



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

SÔNIA SILVA GURGEL DO AMARAL

APLICAÇÃO DA MICROSCOPIA ÓPTICA E
MICROESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO NA
AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE MICROPLÁSTICOS NA
PESCA ARTESANAL NA BAÍA DE GUANABARA, RJ.

NITERÓI, RJ
2023

SÔNIA SILVA GURGEL DO AMARAL

APLICAÇÃO DA MICROSCOPIA ÓPTICA E
MICROESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO NA
AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE MICROPLÁSTICOS NA
PESCA ARTESANAL NA BAÍA DE GUANABARA, RJ.

Dissertação de Mestrado, apresentada ao
Instituto de Física da Universidade Federal
Fluminense, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Física.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Meigikos dos Anjos

NITERÓI, RJ
2023

Sônia Silva Gurgel do Amaral

**APLICAÇÃO DA MICROSCOPIA ÓPTICA E MICROESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO NA AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE MICROPLÁSTICOS
NA PESCA ARTESANAL NA BAÍA DE GUANABARA, RJ.**

Dissertação submetida ao curso de pós-graduação em Física da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Física.

Aprovado em:13/11/2022.

BANCA AVALIADORA

Membros titulares



Prof. Dr. Roberto Meigikos dos Anjos
(Orientador)
IF/UFF



Profa. Dra. Kita Chaves Damasio Macario
IF/UFF



Prof. Dr. Ricardo Coutinho
IEAPM

Ficha catalográfica automática - SDC/BIF
Gerada com informações fornecidas pelo autor

G978a Gurgel Do Amaral, Sônia Silva
Aplicação da microscopia óptica e microespectroscopia de infravermelho na avaliação da contaminação de microplásticos na pesca artesanal na Baía de Guanabara, RJ.
/ Sônia Silva Gurgel Do Amaral. - 2023.
95 f.: il.

Orientador: Roberto Meigikos dos Anjos.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Instituto de Física, Niterói, 2023.

1. Microplásticos. 2. Microspectroscopia de infravermelho. 3. Vermelho de Nilo. 4. Baía de Guanabara. 5. Produção intelectual. I. Anjos, Roberto Meigikos dos, orientador. II. Universidade Federal Fluminense. Instituto de Física. III. Título.

CDD - XXX

À minha avó, Zenir (in memoriam).
Obrigada por tudo.

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer aos meus pais, Maria de Fátima e Rubens Luis, por sempre me apoiarem e me estimularem a confiar nas minhas capacidades.

À minha irmã, que sempre me acompanha e sempre acompanhará. Continuaremos juntas na família, na física, na acrobacia, na vida... Você me compreende melhor do que eu mesma. Obrigada por me acolher sempre que eu preciso.

Ao meu avô Josias, pela sua honestidade e dedicação, sendo sempre uma inspiração para toda nossa família.

Ao meu orientador, Roberto Meigikos, pela dedicação, pela paciência, pela amizade, mas acima de tudo, pela humanidade.

Ao meu namorado, Daniel Jauregui, por tornar meus dias tão divertidos, e sempre apoiar o meu trabalho.

Ao meu padrasto, Sérgio Duarte, pela ajuda nos estudos, mas principalmente por apoiar nossa família nos momentos difíceis de cuidados da minha avó ao longo dos últimos anos.

Aos meus amigos do LARA, Bárbara Cardozo, João Felizardo, Larissa Chao, Marcelo Muniz, Mariana Vezzone, Marianna Guimarães, Pedro Henrique Andrade, Renan Cardoso, Rodrigo Veiga e Thamires Bernardo, que de diversas maneiras me auxiliaram nessa caminhada.

Aos meus amigos da pós-graduação, que sempre estiveram juntos nos estudos e principalmente nas “pausas”. Um agradecimento especial às minhas colegas de sala, Caroline Seabra e Bruna Gonçalves, com quem compartilhei muitas risadas, choros e fofocas. Acredito que o vínculo que criamos seja inquebrável. Também agradeço especialmente o meu amigo Igor Oliveira, pelas conversas, pelos chamados entusiasmados para estudar, e pela ajuda essencial nas tarefas da representação discente.

Abstract

This master's thesis proposes the use of innovative techniques, based on fingerprint methods, to increase the degree of understanding regarding the environmental impacts of plastic debris, also known as microplastics, on marine organisms present in the Guanabara Bay, Rio de Janeiro. This location was chosen because it is the second largest bay on the Brazilian coast and because, although it is considered one of the most polluted coastal systems in the world, it is exploited by artisanal fishing as one of the main sources of income for a group of the population that lives around it. To this end, samples of two species of fish were analyzed, Corvina (*Micropogonias furnieri*) and Xerelete (*Caranx crysos*), which are of high commercial interest and, therefore, are frequently consumed by the Brazilian population. To identify and estimate the concentration of microplastics in its main organs, samples from the stomach, liver, muscles, gonads and gills were analyzed. The analytical methods used consisted of optical microscopy with a fluorescent adapter and Fourier transform mid-infrared microspectroscopy (μ FTIR), in order to determine the size, shape, color and chemical composition of the polymers that constitute the microplastics observed and, therefore, the main sources or plastic objects that originated these microplastics. The results indicated a high presence of small fragments and pellets (smaller than 1 mm) in these organs. Preliminary results from the μ FTIR analysis indicate that these microplastics come from plastic objects produced using polypropylene. Therefore, irregularly discarded plastic objects, which reach the waters of Guanabara Bay, can result from such debris and be mistaken as food for these fish and, therefore, present a potential risk to the health of these marine organisms, the local economy and the population that feeds on these fish.

Key Words: Environmental stressor, plastic debris, infrared microspectroscopy, optical microscopy, Nile red, Guanabara Bay.

Resumo

Esta dissertação de mestrado propõe o uso de técnicas inovadoras, a partir de métodos de impressões digitais (*Fingerprint Methods*), para aumentar o grau de entendimento a respeito dos impactos ambientais de detritos plásticos, também conhecidos como microplásticos, em organismos marinhos presentes na Baía da Guanabara, Rio de Janeiro. Este local foi escolhido por ser a segunda maior baía do litoral brasileiro e por, embora ser considerada um dos sistemas costeiros mais poluídos do mundo, ser explorada pela pesca artesanal como uma das principais fontes de renda de uma parcela da população que vive ao seu redor. Para tanto, foram analisadas amostras de duas espécies de peixes, Corvina (*Micropogonias furnieri*) e Xerelete (*Caranx crysos*), que possuem alto interesse comercial e, portanto, são frequentemente consumidos pela população brasileira. Para identificar e estimar a concentração de microplásticos em seus principais órgãos, foram analisadas amostras de estômago, fígado, músculos, gônadas e brânquias. Os métodos analíticos utilizados constituíram de microscopia óptica com adaptador fluorescente e microespectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier (μ FTIR), a fim de determinar o tamanho, forma, cor e a composição química dos polímeros que constituem os microplásticos observados e com isso, as principais fontes ou objetos plásticos que deram origem a estes microplásticos. Os resultados indicaram a presença elevada de pequenos fragmentos e pellets (menores do que 1 mm) nestes órgãos. Resultados preliminares da análise por μ FTIR apontam que estes microplásticos são provenientes de objetos plásticos produzidos a partir da utilização de polipropileno. Portanto, objetos plásticos descartados irregularmente, que atingem as águas da Baía da Guanabara, podem resultar de tais detritos e serem confundidos como alimentos para estes peixes e, portanto, apresentam risco potencial para a saúde destes organismos marinhos, para a economia e a população que se alimenta destes pescados.

Palavras-Chave: Estressor ambiental, detritos plásticos, microespectroscopia de infravermelho, microscopia óptica, vermelho de nilo, Baía de Guanabara.

Lista de Figuras

Figura 2.1: Ilustração das principais atividades humanas que representam fontes de entrada dos microplásticos no meio ambiente. Modificado de Montagner et al. (2021).

Figura 2.2: Transporte do microplástico no ambiente marinho. Modificado de Atugoda et al. (2022).

Figura 2.3: Ilustração dos impactos do efeito combinado do microplástico com poluentes marinhos, em peixes. Modificado de Amélia et al. (2021).

Figura 2.4: Localização da Baía de Guanabara, uso e ocupação do solo em seu entorno no Estado do Rio de Janeiro, 2021. Retirada de (Silva et. al; 2023).

Figura 2.5: Exemplar coletado de *Micropogonias furnieri*.

Figura 2.6: Exemplar coletado de *Caranx crysos*.

Figura 2.7: Exemplos de modos vibracionais da molécula. Imagem modificada de (Soderberg, 2016).

Figura 2.8: Ilustração de um interferograma, usado na obtenção de um espectro de absorbância em função do número de onda para a caracterização de microplásticos. Retirado de (Cardoso, 2018).

Figura 3.1: Ponto de chegada e coleta das amostras pescadas dentro da Baía de Guanabara, e sua localização relativa à Baía. Editado do Google Earth.

Figura 3.2: **a)** imagem de um Xerelete sendo pesado na balança; **b)** imagem de um Xerelete durante o processo de medição do seu comprimento.

Figura 3.3: Representação do comprimento padrão (CP) e comprimento total (CT) de uma Corvina.

Figura 3.4: Extração do músculo do Xerelete.

Figura 3.5: Vials contendo amostras de órgãos de peixes, submersos em KOH10%.

Figura 3.6: (A) Sistema de extração de material sólido; (B) Posicionamento do filtro de celulose no funil de Buchner.

Figura 3.7: Separação por densidade contendo microplásticos de diferentes composições poliméricas utilizando as principais soluções salinas saturadas (NaCl, NaI, ZnBr₂) e água do mar, retirada de (Montagner, 2021).

Figura 3.8: (A) Solução de NaI 4.4 M sendo inserida através de uma pipeta em um falcon contendo filtros de amostras; (B) Falcons passando pelo processo de sonicação.

Figura 3.9: (A) Mesa agitadora orbital; (B) centrífuga.

Figura 3.10: Diagrama do protocolo de extração de microplásticos de tecidos e órgãos de peixes. Modificado de (Karami et al., 2017).

Figura 3.11: (A) Vial com sobrenadante de uma amostra de músculo de uma Corvina; (B) Filtragem do sobrenadante de músculo de corvina.

Figura 3.12: (A) Solução do Vermelho de Nilo em acetona; (B) Gotejamento da solução de Vermelho de Nilo com acetona nos filtros de amostras.

Figura 3.13: (A) Montagem do microscópio junto ao adaptador de fluorescência para estereomicroscópio; (B) Luz UV incidindo sobre o filtro posicionado no microscópio.

Figura 3.14: Exemplo da divisão de pistas no filtro de celulose.

Figura 3.15: Microscópio LUMUS II ao lado de um computador com o software OPUS aberto.

Figura 3.16: Cristal de germânio do LUMUS II realizando a medição de uma amostra aderida a um filtro de celulose.

Figura 4.1: Quantidade total de possíveis microplásticos observados em cada indivíduo analisado da espécie *Micropogonias furnieri* (Corvina). Feito com barra de erro equivalente a 16%.

Figura 4.2: Quantidade total de possíveis microplásticos observados em cada indivíduo analisado da espécie *Caranx crysos* (Xerelete). Feito com barra de erro equivalente a 16%.

Figura 4.3: Quantidade de possíveis microplásticos encontrados na Corvina, na forma de: **(A)** Filamento; **(B)** Fragmento. Feito com barra de erro equivalente a 16%.

Figura 4.4: Quantidade de possíveis microplásticos encontrados na Corvina, na forma de: **(A)** Filamento; **(B)** Fragmento. Feito com barra de erro equivalente a 16%.

Figura 4.5: Espectros de absorvância por número de onda de um fragmento analisado na amostra XE-09-EST, em vermelho, e de um polietileno virgem, em cinza.

Figura 4.6: Espectros de absorvância por número de onda de um filamento analisado na amostra CO-09-EST, em vermelho, e de dois materiais de referência, sendo eles o algodão+linho (60:40) em azul e o cotonete de celulose em verde.

Figura 5.1: Gráfico da média dos comprimentos padrão e total das Corvinas e Xereletes e gráfico da distribuição normal dos comprimentos dos mesmos.

Figura 5.2: Gráfico da média de massas das Corvinas e Xereletes e gráfico da distribuição normal das massas dos mesmos.

Figura 5.3: Média das contagens de possíveis microplásticos encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Figura 5.4: Quantidade total de possíveis microplásticos encontrados em cada exemplar das Corvinas e dos Xereletes analisados. A barra de erro equivalente a 16%.

Figura 5.5: Espectros de absorvância por número de onda de dois pontos analisados na amostra CO-09-EST.

Figura 5.6: Imagens de filamentos presentes na amostra CO-09-EST, expostos à luz (a) UV e (b) branca. Os pontos em azul e vermelho representam os pontos selecionados para a análise de infravermelho, e o quadrado vermelho representa a área analisada pelo equipamento.

Figura 5.7: Média das contagens de possíveis microplásticos, com exceção dos filamentos, encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Figura 5.8: Quantidade total de possíveis microplásticos, com exceção dos filamentos, encontrados em cada exemplar das 12 Corvinas e dos 10 Xereletes analisados. A barra de erro equivale a 16%.

Figura 5.9: Média das contagens de possíveis fragmentos e pellets encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Figura 5.10: Médias das contagens de microplástico por órgão ou tecido das Corvinas e dos Xereletes.

Figura 5.11: Médias das contagens por órgão ou tecido do: (A) total de fragmentos encontrados nos Xereletes; (B) total de pellets encontrados nos Xereletes e (C) total de fragmentos encontrados nas Corvinas.

Figura 5.12: Possível pellet branco transparente da amostra XE-03-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.13: Possível pellet branco da amostra XE-03-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.14: Possível fragmento azul da amostra XE-07-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.15: Possível fragmento verde da amostra CO-01-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.16: Possível filamento azul da amostra XE-06-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco

em 55000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.17: Possível filamento verde da amostra CO-01-BRA, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.18: Possível filamento laranja da amostra CO-01-EsC, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.19: Possível filamento azul e laranja da amostra XE-10-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000 K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Figura 5.20: Possível filamento que não floresceu encontrado na amostra CO-08-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco no automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Tabela de bandas de absorções dos polímeros mais encontrados ou popularmente conhecidos. Modificado de (Jung, 2018)

Tabela 3.1 - Valores dos dados biométricos (massa, comprimento padrão e comprimento total) dos indivíduos obtidos de Corvina e Xerelete, com uma incerteza de 0,05 g nas massas e 0,5 cm nos comprimentos.

Tabela 3.2 - Valores das massas dos órgãos e tecidos extraídos de cada Corvina, que apresentam uma incerteza de 0,0005 g.

Tabela 3.3 - Valores das massas dos órgãos e tecidos extraídos de cada Xerelete, que apresentam uma incerteza de 0,0005 g.

Tabela 4.1 - Massa do material resultante da segunda filtragem das amostras de órgãos e tecidos da Corvina, com incerteza de 0,0005 g.

Tabela 4.2 - Massa do material resultante da segunda filtragem das amostras de órgãos e tecidos do Xerelete, com incerteza de 0,0005 g.

Tabela 4.3 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos das Corvinas 1 a 6, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Tabela 4.4 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos das Corvinas 7 a 12, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Tabela 4.5 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos dos Xereletes 1 a 7, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Tabela 4.6 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos dos Xereletes 8 a 10, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Tabela 4.7 - Quantidade total de possíveis microplásticos encontrados em cada Corvina e Xerelete analisado.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	X
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	X
2.1. MICROPLÁSTICOS	X
2.1.1. Distribuição dos microplásticos no meio ambiente	X
2.1.1.1. Praias	X
2.1.1.2. Sedimentos Marinhos	X
2.1.1.3. Água	X
2.1.2. Consequências da presença dos microplásticos no meio ambiente	X
2.1.2.1. Crustáceos e moluscos	X
2.1.2.2. Peixes	X
2.1.2.3. Aves	X
2.1.2.4. Humanos	X
2.2. BAÍA DE GUANABARA	X
2.3. ESPÉCIES AMOSTRADAS	X
2.3.1. Família: Sciaenidae	X
2.3.1.1. <i>Micropogonias furnieri</i>	X
2.3.2. Família: Carangidae	X
2.3.1.1. <i>Caranx crysos</i>	X
2.4. ANÁLISE DOS MICROPLÁSTICOS	X
2.4.1. Espectroscopia de Infravermelho	X
3. MATERIAIS E MÉTODOS	X
3.1. COLETA	X
3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS	X
3.2.1. Extração dos órgãos e tecidos	X
3.2.2. Digestão química dos órgãos e tecidos	X
3.2.3. Primeira filtragem	X

3.2.4. Separação dos microplásticos por flotação	X
3.3. ANÁLISE ÓPTICA	X
3.3.1. Preparação de amostras com Vermelho de Nilo	X
3.3.2. Contagem e caracterização de microplásticos com Vermelho de Nilo	X
3.4. ANÁLISE QUÍMICA	X
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	X
 4. RESULTADOS	X
 5. DISCUSSÃO	X
 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	X
 7. REFERÊNCIAS	X

1. INTRODUÇÃO

Ao mesmo tempo em que foram criados os materiais plásticos a partir de polímeros orgânicos sintéticos e semissintéticos, revolucionando o mundo moderno, o descarte inadequado destes originaram os detritos plásticos, que estão destruindo este mesmo mundo moderno (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Rocha-Santos et al., 2022). Suas principais características, tais como alta resistência, maleabilidade quando aquecido, leveza e baixo custo de produção, fizeram os materiais plásticos serem amplamente aceitos pela sociedade. Segundo uma estimativa realizada em 2019, a produção global de plásticos atingiu cerca de 400 milhões de toneladas (Vasconcelos, 2019; Plastics Europe and EPRO, 2019; Orona-Návar et al., 2022). Deste montante, a América Latina e Caribe (ALC) é responsável por 8% do consumo global. Cálculos recentes indicam que mais de 17.000 toneladas/dia de lixo plástico estão sendo gerados atualmente na ALC (Fernandes et al., 2022). Contudo, o baixo índice percentual de reciclagem destes resíduos (4,5%), faz com que a maior parte seja incinerado ou levado para aterros sanitários. Por sua vez, a má gestão dos resíduos sólidos faz com que grandes proporções dos detritos plásticos cheguem ao meio ambiente (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Fernandes et al., 2022; Orona-Návar et al., 2022). Além do descarte irregular de resíduos sólidos, grande parte do esgoto doméstico e efluentes industriais gerados na ALC não são devidamente tratados e, portanto, são descarregados diretamente nas bacias hidrográficas. A ausência de investimentos públicos a longo prazo e a falta de compromissos locais para fornecer infraestruturas adequadas e conscientização da população são os principais fatores que geram este caos. Para piorar a situação, também não existem regulamentações adequadas para evitar a presença do lixo marinho (Orona-Návar et al., 2022).

A maior parte do lixo marinho é originário de fontes terrestres, uma vez que o plástico mal gerido pode ser transportado através de rios e lagos até aos oceanos (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Rocha-Santos et al., 2022). Segundo o modelo global de entrada de plástico (Lebreton et al., 2017), a América Latina possui dois dos vinte rios mais poluídos do mundo e permite que o Rio Amazonas, que atravessa o Brasil, a Colômbia, o Equador e o Peru, despeje anualmente até 65.000 toneladas de resíduos plásticos no oceano e, o Rio Magdalena (Colômbia) com até 30.000 toneladas (Orona-Návar et al., 2022).

Por sua vez, a Baía da Guanabara (BG), sendo a segunda maior baía do litoral brasileiro e situada na região metropolitana do Rio de Janeiro, está entre os sistemas costeiros mais poluídos do mundo (Orona-Návar et al., 2022). Esta região,

portanto, tem sido foco de estudos científicos que sugerem a presença de detritos plásticos em suas águas superficiais com concentrações de até 16,4 itens/m³ (Fistarol et al., 2015; Fries et al., 2019; Orona-Návar et al., 2022). Levando-se em conta que a BG possui um volume médio de água de $1,87 \times 10^9$ m³ (Amador, 2012; Kjerfve et al., 1997), ela tem, assim, potencial para também ter o ingresso anual de milhares de toneladas de lixo plástico (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Rocha-Santos et al., 2022).

Estes níveis de poluição plástica têm sido associados à descarga de efluentes nos rios que deságuam na Baía da Guanabara. A ausência de saneamento básico eficaz em boa parte da metrópole do Rio de Janeiro, permite que grandes quantidades de resíduos industriais, urbanos e agropecuários cheguem à BG. Além disso, a utilização de materiais plásticos na maricultura, principalmente das fazendas de mexilhões, também contribuem para que os níveis de poluição plástica na BG sejam preocupantes (Castro et al., 2016; Figueiredo e Vianna, 2018; Fries et al., 2019; Anjos et al., 2020; do Amaral, 2021; Orona-Návar et al., 2022).

Embora na América Latina e Caribe (ALC) os investimentos financeiros em ciências e tecnologia ainda sejam muito baixos, fazendo com que seus países contribuam com apenas 5% da produção científica mundial sobre as causas e efeitos dos detritos plásticos em seus ecossistemas costeiros e marinhos, os poucos resultados existentes têm revelado importantes observações (Silva et al., 2019; Anjos, et al., 2020; Delvalle et al., 2020; Garcés-Ordóñez et al., 2020a; Garcés-Ordóñez et al., 2020b; do Amaral, 2021). Os detritos plásticos presentes nestes ecossistemas possuem diversos tamanhos (macro, meso, micro e nano). Contudo, a grande parte é composta por microplásticos, que são partículas com comprimento entre 0,001 e 5 mm. Suas formas são, principalmente, fibras e fragmentos. As cores são várias, aparecendo com maior frequência o branco, transparente, amarelo, azul, verde e vermelho. Mas ao permanecerem por longos períodos no meio ambiente, estes detritos sofrem descoloração, mudanças morfológicas em suas superfícies, mudanças em sua cristalinidade e densidade, além do crescimento de biofilmes (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Rocha-Santos et al., 2022). Em termos da composição química, esses detritos são oriundos de materiais plásticos produzidos por polímeros principalmente do tipo polipropileno (PP), polietileno (PE) e poliestireno (PS). Estes compostos são tipicamente usados na produção de objetos plásticos, tais como embalagens descartáveis, sacolas, canudos, recipientes para armazenamento de vários produtos orgânicos e inorgânicos, copos, garrafas, espumas, fibras têxteis etc.

Do ponto de vista socioambiental, a baixa produção científica ainda faz com que os conhecimentos adquiridos sejam insuficientes para serem utilizados tanto como referências para aprimorar de forma eficaz as estratégias de mitigação como para compreender os impactos ambientais de microplásticos nos ecossistemas costeiros e marinhos da ALC, devido a importantes diferenças socioeconômicas e geográficas presentes na região. Por exemplo, as informações disponíveis não permitem determinar de forma precisa os impactos da poluição microplástica na biota e na saúde humana. No Brasil, há comunidades altamente vulneráveis e de

baixa renda (incluindo os povos indígenas) que têm enfrentado historicamente alta exposição a poluentes (UNEP, 2021) pela falta de acesso às informações ambientais (ECLAC, 2018). Por isso, ainda é muito importante realizar pesquisas científicas na ALC em busca de compreender os impactos socioambientais dos microplásticos e elaborar estratégias eficazes para a mitigação de seus danos.

A fim de contribuir para o aprimoramento de informações sobre os impactos de detritos plásticos na região de América Latina e Caribe e servir de material capaz de auxiliar na elaboração de estratégias de mitigação, esta dissertação tem como objetivo central o de avaliar a ingestão de microplásticos em duas espécies de peixes tipicamente encontrados na Baía de Guanabara, que possuem alto interesse comercial e, portanto, são frequentemente consumidos pela população brasileira: Corvina (*Micropogonias furnieri*) e Xerelete (*Caranx crysos*). Este é o primeiro passo para o avanço da compreensão de seus efeitos na biota. Para tanto, são determinadas concentrações de microplásticos em diversos órgãos destes peixes, tais como estômago, fígado, músculos, gônadas e brânquias. Com o intuito de estimar as principais fontes dos microplásticos. Serão avaliados o tamanho, forma, cor e polímeros que constituem os microplásticos observados. Os métodos analíticos utilizados constituem de microscopia óptica com adaptador fluorescente e microespectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier (μ FTIR). Estes métodos são inovadores e permitem obter uma “impressão digital” das fontes que contribuem para o dano ambiental e, portanto, são conhecidos na literatura científica como “Fingerprint Methods” (Rocha-Santos e Duarte, 2017; Rocha-Santos et al., 2022).

O Laboratório de Radioecologia e Alterações Ambientais (LARA) da Universidade Federal Fluminense (UFF) participa de importantes projetos de cooperação técnica da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), com o objetivo de fortalecer as capacidades regionais da América Latina e do Caribe no uso de técnicas nucleares, de isótopos estáveis e correlatas para aumentar o conhecimento do impacto dos estressores ambientais que afetam as zonas costeiras e contribuir para a gestão sustentável dos recursos marinhos. Desta forma, as técnicas inovadoras necessárias para a execução deste trabalho estão disponíveis no LARA.

Assim, esta dissertação está organizada em mais cinco capítulos. No próximo capítulo é apresentada a fundamentação teórica na qual este trabalho está baseado para compreender o impacto de microplásticos em peixes da Baía da Guanabara. O Capítulo 3 é dedicado à descrição dos materiais e métodos utilizados, tais como os procedimentos de coleta e preparo das amostras, da análise e interpretação das informações obtidas. Os resultados são apresentados no Capítulo 4, seguido da discussão destes no Capítulo 5. Por fim, o Capítulo 6 apresenta as principais conclusões encontradas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 MICROPLÁSTICOS

O plástico é um material orgânico sintético ou semissintético composto por polímeros (substâncias macromoleculares, compostas pela união de várias moléculas menores). Muitos plásticos podem possuir outros componentes ou aditivos em sua composição (formando uma mistura ou *blend* de polímeros ou de outras substâncias) utilizadas para alterar suas características, tais como estabilizantes ultravioleta (UV) e antioxidantes, que servem para retardar a degradação do material (Van Der Vegt, 2006). Atualmente, os polímeros mais utilizados pela indústria são o polietileno (PE), muito utilizado na produção de sacolas plásticas, canudos e tampas de garrafa; polipropileno (PP), apropriado para embalagens alimentícias e utilizado em peças automotivas; poliestireno (PS), comum em utensílios descartáveis, nylon (PA), utilizado em roupas e equipamentos de pesca; politereftalato de etileno (PET), encontrado em garrafas e embalagens e policloreto de vinila (PVC), amplamente utilizado em tubulações, pisos, portas e janelas (Pelamatti et al., 2022).

Por um bom tempo, não houve consenso entre os autores a respeito da definição do tamanho que uma partícula plástica deve possuir para ser considerada um microplástico. Definir microplásticos como partículas de plástico cujo diâmetro é menor do que 1 mm pode parecer natural, uma vez que esta definição segue o Sistema Internacional de Unidades para comprimento, de acordo com o prefixo micro. Porém, desde a sua aparição na literatura, o microplástico é, muitas vezes, delimitado por um diâmetro menor do que 5 mm, seguindo o significado popular do prefixo micro, originário do grego *μικρός* (transliterado: mikros), que significa pequeno. Em 2008, a Administração Oceanográfica e Atmosférica Nacional (*National Oceanographic and Atmospheric Agency - NOAA*), ligada ao governo dos Estados Unidos da América (EUA), realizou o primeiro Workshop Internacional de Microplásticos, em Washington, onde definiu-se que o limite de tamanho máximo para que partículas fossem consideradas microplásticos seria de um diâmetro menor do que 5 mm (Arthur et al; 2009). Posteriormente, a União Européia seguiu os EUA, adotando o limite superior de 5 mm de diâmetro na caracterização dos microplásticos, dentro da sua legislação (*Marine Strategy Framework Directive - MSFD*) (Galgani et al., 2010).

