>
- Perez-Venegas, D. J., Seguel, M., Paves, H., Pulgar, J., Urbina, M., Ahrendt, C. & Galban-Malagon, C. (2018). First detection of plastic microfibers in a wild population of South American fur seals (*Arctocephalus australis*) in the Chilean Northern Patagonia. *Marine Pollution Bulletin*, 136, 50-54. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.065>
- Perez-Venegas, D. J., Toro-Valdivieso, C., Ayala, F., Brito, B., Iturra, L., Arriagada, M., Seguel, M., Barrios, C., Sepulveda, M., Oliva, D., Cardenas-Alayza, S., Urbina, M. A., Jorquera, A., Castro-Nallar, E. & Galban-Malagon, C. (2020). Monitoring the occurrence of microplastic ingestion in Otariids along the Peruvian and Chilean coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 153, 110966. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110966>
- Plastic Atlas*. (2019).
- Poblete, A. A., Górski, K. & Moscoso, J. (2019). Estimación de dietas del chungungo *Lontra felina* (Molina, 1782) en dos localidades de la región del Biobío, Chile. *Gayana*, 83, 1-9.

- Portal de Servicios Climáticos. <https://climatologia.meteochile.gob.cl/>
- Portella, E. H., Romanzini, D., Angrizani, C., Campos, S. & Zattera, A. J. (2016). Influence of Stacking Sequence on the Mechanical and Dynamic Mechanical Properties of Cotton/Glass Fiber Reinforced Polyester Composites. *Materials Research* <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2016-0058>
- Pozo, K., Gomez, V., Torres, M., Vera, L., Nunez, D., Oyarzun, P., Mendoza, G., Clarke, B., Fossi, M. C., Bains, M., Pribylova, P. & Klanova, J. (2019). Presence and characterization of microplastics in fish of commercial importance from the Biobio region in central Chile. *Marine Pollution Bulletin*, 140, 315-319. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.025>
- Remy, F., Collard, F., Gilbert, B., Compere, P., Eppe, G. & Lepoint, G. (2015). When Microplastic Is Not Plastic: The Ingestion of Artificial Cellulose Fibers by Macrofauna Living in Seagrass Macrophytodebris. *Environmental Science & Technology*, 49(18), 11158-11166. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02005>
- Rozzi, R. & Torres-Murra, J. C. (1990). Observaciones del chungungo (*Lutra felina*) al sur de la Isla Grande de Chiloé: antecedentes para su conservación. *Medio Ambiente*, 11, 24-28.
- Ryan, P. G., de Bruyn, P. J. & Bester, M. N. (2016). Regional differences in plastic ingestion among Southern Ocean fur seals and albatrosses. *Marine Pollution Bulletin*, 104(1-2), 207-210. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.032>
- Sanchez-Vidal, A., Thompson, R. C., Canals, M. & de Haan, W. P. (2018). The imprint of microfibrils in southern European deep seas. *PLoS One*, 13(11), e0207033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207033>
- Santillán, L., Saldaña-Serrano, M. & De-La-Torre, G. E. (2020). First record of microplastics in the endangered marine otter (*Lontra felina*). *Mastozoología Neotropical*, 27(1), 211-215. <https://doi.org/10.31687/saremMN.20.27.1.0.12>
- Santini, S., De Beni, E., Martellini, T., Sarti, C., Randazzo, D., Ciralo, R., Scopetani, C. & Cincinelli, A. (2022). Occurrence of Natural and Synthetic Micro-Fibers in the Mediterranean Sea: A Review. *Toxics*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/toxics10070391>
- Santos, R. G., Machovsky-Capuska, G. E. & Andrades, R. (2021). Plastic ingestion as an evolutionary trap: Toward a holistic understanding. *Science*, 373(6550), 56-60.
- Savoca, S., Capillo, G., Mancuso, M., Faggio, C., Panarello, G., Crupi, R., Bonsignore, M., D'Urso, L., Compagnini, G., Neri, F., Fazio, E., Romeo, T., Bottari, T. & Spano, N. (2019). Detection of artificial cellulose microfibers in *Boops boops* from the northern coasts of Sicily (Central Mediterranean). *Science of The Total Environment*, 691, 455-465. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.148>
- Savoca, S., Matanović, K., D'Angelo, G., Vetri, V., Anselmo, S., Bottari, T., Mancuso, M., Kužir, S., Spanò, N., Capillo, G., Di Paola, D., Valić, D. & Gjurčević, E. (2021). Ingestion of plastic and non-plastic microfibers by farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and common carp (*Cyprinus carpio*) at different life stages. *Science of The Total Environment*, 782. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146851>