Os microplásticos podem ser divididos em duas categorias que facilitam a identificação de possíveis fontes destas partículas: primários e secundários (Arthur et al., 2009). As partículas plásticas que foram produzidas com dimensões microscópicas, se encaixando na categoria de microplásticos desde a sua produção, são consideradas microplásticos primários. Estes microplásticos podem ser produzidos tanto como precursores de outros materiais plásticos maiores, como pellets de pré-produção, quanto para o uso imediato em produtos como esfoliantes para a pele e outros cosméticos, abrasivos industriais, pastas de dente ou como vetores para medicamentos (Cole et al., 2011; Arthur et al., 2009).

Já os microplásticos secundários são aqueles provenientes da fragmentação de plásticos maiores em pedaços menores. Essa fragmentação ocorre geralmente no meio ambiente, tanto na terra quanto no mar, quando estes plásticos são expostos de maneira contínua a processos químicos, físicos e biológicos, que levam a redução da integridade física destes rejeitos, até a sua fragmentação (Cole et al., 2011). A exposição prolongada à radiação solar sofrida pelos plásticos no meio ambiente, pode acarretar na fotodegradação dos mesmos, uma vez que a radiação ultravioleta tem o potencial de causar a oxidação da matriz polimérica, diminuindo a massa molecular do polímero. Junto ao efeito de outras formas de degradação, como a termodegradação e a biodegradação, a fotodegradação danifica a integridade estrutural do material, tornando-o suscetível a quebras causadas pela abrasão do plástico com outros objetos presentes no ambiente, como pedras, ondas do mar, e seres vivos (Cole et al., 2011). Apesar da fotodegradação ser considerada a principal causa de degradação dos microplásticos no meio ambiente, o seu efeito é reduzido drasticamente em partículas suspensas ou submersas na água, uma vez que estas têm uma exposição menor à luz solar, ao oxigênio e à altas temperaturas (Andrady, 2011).

Além da classificação como microplástico primário ou secundário, outras características físicas podem ser categorizadas, de maneira a facilitar a identificação de possíveis fontes desses detritos. Assim, muitos estudos também classificam os microplásticos reportados de acordo com as suas cores e formas. Hidalgo-Ruz (2012) aponta que as cores mais reportadas na literatura são aquelas relacionadas ao branco, como o próprio branco e outros tons aproximados, como o âmbar (*"discolored yellow"*) e o transparente esbranquiçado/creme (*"clear-white-cream"*). Porém, diversas outras cores também são reportadas, como o amarelo, verde, azul, vermelho, laranja, preto, cinza, marrom e rosa (Hidalgo-Ruz, 2012). A forma do microplástico pode ser relevante no momento de identificar possíveis fontes, além de poderem agir de maneiras diferentes no ambiente. Assim, suas principais formas são: fragmentos, pellets, filamentos, filmes, espuma, isopor e granulados (Hidalgo-Ruz, 2012).

2.1.1 Distribuição dos microplásticos no meio ambiente

Diversas práticas e atividades humanas terrestres e aquáticas atuam como fonte de entrada dos microplásticos (MP) no mar. No entanto, muitas dessas fontes poderiam ser reduzidas ou evitadas através de um melhor manejo ou fiscalização. Pode-se afirmar que estas atividades terrestres são divididas entre fontes individuais (causadas por pequenos grupos, que quando somadas representam uma grande fonte de entrada) e fontes de larga escala, como atividades industriais. Alguns exemplos de contribuições individuais são as microesferas provenientes de cosméticos e produtos de higiene pessoal, a lavagem de roupas sintéticas, o descarte inadequado de resíduos sólidos, o desgaste de pneus e o descarte inadequado de esgoto. Já a contribuição em larga escala de fontes terrestres (Figura 2.1) tem como exemplo a perda logística de plástico em grandes empresas, a utilização de filmes plásticos na agricultura, o descarte em lixões e aterros e as Estações de Tratamento de Esgoto (ETE; Montagner et al., 2021).

As fontes de entrada terrestres do microplástico na natureza acabam, muitas vezes, transportando-os para ambientes hídricos, como rios e lagoas. Estes, por sua vez, podem levá-los para outros ambientes mais distantes, como o mar. Porém, muitas atividades geram uma entrada direta dos detritos plásticos nos oceanos, como o desgaste de pinturas de embarcações, o descarte inadequado de lixo proveniente destas e a atividade pesqueira industrial e artesanal (Figura 2.1). Essa diversidade de fontes acaba facilitando a chegada do microplástico em ambientes distintos e variados e dificultando a identificação da origem dos mesmos. Alguns estudos já apontaram quantidades significativas de fibras presentes na poeira de ambientes internos (Liu et al., 2019; Dehghani et al., 2017), assim como em ambientes externos, onde o MP é transportado por longas distâncias, através das deposições atmosféricas úmida e seca.



Figura 2.1: Ilustração das principais atividades humanas que representam fontes de entrada dos microplásticos no meio ambiente. Modificado de Montagner et al. (2021).

2.1.1.1 Praias

As praias compõem sistemas altamente complexos e variáveis. Durante períodos de alta energia, como na ressaca do mar, ou na ocorrência de chuvas, as praias apresentam mudanças drásticas, que são facilmente percebidas pelos transeuntes. Porém, tais alterações podem ser provocadas mesmo em momentos de menor energia, através do transporte de sedimentos pelas ondas para as faixas de areia das praias. Além das alterações momentâneas sofridas pelas praias, ao longo das décadas elas sofrem alterações mais permanentes, como os sedimentos, que podem ser quimicamente enrijecidos, propiciando a formação de pedras, gerando, inclusive, estabilidade para este ambiente (Strafella et al., 2022).

Atualmente, as praias no mundo todo estão lotadas de partículas de macro e microplástico provenientes de ambientes terrestres, como foi ilustrado na Figura 2.1. Contudo, muitos microplásticos chegam nas praias vindos diretamente do mar, onde MPs de baixa densidade podem flutuar, sendo transportados por grandes distâncias até a praia através das correntes marítimas (Corcoran et al., 2009). Os primeiros estudos que reportaram a presença de microplásticos em sedimentos de praias foram realizados em 1970, nas praias da Nova Zelândia, Canadá, Bermudas, Líbano e Espanha, onde foram reportadas resinas plásticas de 2 a 5 mm, com uma concentração que variava de 20.000 a 100.000 itens/m² (Van Cauwenberghe, 2015). Atualmente, a maior parte dos polímeros reportados em praias são PE, PP e PS (Strafella et al., 2022).

A degradação dos plásticos depositados nas faixas de areia das praias ocorre de maneira muito mais acelerada do que em partículas encontradas no mar, uma vez que nesse ambiente, a exposição à radiação UV, altas temperaturas e a ação mecânica abrasiva, são muito mais intensas (Corcoran et al., 2009). Desta forma, tais mecanismos físicos são responsáveis pela fragmentação de uma quantidade expressiva de microplásticos, tornando as praias um dos principais meios de geração de MPs secundários. Assim, a limpeza, o controle e o entendimento da contaminação espacial e temporal de microplásticos nas praias é essencial para a redução da entrada destes poluentes em outros ambientes. Porém, diversos fatores, relacionados à falta de um procedimento padrão de coleta, preparo e análises deste tipo de amostras, fazem com que os dados existentes na literatura sejam de difícil comparação, prejudicando o entendimento geral da contaminação de MPs nestes ambientes (Strafella et al., 2022).

2.1.1.2 Sedimento marinho

Os sedimentos marinhos, compostos primariamente de pedras e partículas de solo, que são transportadas dos continentes para o fundo dos oceanos através de rios, geleiras e da erosão eólica, cobrem 70% da superfície da Terra. Eles abrangem áreas muito extensas, indo desde as zonas entre marés até as profundidades dos oceanos. As suas características são, portanto, muito variadas, uma vez que a grande diferença de profundidade nestas regiões leva a valores muito distintos de disponibilidade de luz, temperatura, pressão e velocidades de correntes (Strafella et al., 2022).

O sedimento marinho é um ecossistema rico em espécies. Ele representa a conexão entre os organismos que vivem nas colunas d'água e os organismos bentônicos, onde diversas relações extremamente relevantes ocorrem entre tais espécies, como a alimentação (Snelgrove, 2013). Da mesma forma, esse sedimento é considerado uma matriz de acumulação de microplásticos a longo prazo. O ajuntamento de MPs nos sedimentos representa uma preocupação para os seres que dependem deste ambiente, como peixes, crustáceos e até os seres humanos, devido às implicações que a presença destes MPs pode ter para a teia alimentar (Morét-Ferguson et al., 2010; Cózar et al., 2014; Bergamaschi et al., 1997; Chakraborty et al., 2015). Além dos microplásticos precipitados de alta densidade ($> 1.02 \text{ g cm}^{-3}$), outros MPs, de densidade menor do que a densidade da água do mar, também podem afundar e se acumularem no sedimento marinho. O que ocorre quando a sua densidade original é alterada, através de diferentes mecanismos como a formação de biofilmes, compostos por organismos procariontes, eucariontes e invertebrados (Andrady, 2011; Reisser et al., 2013; Zettler et al., 2013).

A velocidade das correntes marinhas no fundo do oceano tem uma grande influência na distribuição dos sedimentos, de acordo com o tamanho dos grãos. Grãos mais grossos costumam se acumular no fundo de rios e praias, já as partículas mais finas são levadas ao fundo dos oceanos, como grãos de areia menores, lodo e argila. Os MPs estão sujeitos ao mesmo fenômeno de transporte pelas correntezas marinhas, que influenciam na concentração de microplásticos nos sedimentos marinhos ao redor do mundo (Kane e Clare, 2019; Pohl, 2020; Kane et al., 2020). Kane e Clare (2019) já observaram uma coincidência entre os pontos de grande acumulação de microplásticos em sedimentos marinhos com pontos de biodiversidade batipelágica, podendo representar uma grande ameaça para os seres vivos que interagem direta ou indiretamente com estas regiões.

2.1.1.3 Água

O oceano possui uma grande variação de parâmetros químicos, como pH, oxigênio e sais, além de uma grande variação física, como a sua temperatura, salinidade e permeabilidade pela radiação solar. Com uma profundidade máxima conhecida de 11 km, ele pode ser dividido em diferentes zonas de acordo com a profundidade da água. A camada da superfície, que possui centímetros de

profundidade, é onde se encontra a maior quantidade de gases atmosféricos, luz e calor, enquanto a zona epipelágica (< 200 m), ainda apresenta uma boa penetração de luz solar para os processos de fotossíntese. No entanto, na zona mesopelágica (200 m a 1.000 m), a luz que consegue penetrar essas águas não é suficiente para a ocorrência da fotossíntese e existe pouco oxigênio disponível. Já a zona batipelágica (1.000 m a 4.000 m) é fria e escura, com exceção da bioluminescência e a zona abissopelágica (4.000 m a 6.000 m), geralmente está em contato com o fundo abissal do oceano, onde se acumulam materiais vindos de cima. Por fim, existem regiões onde ocorre a zona hadopelágica (6.000 m a 11.000 m), que é formada pelos locais mais profundos do oceano conhecidos atualmente (FGDC, 2012).

A presença de microplásticos nos oceanos começou a ser reportada na década de 70, na superfície dos oceanos Atlântico e Pacífico (Carpenter e Smith, 1972). Estima-se que os microplásticos presentes na superfície dos oceanos representam apenas 1% do total de plástico distribuído no meio ambiente, onde os mais encontrados nas regiões costeiras são as microfibras (Barrows et al., 2018). Assim, muitos MPs não estão na superfície do oceano, mas sim em profundidades maiores (Strafella et al., 2022). Erni-Cassola et al. (2019) realizaram uma meta-análise onde pôde-se observar a concentração dos polímeros mais encontrados no mar de acordo com a profundidade onde eles estavam presentes. Os polímeros de baixa densidade costumam estar na superfície da água, como o polipropileno ou PP (25%) e o polietileno ou PE (42%), que reduzem drasticamente de concentração com o aumento da profundidade, chegando a 3% (PP) e 2% (PE) em águas mais profundas. Já os polímeros mais densos como o acrílico, o Polietileno tereftalato (PET) e os poliésteres passam de aproximadamente 5% de concentração na superfície para 77% em águas mais profundas.

Choy et al. (2019) fizeram uma análise da concentração vertical dos MPs no oceano, na costa central da Califórnia, EUA. eles observaram que em águas cuja profundidade varia entre 200 e 600 m existe uma maior concentração de microplástico. Já a concentração dos MPs em águas superficiais, próximas a 5 m, é muito similar à concentração em profundidades maiores de 1.000 m. Devido à grande variabilidade de fatores relativos aos estudos de microplásticos na coluna d'água no mundo, como a diferença de salinidade, profundidade e equipamentos, diversas metodologias de amostragem são realizadas atualmente, o que complica a comparação entre os estudos, gerando a necessidade da padronização destas metodologias.

2.1.2 Consequências da presença dos microplásticos no meio ambiente

Quando o microplástico está presente no ambiente marinho, ele pode interagir com diversos organismos. Desta maneira, ele pode penetrar na teia alimentar daquela região, em diferentes níveis tróficos e nichos ecológicos, desde o primeiro nível trófico, como fitoplânctons e zooplânctons, até espécies maiores, como tartarugas e pássaros, como exemplifica a Figura 2.2 (Wagner e Lambert, 2018; Watts et al., 2014). Enquanto organismos pelágicos, como os plânctons e

pequenos crustáceos, possuem uma tendência maior de ingerir diversas partículas plásticas, organismos bentônicos, como os vermes aquáticos (*polychaeta*), moluscos e os equinodermos, costumam ingerir com uma maior frequência MPs de alta densidade. Já plásticos que foram fragmentados para dimensões ainda menores, tornando-se nanoplásticos, têm a capacidade de penetrar no sistema circulatório dos animais, causando danos ao organismo a longo prazo, interferindo na produção de nutrientes e causando estresse fisiológico (Wang et al., 2019; Ma et al. 2020).

A ingestão destas partículas de microplásticos em diferentes níveis tróficos ocasiona na bioacumulação deste poluente, podendo levá-lo à alimentação humana. Além dos problemas que a presença de MPs em um organismo pode causar, os microplásticos que estão disponíveis em um ambiente marinho podem atuar como reservatórios e vetores de exposição e transmissão de toxinas. Uma vez que contaminantes químicos como poluentes orgânicos persistentes (POP), compostos hidrofóbicos e metais pesados, se aderem facilmente às partículas de plástico (Avio et al., 2017; Brennecke et al. 2016; Caruso, 2019; Liao e Yang, 2020; Sobral et al., 2011).

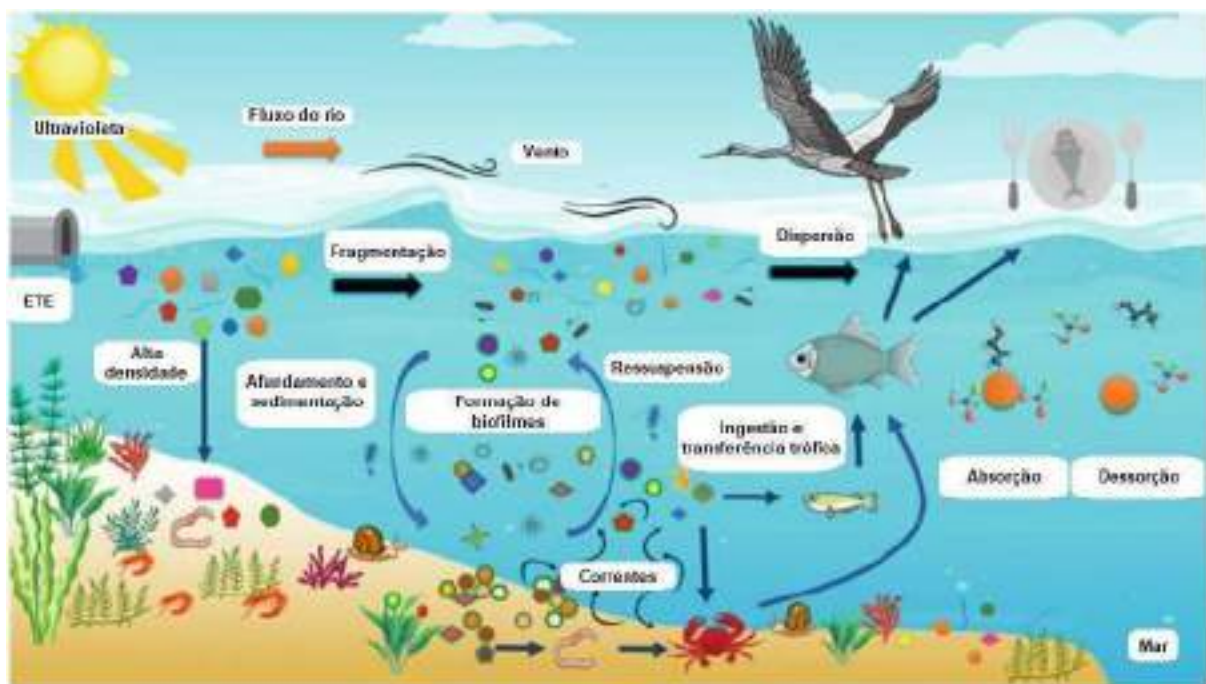


Figura 2.2: Transporte do microplástico no ambiente marinho. Modificado de Atugoda et al. (2022).

2.1.2.1 Crustáceos e moluscos

Com o acúmulo de microplásticos de maior densidade no sedimento marinho, criaturas que habitam e se alimentam nestes sedimentos possuem uma probabilidade maior de interagir e ingerir microplásticos, do que organismos do ambiente pelágico (Carbery et al., 2018). Diversos estudos apontaram alguns malefícios que a interação com o MP's pode causar para organismos como

moluscos e crustáceos. Browne et al. (2008) observaram que partículas que foram ingeridas pelo *Mytilus Adulis*, tem a tendência de se acumular no intestino deste molusco. Desta maneira, que quando possui uma grande quantidade de partículas de MP's acumuladas em seu corpo, ele pode ter a sua habilidade de se fixar ao fundo reduzida, aumentando as suas chances de flutuar. Yu et al. (2018) perceberam que o microplástico pode causar danos ao fígado e estresse oxidativo ao crustáceo *Eriocheir Sinensi*, afetando o crescimento de indivíduos mais jovens. Redondo-Hasselerharm et al. (2018), relataram que, quando exposto à um ambiente de sedimentos com uma alta concentração de microplásticos, organismos como o *Gammarus Pulex*, apresentam efeitos preocupantes no seu desenvolvimento, como a redução do crescimento e a diminuição na taxa de emergência dos adultos.

2.1.2.2 Peixes

A ingestão de microplásticos por peixes pode ocorrer de duas maneiras: direta ou indiretamente. Esta ingestão ocorre tanto para peixes pelágicos quanto para peixes demersais. Alguns estudos já apontaram que os hábitos alimentares de cada espécie exercem uma grande influência na determinação do acúmulo de microplástico em cada peixe (Atugoda et al., 2022). Weis (2019) apontou que cerca de 80% dos peixes ingerem microplásticos compostos por fragmentos de PE azul, devido à similaridade em cor e tamanho que estas partículas possuem com os copépodes, um grupo de crustáceo amplamente consumido por eles.

Em alguns casos, o microplástico ingerido pelo peixe pode adentrar no seu sistema circulatório e se deslocar através dos tecidos, causando danos para os seus órgãos internos (Atugoda et al., 2022). Lu et al. (2016) e Jabeen et al. (2018), observaram alterações severas no fígado, danos no trato gastrointestinal e mudanças na atividade metabólica de alguns exemplares de *Carassius Auratus* (peixe-japonês) e *Danio Rerio* (peixe-zebra). De acordo com Park et al. (2020), os polímeros mais encontrados nos peixes são o politetrafluoretileno (PTFE), polietileno e raíom, sendo > 94% deles encontrados na forma de fragmentos e o restante de fibras. Park et al. (2020) também apontaram que a alta densidade do PTFE o deixa mais propenso para a ingestão por peixes que habitam o fundo do mar.

Além dos problemas causados pela presença de partículas plásticas no organismo dos peixes, os MPs podem ser contaminados por metais pesados, químicos e poluentes, e transportá-los para o organismo deles. O efeito combinado da partícula plástica e da bioacumulação destes poluentes no peixe pode levar ao estresse fisiológico, perda de peso, anomalias morfológicas, imobilização, neurotoxicidade, danos oxidativos, desregulação enzimática, redução na taxa de crescimento, redução na concentração de clorofila, deterioração do sistema reprodutor, alteração na resposta imune, genotoxicidade e mortalidade, como exemplifica a Figura 2.3 (Wang et al., 2019; Barboza et al., 2018; Batel et al., 2016; Khan et al., 2017; Kim et al., 2017a; Ma et al., 2016; Prata et al., 2018; Qiao et al., 2019; Qu et al., 2018; Syberg et al., 2017; Zhu et al., 2019).

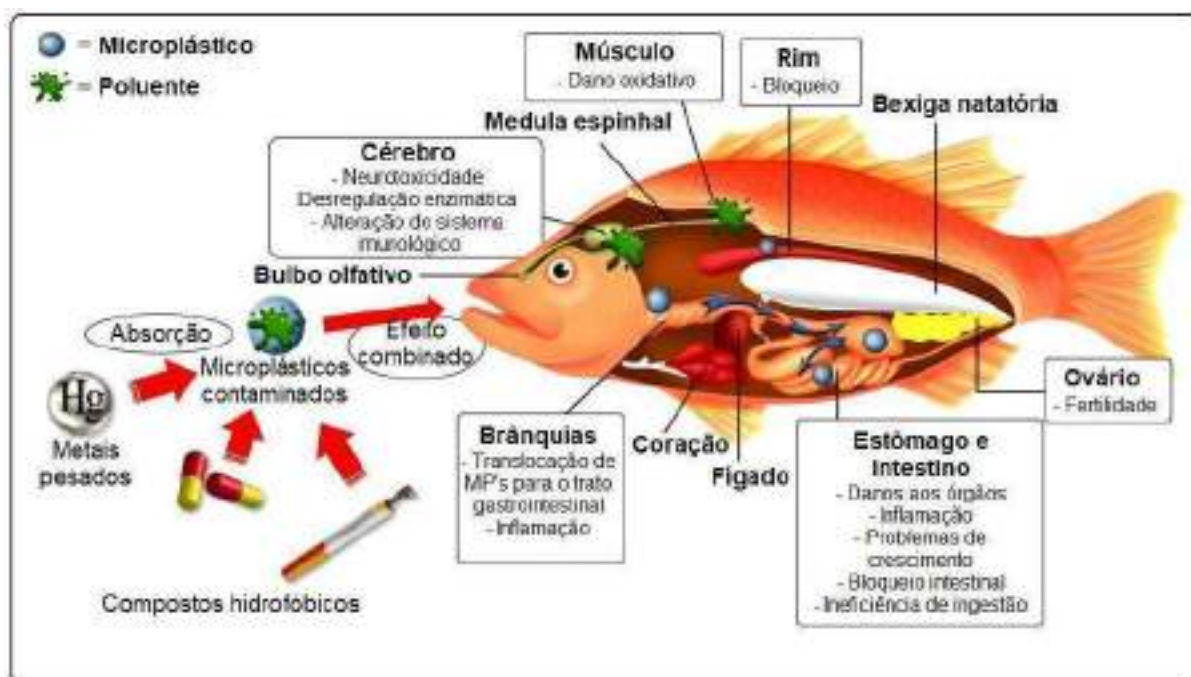


Figura 2.3: Ilustração dos impactos do efeito combinado do microplástico com poluentes marinhos, em peixes. Modificado de Amélia et al. (2021).

2.1.2.3 Aves

As aves marinhas e costeiras podem ingerir microplásticos de duas maneiras: através da ingestão direta, ou através da ingestão de outros organismos, como peixes, que por sua vez tenham ingerido MP. Zhao et al. (2016) perceberam que 16 das 17 aves terrestres de Shangai, China, analisadas, possuíam microplásticos no seu trato gastrointestinal. Van Franeker et al. (2011) observaram que no Mar do Norte, cerca de 95% dos *Fulmars Glacialis* possuíam plástico em seu estômago. Em 2019, um estudo a respeito da dieta do Corvo-marinho-de-orelhas, nos Grandes Lagos da América do Norte, apontou que 86% dos seus filhotes possuíam fragmentos e filamentos de MPs no seu intestino (Brookson et al., 2019). Ainda em 2019, foram encontradas partículas de MPs em fezes de pinguins na Antártica, apontando para a ingestão desses em áreas remotas e pouco habitadas do planeta (Bessa et al., 2019).

A ingestão de microplástico por aves pode causar diversos transtornos para a sua saúde. Alguns dos possíveis problemas já documentados são a formação de fortes respostas inflamatórias, a redução na alimentação do animal, a perda de energia, atraso na ovulação, falha reprodutiva e o aumento na mortalidade (Carbery et al. 2018).

2.1.2.4 Humanos

O microplástico presente no meio ambiente pode ser inserido no organismo humano através de duas principais maneiras: a inalação de partículas dispersas no ar, e a dieta humana, como o consumo de alimentos provenientes do ambiente marinho, com peixes e frutos do mar, ou, até mesmo, pelo consumo de água engarrafada (Amelia et al., 2021; Zhou et al., 2021). Wright e Kelly (2017) estimaram que a população Chinesa que consome frutos do mar pode ingerir até 100.000 MPs por ano, enquanto Zhou (2021) observou uma média de 16 partículas por garrafa, ao analisar 23 marcas de água engarrafada na China, variando de 2 a 23 partículas por garrafa d'água.

Os efeitos do microplástico no organismo humano são pouco conhecidos. Porém, alguns estudos já apontaram para a possibilidade do microplástico penetrar as vias aéreas e pulmões dos humanos e outros mamíferos, se alojando nas suas paredes. Tais MPs podem induzir uma inflamação crônica ou aguda, onde microfibras já foram apontadas como tóxicas para as células pulmonares e cancerígeno (Pauly et al., 1998; Porter et al., 1999; Wright e Kelly, 2017; Omenn et al., 1986). Muitos aditivos do MP (como monômeros, catalisadores, estabilizadores e emulsificantes) são considerados contaminantes ambientais, uma vez que estes produtos químicos podem bioacumular no tecido adiposo dos animais, que eventualmente poderão ser consumidos pelos humanos (Hwang et al., 2020; Todd et al., 2003).

Os efeitos do microplástico no organismo humano ainda são pouco conhecidos, e a falta de fortes evidências dos problemas diretos que estas partículas podem trazer para os seres humanos podem ser fatores que auxiliam na manutenção da produção excessiva, do consumo e do descarte de detritos plásticos na natureza (Amelia et al., 2021).

2.2 BAÍA DE GUANABARA

A Baía de Guanabara (Figura 2.4), localizada na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro (22°40' a 23°00' S e 43°00' a 43°18' O), abrange uma área de 380 km² e recebe água de diversos corpos hídricos que atravessam 17 municípios que compõem a Região Hidrográfica da Baía de Guanabara (RHBG) (Rangel e Oliveira, 2021). Ela possui 131 km de extensão com um volume médio de água de 1,87 x 10⁹ m³, e uma entrada estreita, de apenas 1,6 km, localizada entre os municípios do Rio de Janeiro e Niterói, o que ocasiona em um aumento do dinamismo e das velocidades das correntes no seu interior (Amador, 2012; Kjerfve et al., 1997). A sua bacia de drenagem possui uma área total de 4.080 km², sendo composta por 32 sub-bacias individuais, com 91 rios e canais. Destes, apenas 6 rios são responsáveis por 85,5% da entrada de água na Baía de Guanabara, sendo eles:

Guapimirim (20,8%), Iguaçu (16,7%), Caceribu (13,7%), Estrela (12,7%), Meriti (12,3%) e Sarapuí (9,3%) (Kjerfve et al; 1997; Baptista et al; 2006).