- Scopetani, C., Esterhuizen-Londt, M., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Setala, H. & Pflugmacher, S. (2020). Self-contamination from clothing in microplastics research. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 110036. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110036>
- Sielfeld, W. (1990). Dieta del chungungo (*Lutra felina*, Molina, 1782) (Mustelidae, Carnivora) en Chile austral. *Revista de Investigaciones Científicas y Técnicas*, 1, 23-29.
- Sielfeld, W. & Castilla, J. C. (1999). Estado de conservación y conocimiento de las nutrias en Chile. *Estudios Oceanológicos*, 18, 69-79.
- Smiroldo, G., Balestrieri, A., Pini, E. & Tremolada, P. (2019). Anthropogenically altered trophic webs: alien catfish and microplastics in the diet of Eurasian otters. *Mammal Research*, 64(2), 165-174. <https://doi.org/10.1007/s13364-018-00412-3>
- Sobarzo, M., Bravo, L., Donoso, D., Garcés-Vargas, J. & Schneider, W. (2007). Coastal upwelling and seasonal cycles that influence the water column over the continental shelf off central Chile. *Progress in Oceanography*, 75(3), 363-382. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.022>
- Stanton, T., Johnson, M., Nathanail, P., MacNaughtan, W. & Gomes, R. L. (2019). Freshwater and airborne textile fibre populations are dominated by 'natural', not microplastic, fibres. *Science of The Total Environment*, 666, 377-389. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.278>
- Suaria, G., Achtypi, A., Perold, V., Lee, J. R., Pierucci, A., Bornman, T. G., Aliani, S. & Ryan, P. G. (2020). Microfibers in oceanic surface waters: A global characterization. *Science Advances*, 6(23), eaay8493. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay8493>
- Sussarellu, R., Suquet, M., Thomas, Y., Lambert, C., Fabioux, C., Pernet, M. E., Le Goic, N., Quillien, V., Mingant, C., Epelboin, Y., Corporeau, C., Guyomarch, J., Robbens, J., Paul-Pont, I., Soudant, P. & Huvet, A. (2016). Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(9), 2430-2435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519019113>
- Tetteh-Wright, T. A. (2019). *Revealing the variations in Eurasian otter (Lutra lutra) diet through dietary analysis in the Stour and Colne catchments*, Essex University College London].
- Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R., Barlaz, M. A., Jonsson, S., Bjorn, A., Rowland, S. J., Thompson, R. C., Galloway, T. S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P. H., Tana, T. S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M. P., Akkhang, K., . . . Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2027-2045. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0284>
- Thompson, R. C. O., Ylva; Mitchell, Richard P.; Davis, Anthony; Rowland, Steven J.; John, Anthony W. C.; McConigle, Daniel; Russell, Andrea E. (2004). Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science*, 304, 838.
- Urbina, M. A., da Silva Montes, C., Schafer, A., Castillo, N., Urzua, A. & Lagos, M. E. (2023). Slow and steady hurts the crab: Effects of chronic and acute microplastic