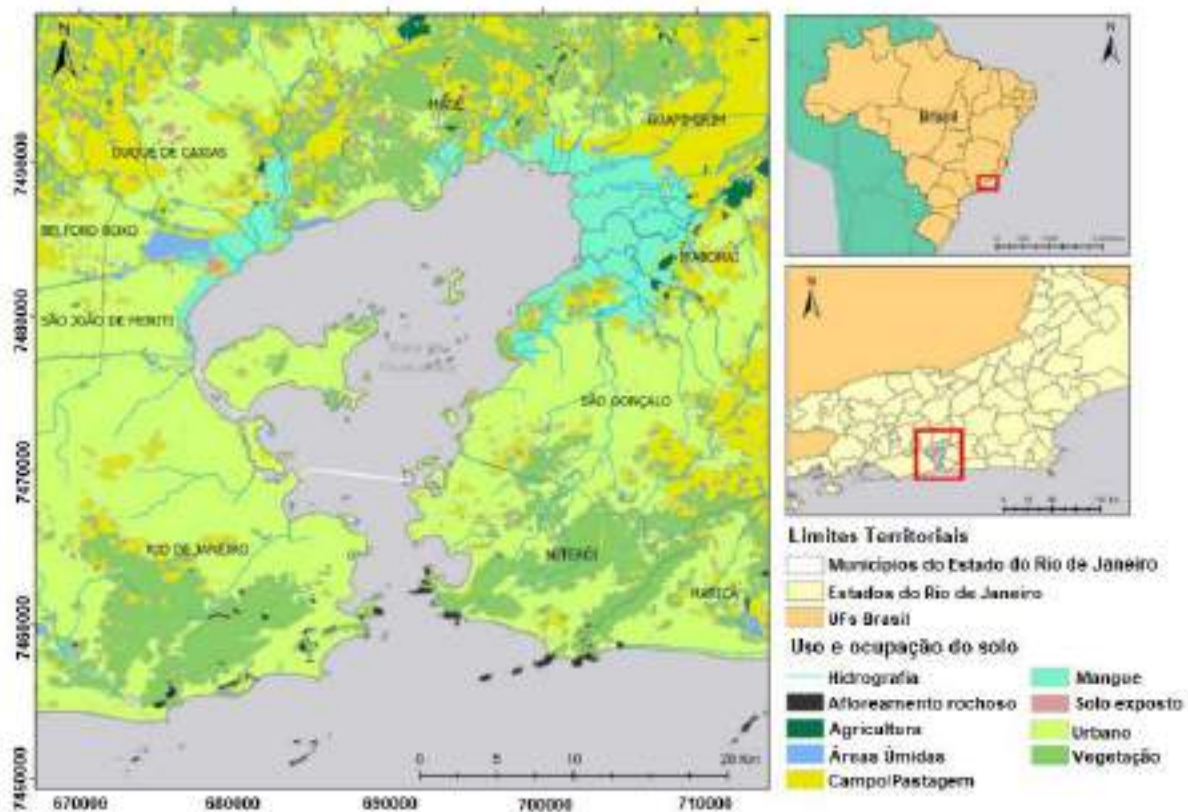


Figura 2.4: Localização da Baía de Guanabara, uso e ocupação do solo em seu entorno no Estado do Rio de Janeiro, 2021. Retirada de (Silva et. al; 2023).

A Baía de Guanabara (BG) é caracterizada por marés mistas, ou seja, que possuem características de marés diurnas e semidiurnas, predominantemente semidiurnas (com uma maior ocorrência de duas marés altas e duas marés baixas a cada dia lunar) (Kjerfve et al., 1997). Os ventos podem ter grande influência nas correntes de maré, porém, em condições normais, o regime de ventos interfere em apenas 11% da variação da maré, enquanto, durante a passagem de uma frente fria, a sua influência pode aumentar até 98%. A BG recebe com uma maior frequência ventos NE (21%), S (17%) e N (14%), com uma velocidade média mensal de 3 m/s (Camargo et al., 2004).

Apesar da sua enorme importância econômica para os municípios ao seu redor, a Baía de Guanabara pode ser considerada uma das mais poluídas do Brasil. A sua situação atual se dá do acúmulo de mudanças ambientais e dos impactos do seu uso, e de seus arredores, desde o início das colonizações do Brasil, no século XVI, quando ela já representava uma importante via de chegada de embarcações na cidade e no Estado do Rio de Janeiro (Fistarol et al.; 2015). Desde então, as suas águas e recursos marinhos foram sendo cada vez mais exploradas por brasileiros e estrangeiros. Atualmente o seu espelho d'água sofre com diversos usos para

atividades econômicas, como a indústria de óleo e gás, estaleiros, portos, aeroportos, transporte via barcas, turismo, lazer e pesca (COIMBRA, 2021).

Além do uso econômico das águas da Baía de Guanabara, uma importante fonte de contaminação da mesma vem do descarte de materiais dentro da baía. Devido ao crescimento urbano desordenado na RHBG, existe uma carência de infraestrutura de saneamento adequado na região. Ela sofre com diversas extensões de ocupações irregulares despejando esgoto *in natura* em seus corpos d'água, o descarte de materiais provenientes de embarcações nas suas águas e a canalização de diversos rios e córregos, que se tornaram parte do sistema de drenagem urbana da região. Assim, diversos resíduos que foram descartados incorretamente nas águas, encostas e ruas, chegam ao sistema fluvial que deságua na Baía de Guanabara (KCI Technologies, 2015; Fistoral et al; 2015).

Dentre os distintos resíduos que se acumulam na baía, ela apresenta uma alta ocorrência de detritos plásticos em seus corpos d'água, praias e sedimentos (Barletta et al., 2019; Olivatto et al., 2019). Uma vez que o microplástico age como vetor de transmissão de toxinas, a alta presença destes em um ambiente muito poluído como a Baía de Guanabara exige atenção à exposição do ecossistema ali presente, e seus impactos na economia e saúde humana. Pesquisas já indicaram a presença de bisfenol A, que atua como um disruptor endócrino em animais e humanos, em sedimentos de fundo do estuário da Baía de Guanabara (Santos et al., 2018), além da presença de bactérias patogênicas em detritos plásticos que estão sendo dispersados pela baía (Silva et al., 2019).

Tais poluentes plásticos podem afetar de maneira desastrosa os ecossistemas em que estão presentes, impactando diversas espécies e gerando uma grande influência negativa na economia local. Diversos pescadores dependem da pesca e cultivo de espécies para fins alimentícios na Baía de Guanabara. Porém, algumas atividades pesqueiras estão se tornando cada vez mais inviáveis, devido aos riscos que pescados e outros animais retirados da baía podem representar para a saúde humana. O cultivo de mexilhões e a extração de mexilhões selvagens, que sustenta várias famílias nos municípios ao redor da baía, como no bairro pesqueiro de Jurujuba, já foi afetado por tais poluentes. De acordo com Birnstiel et al. (2019), os mexilhões selvagens ou cultivados da baía não estão adequados para o consumo humano, devido à alta presença de microplásticos nos mesmos. Assim, pesquisas que avaliam a extensão da contaminação por MP nas diversas espécies pescadas na Baía de Guanabara, especialmente para consumo humano, são extremamente relevantes.

2.3 ESPÉCIES AMOSTRADAS

Para este trabalho foram selecionadas duas espécies de alto interesse comercial, frequentemente pescadas dentro da Baía de Guanabara e vendidas para o consumo da população local. A seguir são apresentadas as principais

características e hábitos das duas espécies selecionadas (*Micropogonias furnieri* e *Caranx crysos*) e de suas famílias (Sciaenidae e Carangidae). A identificação das espécies foi realizada através da comparação das suas características físicas com as informações disponíveis em chaves taxonômicas (Mapa, 2022; Lévêque, 1992). A partir do Capítulo 3 (Materiais e métodos), as espécies serão tratadas pelo seu nome popular: Corvina e Xerelete, respectivamente.

2.3.2 Família: Sciaenidae

Os peixes dessa família são costeiros e costumam ser mais encontrados próximos às desembocaduras de grandes rios, em águas rasas da plataforma continental. Eles são divididos entre algumas espécies, que habitam águas estuarinas e outras que habitam apenas ambientes de água doce. Alguns nomes populares de espécies desta família são as Corvinas, os Pescados e o Goete. Essa família representa uma parcela importante da pesca comercial no Sudeste do Brasil, sendo amplamente consumida pelos brasileiros (Menezes, 1985).

Ela se diferencia de outras espécies da ordem Perciformes, principalmente, por possuírem uma ligação contínua entre a parte espinhosa anterior da nadadeira dorsal e a parte mole posterior, com um entalhe profundo na sua ligação, 1 ou 2 espinhos na nadadeira anal e uma linha lateral que se estende até a margem posterior da nadadeira caudal. Os *Isopisthus* representam uma exceção a estas características comuns da família Sciaenidae, onde eles apresentam as nadadeiras dorsal espinhosa e mole separadas. Existe ainda outra família que possui espécies com uma característica em comum com a Sciaenidae, uma vez que exemplares da família Centropomidae também possuem uma linha lateral que se estende até a nadadeira caudal, porém esses possuem 3 espinhos na nadadeira anal, e não possuem a nadadeira dorsal espinhosa ligada à mole (Menezes, 1985).

2.3.2.1 *Micropogonias furnieri*

Classe: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Família: Sciaenidae

Gênero: *Micropogonias*

Espécie: *Micropogonias furnieri*

Conhecida popularmente como Corvina, a *Micropogonias furnieri* é uma espécie demersal, encontrada principalmente em profundidades de 50 m, com fundo de areia e lama (Desmarest, 1823). Ela ocorre em águas com ampla variação de salinidade e temperatura, ao longo da costa meridional do Caribe e América do Sul, até a Argentina, sendo abundante nas Regiões Sul e Sudeste. Exemplares em estágio juvenil costumam frequentar águas estuarinas, onde encontram um ambiente adequado para a sua alimentação, baseada em organismos bentônicos,

como crustáceos migratórios e moluscos sésseis. Já na sua fase adulta, peixes dessa espécie habitam a plataforma adjacente, propícia para a sua reprodução, se alimentam de bentos e podem capturar peixes (Celgole, 2005; Fishbase, 2023). Apesar de realizar migrações latitudinais sazonais na Região Sul, não apresentam comportamento de migrações na Região Sudeste (Celgole, 2005).

Esta espécie pode atingir até 60 cm de comprimento, com um comprimento médio de 30,6 cm ao chegarem na maturidade. Seus exemplares possuem 11 espinhas dorsais, 26 a 30 raios dorsais moles, 2 espinhas anais e 7 a 9 raios anais moles. A sua coloração contempla um corpo prateado a marrom, com reflexos dourados, o dorso acinzentado, o ventre esbranquiçado a amarelado. Eles também possuem distintas faixas oblíquas ao longo das escamas, no dorso e no flanco, que ultrapassam a linha lateral e escamas ctenóides no corpo e no alto da cabeça e ciclóides na face e no opérculo (Figura 2.5) (Fishbase, 2023; Mapa, 2022). Essa espécie representa grande parte das capturas de espécies demersais desembarcadas pela frota industrial das Regiões Sul e Sudeste do Brasil, sendo extremamente relevante no consumo humano de peixes (Celgole, 2005).



Figura 2.5: Exemplar coletado de *Micropogonias furnieri*.

2.3.2 Família: Carangidae

Exemplares desta família possuem quilha no pedúnculo caudal, com pequenos dentes uni ou multisseriados nas mandíbulas, 4 a 9 espinhas na barbatana dorsal espinhosa e 1 espinha e 18 a 37 raios na barbatana dorsal moles, 3 espinhos anais e 15 a 31 raios anais moles. As escamas são pequenas e ciclóides na maioria das espécies, cobrindo todo o corpo, a cabeça, podendo se estender até a barbatana. Existem alguns gêneros que configuram exceção nas características das escamas, onde as escamas da linha lateral se tornam espessas, pontiagudas e espinhosas (Lévêque, 1992).

A maioria das espécies dessa família são peixes marinhos e pelágicos, habitando todo o oceano, desde a região costeira até o mar aberto. No seu período juvenil, muitas espécies podem viver em lagoas, estuários, e sobem cursos inferiores dos rios (Lévêque, 1992). A família é composta por predadores rápidos em recifes e no mar aberto, sendo uma das famílias mais importantes de peixes

marinhos tropicais, e amplamente explorados na pesca comercial e recreativa (Fishbase, 2023).

2.3.2.1 *Caranx crysos*

Classe: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Família: Carangidae

Gênero: *Caranx*

Espécie: *Caranx crysos*

É uma espécie pelágica, de nome popular Xerelete, comumente associada à recifes, que habita colunas d'água de até 100 m de profundidade (Figura 2.6) (Lévêque, 1992). Ela costuma ocorrer no Oceano Atlântico, podendo ser encontrada na região oeste, próximo da costa do Canadá até o Brasil, e ao longo da costa do continente africano, assim como no Mar Mediterrâneo (Fishbase, 2023). Indivíduos nos estágios juvenis costumam se associar a algas *Sargassum*, entrando frequentemente em lagunas e estuários. Seu comprimento pode chegar até 70 cm, pesando até 5,1 kg, apresentando um comprimento médio de 27,4 cm ao atingirem a maturidade. Os exemplares dessa espécie possuem um total de 9 espinhos dorsais, 22 a 25 raios dorsais moles, 3 espinhos anais e 19 a 21 raios anais moles. Sua coloração varia entre um leve azul esverdeado e oliváceo na parte traseira, e cinza prateado e dourado nas laterais. Fazem parte da categoria trófica dos carnívoros, onde seus exemplares adultos costumam se alimentar de peixes, crustáceos e outros invertebrados (Fishbase, 2023)



Figura 2.6: Exemplar coletado de *Caranx crysos*.

2.4 ANÁLISE DOS MICROPLÁSTICOS

Na análise de microplásticos é necessária a realização da separação dos MPs de qualquer matéria orgânica ou inorgânica depositada nas amostras (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Este processo pode ser realizado através da inspeção visual para microplásticos grandes (Morét-Ferguson et al. 2010). Porém, para MPs pequenos, apenas a separação visual, através do microscópio, pode não ser suficiente para garantir a qualidade dos dados obtidos. Norén (2007) sugere alguns critérios que devem ser seguidos, a fim de reduzir a identificação incorreta destas partículas, sendo eles: (a) não existirem estruturas de origem orgânica visível na partícula, (b) fibras devem ser tridimensionais e possuírem igual espessura, (c) as partículas devem ser bem visíveis e possuírem cores homogêneas e (d) partículas transparentes devem ser observadas em alta amplificação, com ajuda de um microscópio com fluorescência.

Mesmo adotando critérios como os sugeridos por Norén, a separação visual de microplásticos ainda pode produzir dados pouco confiáveis, uma vez que eles dependem de fatores externos, como a pessoa que está realizando a contagem, a qualidade de amplitude do microscópio e a matriz da amostra (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Dekiff et al., 2014). Essa subjetividade causada por estes fatores externos torna-se ainda maior para partículas muito pequenas, quando é mais difícil identificar as características físicas das mesmas. Neste sentido, uma estratégia que vem sendo adotada para reduzir o erro da contagem de microplásticos é o tingimento da amostra com corantes como o Vermelho de Nilo (VN), que apresenta fluorescência quando em contato com polímeros, facilitando a identificação dos mesmos (Shruti et. al., 2022).

No entanto, apesar da utilização do VN, a identificação incorreta ainda pode ocorrer. Assim, recomenda-se que partículas menores do que 500 μm , devam ser consideradas apenas quando métodos mais precisos, que identifiquem a composição química destas partículas, estejam disponíveis (Löder, M. G. J. e Gerdt, G., 2015). Alguns destes métodos são pouco utilizados, como a separação por densidade seguida da análise de C:H:N ou a Pirólise GC/MS.

O primeiro destes representa uma aproximação da identificação da partícula de MP. Este método foi aplicado por Morét-Ferguson et al. (2010), onde ele suspendia as partículas em soluções com diferentes densidades para determinar, com alta precisão, a densidade da partícula, e realizava a análise de C:H:N delas. Desta maneira, Morét-Ferguson comparava seus resultados com os valores dos polímeros virgens, e obtinha um grupo de polímeros em potencial. Porém, este método demanda muito tempo, gerando apenas resultados aproximados, uma vez que o mesmo não realiza uma análise química total do polímero, e as densidades dos mesmos podem ser alteradas quando expostos ao meio ambiente (Löder, M. G. J. e Gerdt, G., 2015).

Já o segundo método combina a cromatografia gasosa de pirólise (GC) com a espectroscopia de massa (MS), para obter a composição química dos possíveis

microplásticos através da análise dos produtos da sua degradação térmica (Fries et al., 2013). Da mesma forma que no primeiro método, os resultados obtidos são comparados com o padrão para polímeros virgens. Esta abordagem analítica gera uma atribuição dos tipos de polímeros relativamente boa. No entanto, ela consome muito tempo na sua execução e permite apenas a análise de partículas grandes, uma vez que cada partícula precisa ser inserida manualmente no equipamento e analisada individualmente (Löder, M. G. J. e Gerdtts, G., 2015)

Os dois métodos de identificação química das partículas de microplástico mais utilizados atualmente são a espectroscopia Raman e a espectroscopia de infravermelho (IR). A Espectroscopia Raman consiste na irradiação da amostra com um laser monocromático, que interage com a mesma, resultando em uma diferença de frequência na radiação retroespalhada (Löder, M. G. J. e Gerdtts, G., 2015). Essa diferença é então detectada, gerando um espectro Raman para cada partícula. Através da comparação deste espectro com os espectros padrões das partículas virgens, pode-se identificar o tipo de polímero. Desse modo, obtém-se uma caracterização química da partícula bem detalhada e confiável, podendo ser aplicada até para partículas menores do que 1 μm através da espectroscopia de micro-Raman (Cole et al., 2013). No entanto, este método exige uma etapa de purificação das amostras a fim de prevenir a fluorescência de partículas, que podem gerar resultados de difícil interpretação (Löder, M. G. J. e Gerdtts, G., 2015).

A espectroscopia de infravermelho ou espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR) também oferece uma identificação precisa dos tipos de polímeros (Vianello et al. 2013). Da mesma maneira que na espectroscopia de Raman, o espectro de infravermelho que interagiu com a partícula é comparado com o espectro padrão dos polímeros virgens (Löder, M. G. J. e Gerdtts, G., 2015). Como polímeros possuem um espectro de infravermelho com bandas de absorção bem definidas, a espectroscopia de infravermelho gera uma identificação altamente confiável destes (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Partículas grandes podem ser analisadas rapidamente com a técnica de Reflectância Total Atenuada (ATR) FTIR, enquanto que partículas pequenas exigem a aplicação de Microespectroscopia FTIR, onde podem ser adotados outros dois modos de medida, a reflectância e a transmitância, além da técnica de ATR (Harrison et al., 2012).

2.4.1. Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica simples e eficiente que permite a identificação do polímero presente em uma amostra. Este tipo de análise exige poucos processos de preparo, causando, geralmente, nenhum dano à amostra.

As moléculas de uma partícula plástica podem ser representadas por um modelo físico composto por um sistema de molas. Quando esta se encontra à temperatura ambiente, o seu movimento é constante, onde as ligações covalentes das moléculas estão se esticando, dobrando e torcendo, como molas (Figura 2.7).

Este modelo pode ser descrito por uma combinação da Lei de Hook e a regra de Badger, para calcular a constante de força de estiramento da ligação (Badger, 1934). Essa movimentação pode ser caracterizada por diferentes modos vibracionais, onde cada modo vibracional, de cada ligação, possui uma frequência característica. Esta frequência varia da ordem de 10^{13} a 10^{14} vibrações por segundo, o que corresponde à região do infravermelho no espectro eletromagnético (Soderberg, 2016).

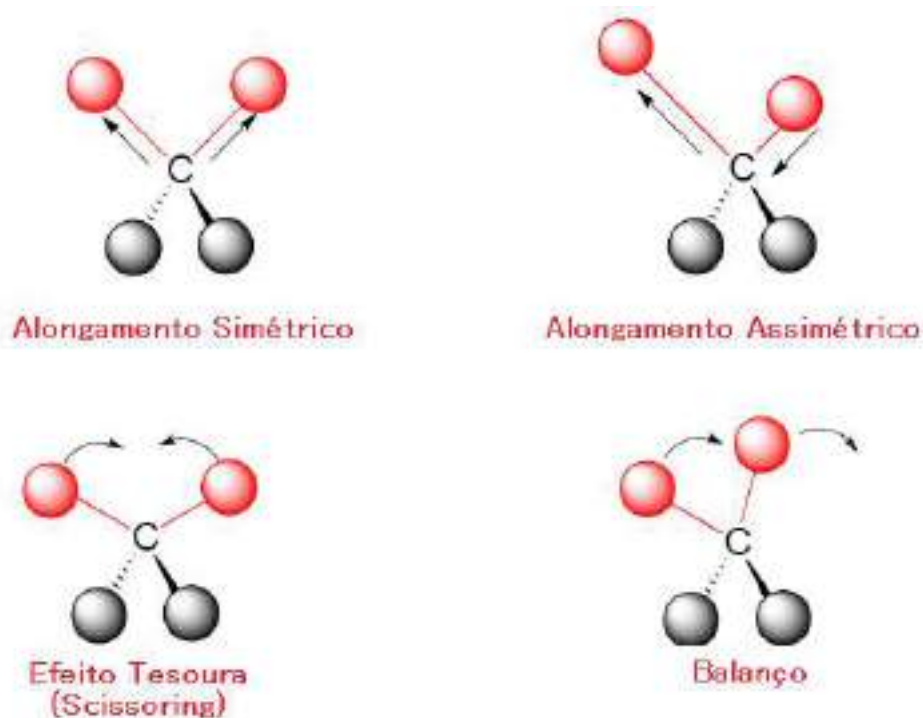


Figura 2.7: Exemplos de modos vibracionais da molécula. Imagem modificada de (Soderberg, 2016).

Outra característica das ligações covalentes nas moléculas é o fato de muitas possuírem momento de dipolo elétrico. Esta qualidade permite que os dipolos absorvam radiações eletromagnéticas de mesma frequência que a sua frequência de oscilação (Soderberg, 2016). Algumas técnicas de análise se aproveitam destes aspectos, para determinar quais são as moléculas presentes em uma amostra. A técnica de infravermelho mais utilizada para a identificação das amostras de microplástico atualmente é a análise de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR - *Fourier Transform Infrared*).

Esta análise consiste na incidência de um feixe de radiação infravermelha, com comprimento de onda conhecido, sobre a superfície da amostra. Após incidir na amostra e interagir com a mesma, o feixe é refletido ou transmitido para um detector. Como os dipolos presentes na amostra irão absorver parte das frequências do feixe que equivalem a frequência de vibração das ligações moleculares, pode-se obter quais são estas frequências faltantes no feixe final, e consequentemente quais são os modos de vibração daquela amostra.

Uma vez que os modos de vibração da partícula são determinados, é possível identificar as ligações químicas e os grupos funcionais presentes em cada amostra, pois cada grupo funcional tem ligações químicas específicas. Na técnica de FTIR as informações analógicas de voltagem e caminho óptico, recebidas pelo detector, chegam ao software utilizado na forma de um interferograma. Através de uma manipulação matemática associada a uma transformada de Fourier (Arfken e Weber, 2007), o software converte o interferograma em um espectro de número de onda em função da absorbância (Figura 2.8).



Figura 2.8: Ilustração de um interferograma, usado na obtenção de um espectro de absorbância em função do número de onda para a caracterização de microplásticos. Retirado de (Cardoso, 2018).

Através da identificação dos picos presentes no espectro de cada amostra, é possível determinar qual é o polímero que a compõe. Uma vez que cada polímero possui bandas de absorção estabelecidas, basta comparar as bandas de absorção obtidas na amostra com as encontradas na literatura (Tabela 2.1). Para que seja possível afirmar que a partícula se trata de um polímero específico, é necessário que todas as bandas de absorção, estabelecidas na literatura, deste polímero estejam presentes no espectro gerado.

Tabela 2.1: Tabela de bandas de absorções dos polímeros mais encontrados ou popularmente conhecidos. Modificado de (Jung, 2018).

Polímero	Bandas de absorção (cm^{-1})
Polietileno de alta densidade (HDPE)	2915, 2845, 1472, 1462, 730, 717
Policloreto de vinila (PVC)	1427, 1331, 1255, 1099, 966, 616
Polietileno de baixa densidade (LDPE)	2915, 2845, 1467, 1462, 1377, 730, 717
Polipropileno (PP)	2950, 2915, 2838, 1455, 1377, 1166, 997, 972, 840, 808
Poliestireno (PS)	3024, 2847, 1601, 1492, 1451, 1027, 694, 537
Espuma vinílica acetinada (EVA)	2917, 2848, 1740, 1469, 1241, 1020, 720
Latex	2960, 2920, 2855, 1167, 1447, 1376
Náilon	3298, 2932, 2858, 1634, 1538, 1464, 1372, 1274, 1199, 687
Policarbonato (PC)	2966, 1768, 1503, 1409, 1364, 1186, 1158, 1013, 828
Poliuretano (PU)	2865, 1731, 1531, 1451, 1223

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. COLETA

As espécies selecionadas foram obtidas através de parceria técnico-científica com um pescador de Jurujuba, bairro de Niterói situado na entrada da Baía de Guanabara (Figura 3.1), especializado na pesca artesanal de peixes para pesquisas científicas e para a exposição no Aquário Marinho do Rio de Janeiro, AquaRio. Os peixes amostrados foram coletados da Baía de Guanabara, congelados e armazenados em um freezer residencial, pelo próprio pescador, até a obtenção do número desejado de indivíduos. Posteriormente, eles foram transferidos em caixas de isopor para o Laboratório de Radioecologia e Alterações Ambientais (LARA-UFF), que fica situado no bairro de São Domingos, também em Niterói, próximo ao local onde os peixes foram armazenados. Lá, eles permaneceram congelados em um freezer interno, com temperatura média de -15°C , até o momento do preparo e análise das amostras.



Figura 3.1: Ponto de chegada e coleta das amostras pescadas dentro da Baía de Guanabara, e sua localização relativa à Baía. Editado do Google Earth.

3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

A extração dos microplásticos presentes nos órgãos e tecidos de interesse dos peixes se deu após a realização do processo de separação e tratamento de cada um deles. Na sequência, uma digestão química de cada tecido ou órgão foi efetuada, a fim de descartar a matéria orgânica presente em cada subconjunto de amostra. Esta etapa também consistiu na aplicação do processo de separação por

flotação, que retira qualquer outro material remanescente da digestão química dos microplásticos encontrados nas amostras.

Todos estes procedimentos são realizados através de protocolos, a fim de assegurar a confiabilidade nos resultados obtidos. O microplástico está presente em todos os tipos de objetos, sendo praticamente impossível garantir um ambiente livre de contaminação por microplástico. Neste sentido, também é necessário adotar algumas medidas para mitigar a influência ou a contaminação cruzada de microplásticos presentes nos ambientes de preparo e análise das amostras. Assim, algumas medidas que devem ser adotadas em um laboratório multiusuário, como ocorre no LARA, são a limpeza constante e detalhada das bancadas, equipamentos e utensílios utilizados anteriormente à manipulação das amostras, o uso de jalecos 100% algodão e utensílios de vidro ou metal, sempre que possível, e o uso de luvas plásticas apenas quando necessárias, realizando-se a higienização das mãos ou luvas com água milliQ. Também é importante que o pesquisador evite o uso de possíveis fontes de resíduos plásticos ao manipular as amostras, como roupas sintéticas, maquiagens ou loções para a pele.

Apesar de todos esses cuidados, microplásticos externos podem ainda assim se depositar sobre as amostras. Assim, faz-se necessário a realização de brancos ao longo da etapa de preparo de amostras, para que a influência externa seja subtraída do resultado final do cálculo de abundância dos microplásticos. Para a obtenção de brancos, é necessário que o pesquisador, sempre que realizar uma nova etapa do protocolo utilizado, repita o mesmo processo aos quais as amostras serão submetidas, com um recipiente, filtro e soluções químicas sem nenhuma amostra. Assim, o filtro obtido no final da realização de um branco representará a contaminação proveniente do ambiente do laboratório.

3.2.1. Extração dos órgãos e tecidos

Inicialmente, foi realizada a coleta dos dados biométricos dos peixes amostrados, como a sua massa (g), comprimentos totais e desvios padrões (cm). Para isso, cada indivíduo foi pesado através de uma balança (Gehaka, modelo BG2000, com precisão de 0,01 g; Figura 3.2.a). As massas de cada peixe variaram de 176,61 g a 399,93 g para as Corvinas e 178,00 g a 280,31 g para os Xereletes. As medições de comprimento foram obtidas através de uma fita métrica (Figura 3.2.b). Primeiro, foi medido o comprimento padrão (CP) de cada peixe, consistindo no comprimento entre a parte anterior do focinho do indivíduo e o final do pedúnculo caudal, que variou de 22,0 cm a 30,0 cm para as Corvinas e 19,0 cm a 23,5 cm para os Xereletes. Então, o comprimento total (CT) de cada indivíduo também foi medido, relativo ao comprimento entre a parte anterior do focinho e a parte posterior da nadadeira caudal, com resultados que variam de 27,0 cm a 34,6 cm nas Corvinas e 23,7 cm a 28,6 cm nos Xereletes (Figura 3.3). Os dados biométricos são apresentados na Tabela 3.1.

Para a coleta dos dados biométricos e a realização da extração dos órgãos e tecidos, os peixes foram retirados do freezer e armazenados em caixas de isopor semiabertas, dentro do laboratório climatizado com ar-condicionado à 16°C, durante 12h a 24h. Após o total descongelamento, uma bancada de pedra foi higienizada e coberta para a realização da abertura das amostras dos peixes. A limpeza da bancada e dos equipamentos utilizados foi repetida após a abertura de cada indivíduo, evitando a contaminação entre amostras.

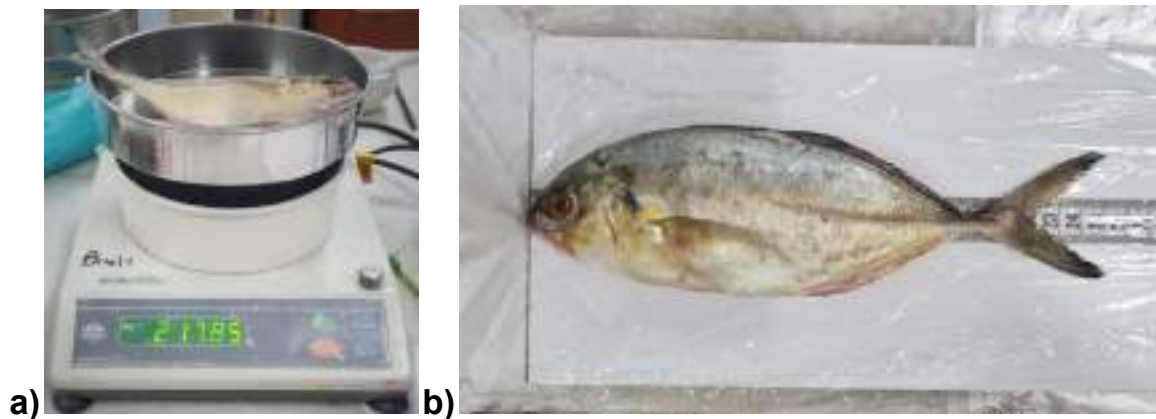


Figura 3.2: a) imagem de um Xerelete sendo pesado na balança; b) imagem de um Xerelete durante o processo de medição do seu comprimento.

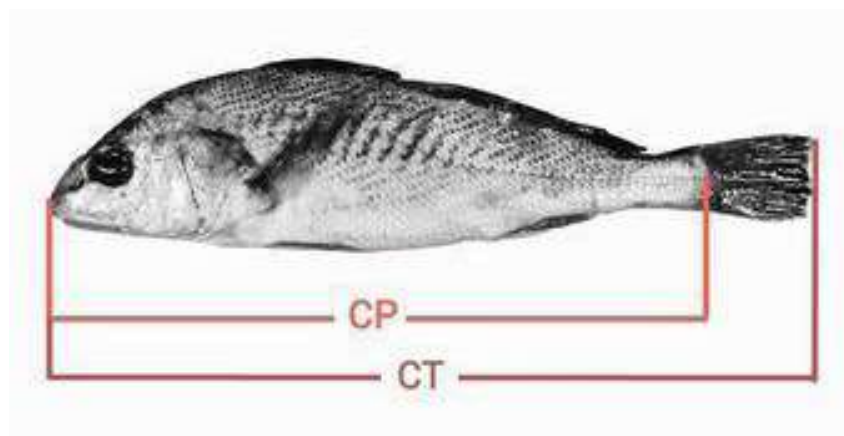


Figura 3.3: Representação do comprimento padrão (CP) e comprimento total (CT) de uma Corvina.

Tabela 3.1 - Valores dos dados biométricos (massa, comprimento padrão e comprimento total) dos indivíduos obtidos de Corvina e Xerelete, com uma incerteza de 0,05 g nas massas e 0,5 cm nos comprimentos.

Corvina												
Indivíduos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Massa (g)	399,93	176,61	219,71	217,27	253,03	290,67	190,56	246,73	212,99	278,00	304,29	377,21
Comprimento padrão (cm)	30,0	23,0	24,0	24,0	29,0	26,0	22,0	23,0	22,5	26,5	26,0	28,0
Comprimento total (cm)	34,6	27,5	29,0	29,0	30,5	31,0	27,0	29,3	27,3	31,0	31,3	33,2

Xerelete										
Indivíduos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Massa (g)	197,11	227,33	240,89	217,86	242,2	187,31	178	212,08	245,71	280,31
Comprimento padrão (cm)	20,0	20,8	21,5	21,5	21,0	19,0	19,0	21,3	21,5	23,5
Comprimento total (cm)	25,6	26,2	26,9	25,9	25,8	24,6	23,7	25,6	26,7	28,6

Os órgãos e tecidos foram extraídos com o auxílio de um bisturi e uma tesoura de aço inoxidável. Inicialmente, foram retiradas as amostras dos músculos da parte dorsal (Figura 3.4). Para isso, foi realizado um corte transversal no peixe, do início da nadadeira dorsal espinhosa até a linha lateral, seguido de um corte longitudinal no comprimento do peixe, acompanhando a linha lateral do mesmo. Após este corte, o músculo lateral foi separado da espinha e da pele do peixe, e armazenado em potes individuais. Uma vez retirado o músculo do peixe de uma das laterais, o processo é repetido do outro lado, para a retirada total do músculo deste indivíduo.



Figura 3.4: Extração do músculo do Xerelete.

Em seguida os peixes foram eviscerados, para a extração de seus órgãos. Coletaram-se, assim, quando possível, amostras do fígado, estômago e o conteúdo estomacal, gônada e brânquias das Corvinas. Para os Xereletes, foram extraídas amostras do estômago e conteúdo estomacal, fígado e brânquias. Devido à sua dificuldade de identificação, dado o seu tamanho, as gônadas dos Xereletes não foram selecionadas. Cada amostra teve a sua massa úmida verificada através de uma balança de precisão (Shimadzu, modelo AUX220, com precisão de 0,1 mg). Estas foram então acondicionadas separadamente em potes adequados para congelamento, até o momento de serem submetidas ao processo de digestão química e separação dos microplásticos.

Considerando o interesse em analisar partículas microplásticas muito pequenas, invisíveis ao olho nú, foi decidido que a raspagem das paredes do estômago dos peixes não poderia ser realizada, a fim de garantir que parte do tecido do estômago não estaria sendo retirado, ou parte do conteúdo estomacal permaneceria no estômago. Sem esta garantia, não seria possível afirmar que os microplásticos encontrados no conteúdo estomacal foram apenas ingeridos pelos peixes, não tendo sido absorvidos pelas paredes estomacais até o momento do seu abate. Assim, os conteúdos estomacais e os estômagos foram tratados como apenas uma amostra, para ambas as famílias de peixes.

Das 12 Corvinas, foram extraídas amostras de 12 pares de tecido muscular, com massas úmidas variando entre 20,0761 g e 40,1829 g; 12 amostras de estômagos e seus respectivos conteúdos, com massas úmidas que variam de 2,6450 g a 8,4114 g; 11 amostras de gônadas, cujas massas úmidas variam entre 0,7173 g e 20,1454 g; 10 brânquias com massas úmidas variando entre 6,6032 g e; 10 fígados com massas úmidas que variam entre 1,1951 g e 3,5076 g, como aponta a Tabela 3.2. Ao final foram totalizadas 55 amostras de órgãos e tecidos provenientes de Corvinas.

Tabela 3.2 - Valores das massas dos órgãos e tecidos extraídos de cada Corvina, que apresentam uma incerteza de 0,0005 g.

Corvina												
Amostra	Massa 1 (g)	Massa 2 (g)	Massa 3 (g)	Massa 4 (g)	Massa 5 (g)	Massa 6 (g)	Massa 7 (g)	Massa 8 (g)	Massa 9 (g)	Massa 10 (g)	Massa 11 (g)	Massa 12 (g)
Músculo	40,1829	20,0761	25,5883	27,6055	25,8566	30,7477	21,5016	21,5160	24,0280	30,4304	29,2880	30,3228
Estômago e conteúdo estomacal	8,4114	2,7503	3,5813	3,7991	3,4080	4,8428	2,6450	3,0986	2,8606	3,9683	6,2852	7,1584
Brânquia	15,3685	8,6032	8,2585	7,9644	9,2301	—	—	7,2039	9,3485	9,2781	12,1722	13,7265
Gônada	20,1454	—	1,9508	2,6353	1,5371	3,4401	0,7173	3,2078	0,9387	1,6877	2,0089	6,7093
Fígado	—	1,1951	1,3320	—	2,0735	1,8080	1,7020	1,6700	1,2006	1,5180	3,5076	2,6877

Para os 10 Xereletes, foram coletados 10 pares de amostras de músculos, cuja massa úmida varia entre 28,0311 g e 43,2101 g; 10 amostras de estômagos com os respectivos conteúdos estomacais, com massa úmida variando de 4,7835 g

e 11,6564 g; 10 brânquias, cujas massas úmidas variam entre 6,1955 g e 7,7423 g e; 10 fígados com massas úmidas variando entre 3,3589 g e 5,8679 g, como observado na Tabela 3.3, totalizando 40 amostras de órgãos e tecidos. Assim, nesta dissertação foram realizados o tratamento e análise de 95 amostras.

Tabela 3.3 - Valores das massas dos órgãos e tecidos extraídos de cada Xerelete, que apresentam uma incerteza de 0,0005 g.

Amostra	Xerelete									
	Massa 1 (g)	Massa 2 (g)	Massa 3 (g)	Massa 4 (g)	Massa 5 (g)	Massa 6 (g)	Massa 7 (g)	Massa 8 (g)	Massa 9 (g)	Massa 10 (g)
Músculo	28,0311	35,4382	33,1424	33,1729	37,8191	28,2477	29,8966	32,2993	36,4931	43,2101
Estômago e conteúdo estomacal	4,7835	6,2876	8,9270	11,4920	9,8661	10,6572	9,8955	8,4951	11,6564	9,6258
Brânquia	7,1677	8,2561	8,4872	7,1625	8,4957	6,7885	6,3197	6,1955	7,8063	9,7423
Fígado	3,6982	4,3944	5,8679	4,2563	5,6885	3,6670	3,3589	4,9437	4,3615	3,3655

3.2.2. Digestão química dos órgãos e tecidos

O processo de digestão química das amostras é essencial para garantir que os parâmetros físicos e químicos a serem adquiridos, como a abundância de microplásticos e a caracterização dos polímeros, possam ser confiáveis e intercomparáveis com outros laboratórios. Para tanto, são necessários procedimentos prévios para retirar ou minimizar a influência da matéria orgânica, que pode se acumular nos microplásticos. Amostras provenientes de ambientes com um alto nível de matéria orgânica, como solo, água e especialmente animais, devem passar pelo processo de digestão química (Tirkey e Upadhyay, 2021). Este processo pode ser realizado através de diversas abordagens, com diferentes técnicas e diferentes químicos (Munno, 2018). Nesta dissertação, foi adotado o protocolo proposto por Karami et al. (2017), que pressupõe uma eficiência de digestão química (ED) superior a 95%:

$$ED = ((P_i - (P_a - P_b)) \div P_i) \times 100 \quad (3.1)$$

onde P_i representa o peso inicial da amostra biológica, P_a equivale ao peso do filtro de membrana após a filtragem da amostra biológica digerida e P_b é o peso do filtro de membrana seco, antes da realização da filtragem da amostra.

Seguindo este protocolo, as amostras de órgãos e tecidos de peixes foram retiradas do congelador e dispostas no laboratório a 16° C, por 30 min a 1 h, antes do processo ser iniciado. Após o descongelamento, foram transferidas para beckers de vidro 10 g de cada amostra de músculo, com 100 ml de uma solução de KOH

10%, preparada previamente em um balão volumétrico, com água MilliQ. Cada amostra de órgão foi introduzida integralmente em um becker (ou em um vial) de 50 ml e submergida na solução de KOH 10%, respeitando a proporção de 10 ml de KOH 10% para 1 g de órgão. Cada recipiente foi tampado com papel alumínio, para evitar a contaminação cruzada da amostra. No caso de vials, estes foram adicionalmente tampados, como ilustra a Figura 3.5. A incubação das amostras foi realizada em uma estufa de secagem e esterilização (SPLABOR, modelo SP-400), à 40° C, durante 48 h a 72 h.



Figura 3.5: Vials contendo amostras de órgãos de peixes, submersos em KOH 10%.

3.2.3. Primeira filtração

Após a retirada dos frascos de dentro da estufa, estes tiveram o seu conteúdo filtrado através de um sistema de extração de material sólido, composto por um funil de Buchner, um Kitassato de 1L, uma bomba de vácuo e filtro de membrana de celulose de 47 mm de diâmetro e 25 µm (Figura 3.6a). Antes do início da extração, é importante a realização do aquecimento do filtro através de uma mufla, para a eliminação de possíveis contaminantes, em especial, microplásticos que podem se acumular na superfície do filtro no seu processo de produção, armazenamento ou manipulação. Assim, os filtros foram aquecidos a 150° C por no mínimo 1 h (Forno Mufla SPLabor SP-1200).

Uma vez aquecidos na mufla, os filtros são adicionados ao sistema de extração de material sólido, sendo posicionado entre o funil de Buchner e o Kitassato (Figura 3.6b). Em seguida o material restante da digestão química foi despejado no funil, e as paredes dos frascos que continham o material foram

rinsadas 3 vezes com água MilliQ, garantindo a extração de qualquer material que poderia se aderir a elas. Então a bomba de vácuo é acionada, puxando o líquido que se encontra no funil para dentro do kitassato, e deixando apenas os materiais sólidos acumulados na parte superior do filtro de celulose. Por fim, é preciso rinsar 3 vezes as paredes internas do funil, para também garantir a extração de todo o material sólido.

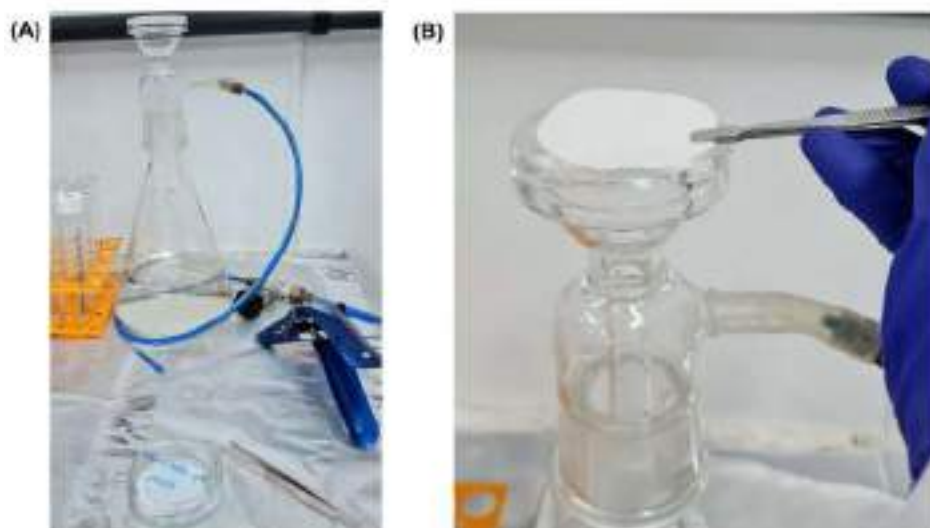


Figura 3.6: (A) Sistema de extração de material sólido; (B) Posicionamento do filtro de celulose no funil de Buchner.

Quando um grupo de amostras foi selecionado para o preparo, dois filtros extras também foram submetidos ao mesmo processo das amostras, caracterizando um branco relativo àquele grupo de amostras. Estes filtros foram aquecidos em uma mufla a 150°, previamente ao preparo.

3.2.4.Separação dos microplásticos por flotação

Com a primeira filtração realizada, é necessário iniciar o processo de separação dos microplásticos de qualquer matéria orgânica ou inorgânica restante do processo de digestão química. A separação por flotação, ou separação por densidade, consiste na utilização de uma solução salina mais densa do que o material que se deseja extrair. Ela é amplamente utilizada para a extração de microplásticos de outros materiais em estudos de amostras ambientais. A técnica de separação por densidade também pode ser utilizada para a separação prévia entre os diferentes tipos de polímeros encontrados na amostra estudada, uma vez que os polímeros possuem diferentes densidades entre si (Montagner, 2021). Existem diversas soluções salinas que podem ser aplicadas neste tipo de separação, porém, diversos estudos apontam para uma maior eficácia no uso do Iodeto de Sódio (NaI) ou Brometo de Zinco (ZnBr_2), já que esta solução possui uma alta densidade,

ocasionando na extração de um número maior de polímeros de uma amostra, como aponta a Figura 3.7.

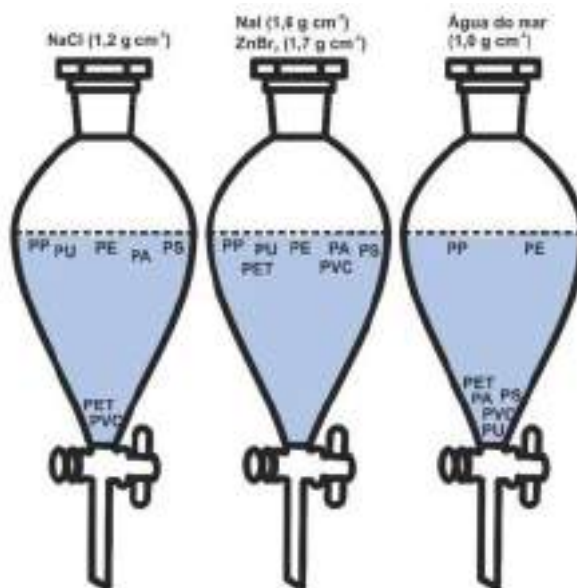


Figura 3.7: Separação por densidade contendo microplásticos de diferentes composições poliméricas utilizando as principais soluções salinas saturadas (NaCl, NaI, ZnBr₂) e água do mar, retirada de (Montagner, 2021).

Neste trabalho, optou-se por utilizar a solução de NaI, com concentração de 4,4 M, como indica o protocolo de preparo de amostras seguido. Nele, diferentes concentrações de NaI foram testadas (3.3, 3.5, 3.7 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 M), e todas foram eficientes na extração de quase todos os tipos de polímeros testados, obtendo-se uma taxa de recuperação maior do que 95%. A exceção ocorreu para os polímeros do tipo PVC e PET, cuja recuperação só foi observada com o NaI 4.4 M, que possui uma densidade de 1,5 g/mL (Karami et al., 2017).

Para a separação por densidade, os filtros foram inseridos em falcons de 50 mL. Em cada um deles foi introduzido de 10 mL a 15 mL da solução de NaI 4.4 M, de forma que o filtro ficasse totalmente submerso na solução (Figura 3.8.(A)). Os falcons foram então submetidos a um processo de sonicação a 50 Hz durante 5 min (Cuba Ultrassônica/ Lavadora Ultrassônica Q3.0) (Figura 3.8.(B)).

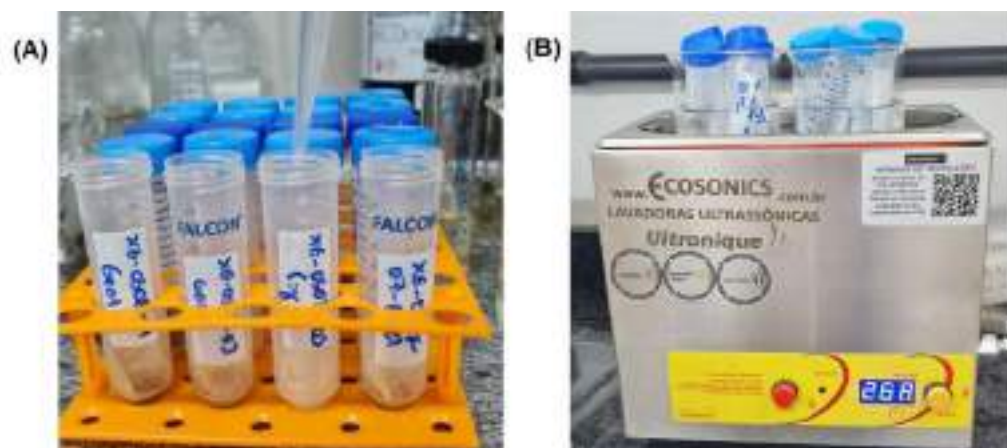


Figura 3.8: (A) Solução de NaI 4.4 M sendo inserida através de uma pipeta em um falcon contendo filtros de amostras; (B) Falcons passando pelo processo de sonicação.

Após a sonicação, os falcons foram então agitados a 200 rpm por 5 min através de uma mesa agitadora orbital (Agitador orbital Fisatom 786), seguido de uma centrifugação a 500 g por 2 min (Centrífuga para laboratório UNIVERSAL 320 Hettich) (Figura 3.9).

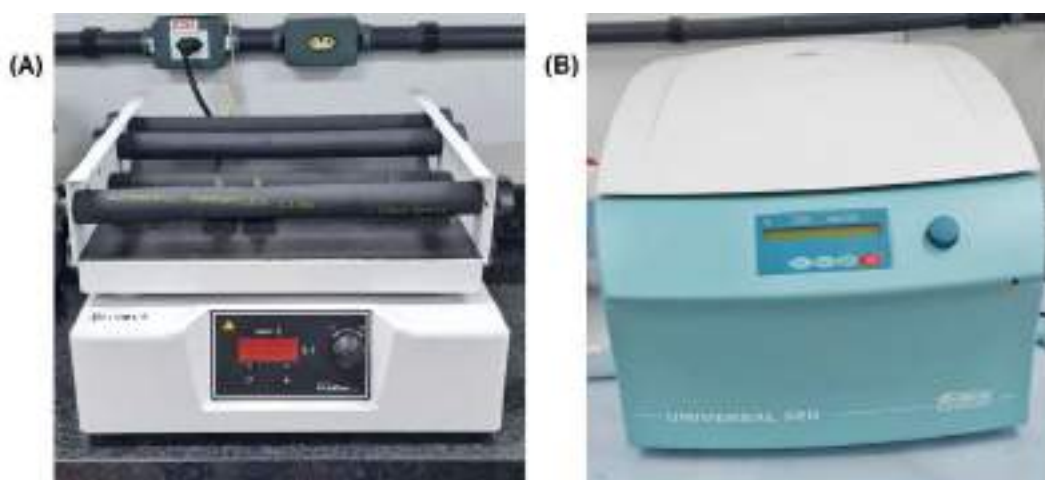


Figura 3.9: (A) Mesa agitadora orbital; (B) centrífuga.

Os falcons tiveram a solução e os materiais sobrenadantes recolhidos à um novo vial, para posterior filtragem. O mesmo processo foi repetido mais duas vezes, gerando um total de 3 sonicações, agitações e centrifugações em cada amostra, onde o material sobrenadante de cada falcon, após a repetição do mesmo processo, foi recolhido ao mesmo vial, como ilustra a Figura 3.10.

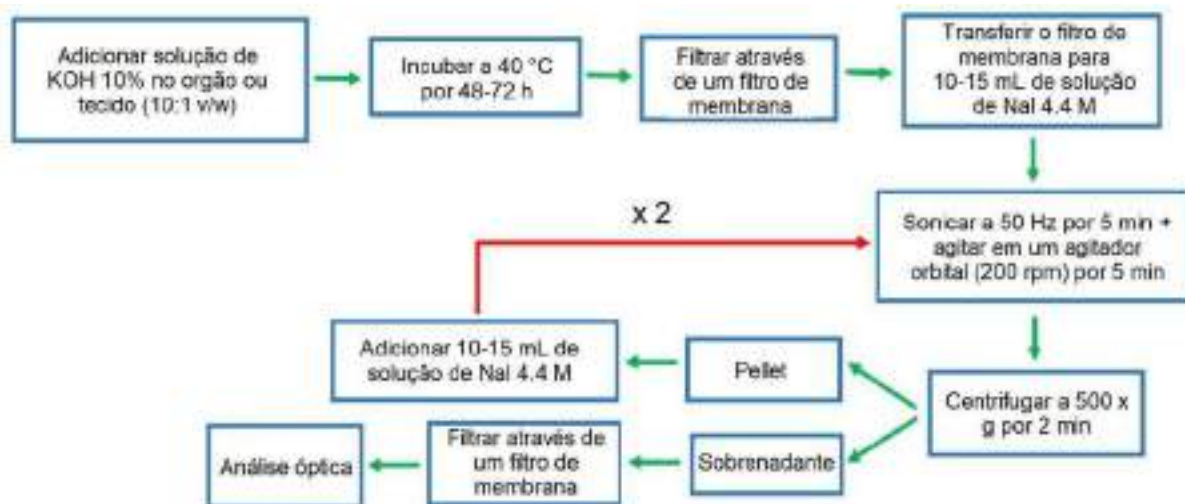


Figura 3.10: Diagrama do protocolo de extração de microplásticos de tecidos e órgãos de peixes. Modificado de (Karami et al., 2017).

Os pellets restantes nos falcons, após a terceira execução do processo, podem ser descartados, e todo o material sobrenadante armazenado nos vials deve ser filtrado novamente, em um filtro de membrana igual ao anterior, previamente aquecidos na mufla e pesados, como ilustra a Figura 3.11.