- exposures on a filter feeder crab. *Science of The Total Environment*, 857(Pt 1), 159135. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159135>
- Valqui, J. (2012). The marine otter *Lontra felina* (Molina, 1782): A review of its present status and implications for future conservation. *Mammalian Biology*, 77(2), 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2011.08.004>
- Valqui, J., Hartl, G. B. & Zachos, F. E. (2010). Non-invasive genetic analysis reveals high levels of mtDNA variability in the endangered South-American marine otter (*Lontra felina*). *Conservation Genetics*, 11(5), 2067-2072. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0069-9>
- Valqui, J. & Rheingantz, M. L. (2015). *Lontra felina*. In.
- Varo, I., Perini, A., Torreblanca, A., Garcia, Y., Bergami, E., Vannuccini, M. L. & Corsi, I. (2019). Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp *Artemia franciscana* at physiological, biochemical and molecular levels. *Science of The Total Environment*, 675, 570-580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.157>
- Vergara, O. A., Echevin, V., Sobarzo, M., Sepúlveda, H. H., Castro, L. & Soto-Mendoza, S. (2023). Impacts of the freshwater discharge on hydrodynamical patterns in the Gulf of Arauco (central-southern Chile) using a high-resolution circulation model. *Journal of Marine Systems*, 240. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2023.103862>
- Wesch, C., Barthel, A. K., Braun, U., Klein, R. & Paulus, M. (2016). No microplastics in benthic eelpout (*Zoarces viviparus*): An urgent need for spectroscopic analyses in microplastic detection. *Environmental Research*, 148, 36-38. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.03.017>
- Wright, S. L., Thompson, R. C. & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environmental Pollution*, 178, 483-492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>
- Zambrano, M. C., Pawlak, J. J., Daystar, J., Ankeny, M., Cheng, J. J. & Venditti, R. A. (2019). Microfibers generated from the laundering of cotton, rayon and polyester based fabrics and their aquatic biodegradation. *Marine Pollution Bulletin*, 142, 394-407. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.062>
- Zantis, L. J., Carroll, E. L., Nelms, S. E. & Bosker, T. (2021). Marine mammals and microplastics: A systematic review and call for standardisation. *Environmental Pollution*, 269, 116142. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116142>

## ANEXOS

Anexo 1: Curvas de deshidratación para las muestras obtenidas en ambos terrenos.

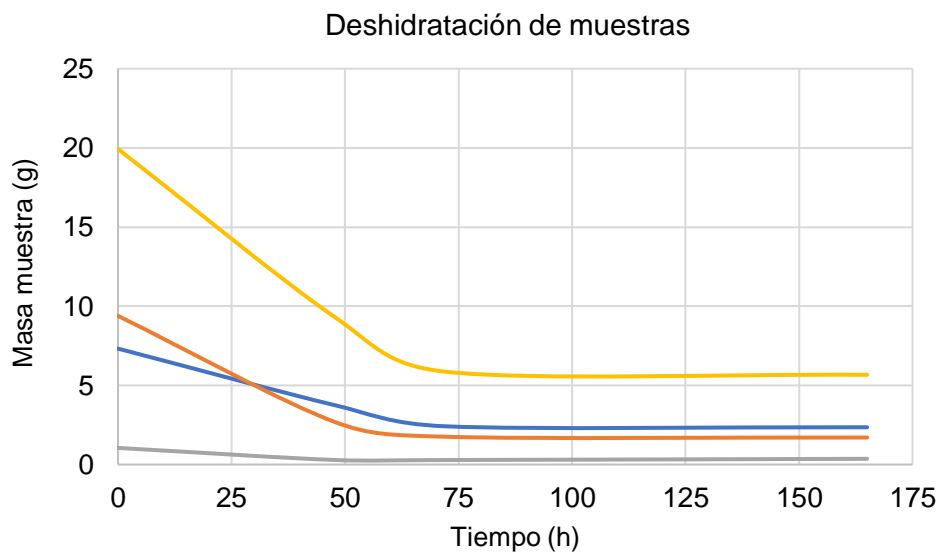


Figura 11. Curvas de deshidratación de las muestras correspondientes al primer muestreo (n=5).