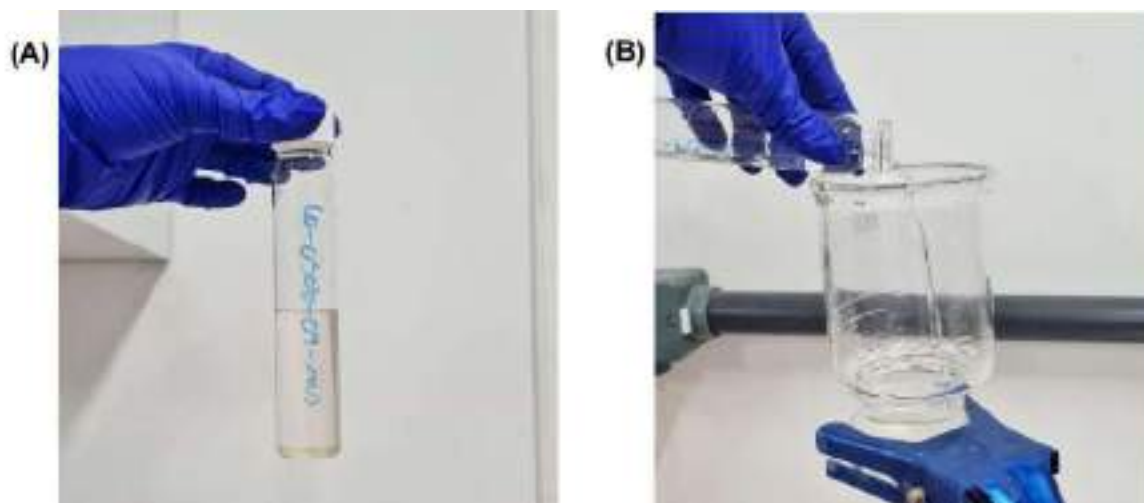


Figura 3.11: (A) Vial com sobrenadante de uma amostra de músculo de uma Corvina; (B) Filtragem do sobrenadante de músculo de corvina.

Por fim, os filtros contendo as amostras foram secos em uma estufa à 50° C e pesados através de uma balança de precisão. Em seguida, foi feita a subtração do valor da massa de cada filtro limpo e muflado (obtido de maneira prévia ao início da segunda filtragem), do total do filtro após a filtragem, de maneira a obter o valor da massa de cada amostra depositada nos filtros.

3.3. ANÁLISE ÓPTICA

Após o preparo das amostras, os filtros contendo microplásticos devem ser submetidos à uma análise por microscópio, onde os microplásticos são contabilizados e caracterizados de acordo com as suas características físicas. Quando os microplásticos encontrados em uma amostra são muito pequenos, apenas o uso do microscópio pode não ser suficiente para permitir a identificação destes. Assim, uma técnica amplamente utilizada, é o tingimento das amostras com Vermelho de Nilo.

O Vermelho de Nilo é um corante fluoróforo hidrofóbico e solvatocrômico, baseado na polaridade do seu ambiente, que se liga à lipídios neutros e apresenta forte fluorescência na presença de um ambiente hidrofóbico (Shim et. al., 2016; Vermeiren et. al., 2020). Quando o VN entra em contato com o microplástico ele é absorvido pela sua superfície, resultando na fluorescência do MP, quando irradiado pela radiação ultravioleta. Este fenômeno ocorre devido à hidrofobia do plástico, propriedade causada pelas múltiplas ligações C – H em suas cadeias poliméricas (Kang et al., 2020). Diversos estudos vêm recorrendo ao uso do Vermelho de Nilo no processo de análise de microplásticos (Shruti et. al., 2022), por consistir em uma técnica mais acessível, uma vez que o seu custo é baixo, e a mesma oferece um método mais confiável de realizar a contagem dos mesmos.

No entanto, os polímeros sintéticos não são os únicos que apresentam fluorescência quando tingidos pelos VN. Lipídios naturais e matéria orgânica residual também apresentam fluorescência, quando tingidos pelo VN e expostos à radiação UV. Shim et al. (2016) reportou a fluorescência de algumas matérias orgânicas residuais, como a lignina da madeira e a quitina em suas amostras, e Kang et al. (2020) realizou a análise de suas amostras por VN e posteriormente com o FT-IR, observando que 78% das partículas que apresentaram fluorescência com o VN eram MPs. Desta maneira, a identificação dos MPs não pode ser realizada apenas através do VN, e outras estratégias devem ser empregadas para diferenciar as partículas plásticas de outros materiais fluorescentes. Assim, é necessário confirmar a presença de outras características típicas dos MPs nas partículas que apresentam fluorescência, como bordas bem definidas e formato tridimensional (Prata et. al., 2021). Partículas que apresentem tais características e forte fluorescência, podem ser reportadas como possíveis microplásticos, porém a confirmação destas como MP, só pode ser realizada através da análise da composição das partículas em questão, como o infravermelho.

3.3.1.Preparação de amostras com Vermelho de Nilo

O Vermelho de Nilo foi pesado em uma balança de precisão, e adicionado à um frasco Erlenmeyer de vidro, com tampa. Posteriormente, foi adicionado acetona, respeitando a proporção de 10 µg de Vermelho de Nilo para 1 mL de acetona, de

acordo com a referência (Maes et. al., 2017), e o frasco foi agitado (Figura 3.12.(A)). A solução de acetona com Vermelho de Nilo foi então gotejada sobre os filtros, de maneira a cobri-lo e o conteúdo nele depositado, por completo, como mostra a figura 3.12.(B).

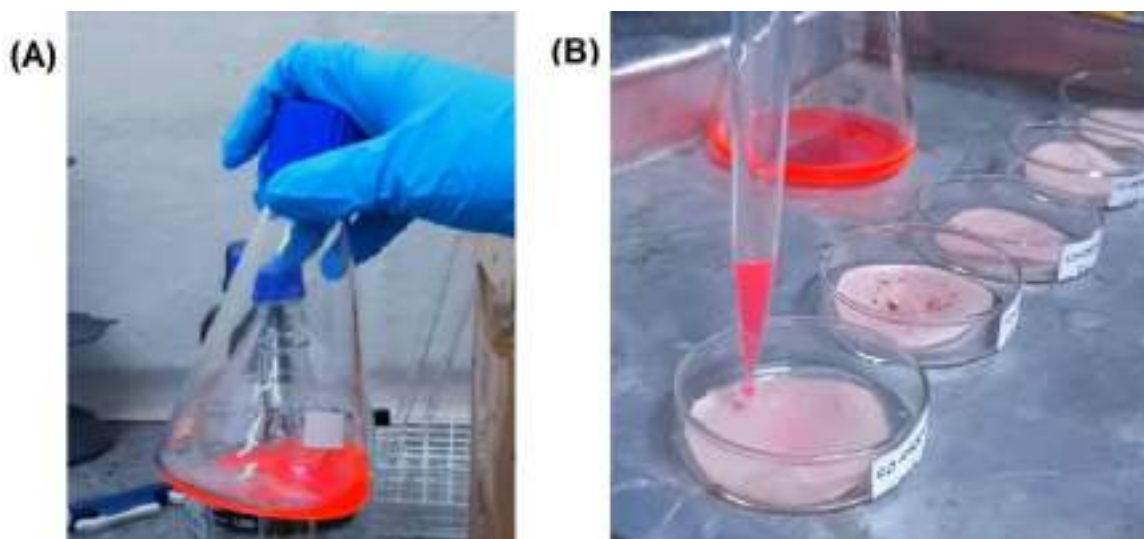


Figura 3.12: (A) Solução do Vermelho de Nilo em acetona; **(B)** Gotejamento da solução de Vermelho de Nilo com acetona nos filtros de amostras.

Após a dispersão da solução nos filtros, os petris foram tampados e levados à estufa à 50° C, durante 30 min, para garantir a secagem total da acetona. Uma vez secos, os filtros foram submetidos à análise por microscópio, com o auxílio de uma fonte externa de radiação ultravioleta.

3.3.2. Contagem e caracterização dos microplásticos com Vermelho de Nilo

A análise por microscópio foi realizada em parceria com o Laboratório de Radiocarbono da Universidade Federal Fluminense (LAC-UFF), através de um microscópio (ZEISS Axiolab 5), pela lente objetiva EP EPIPLAN 10x/0,25 HD, situado no LAC-UFF. O microscópio foi utilizado com as suas luzes internas apagadas, através da reflexão de radiação UV no filtro, como ilustra a Figura (3.13.(A)). A radiação UV, com comprimento de onda de 360–380 nm, foi irradiada no filtro através de um adaptador de fluorescência para estereomicroscópio (SFA Stereo Microscope Fluorescence Adapter ZEISS). Os filtros foram cuidadosamente fixados pelas suas bordas, delimitadas pela marca da filtração, à uma folha de papel sulfite, com uma fita adesiva, evitando o toque da fita com as amostras. A folha foi então posicionada no microscópio, para a análise do filtro através da lente, em um ambiente escuro.

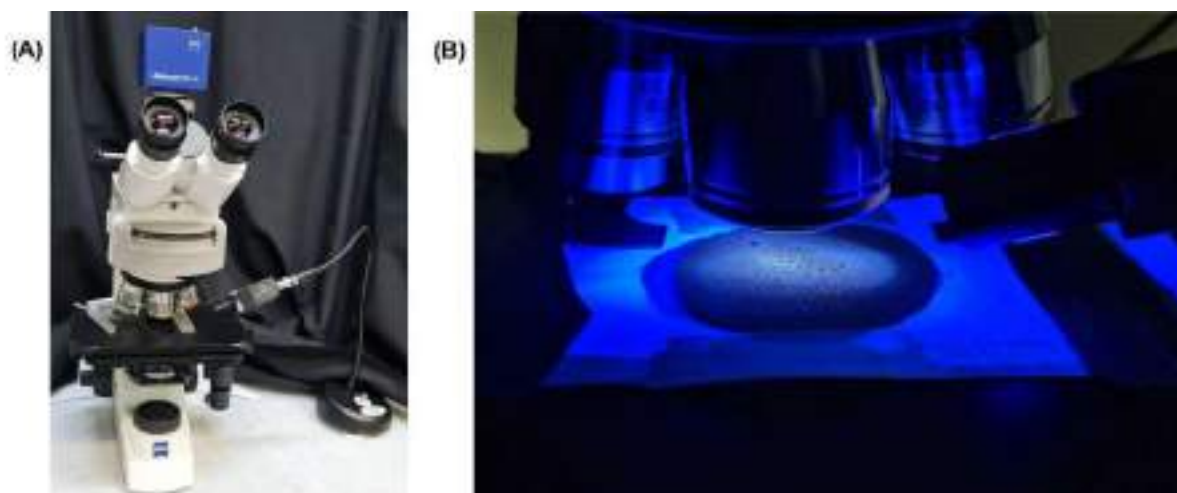


Figura 3.13: (A) Montagem do microscópio junto ao adaptador de fluorescência para estereomicroscópio; (B) Luz UV incidindo sobre o filtro posicionado no microscópio.

A análise da totalidade da área dos filtros pode levar mais de 1 hora por filtro. Assim, é necessário que se analise apenas uma fração da área desses, realizando-se uma estimativa do valor total de microplásticos por amostra, de acordo com a área analisada. Portanto os filtros foram divididos em 25 pistas de 1,9 mm. De acordo com (Prata et. al., 2021), a área mínima para uma quantificação satisfatória do filtro equivale a aproximadamente 23% da área total do filtro, produzindo uma variação média de 16%. Assim, 5 pistas foram observadas através do microscópio, sendo elas divididas em duas posições (central e lateral, como demonstra a figura 3.14), garantindo a análise não somente do centro do filtro, mas também das laterais. Observando os microplásticos encontrados em 3 linhas centrais e 2 linhas laterais, que totalizam aproximadamente 24,1% da área total do filtro, foi realizada, então, uma estimativa para o filtro inteiro.

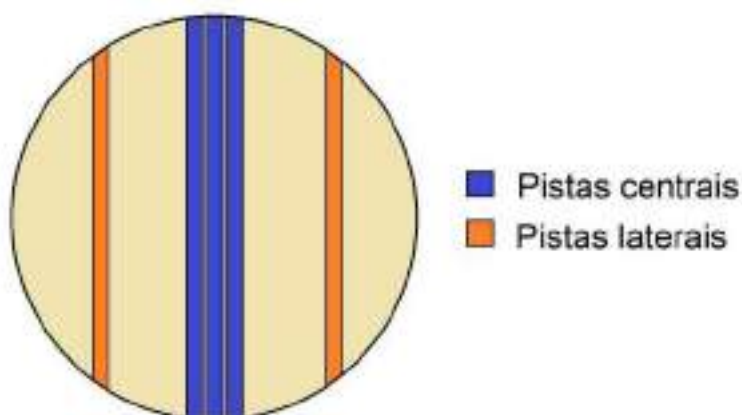


Figura 3.14: Exemplo da divisão de pistas no filtro de celulose.

A classificação das cores dos microplásticos foi realizada de acordo com a coloração que os mesmos apresentaram quando expostos à radiação UV. Uma vez que esta diferença de cor na fluorescência dos possíveis microplásticos pode ser um indicador da ocorrência de diferentes tipos de polímeros nas amostras. O que pode ser explicado devido à diferença de polaridade na superfície dos polímeros, onde o comprimento de onda da fluorescência pode variar de acordo com os grupos de polímeros classificados como polares (nylon, PET) e hidrofóbicos (PP, PE, PS) (Maes et al. 2017). Shim et al. (2016) apontou a influência de outras características do MP na intensidade da fluorescência, como a cor do MP e o formato do mesmo, onde MP esféricos apresentam um brilho menos intenso.

3.4. ANÁLISE QUÍMICA

Neste trabalho, optou-se pelo uso da técnica de microespectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, conhecida como micro-FTIR, através do microscópio FTIR LUMOS II, da marca Bruker, acoplado ao software OPUS, também da Bruker, através da técnica de ATR (Figura 3.15). Antes de iniciar qualquer processo de análise dos filtros no microscópio FTIR, é necessário a realização da calibração do foco e dos eixos x, y e z do equipamento.

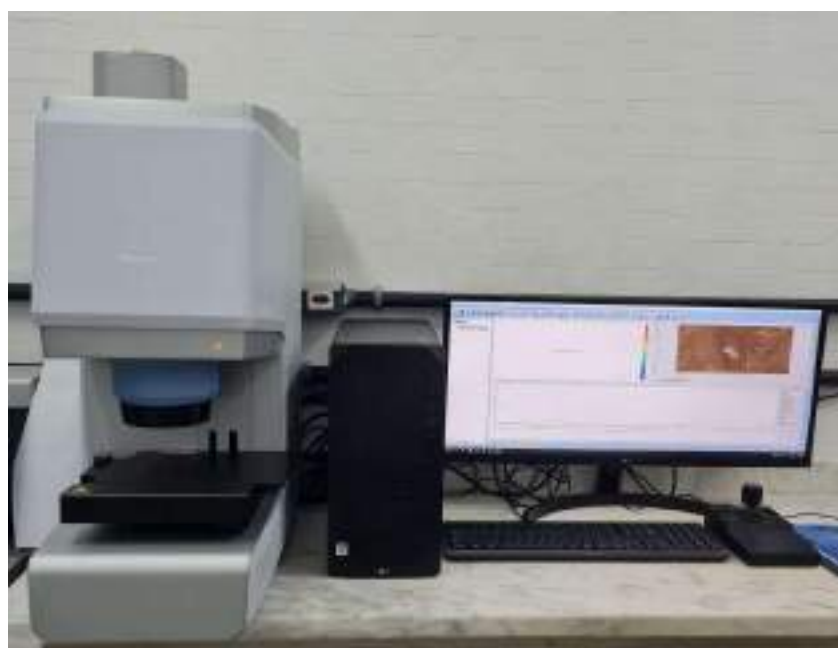


Figura 3.15: Microscópio LUMOS II ao lado de um computador com o software OPUS aberto.

Após a calibração, os filtros devem ser cuidadosamente fixados na placa móvel do LUMOS II, de maneira que os mesmos fiquem planos, ou semi-planos. Para isso, os filtros podem ser fixos pelas suas bordas através de fitas adesivas, sendo necessário aplicar uma leve tensão nos filtros no momento da aplicação das

fitas, de maneira a esticar o mesmo. Assim reduz-se a formação de morros e vales, que podem atrapalhar na obtenção de imagens nítidas pelo microscópio do equipamento.

Após fixar os filtros, é necessário obter uma imagem da região na qual deseja-se analisar a composição química das partículas. Para isso, é preciso definir dois pontos que delimitam a área total da imagem, que será obtida automaticamente pelo microscópio através da junção de várias imagens de áreas menores. Uma vez obtida a imagem, pode-se selecionar os pontos de interesse para a obtenção dos espectros de cada partícula, e o modo de medição escolhido. Assim, foram geradas imagens dos filtros sob a luz branca e sob a luz UV, emitida pelo adaptador de fluorescência para estereomicroscópio, e alguns pontos foram analisados através da técnica de ATR.

Para a obtenção dos espectros o LUMUS II desce uma haste retrátil contendo um cristal de germânio, que permite a passagem do feixe de infravermelho, que é direcionado para a amostra, interage com a mesma, e retorna para o equipamento através do mesmo cristal. A primeira medição é realizada antes do cristal entrar em contato com a amostra, para obter um background atmosférico, reduzindo a influência de moléculas presentes na atmosfera do laboratório, como o dióxido de carbono. Após a obtenção do background, o cristal continua a descer, até tocar levemente nos pontos selecionados previamente no filtro, e realiza as medidas seguintes (Figura 3.16).

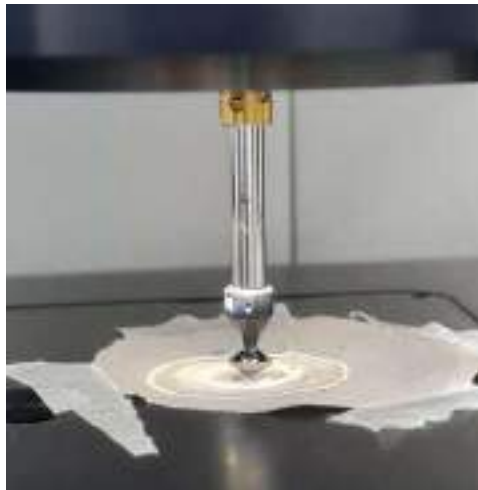


Figura 3.16: Cristal de germânio do LUMUS II realizando a medição de uma amostra aderida a um filtro de celulose.

Após a realização das medidas de cada partícula, o software OPUS irá converter o interferograma obtido pelo LUMUS II em um espectro de número de onda em função da absorbância, através de uma transformada de Fourier. Porém, antes de realizar a comparação dos espectros obtidos para as amostras, com as bandas de absorção padrões de polímeros virgens, é necessário realizar alguns ajustes, a fim de eliminar possíveis ruídos ou interferências externas na leitura do espectro. Portanto, foi utilizada a função *Baseline Correction* do software, que faz

uma correção na linha de base do espectro quando a linha de base não está em 0. As funções *Applying Water-Compensation*, que corrige o nível de água e CO₂ no espectro e a função *Normalize*, que corrige pequenos desvios que podem ter sido gerados nos espectros durante os scans, também podem ser aplicadas (BRUKER, 2014). Em seguida, pode-se realizar a comparação dos espectros obtidos pelo OPUS, com os espectros padrões existentes, através do banco de dados do próprio software. Porém, para uma maior confiabilidade de interpretação dos polímeros obtidos nas amostras, é necessário realizar a comparação dos picos dos espectros com os valores das bandas de absorção característicos dos polímeros conhecidos na literatura, como exemplifica a tabela 2.1, apresentada na subseção 2.4.1.

Apesar do polietileno ser um polímero classificado como polietileno de alta densidade (HDPE) e de baixa densidade (LDPE), a diferenciação entre seus espectros é dada apenas pela presença da banda de absorção de 1377 cm^{-1} no LDPE, que não é encontrada no HDPE. Porém, a presença de um único pico no espectro do LDPE nem sempre é de fácil identificação. Portanto, optou-se neste trabalho por não fazer a diferenciação entre os dois tipos de polietileno, contabilizando ambos apenas como PE.

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 10 (PRISM, 2023). As distribuições normais dos dados foram verificadas através dos testes D'Agostino & Pearson (D'Agostino, 1973), Anderson-Darling (Anderson, 1954), Shapiro-Wilk (Shapiro, 1965) e Kolmogorov-Smirnov (Darling, 1957). Também foram realizadas comparações pelos testes Tukey (Benjamini, 2002) e t não pareado (Drummond, 2011), para investigar diferenças entre as espécies e a concentração de MPs nos tecidos. Os gráficos presentes neste trabalho foram feitos com o software GraphPad Prism 10.

4.RESULTADOS

As massas obtidas do material sobrenadante depositado sobre os filtros são apresentadas nas tabelas 4.1, para as Corvinas, e 4.2 para os Xereletes.

Tabela 4.1 - Massa do material resultante da segunda filtragem das amostras de órgãos e tecidos da Corvina, com incerteza de 0,0005 g.

Corvina					
Amostra	Órgão ou tecido	Massa resultante da segunda filtragem (g)	Amostra	Órgão ou tecido	Massa resultante da segunda filtragem (g)
1	Músculo	0,0033	7	Músculo	0,0022
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0165		Fígado	0,0062
	Gônada	0,0094		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0229
	Brânquia	0,0464		Gônada	0,0060
2	Músculo	0,0062	8	Músculo	0,0110
	Fígado	0,0036		Fígado	0,0023
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0067		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0180
	Brânquia	0,0390		Gônada	*
3	Músculo	0,0093	9	Brânquia	0,0223
	Fígado	0,0466		Músculo	0,0146
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0113		Fígado	0,0003
	Gônada	0,0016		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0112
4	Brânquia	0,0239	10	Gônada	0,0090
	Músculo	0,0048		Brânquia	0,0234
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0327		Músculo	*
	Gônada	0,0036		Fígado	*
5	Brânquia	0,0206	11	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0076
	Músculo	0,0080		Gônada	0,0006
	Fígado	0,0076		Brânquia	0,0537
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0052		Músculo	0,0037
6	Gônada	0,0184	12	Fígado	0,0216
	Brânquia	0,0183		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0261
	Músculo	0,0087		Gônada	0,0205
	Fígado	0,0057		Brânquia	0,0144
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0389		Músculo	0,0156
	Gônada	0,0010		Fígado	17,8835
				Estômago com o conteúdo estomacal	0,0341
				Gônada	0,0058
				Brânquia	0,0166

* Estas amostras geraram valores abaixo do mínimo permitido pela sensibilidade da balança.

Tabela 4.2 - Massa do material resultante da segunda filtragem das amostras de órgãos e tecidos do Xerelete, com incerteza de 0,0005 g.

Xerelete					
Amostra	Órgão ou tecido	Massa resultante da segunda filtragem (g)	Amostra	Órgão ou tecido	Massa resultante da segunda filtragem (g)
1	Músculo	0,0275	6	Músculo	0,0322
	Fígado	0,0442		Fígado	0,0424
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0381		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0275
	Brânquia	0,0742		Brânquia	0,0561
2	Músculo	0,0455	7	Músculo	0,0284
	Fígado	0,0575		Fígado	0,0361
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0604		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0361
	Brânquia	0,0647		Brânquia	0,0408
3	Músculo	0,0188	8	Músculo	0,0328
	Fígado	0,0476		Fígado	0,0232
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0217		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0341
	Brânquia	0,1043		Brânquia	0,0498
4	Músculo	0,0238	9	Músculo	0,0538
	Fígado	0,0701		Fígado	0,0329
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,1308		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0786
	Brânquia	0,073		Brânquia	0,0586
5	Músculo	0,0351	10	Músculo	0,0321
	Fígado	0,0512		Fígado	0,0385
	Estômago com o conteúdo estomacal	0,0671		Estômago com o conteúdo estomacal	0,0345
	Brânquia	0,0815		Brânquia	0,0606

Após as pesagens e preparo, todos os filtros foram submetidos à análise óptica descrita na subseção 3.3, sendo expostos à solução de Vermelho de Nilo com acetona, e analisadas no microscópio para a realização da contagem através da lente do mesmo. Uma vez que todos os filtros foram analisados, o valor total de microplásticos por filtro foi estimado, de acordo com a área total do filtro, a área analisada e o total de possíveis MP's encontrados nos brancos. Foi utilizada uma incerteza na contagem de MP's equivalente a 16% para cada filtro, veja seção 3.3.2. Os possíveis microplásticos detectados foram divididos em diferentes categorias, de acordo com as formas observadas, sendo elas filamento, fragmento ou pellet, e de acordo com as cores aparentes quando expostos à radiação UV, como azul, azul opaco, verde, laranja, azul e laranja, branco e branco transparente. Tais valores são apresentados nas Tabelas 4.3 e 4.4 para as 12 Corvinas, e nas Tabelas 4.5 e 4.6 para os 10 Xereletes.

Tabela 4.3 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos das Corvinas 1 a 6, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Corvina		Filamento				Fragmento	
Amostra	Órgão ou tecido	Azul	Laranja	Verde	Azul e Laranja	Azul	Verde
1	Músculo	261	0	4	0	4	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	846	4	0	0	0	8
	Gônada	585	0	0	0	8	0
	Brânquia	0	0	12	0	0	0
2	Músculo	303	4	0	0	8	4
	Fígado	25	8	0	4	4	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	174	4	0	4	0	0
	Brânquia	133	0	0	0	8	0
3	Músculo	307	0	0	0	0	0
	Fígado	141	0	4	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0
	Gônada	286	0	0	0	0	8
	Brânquia	0	0	0	0	0	0
4	Músculo	286	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	494	0	0	0	0	0
	Gônada	290	4	0	0	0	0
	Brânquia	303	4	0	0	0	0
5	Músculo	340	0	0	0	4	0
	Fígado	315	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	162	0	0	0	0	0
	Gônada	216	0	0	0	0	0
	Brânquia	12	4	0	0	0	0
6	Músculo	485	0	0	0	0	0
	Fígado	697	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	71	4	4	0	0	4
	Gônada	270	0	0	0	0	0

Tabela 4.4 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos das Corvinas 7 a 12, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Corvina		Filamento				Fragmento	
Amostra	Órgão ou tecido	Azul	Laranja	Verde	Azul e Laranja	Azul	Verde
7	Músculo	0	0	0	0	4	0
	Fígado	0	0	0	0	12	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	149	4	0	0	0	0
	Gônada	0	0	0	0	4	0
8	Músculo	0	41	0	0	0	0
	Fígado	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0
	Gônada	0	0	0	0	4	0
	Brânquia	66	0	0	0	0	0
9	Músculo	0	0	0	0	0	0
	Fígado	0	0	0	0	17	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	54	0	0	0	0	0
	Gônada	0	0	0	0	12	0
	Brânquia	0	0	0	0	0	0
10	Músculo	0	4	4	0	0	0
	Fígado	469	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0
	Gônada	0	0	0	0	0	0
	Brânquia	0	0	0	0	0	0
11	Músculo	0	0	0	0	0	0
	Fígado	515	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	4	0
	Gônada	0	0	0	0	4	0
	Brânquia	0	0	4	0	0	0
12	Músculo	0	0	0	0	8	0
	Fígado	535	4	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0
	Gônada	0	0	0	0	0	0
	Brânquia	0	0	12	0	0	0

Tabela 4.5 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos dos Xereletes 1 a 7, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Xerelete		Filamento					Fragmento		Pellet	
Amostra	Órgão ou tecido	Azul	Laranja	Verde	Azul opaco	Azul e laranja	Azul	Verde	Branco	Branco transparente
1	Músculo	0	0	0	0	0	4	0	0	0
	Fígado	245	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	108	0	0	0	0	0	0	8	0
	Brânquia	37	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Músculo	0	0	0	0	0	0	0	4	0
	Fígado	0	4	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	91	0	0	0	0	8	50	4	41
	Brânquia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Músculo	0	0	0	0	0	4	0	0	0
	Fígado	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0	4	12	17
	Brânquia	91	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Músculo	62	0	0	0	0	0	4	0	0
	Fígado	87	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	4	0	0	0	0	0	8	0
	Brânquia	54	0	4	0	0	0	0	0	0
5	Músculo	311	0	0	0	0	0	4	0	0
	Fígado	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	4	0	0	0	0	0	17	41
	Brânquia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Músculo	195	0	0	12	0	4	0	0	0
	Fígado	95	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	4	4	0	0	0	4	0	0	0
	Brânquia	21	0	0	0	0	0	8	0	0
7	Músculo	274	0	0	8	0	0	0	0	0
	Fígado	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	8	0	41	29
	Brânquia	261	0	0	0	0	4	0	0	0

Tabela 4.6 - Possíveis microplásticos encontrados nas amostras de órgãos e tecidos extraídos dos Xereletes 8 a 10, separados por cor e forma. Com uma incerteza equivalente a 16%.

Xerelete		Filamento					Fragmento		Pellet	
Amostra	Órgão ou tecido	Azul	Laranja	Verde	Azul opaco	Azul e laranja	Azul	Verde	Branco	Branco transparente
8	Músculo	141	0	0	0	0	0	0	0	0
	Fígado	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0	0	17	41
	Brânquia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	Músculo	398	0	0	4	0	4	0	0	0
	Fígado	0	0	0	0	0	0	0	17	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	4	0	4	4
	Brânquia	253	8	0	0	0	0	91	0	0
10	Músculo	0	0	0	0	4	8	46	0	0
	Fígado	224	0	0	0	0	4	0	0	0
	Estômago com o conteúdo estomacal	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Brânquia	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Desta maneira, foram encontrados possíveis partículas microplásticas (< 1 mm) em todas as espécies analisadas. A quantidade total de possíveis microplásticos encontrados por indivíduo, de cada uma das duas espécies analisadas, pode ser resumida na Tabela 4.7, a seguir:

Tabela 4.7 - Quantidade total de possíveis microplásticos encontrados em cada Corvina e Xerelete analisado.

Total de MP's					
Corvinas	Contagem	Erro	Xereletes	Contagem	Erro
CO-01	1734	278	XE-01	402	64
CO-02	685	110	XE-02	203	33
CO-03	747	120	XE-03	128	21
CO-04	1382	221	XE-04	224	36
CO-05	1054	169	XE-05	390	62
CO-06	1535	246	XE-06	348	56
CO-07	174	28	XE-07	726	116
CO-08	112	18	XE-08	199	32
CO-09	83	13	XE-09	788	126
CO-10	477	76	XE-10	286	46
CO-11	527	84			
CO-12	560	90			

Uma melhor representação destes dados pode ser feita na forma de gráfico de barras, como é apresentado na Figura 4.1 para as Corvinas e na Figura 4.2 para os Xereletes.

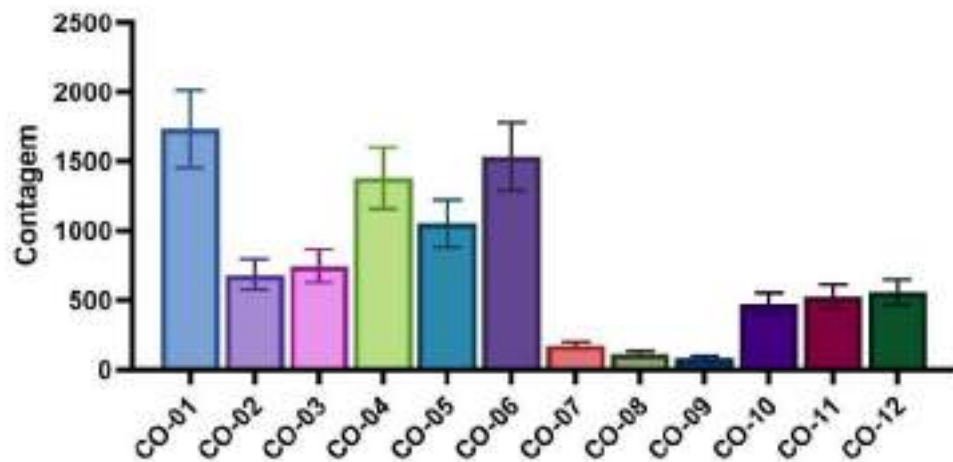


Figura 4.1: Quantidade total de possíveis microplásticos observados em cada indivíduo analisado da espécie *Micropogonias furnieri* (Corvina). Feito com barra de erro equivalente a 16%.

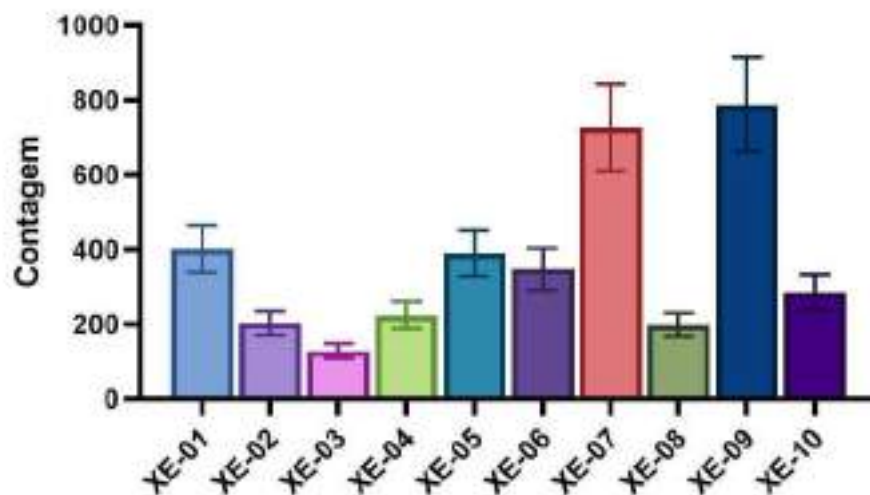


Figura 4.2: Quantidade total de possíveis microplásticos observados em cada indivíduo analisado da espécie *Caranx crysos* (Xerelete). Feito com barra de erro equivalente a 16%.

Da mesma maneira, também é interessante observar a distribuição das formas de possíveis microplásticos presentes nos Xereletes e nas Corvinas, como é apresentado nos gráficos de barra a seguir (Figura 4.3 e 4.4):

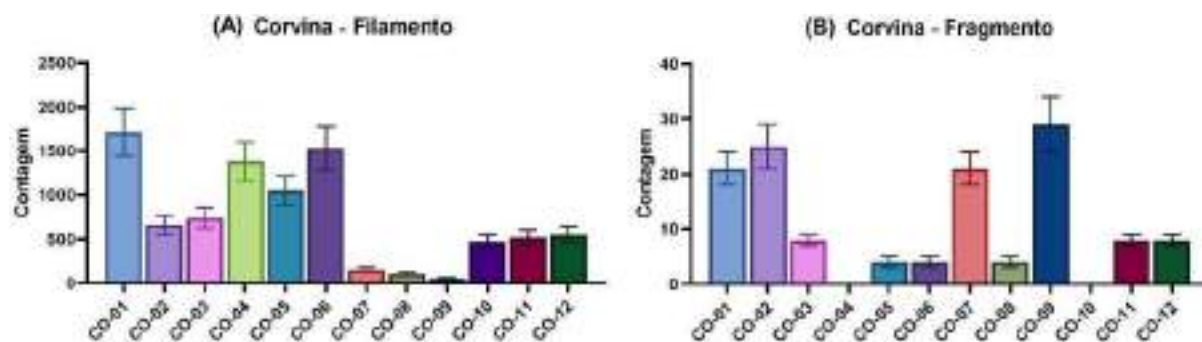


Figura 4.3: Quantidade de possíveis microplásticos encontrados na Corvina, na forma de: (A) Filamento; (B) Fragmento. Feito com barra de erro equivalente a 16%.

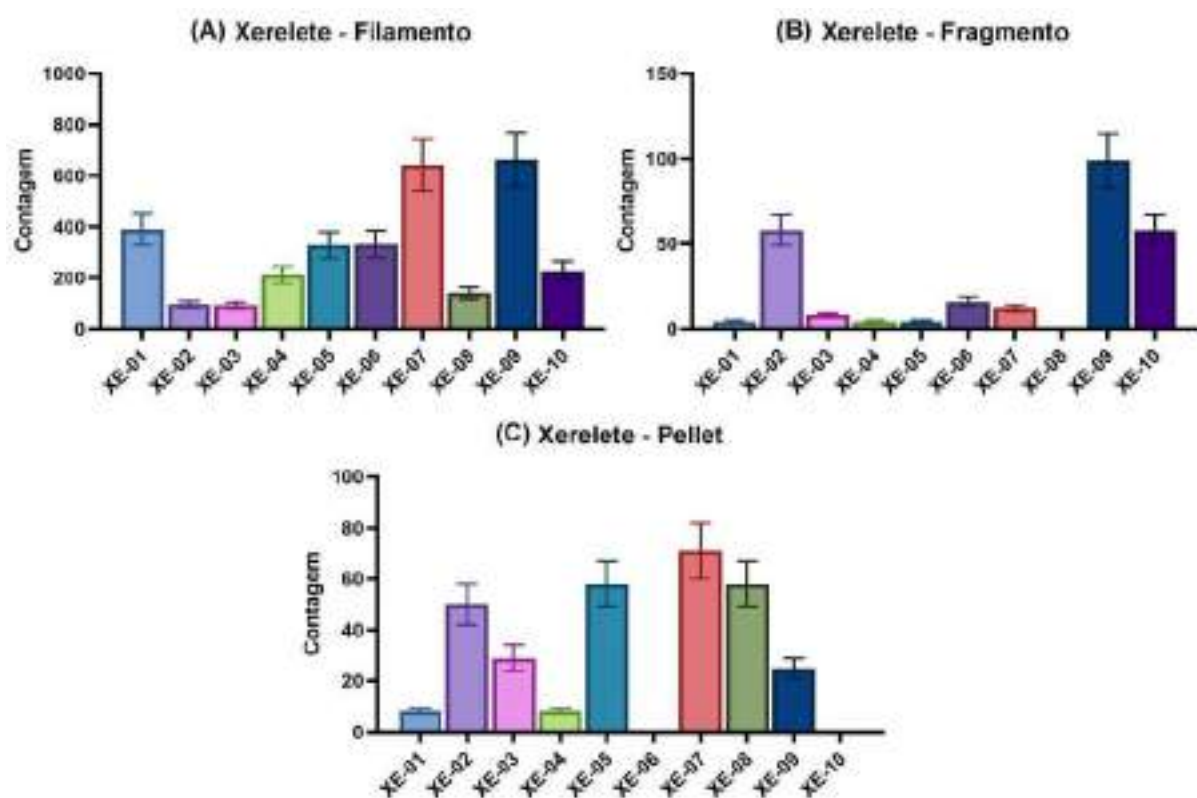


Figura 4.4: Quantidade de possíveis microplásticos encontrados na Corvina, na forma de: (A) Filamento; (B) Fragmento. Feito com barra de erro equivalente a 16%.

A caracterização química dos possíveis microplásticos foi iniciada de acordo com a metodologia descrita na subseção 3.4. Esta análise, que confirma a classificação dos possíveis microplásticos como microplásticos, com um alto grau de confiabilidade, será finalizada para a publicação do artigo relativo a este trabalho. Porém, os resultados preliminares da análise de duas amostras (estômago dos exemplares 09 da Corvina e do Xerelete) apontam para a caracterização dos

fragmentos encontrados como polietileno e dos filamentos como uma mistura de algodão e linho ou celulose, coincidindo com os resultados obtidos para o filtro de celulose utilizado. Esta caracterização fica evidente na Figura 4.5, onde é possível observar a comparação dos espectros de um dos fragmentos com o polietileno virgem, material de referência que apresentou maior coincidência, de acordo com a livreria do software OPUS, e pela comparação com a Tabela 2.1. Da mesma maneira, é possível observar na Figura 4.6 a comparação dos espectros dos materiais de referência da livreria do software que apresentaram maior coincidência com o espectro do filamento, sendo eles o algodão+linho e o cotonete de celulose.

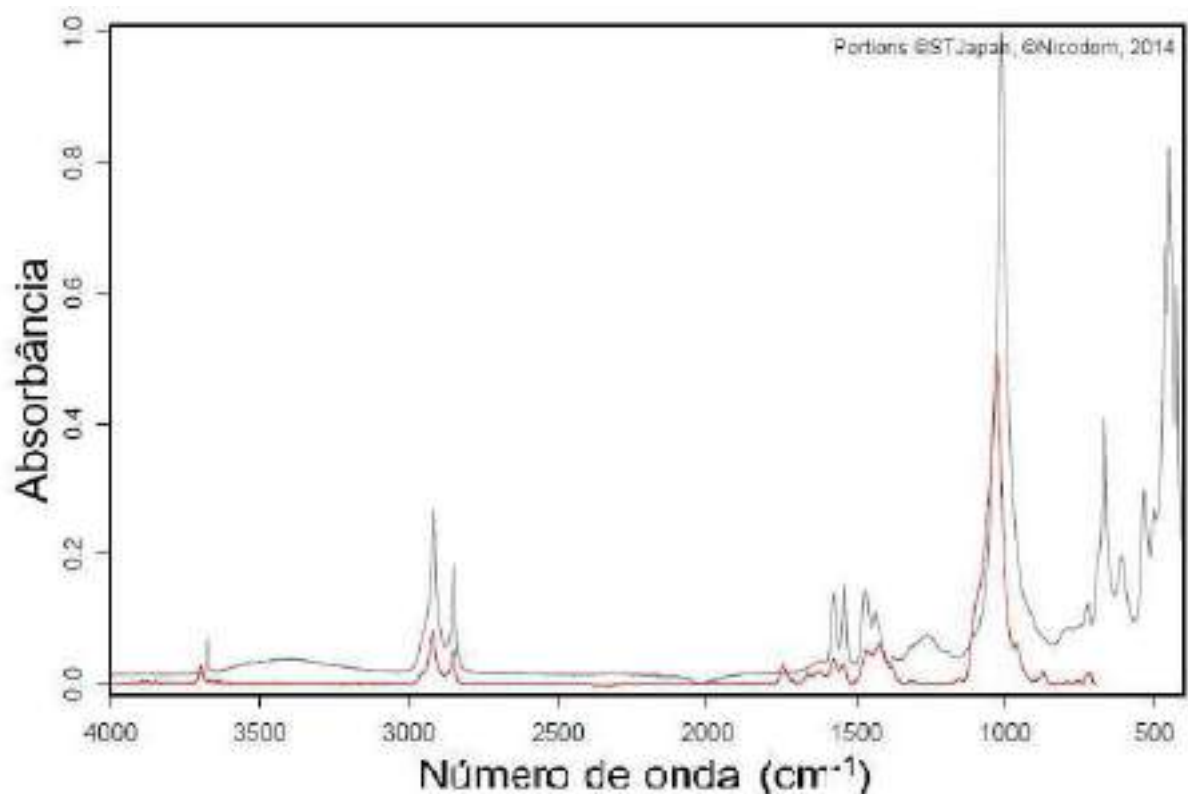


Figura 4.5: Espectros de absorvância por número de onda de um fragmento analisado na amostra XE-09-EST, em vermelho, e de um polietileno virgem, em cinza.

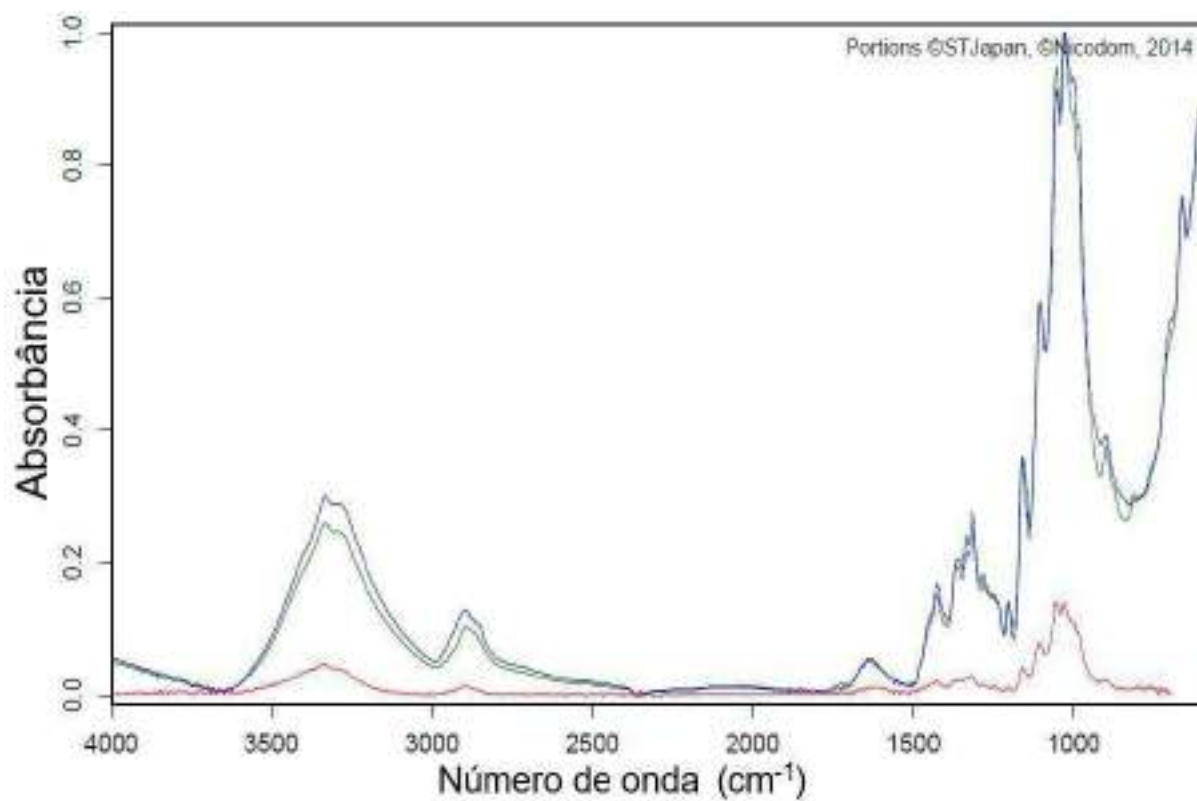


Figura 4.6: Espectros de absorvência por número de onda de um filamento analisado na amostra CO-09-EST, em vermelho, e de dois materiais de referência, sendo eles o algodão+linho (60:40) em azul e o cotonete de celulose em verde.

5.DISSCUSSÃO

É perceptível que tanto o comprimento quanto a massa das duas espécies de peixe retirados da Baía de Guanabara respeitam a distribuição normal esperada (Figuras 5.1 e 5.2). Da mesma forma, as espécies não possuem uma diferença significativa entre as suas massas e comprimentos, e apresentam um tamanho médio equivalente ao início da vida adulta, próxima a 27,4 cm para os Xereletes e 30,6 cm para as Corvinas, como foi apresentado na seção 2.3.

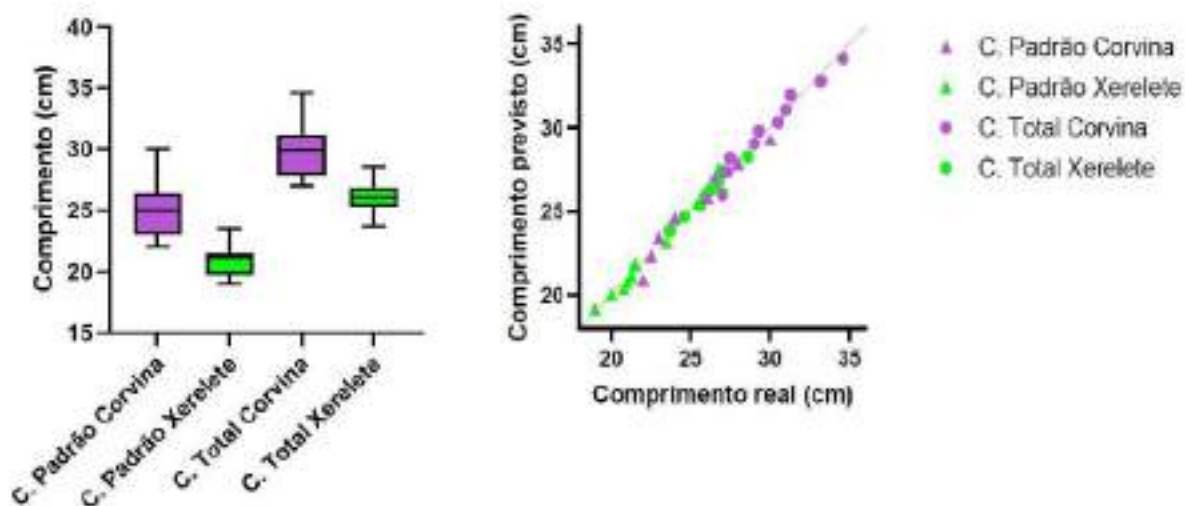


Figura 5.1: Gráfico da média dos comprimentos padrão e total das Corvinas e Xereletes e gráfico da distribuição normal dos comprimentos dos mesmos.

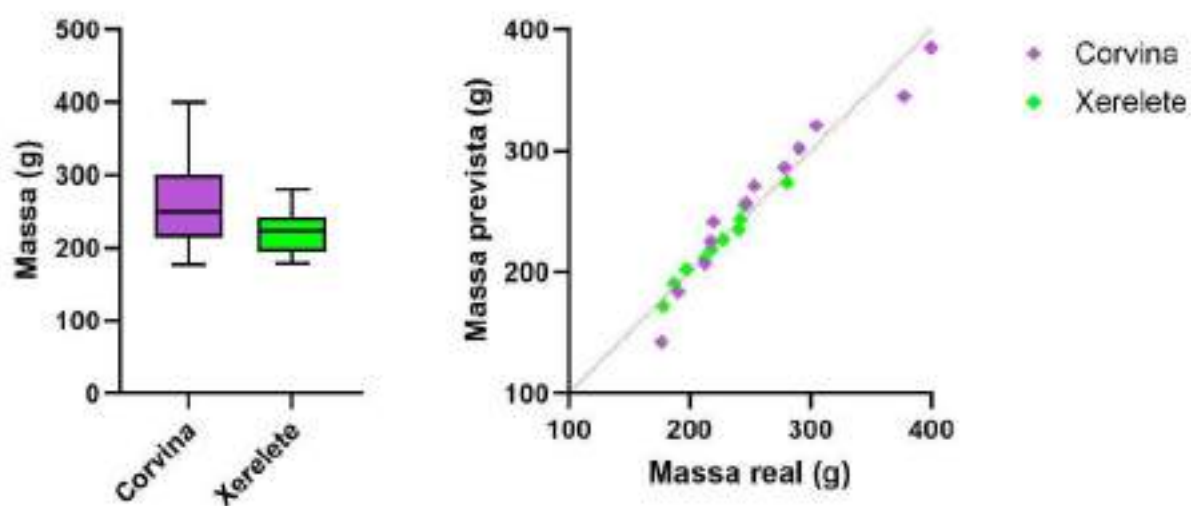


Figura 5.2: Gráfico da média de massas das Corvinas e Xereletes e gráfico da distribuição normal das massas dos mesmos.

Ao realizar uma comparação da quantidade de possíveis microplásticos encontrados nas Corvinas com os encontrados nos Xereletes, pode-se perceber uma predominância nas Corvinas, como mostrado na Figura 5.3.

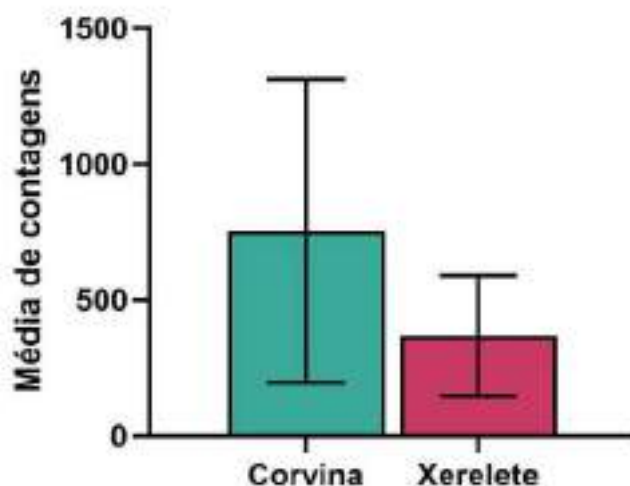


Figura 5.3: Média das contagens de possíveis microplásticos encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Embora os valores dos desvios padrões da Corvina e do Xerelete sejam expressivos, nota-se que a diferença na quantidade de possíveis MPs em cada exemplar é significativa. Assim, torna-se interessante analisar a totalidade de possíveis microplásticos por exemplar (Figura 5.4).

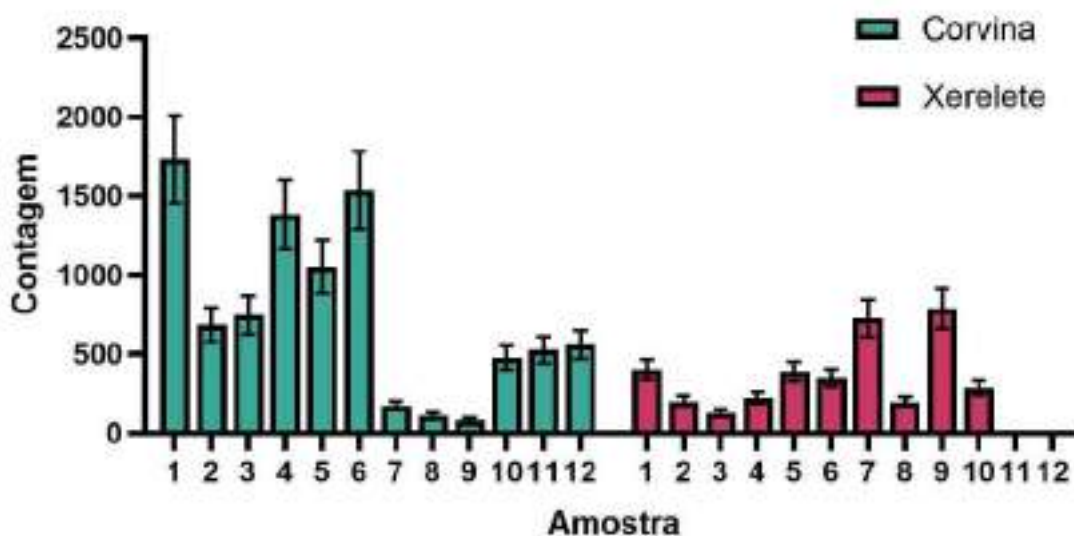


Figura 5.4: Quantidade total de possíveis microplásticos encontrados em cada exemplar das Corvinas e dos Xereletes analisados. A barra de erro equivalente a 16%.

A Figura 5.4 revela uma quantidade consideravelmente maior de possíveis microplásticos nos exemplares 1, 4, 5 e 6 das Corvinas. O agrupamento desses

exemplares coincide com o primeiro grupo de amostras preparadas, podendo indicar uma possível contaminação ocorrida durante a manipulação deste conjunto de amostras. Assim, pode-se supor que a contaminação não teria sido bem refletida nos filtros em branco, analisados conjuntamente com estas amostras, e portanto, é relevante para este grupo. Como discutido na seção 3.2, diversos procedimentos e cuidados podem e devem ser tomados durante a manipulação das amostras, porém, principalmente em um laboratório multiusuário, como é o caso do LARA e do LAC, torna-se impossível anular totalmente a contaminação por microplásticos presentes no ar. Neste sentido, diferentes artigos científicos recomendam excluir das suas análises finais a presença de microplásticos do tipo filamento (Foekema et al., 2013; Cózar et al., 2014), uma vez que esta forma é a mais comum dentre as contaminações geradas em laboratório.