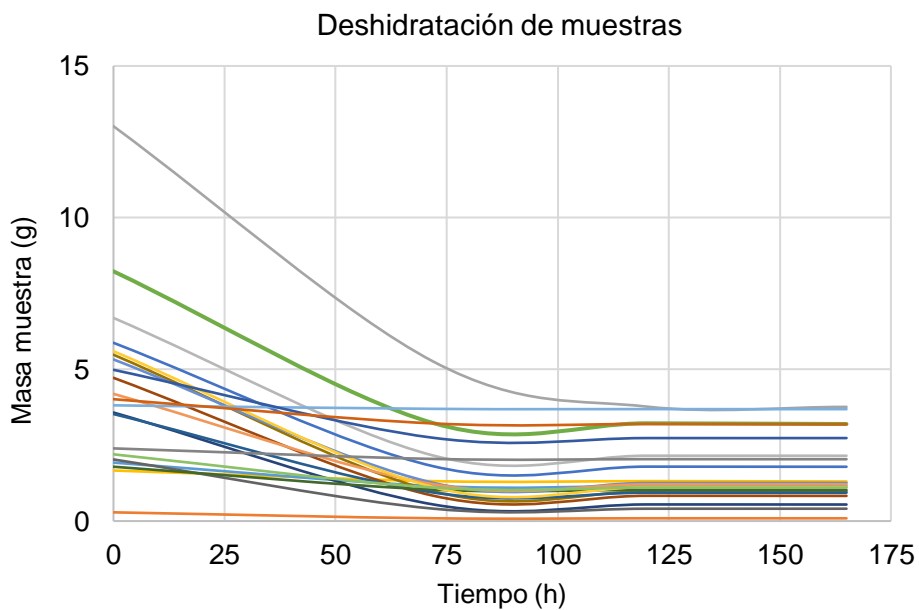


Figura 12. Curvas de deshidratación de las muestras correspondientes al segundo muestreo (n=19).

Anexo 2: Espectros  $\mu$ FTIR para fibras analizadas.