Por outro lado, a caracterização química dos filamentos como algodão+linho (60:40) ou cotonete de celulose aponta para a refutação da classificação destes filamentos como microplásticos. Da mesma forma como a comparação do espectro gerado para um ponto no filamento e um ponto do filtro que não apresenta fluorescência (Figura 5.5). No entanto, esta caracterização pode ser explicada pelo tamanho do diâmetro dos filamentos ser muito menor do que o tamanho do poro do filtro e da área de análise do cristal. Uma vez que os filamentos possuem um diâmetro $< 10 \mu\text{m}$, e o filtro possui poros de $25 \mu\text{m}$, os filamentos podem acabar se sobrepondo com o material do filtro de celulose, causando interferência na leitura do espectro do filamento. Da mesma maneira, outro fator que pode causar esta interferência é o fato da área de análise do LUMUS II ser maior do que o diâmetro do filamento, como é possível observar na figura 5.6 (a), onde a área de análise está representada pelo quadrado vermelho. Dessa forma, o espectro gerado para os filamentos desta espessura apresenta forte influência do material do filtro.

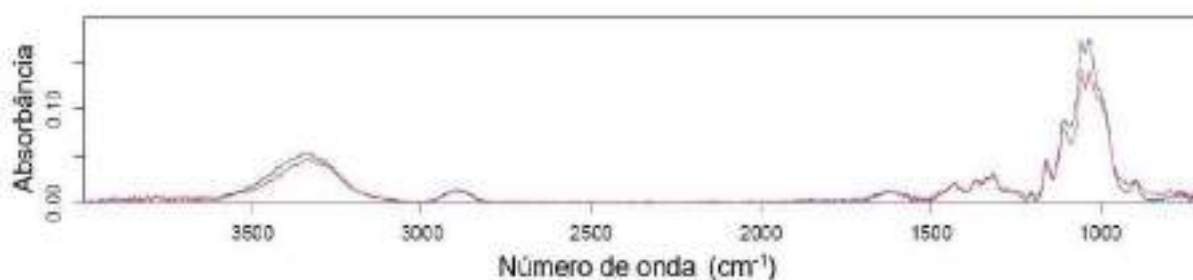


Figura 5.5: Espectros de absorvância por número de onda de dois pontos analisados na amostra CO-09-EST.

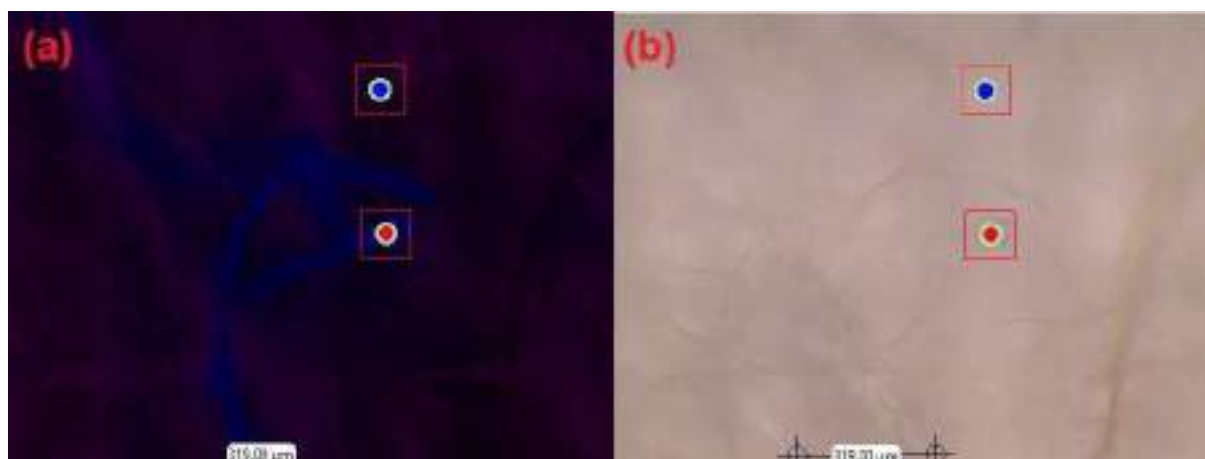


Figura 5.6: Imagens de filamentos presentes na amostra CO-09-EST, expostos à luz (a) UV e (b) branca. Os pontos em azul e vermelho representam os pontos selecionados para a análise de infravermelho, e o quadrado vermelho representa a área analisada pelo equipamento.

Considerando a possibilidade de contaminação causada por filamentos, e a dificuldade de obter a caracterização do polímero relativo ao filamento, foi decidido a exclusão dos filamentos das análises de concentração de microplásticos nas espécies estudadas. Assim, quando realizamos novamente a comparação das médias de contagem de possíveis microplásticos nas Corvinas e Xereletes, desta vez excluindo as contagens de filamento de ambas as espécies (Figura 5.7), obtemos uma inversão da predominância de microplásticos. Assim, existe uma concentração maior de microplásticos presentes nos Xereletes pescados na Baía de Guanabara, quando comparados com as Corvinas extraídas da mesma Baía.

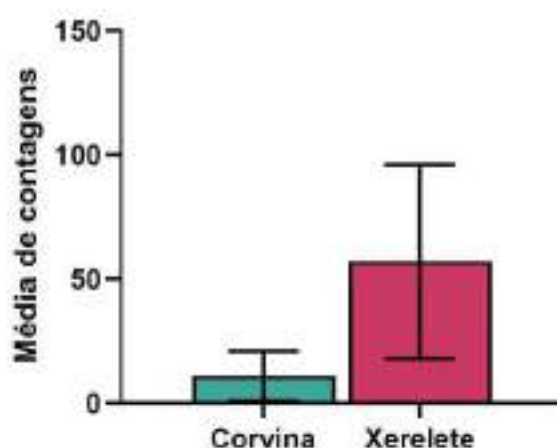


Figura 5.7: Média das contagens de possíveis microplásticos, com exceção dos filamentos, encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Ao analisar novamente as contagens totais de microplásticos por amostra, agora sem a consideração dos filamentos encontrados (Figura 5.8), podemos

observar que não existe mais um agrupamento de altos valores de contagem entre um grupo de amostras analisadas em conjunto.

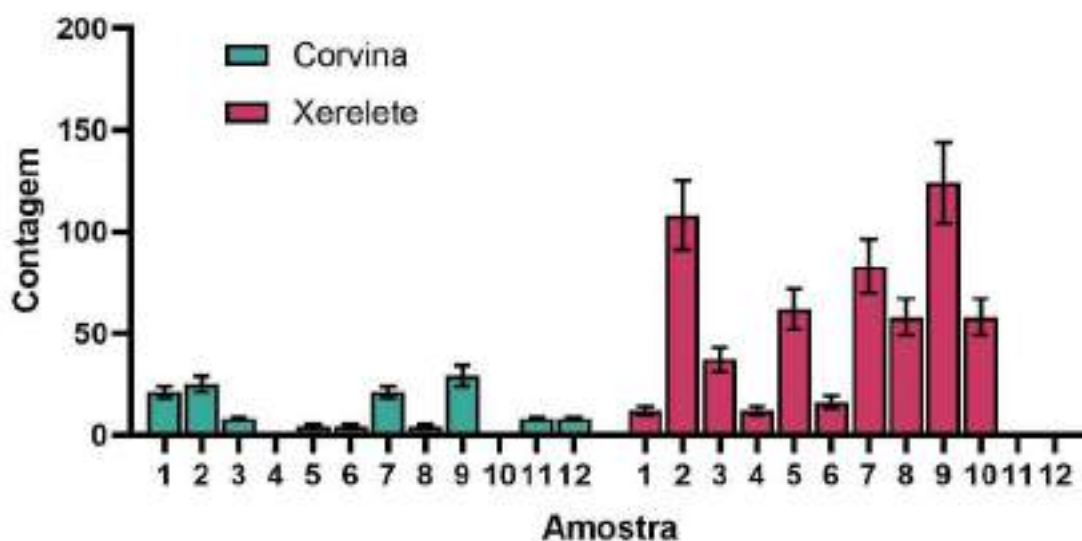


Figura 5.8: Quantidade total de possíveis microplásticos, com exceção dos filamentos, encontrados em cada exemplar das 12 Corvinas e dos 10 Xereletes analisados. A barra de erro equivale a 16%.

Desta maneira, os peixes nos quais foram encontrados detritos plásticos equivalem a 90,91% do total ($n=22$). Estudos que analisam a quantidade de microplásticos encontrados no trato gastrointestinal de peixes, costumam reportar valores menores relativos à porcentagem de espécies com MPs. Neves et al. (2015) encontrou MPs em 19,8% dos peixes analisados ($n=263$). Porém, quando mais órgãos ou tecidos estão sendo analisados, este valor costuma aumentar, se aproximando do constatado neste trabalho, como ocorre no estudo de Prata et al. (2022) que analisou as brânquias, estômago, coração e fígado, constatando possíveis MPs em todos os peixes ($n=10$), e de Abbasi et al. (2018), que analisou o trato gastrointestinal, a pele, o fígado, o músculo e a brânquia, encontrando possíveis MPs em todos os peixes ($n=56$).

Em relação aos tipos de formas dos microplásticos encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, constata-se a presença de fragmentos em ambas as espécies e de pellets apenas nos Xereletes, como demonstra a Figura 5.9.

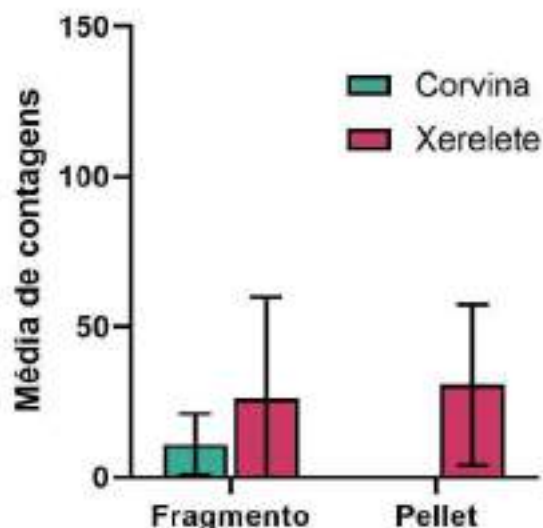


Figura 5.9: Média das contagens de possíveis fragmentos e pellets encontrados nas Corvinas e nos Xereletes, com seu respectivo desvio padrão.

Assim, é possível observar não só uma ocorrência maior de microplásticos no Xerelete, como também uma maior variação em sua forma. Uma vez que o Xerelete é uma espécie pelágica, enquanto a Corvina é uma espécie demersal, que se alimenta principalmente do fundo marinho, esta diferença pode ser explicada pela baixa densidade da maioria dos microplásticos. Dessa forma, espera-se que exista uma maior disponibilidade destes MPs na coluna d'água, quando comparada com o fundo marinho, que, portanto, aumentaria a acessibilidade dos mesmos para espécies pelágicas.

Em 2015, um estudo realizado por Neves et al. (2015) analisou a concentração de microplásticos no conteúdo estomacal de diversas espécies de peixes da costa portuguesa ($n=263$), através da extração dos mesmos por microscópio, seguido da análise de μ -FTIR. Dos peixes em que foram encontradas partículas plásticas, 63,5% eram espécies pelágicas, enquanto 36,5% eram bentônicas. O que corrobora com os resultados deste trabalho. No entanto, os autores optaram por realizar a contagem dos filamentos encontrados, uma vez que os mesmos estavam trabalhando com microplásticos relativamente grandes, com um tamanho médio de 2.11 ± 1.67 mm. Assim, foi reportada a presença predominante de filamentos em peixes bentônicos, onde as partículas plásticas restantes eram mais expressivas nas espécies pelágicas, de maneira concomitante com este trabalho.

Quando é averiguada a propagação dos possíveis microplásticos dentre os órgãos e tecidos, é possível observar uma predominância destes no estômago e conteúdo estomacal dos Xereletes, com relação aos outros órgãos (Figura 5.10).

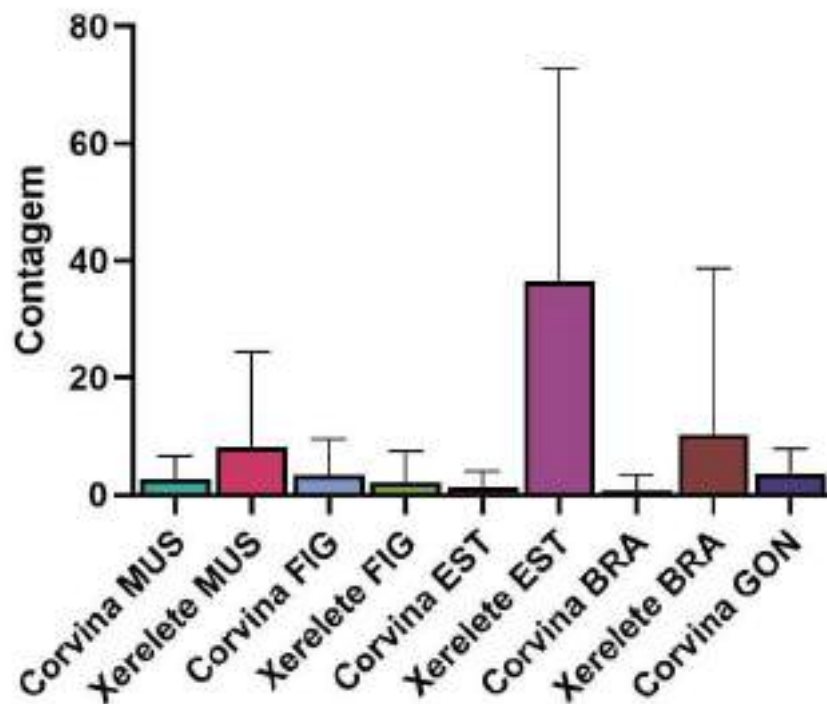


Figura 5.10: Médias das contagens de microplástico por órgão ou tecido das Corvinas e dos Xereletes.

Porém, ao isolarmos os pellets (Figura 5.11 (A)) dos fragmentos (Figura 5.11 (B)), nas amostras de Xerelete, percebe-se que esta predominância recebe uma influência significativa dos pellets, que se concentram quase que exclusivamente no estômago, tendo uma pequena transmissão para o fígado e uma transmissão desprezível para o músculo do Xerelete. Assim, é possível sugerir que os microplásticos que possuem um formato esférico, como os pellets, quando ingeridos pelo Xerelete, tendem a se restringir ao seu estômago, tendo pouca propagação para o restante do corpo. Já, observando a propagação dos fragmentos entre os órgãos e tecidos da Corvina, e do Xerelete, pode-se constatar uma ocorrência mais generalizada desta forma de microplástico. Desta maneira, o fragmento aparenta possuir uma facilidade maior de se propagar para outros órgãos e tecidos.

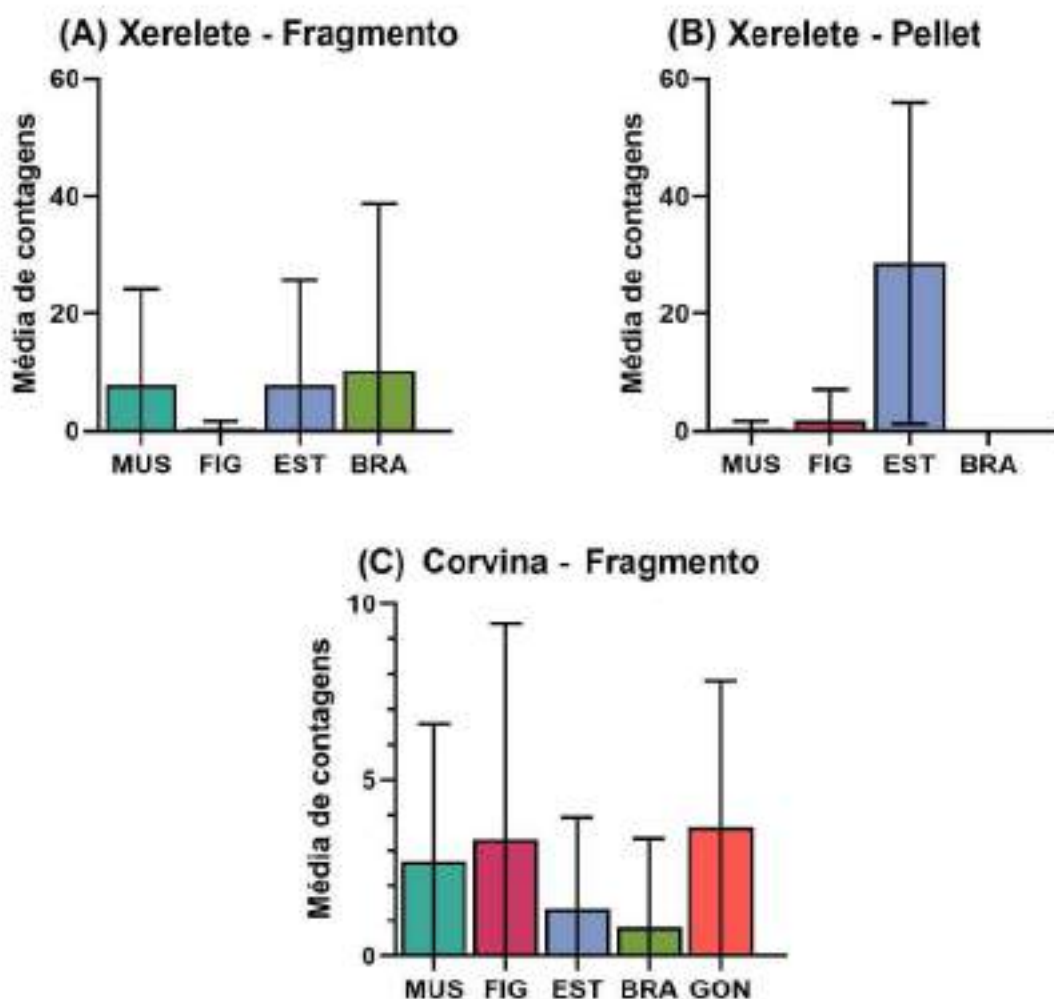


Figura 5.11: Médias das contagens por órgão ou tecido do: (A) total de fragmentos encontrados nos Xereletes; (B) total de pellets encontrados nos Xereletes e (C) total de fragmentos encontrados nas Corvinas.

Além dos danos que a presença do microplástico pode causar ao organismo do peixe, como apresentado na Seção 2.1.2.3, a presença de microplásticos na musculatura é motivo de preocupação devido ao consumo humano deste tecido. Foram observados microplásticos na musculatura tanto da Corvina quanto do Xerelete. No entanto, apesar dos músculos do peixe serem os mais consumidos, muitos brasileiros têm o costume de ingerir outras partes do peixe, como as gônadas ou o fígado. Desta maneira, os fragmentos encontrados nas Corvinas também podem representar um risco potencial para a saúde humana.

Quando expostos à luz branca, os microplásticos apresentaram, em sua maioria, uma coloração similar à do próprio filtro, com exceção dos filamentos classificados como azul denso, cuja coloração na luz branca era azul, como na sua fluorescência pela radiação UV. Assim, os fragmentos, que foram classificados dentre as cores azul e verde, e os pellets, que foram classificados dentre as cores branco e branco transparente, apresentam uma maioria de partículas com uma coloração similar à do próprio filtro na luz branca, ou seja, branco, transparente ou

âmbar (uma vez que na escala de tamanho do microscópio, é difícil diferenciar tonalidades similares, como o branco e o âmbar). Este resultado coincide com o encontrado por Hossani et al. (2019), que analisou 3 espécies de peixes do norte da Baía de Bengala (n=25), encontrando uma predominância de partículas plásticas brancas em duas das três espécies, equivalentes à 60%, 68% e 26%. O mesmo também foi reportado por Boerger et al. (2010), que analisou 5 espécies de peixe (n=670), encontrando, também, uma alta predominância de partículas brancas dentre os microplásticos ingeridos (58%), seguido dos microplásticos transparentes (16,7%).

Esta alta concentração de microplásticos brancos, âmbar ou transparentes pode indicar uma maior disposição de microplásticos desta coloração, o que coincide com o que foi observado em fragmentos coletados na areia da praia de Jurujuba, na entrada da Baía de Guanabara, onde as 4 principais cores encontradas foram o âmbar (23,80%), o azul (18,55%), o verde (11,60%) e o branco (10,9%) (Do Amaral, 2021). No entanto, fica evidente que partículas coloridas também estão disponíveis em altas concentrações na Baía de Guanabara, uma vez que duas das quatro cores principais encontradas no estudo são coloridas, e Olivatto et al. (2019), encontrou uma maior concentração de partículas coloridas (37,8%) na superfície da água da Baía de Guanabara. Assim, a maior concentração de microplásticos brancos, âmbar ou transparentes também pode ser uma indicação de preferência destas espécies, que acabam ingerindo estes microplásticos quando os confundem com outros organismos que fazem parte da sua alimentação, como os copépodes e outros zooplânctons (Boerger et al. 2010).

Ainda resta realizar a classificação dos polímeros na totalidade das amostras, porém, a identificação de polietileno nas partículas analisadas, da amostra de estômago de um dos Xereletes, condiz com os principais polímeros encontrados nos dois estudos citados acima. Neles 81,7% dos microplásticos retirados da superfície da água eram polietileno e o mesmo era o mais abundante dentre os microplásticos encontrados na areia da praia de Jurujuba (Olivatto et al., 2019; Do Amaral, 2019). Outros estudos que também analisaram microplásticos retirados da água da Baía de Guanabara também apontaram para uma predominância do polietileno, como Castro et al. (2016), que encontrou 72% de PE dentre os microplásticos e Figueiredo e Vianna (2018), que encontraram 80% de PE dentre as amostras de filme e 100% dos fragmentos e fibras eram PE.

A seguir estão exemplificados os tipos de forma e cores observados nas amostras durante a análise no microscópio. As Figuras 5.12, 5.13, 5.14, 5.15, 5.16, 5.17, 5.18, 5.19 (b) e (c) foram obtidas através da câmera AxioCam ERc 5s e do software Zen Blue 3.4, com tempo de exposição em 53,45 ms e intensidade em 100%. Já as figuras 5.12, 5.13, 5.14, 5.15, 5.16, 5.17, 5.18, 5.19 (a) foram capturadas com um celular Samsung Galaxy S20 através das lentes oculares do microscópio e editadas pelo aplicativo Snapseed, seguindo as mesmas configurações (atmosfera +10, brilho -10, calor 0, contraste -10, realces -20, saturação +10, sombras -20), e a sua dimensão foi obtida através do software ImageJ.

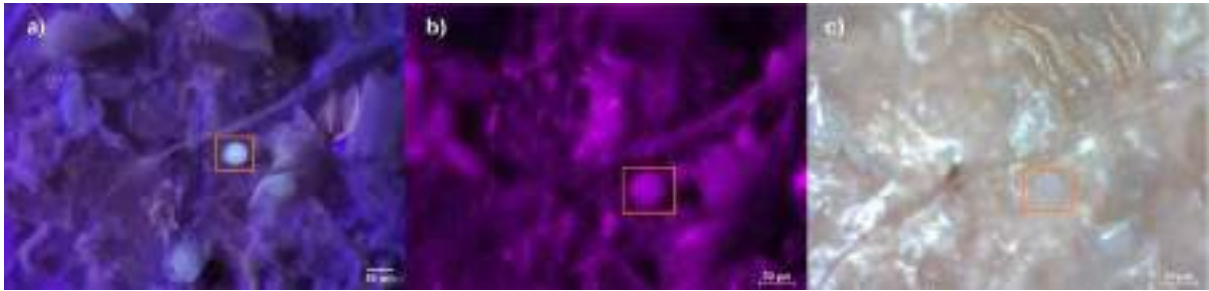


Figura 5.12: Possível pellet branco transparente da amostra XE-03-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

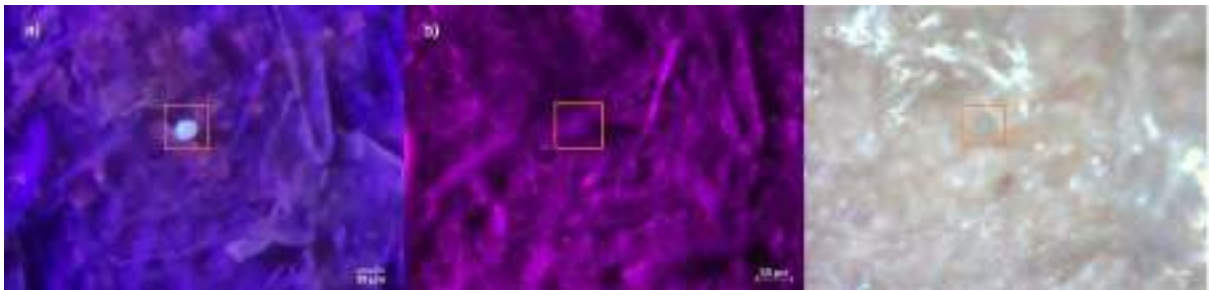


Figura 5.13: Possível pellet branco da amostra XE-03-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

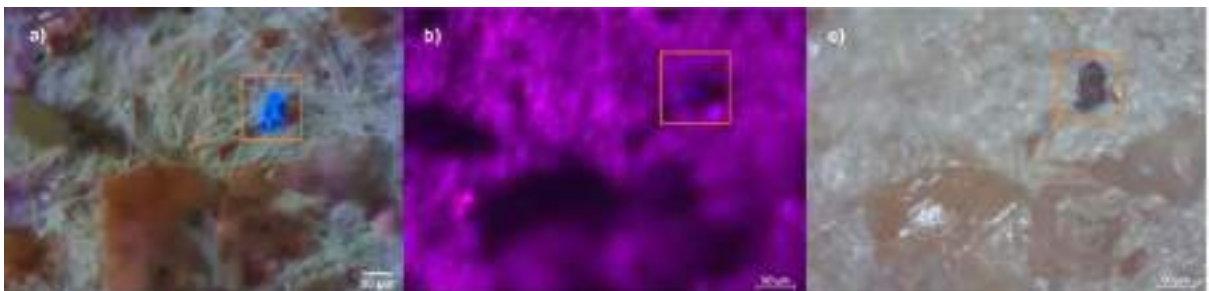


Figura 5.14: Possível fragmento azul da amostra XE-07-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

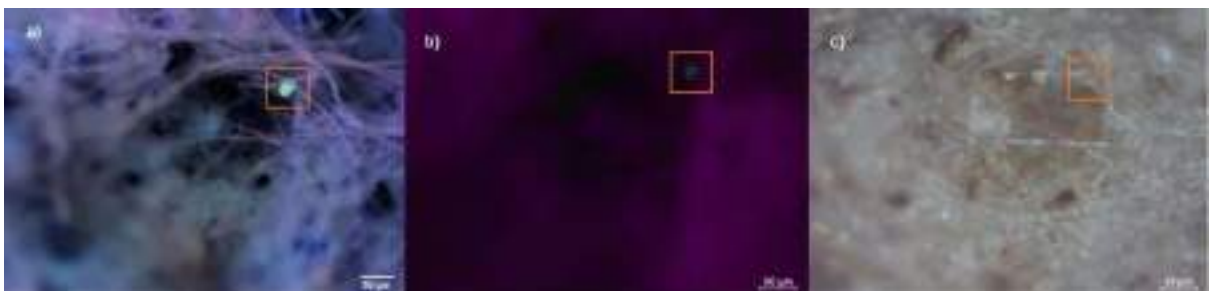


Figura 5.15: Possível fragmento verde da amostra CO-01-EST, onde: a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

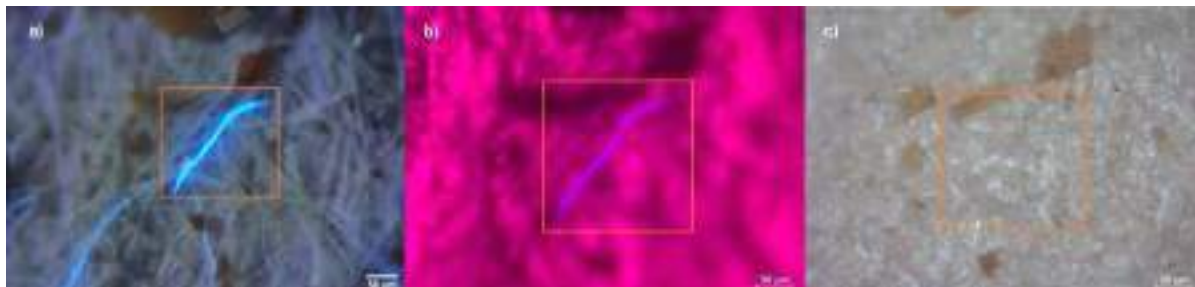


Figura 5.16: Possível filamento azul da amostra XE-06-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 55000K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.