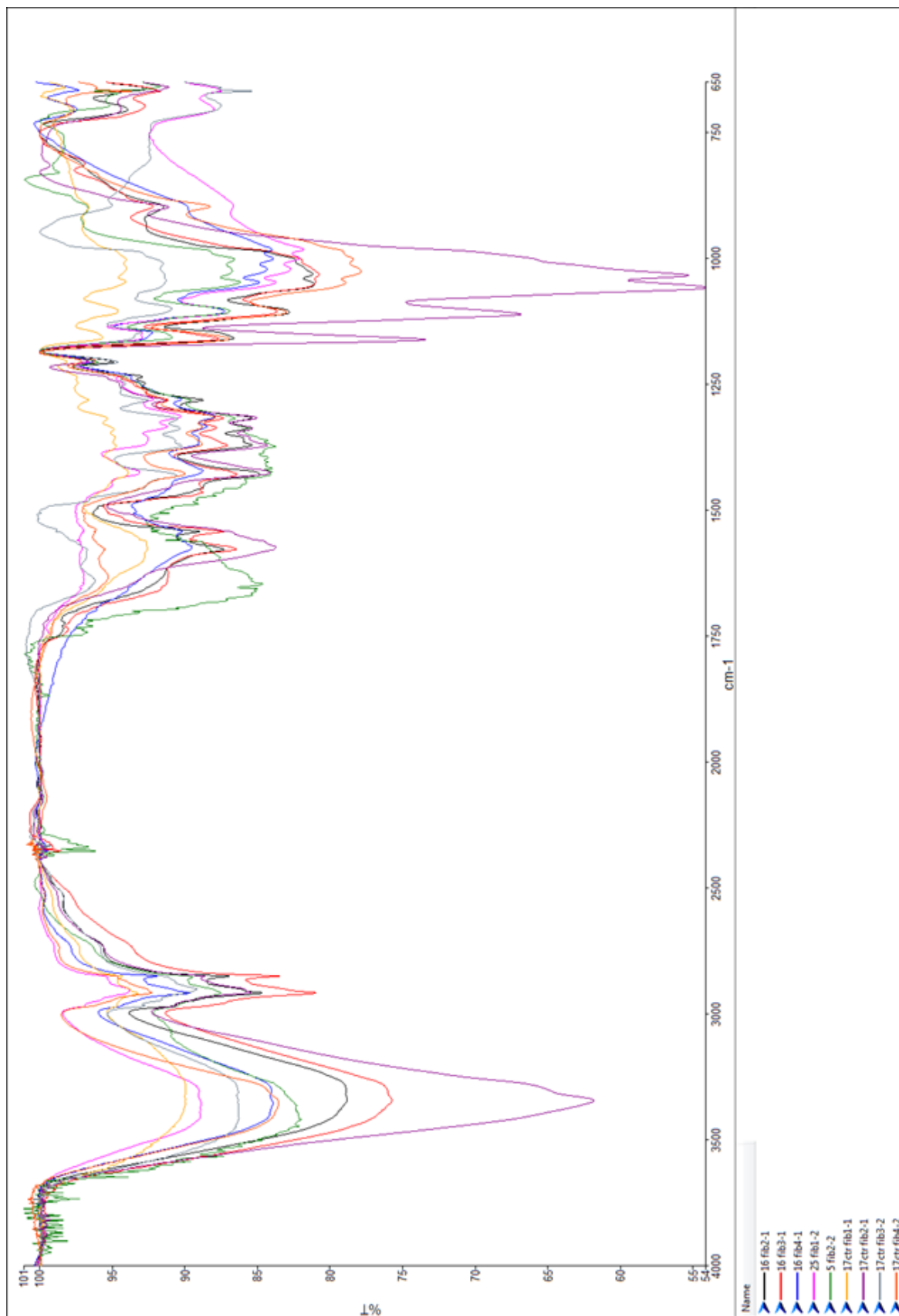
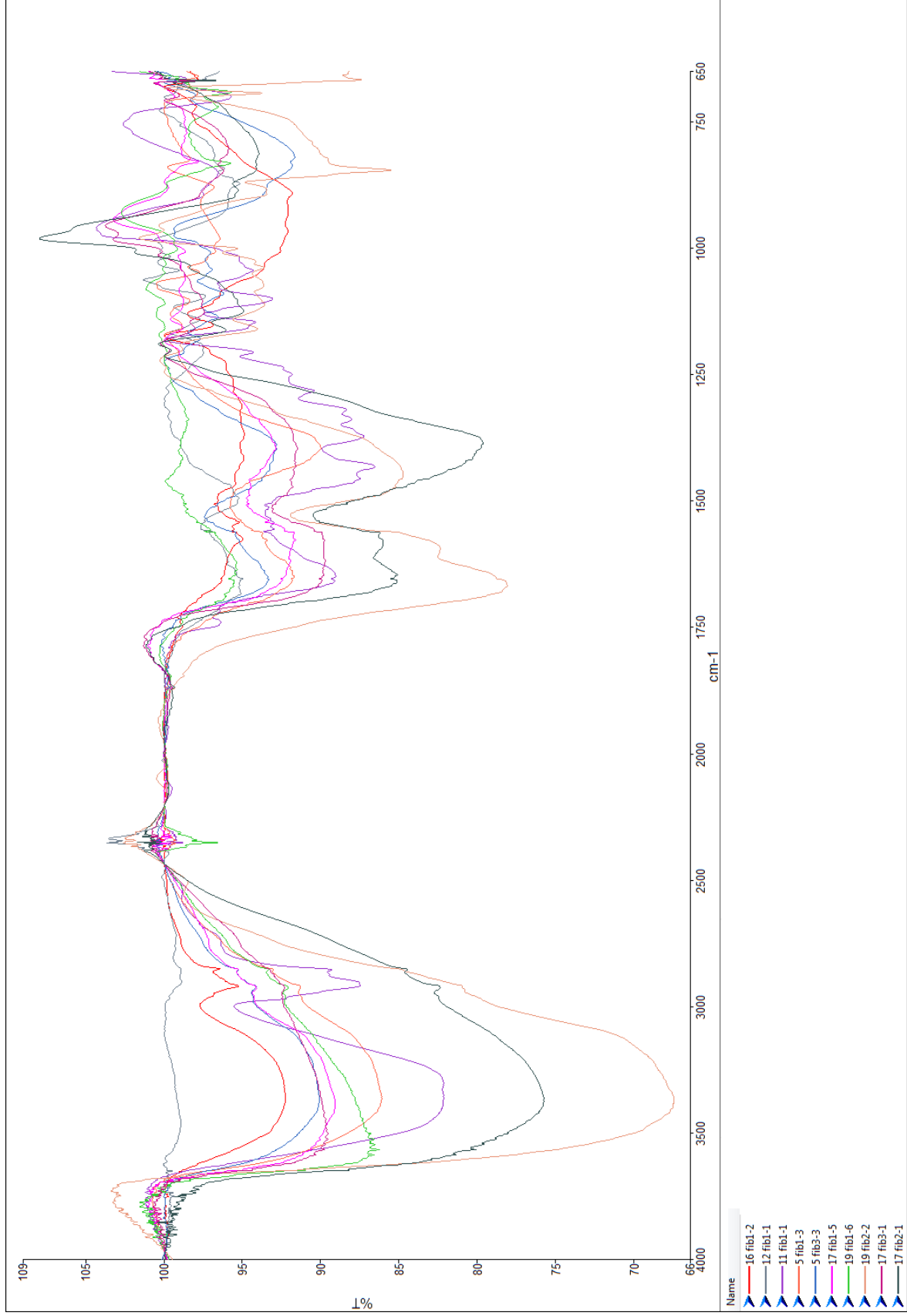


Figura 13. Espectro de  $\mu$ FTIR para 9 muestras. T%: Transmitancia.  $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda.



33 Figura 14. Espectro de  $\mu$ FTIR para 10 muestras. T%: Transmitancia.  $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda.

### Anexo 3: Espectros de referencia de distintos compuestos.

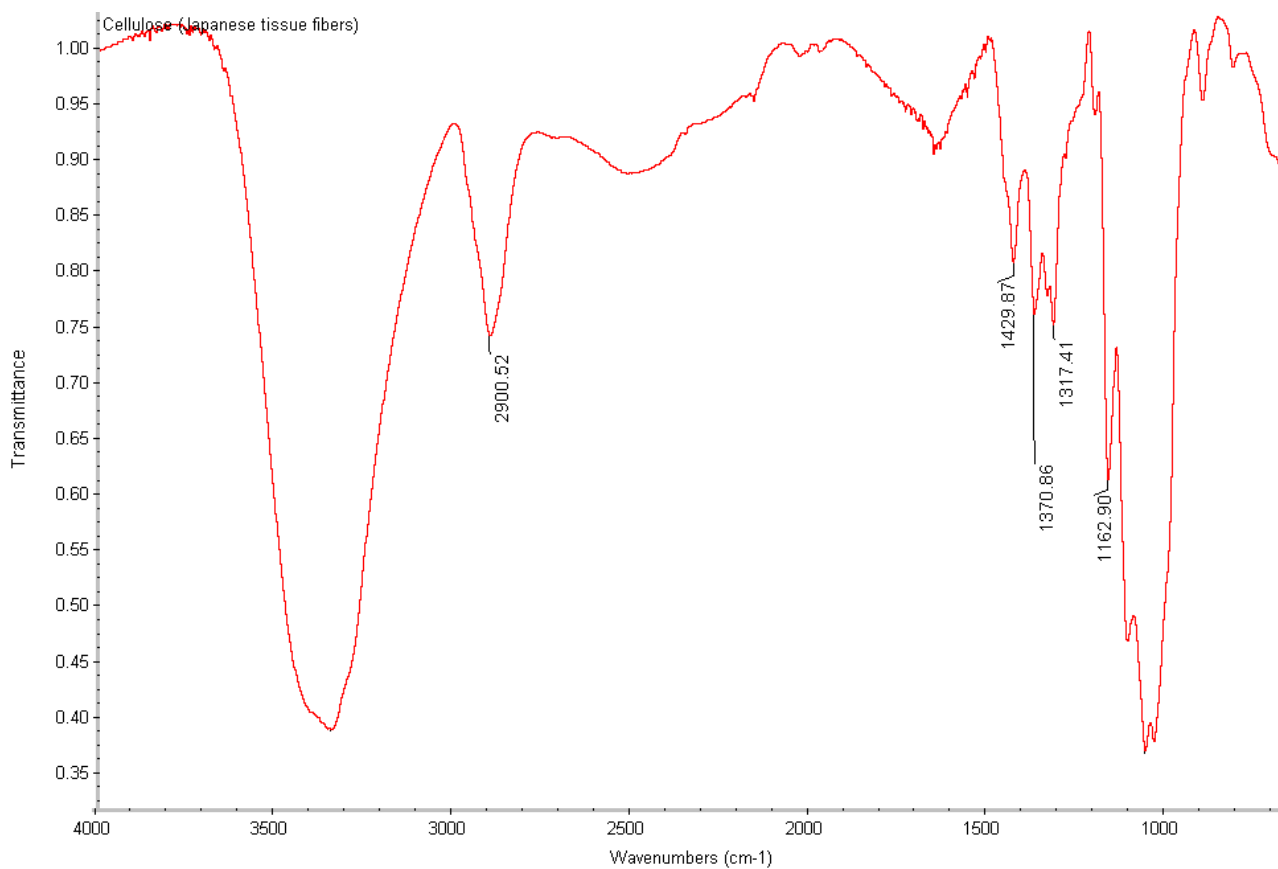


Figura 15. Espectro FTIR de celulosa de nitrato. cm<sup>-1</sup>: unidad de medida de longitud de onda. Analizada en un Nicolet iS10 FTIR en modo transmisión a una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y 100 escaneos. Figurada tomada de CAMEO, 2020.

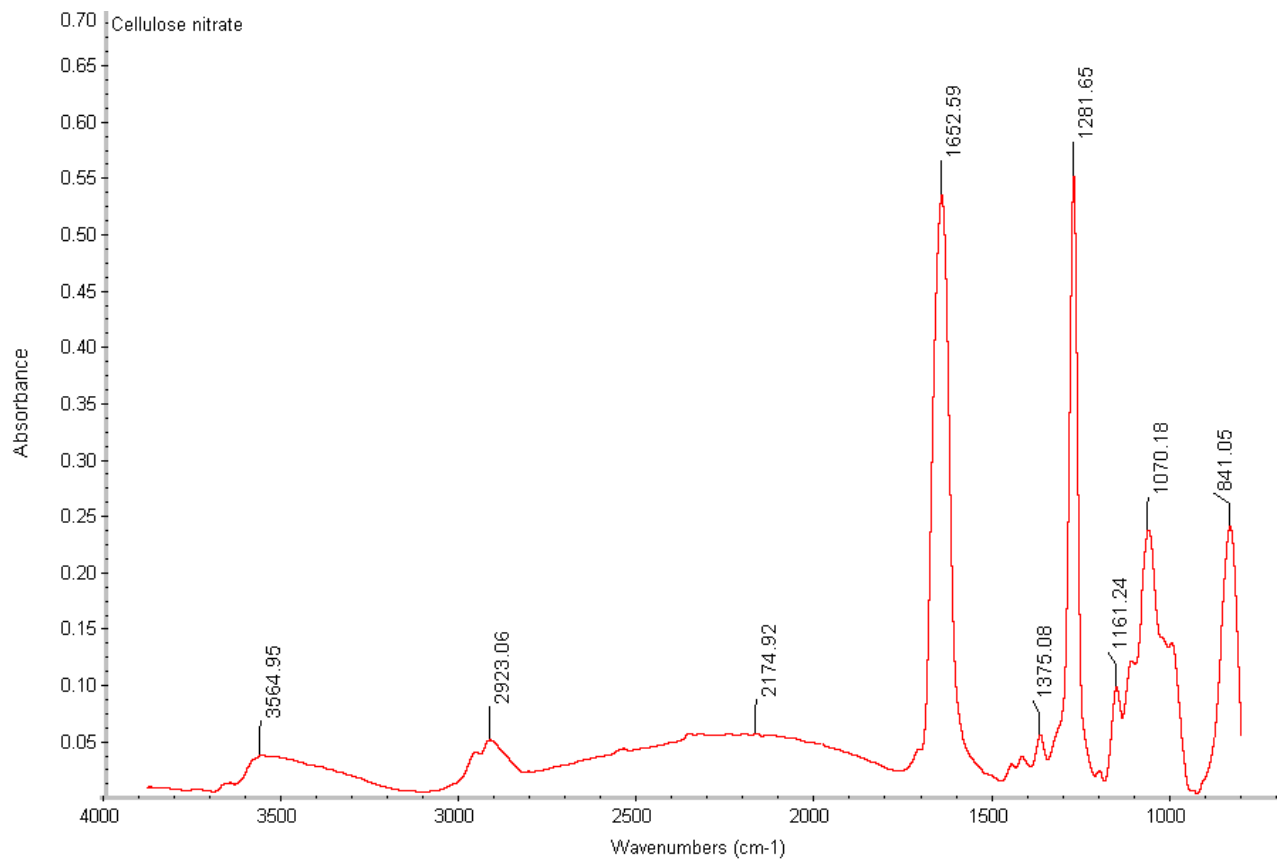


Figura 16. Espectro FTIR de celulosa de nitrato.  $\text{cm}^{-1}$ : unidad de medida de longitud de onda. Analizada en un Nicolet iS10 FTIR en modo transmisión a una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  y 100 escaneos. Figurada tomada de CAMEO, 2016.