Figura 5.17: Possível filamento verde da amostra CO-01-BRA, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

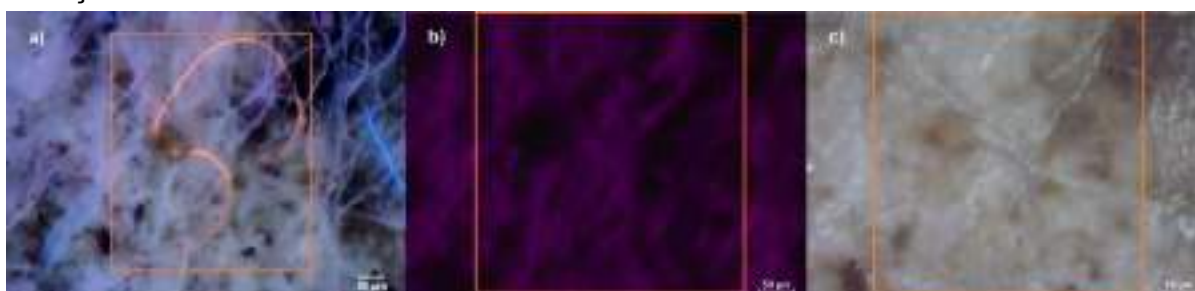


Figura 5.18: Possível filamento laranja da amostra CO-01-EsC, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

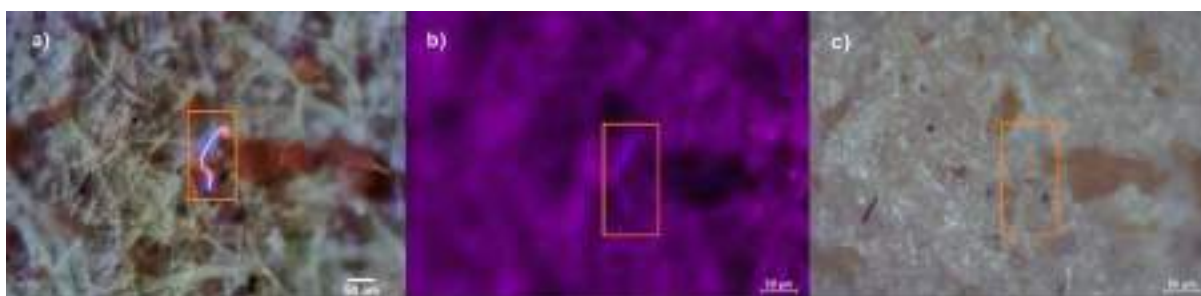


Figura 5.19: Possível filamento azul e laranja da amostra XE-10-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco em 32000 K e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

Como pode ser observado nas figuras acima, as imagens obtidas através das lentes do microscópio apresentam uma fluorescência e nitidez superior às imagens obtidas através da Axiocam ERc 5s. Este acontecimento se dá ao fato de tanto o microscópio utilizado, quanto a câmera acoplada no mesmo, não serem produzidos inicialmente para a análise por fluorescência e radiação UV. Dessa maneira, tornou-se necessário a adaptação do sistema através de um adaptador de fluorescência para estereomicroscópio. Assim, a radiação UV proveniente do adaptador, incide no filtro com uma direção não perpendicular à sua superfície, de maneira que grande parte da radiação refletida pela amostra não retorna à lente e à câmera acoplada. Esta inclinação da fonte não interfere na observação ocular através das lentes, porém a redução na informação que é recebida pela câmera, gera uma perda relevante de nitidez na imagem gerada pela mesma.

Ao longo da análise por microscópio foi possível observar a existência de partículas com características típicas dos microplásticos, como bordas bem definidas, forma tridimensional e até colorações marcantes, porém que não apresentaram fluorescência. Devido à falta de fluorescência, estas partículas foram descartadas de acordo com os critérios de contagem por Vermelho de Nilo (Figura 5.20). Dessa forma, partículas desse tipo, só poderão ser contabilizadas quando, futuramente, for finalizada a análise por infravermelho, e as partículas tiverem seus polímeros definidos. Shim et al. (2016), identificou a ineficiência de tingimento do VN em microplásticos mais densos, como microfibras de Polietersulfona (PES) e Poliamida (PA), que possuem uma maior cristalinidade, apresentando leve ou nenhuma fluorescência com o VN.

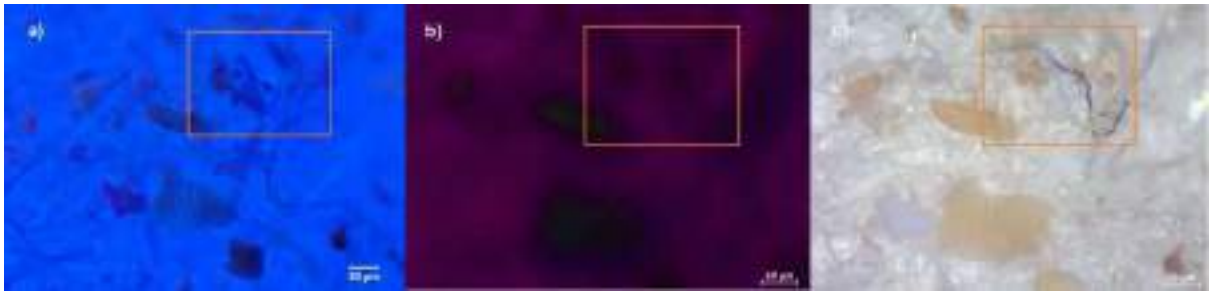


Figura 5.20: Possível filamento que não floresceu encontrado na amostra CO-08-MUS, a) equivale à imagem capturada através das lentes oculares do microscópio com fonte de radiação UV; b) é a imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco no automático e fonte de radiação UV; c) é uma imagem capturada através da câmera do microscópio, com balanço de branco automático e com fonte de luz branca.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa dissertação possui o objetivo de avaliar e utilizar a técnica de microscopia óptica junto ao tingimento por Vermelho de Nilo, e a microespectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, para investigar a contaminação por microplástico em dois pescados da Baía de Guanabara. Os exemplares de ambas as espécies apresentaram massas e comprimentos com distribuição normal, onde todos estavam próximos de atingir, ou haviam acabado de atingir, a maturidade.

Através da análise de diferentes órgãos e tecidos das duas espécies de peixe estudadas, foi possível observar uma maior ocorrência de microplásticos nos Xereletes (*Caranx crysos*). Os exemplares desta espécie apresentaram uma grande concentração de partículas microplásticas no seu estômago e conteúdo estomacal, com uma média de 22,5 partículas por exemplar (0-104). Os pellets representam a maioria das partículas encontradas no estômago, se restringindo quase que unicamente a este órgão, ao contrário dos fragmentos, que aparentam possuir maior facilidade para se espalharem entre os órgãos estudados. Este acúmulo no estômago pode causar diversos problemas de saúde para esta espécie, como inflamação, problemas de crescimento, bloqueio intestinal e ineficiência de ingestão. Além do estômago, foram encontradas partículas de microplástico também nas brânquias, no músculo e no fígado, com, respectivamente, uma média de 10,3 (0-91), 8,2 (0-54) e 2,1 (0-17) partículas por exemplar. A presença destas partículas nestes órgãos pode levar a diversos problemas para a saúde do peixe, como a inflamação dos órgãos e dano oxidativo.

Já nas Corvinas (*Micropogonias furnieri*) foi observado uma menor concentração de microplásticos, que estavam presentes em todos os órgãos em baixa concentração. O órgão onde foram encontrados menos microplásticos nesta espécie foi a brânquia, com uma média de 0,8 (0-8) MPs, enquanto o órgão com maior concentração foi a gônada, com média de 3,6 (0-12) MPs. Porém a diferença de concentração de microplásticos nos órgãos da Corvina não foi significativa, onde foi encontrada uma média de 3,3 (0-17) MPs nos fígados, 2,7 (0-12) nos músculos e 1,3 (0-8) nos estômagos com o conteúdo estomacal. Apesar das quantidades de microplásticos serem menores do que no Xerelete, a Corvina ainda pode sofrer com as consequências destes microplásticos no seu organismo. No entanto, ainda são escassos os trabalhos que identifiquem uma relação entre a quantidade de microplásticos presentes nos órgãos de um ser vivo, e os danos causados por estes.

A maior concentração de microplásticos nos Xereletes pode ser explicada pela alta disponibilidade de microplásticos na coluna d'água, que podem ser facilmente confundidos com organismos menores, como zooplânctons, e ingeridos por espécies pelágicas como o Xerelete. Esta hipótese também é levantada quando observamos a coloração mais presente dentre os microplásticos encontrados, uma vez que microplásticos de cor branca, transparente ou âmbar também podem ser facilmente confundidos com zooplânctons, como os copépodes.

A conclusão da análise da composição química dos microplásticos será realizada posteriormente à entrega desta dissertação. Uma vez que diversos empecilhos, como as medidas de restrição, por conta da pandemia causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, no segundo semestre de 2021 e o atraso na entrega do equipamento LUMUS II, impossibilitaram a sua realização no prazo desta dissertação. No entanto, apesar de parcial, os resultados da análise química por microscopia de infravermelho por transformada de Fourier apontam para uma forte presença de polietileno dentre os microplásticos ingeridos pelo Xerelete na Baía de Guanabara. Este polímero é amplamente utilizado pela sociedade, estando presente em diversos objetos domésticos e de atividade aquática, como pesca ou esporte e pode representar um risco à saúde quando dentro de um organismo.

As análises iniciais no LUMUS II também apontam para a necessidade de substituição do filtro utilizado para estudos futuros. O filtro de celulose utilizado possui um poro muito grande para a dimensão dos microplásticos encontrados, permitindo a transposição das fibras do filtro com a amostra. Desta maneira, o ideal é trabalhar com filtros de poros menores, próximos de 1 μm , apesar da redução do poro implicar numa maior demora no processo de preparo da amostra, devido à maior probabilidade de saturação do filtro durante a filtragem das amostras.

A caracterização química dos polímeros é essencial para garantir a qualidade dos dados obtidos em uma pesquisa a respeito de microplásticos encontrados no meio ambiente. Porém, esta é uma técnica cara, e de difícil acesso para partículas pequenas ($< 1\text{ mm}$). Neste sentido, a utilização de recursos auxiliares, para reduzir o erro de identificação de microplásticos são bem-vindas, para que países com menos recursos possam contribuir para o conhecimento a respeito deste poluente no mundo. Técnicas como a análise por microscopia óptica auxiliada pelo Vermelho de Nilo são baratas e de fácil acesso, podendo ser inclusive adaptadas para microscópios que não possuam a fluorescência de fábrica. Porém, tais adaptações impõem algumas dificuldades, como o aumento no tempo de análise, e a perda da qualidade de imagem.

A pesquisa a respeito dos microplásticos apresenta diversos desafios globais, que vão além do acesso a equipamentos de ponta. A falta de padronização nos protocolos de coleta, preparo e análise ocasionam na dificuldade, e muitas vezes, impossibilidade de comparação entre os resultados globais. Assim, apesar das pequenas contribuições locais que cada grupo de pesquisa gera, atualmente é impossível de obter-se uma compreensão global do problema do microplástico nos oceanos. Outro ponto relevante quando se discute a qualidade de trabalhos com microplástico é os cuidados tomados com relação à contaminação da amostra, uma vez que o microplástico está presente em todos os ambientes, e pode ser facilmente inserido na amostra. Assim, também é necessário a criação de protocolos padronizados de cuidado com a contaminação de amostras de microplástico em campo e em laboratório. Além dos protocolos, é necessário o investimento da comunidade científica em novas tecnologias, baratas, que aumentem a segurança com relação à esterilização de microplásticos do ambiente de trabalho. Desta maneira, partículas plásticas como o filamento, que representa uma fonte comum de

contaminação por ar em laboratórios ao mesmo tempo em que é a forma de MP mais presente na natureza (Kane et al., 2019), não precisarão mais ser desconsideradas das análises finais, uma vez que são extremamente relevantes no entendimento deste poluente.

A ocorrência de microplásticos em órgãos como músculo, fígado e gônadas é uma preocupação para a saúde humana, uma vez que estes podem funcionar como uma via de entrada destes MPs no nosso organismo. Da mesma maneira, os microplásticos também atuam como vetores de transporte de toxinas de um ambiente ao outro. Assim, os microplásticos podem causar diversas consequências para o organismo humano, ainda pouco compreendidas. Além dos problemas para a saúde humana e para a saúde do peixe, o microplástico presente na Baía de Guanabara pode causar dificuldades para a economia local, uma vez que o mesmo pode ocasionar na redução de fertilidade e impactar no crescimento das espécies de peixe que os ingerirem. Assim, diversas famílias que dependem da pesca familiar na região da Baía de Guanabara, podem ter a sua fonte de renda reduzida.

8. REFERÊNCIAS

ABBASI, S. et al. Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf, Chemosphere, 2018. [10.1016/j.chemosphere.2018.04.076](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.076)

ABBASI, S. et al. Distribution and potential health impacts of microplastics and microrubbers in air and street dusts from Asaluyeh County, Iran. Environmental Pollution, v. 244, p. 153-164, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.039>

AMADOR, E. S. Bacia da Baía de Guanabara: características geoambientais, formação e ecossistemas. Interciência, Rio de Janeiro, p. 432, 2012.

AMELIA, T. S. et al. Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. Progress in Earth and Planetary Science, v. 8, n. 12, 2021. <https://doi.org/10.1186/s40645-020-00405-4>

ANDERSON, T. W. e DARLING, D. A. A test of goodness of fit. Journal of American Statistical Association, v. 49, p. 765-769, 1954.

ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. Marine Pollution Bulletin, v. 62, p. 1596–1605, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>

ANJOS, R. M., Amaral, S. S. G., Muniz, M. C., Cardoso, R. P., Bernardo, T. A. S., Guerrieri A. e Lage, L. L. Using infrared spectroscopy analysis of plastic debris to introduce concepts of interaction of electromagnetic radiation with matter. Phys. Educ., v. 55, 025014, 2020. <https://doi.org/10.1088/1361-6552/ab630>

ARFKEN, G. B.; WEBER, H. J. Física matemática: métodos matemáticos para engenharia e física. [S.l.]: Elsevier Editora Ltda., cap. 14, 2007.

ARTHUR, C., Baker, J. & Bamford, H. Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects and fate of microplastics marine debris. Sept 9-11, 2008, NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R30. 2009

ATUGODA, T. et al. Fate and Behavior of Microplastics in Freshwater Systems. Em: T. Rocha-Santos et al. (eds.), Handbook of Microplastics in the Environment, p. 781-812, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39041-9_42

AVIO, C. G., Gorbi, S. e Regoli, F. Plastics and microplastics in the oceans: from emerging pollutants to emerged threat. Mar Environ Res, v. 128, p. 2–11, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.05.012>

BADGER, R. M. A relation between internuclear distances and bond force constants. *Journal of chemical physics*, v. 2, p. 128–131, 1934. <https://doi.org/10.1063/1.1749433>

BAPTISTA NETO, J.A., Gingele, F.X., Leipe, T., Brehme, I., 2006. Spatial distribution of trace elements in surficial sediments from Guanabara Bay e Rio de Janeiro/Brazil. *Environmental Geol.*, v. 49, p. 1051-1063. <https://doi.org/DOI.10.1007/s00254-005-0149-1>

BARBOZA, L. G. A., et al. Microplastics increase mercury bioconcentration in gills and bioaccumulation in the liver, and cause oxidative stress and damage in *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Scientific Reports*, v. 8, 15655, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34125-z>

BARLETTA, M., Lima, A. R. A., & Costa, M. F. Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries. *The Science of the Total Environment*, 651, 1199-1218, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.276>

BATEL, A., et al. Transfer of benzo a pyrene from microplastics to *Artemia nauplii* and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. *Environ Toxicol Chem*, v. 35, p. 1656–1666, 2016. <https://doi.org/10.1002/etc.3361>

BENJAMINI, Yoav, and Henry Braun. “John W. Tukey’s Contributions to Multiple Comparisons.” *The Annals of Statistics*, v. 30, n. 6, p. 1576–94, 2002.

BERGAMASCHI, B. A. et al. The effect of grain size and surface area on organic matter, lignin and carbohydrate concentration, and molecular compositions in Peru Margin sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 61, p. 1247–1260, 1997 [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(96\)00394-8](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(96)00394-8)

BESSA, F., et al. Microplastics in gentoo penguins from the Antarctic region. *Scientific Reports*, v. 9, n. 14191, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50621-2>

BIRNSTEL, S., Soares-Gomes, A., & Gama, B. A. P. Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 140, 241-247, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.044>

BOERGER, C. M. et al. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, v. 60, n. 12, p. 2275-2278, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.007>

BRENNECKE, D., et al. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar Coast Shelf Sci*, v. 178, p. 189–195, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>

BROOKSON, C. B., et al. Microplastics in the diet of nestling double crested cormorants (*Phalacrocorax auritus*), an obligate piscivore in a freshwater ecosystem. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 76, p. 2156–2163, 2019. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2018-0388>

BROWNE, M. A., et al. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science Technology*, v. 42, p. 5026–5031, 2008. <https://doi.org/10.1021/es800249a>

CAMARGO, J. M. R; Guerra, J. V. e Patchineelam, S. M. Variações das Forçantes Hidrodinâmicas Junto a um Campo de Dunas Subaquáticas na Baía da Guanabara – RJ. *Atlântica (Rio Grande)*, 26(1), 05–15, 2004. <https://doi.org/10.5088/atlantica.v26i1.2228>

CARBERY, M., O'Connor, W. e Palanisami, T. Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environmental International*, v. 115, p. 400–409, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.007>

CARDOSO, R. P. Análises isotópica específica e de infravermelho no fortalecimento de estratégias de conservação da bacia de Guapi-Macacu. 85 p. Tese (Doutorado) — Física, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

CARPENTER, E.J.et al. Polystyrene Spherules in Coastal Waters. *Science*, v. 178, p. 749-750, 1972. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.749>

CARUSO, G. Microplastics as vectors of contaminants. *Mar Pollut Bull*, v. 146, p. 921–924, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.052>

CASTRO, R. O. et al. Evaluation of microplastics in Jurujuba Cove, Niterói, RJ, Brazil, an area of mussels farming. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 110, p. 555–558, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.037>

CELGOLE, M. C., Ávila-da-Silva, A. O. e Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B. Análise das principais pescarias comerciais da região Sudeste-Sul do Brasil : dinâmica populacional das espécies em exploração. São Paulo: Instituto Oceanográfico - USP, 2005.

CHAKRABORTY P., Sarkar, A., Vudamala, K., Naik, R. e Nath, B. N. Organic matter – a key factor in controlling mercury distribution in estuarine sediment. *Marine Chemistry*, v. 173, p. 302–309, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.10.005>

CHOY, C. A. et al. (2019) The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Scientific Reports*, v. 9, n. 7843. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44117-2>

COIMBRA, J. P. P. Atlas da região hidrográfica V: Baía de Guanabara e sistemas lagunares de Maricá e Jacarepaguá (1. ed.). Resende: AGEVAP. 2021

COLE, M. et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p. 2588–2597, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

COLE, M. et al. Microplastic ingestion by zooplankton. *Environmental Science and Technology*, v. 47, n. 12, p. 6646–6655, 2013. <https://doi.org/10.1021/es400663f>

CORCORAN P. L., Biesinger M. C., Grifi, M. Plastics and beaches: a degrading relationship. *Marine Pollution Bulletin*, v.58, n. 1, p. 80–84, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.022>

CÓZAR, A., et al. Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, p. 10239, LP–10244, 2014. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314705111>

D'AGOSTINO, R. e. Pearson, E. S. “Tests for Departure from Normality. Empirical Results for the Distributions of b_2 and $\sqrt{b_1}$.” *Biometrika*, vol. 60, no. 3, p. 613–22, 1973. <https://doi.org/10.2307/2335012>

DARLING, D. A. “The Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises Tests.” *The Annals of Mathematical Statistics*, v. 28, n. 4, p. 823–38, 1957.

DELVALLE, D., Fabrega, J., Olmos, J., Garces-Ordoñez, O., Amaral, S., Vezzzone, M., Felizardo, J. e Anjos, R. Distribution of plastic debris in the Pacific and Caribbean beaches of Panama. *Air Soil. Water Res.*, v. 13, 1e8, 2020. <https://doi.org/10.1177/1178622120920268>.

DEHGHANI, S.; Moore, F.; Akhbarizadeh, R. Microplastic pollution in deposited urban dust, Tehran metropolis, Iran. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v. 24, p. 20360-20371, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9674-1>

DEKIFF, J. H. et al. Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environmental Pollution*, v. 186, p. 248–256, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.11.019>

DO AMARAL, S. S. G. Caracterização de Microplásticos nas Praias de Jurujuba e Camboinhas. Monografia de final de curso, IF-UFF, Niterói, RJ, 2021.

DRUMMOND, G. B. e Tom, B. D. Statistics, probability, significance, likelihood: words mean what we define them to mean. *J Physiol.*, v. 15; p. 589, 2011.

ECLAC, Economic Commission for Latin America and the Caribbean. Regional Agreement on access to information, public participation and justice in environmental matters in Latin America and the Caribbean. 2018 <https://www.cepal.org/en/escazuagreement>.

ERNI-CASSOLA, G., Zadjelovic, V., Gibson, M. I. e Christie-Oleza, J. A. Distribution of plastic polymer types in the marine environment; a meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, v. 369, p. 691–698, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>

Federal Geographic Data Committee (FGDC) (2012) FGDCSTD-018-2012. Coastal and marine ecological classification standard. Reston

FERNANDES, A. N. et al. Microplastics in Latin America Ecosystems: A Critical Review of the Current Stage and Research Needs. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 33, p. 303-326, 2022. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220018>

FIGUEIREDO, G. M., Vianna, T .M. P. Suspended microplastics in a highly polluted bay: abundance, size, and availability for mesozooplankton. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 135, p. 256–265, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.020>.

FISHBASE. Disponível em: <<https://www.fishbase.se/search.php>>. Acessado em: junho de 2023.

FISTAROL, G. O., et. al. Environmental and sanitary conditions of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, 1-17, 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01232>

FOEKEMA, E. M., et al. Plastic in North Sea Fish. *Environmental Science & Technology*, v. 47, p. 8818–8824, 2013. [dx.doi.org/10.1021/es400931b](https://doi.org/10.1021/es400931b)

FRIES, E. et al. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environmental Science-Processes & Impacts*, v. 15, n. 10, p.1949–1956, 2013. <https://doi.org/10.1039/C3EM00214D>

FRIES, A. S. et al.. Guanabara Bay ecosystem health report card: science, management, and governance implications. Reg. Stud. Mar. Sci., v. 25, 100474, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2018.100474>.

GALGANI, F., et al. Marine strategy framework directive, task group 10 report: Marine litter. In N. Zampoukas (Ed.), JRC scientific and technical reports. Ispra: European Commission Joint Research Centre. 2010

GARCÉS-ORDÓÑEZ, O. et al. Plastic litter pollution along sandy beaches in the Caribbean and Pacific coast of Colombia. Environ Pollut, v. 267, 115495, 2020a. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115495>

GARCÉS-ORDÓÑEZ, O. et al. The impact of tourism on marine litter pollution on Santa Marta beaches, Colombian Caribbean. Mar Pollut Bull, v. 160, 111558, 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111558>

HARRISON, J. P., Ojeda, J. J. e Romero-Gonzalez, M. E. The applicability of reflectance micro-Fourier-transform infrared spectroscopy fot the detection of synthetic microplastics in marine sediments. Science of the Total Environment, v. 416, p. 455-463, 2012. [10.1016/j.scitotenv.2011.11.078](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.078)

HIDALGO-RUZ, V. et al. Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. Environmental Science & Technology, v. 46, n. 6, p. 3060–3075, 2012. <https://doi.org/10.1021/es2031505>

HOSSAIN, M. S. et al. Microplastics in fishes from the Northern Bay of Bengal. Science of The Total Environment, v. 690, p. 821-830, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.065>

HWANG, J., et al. Potential toxicity of polystyrene microplastic particles. Scientific Reports, v. 10, 7391, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64464-9>

IVAR DO SUL, J. A. et al. Pelagic microplastics around an archipelago of the Equatorial Atlantic. Mar. Pollut. Bull., v. 75, p. 305–309, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.040>

JABEEN K., et al. Effects of virgin microplastics on goldfish (Carassius auratus). Chemosphere, v. 213, p. 323–332, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.031>

JUNG, e. a. M. R. Validation of atr ft-ir to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms. Marine Pollution Bulletin, v. 127, p.

704–716, 2018. [10.1016/j.marpolbul.2017.12.061](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.061)

KANE, I. A. e Clare, M. A. Dispersion, accumulation, and the ultimate fate of microplastics in deep-marine environments: a review and future directions. *Front Earth Sci* 7, 2019. <https://doi.org/10.3389/feart.2019.00080>

KANE, I. A., et al. Seafloor microplastic hotspots controlled by deep-sea circulation. *Science*, v. 7, n. 80, p. 1140–1145, 2020. <https://doi.org/10.1126/science.aba5899>

KANG, H., et al. Modification of a Nile Red Staining Method for Microplastics Analysis: A Nile Red Plate Method. *Water*, v. 12, n.11, p. 3251, 2020. <https://doi.org/10.3390/w12113251>

KARAMI, A., et al. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment*, v. 578, p. 485–494, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.213>

KCI Technologies. (2015). Diagnóstico do estado da Baía de Guanabara: Programa de Fortalecimento da Governança e da Gestão da Baía de Guanabara. Rio de Janeiro: Secretaria do Estado do Ambiente.

KHAN, F. R., Boyle, D., Chang, E. e Bury, N. R. Do PE microplastic beads alter the intestinal uptake of Ag in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*? Analysis of the microplastics vector effect using in vitro gut sacs. *Environ Pollut*, v. 231, p. 200–206, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.019>

KIM. D., Chae, Y. e An, Y. J. Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol*, v. 51, p. 12852–12858, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03732>

KJERFVE, B; Ribeiro, C. H. A; Dias, G. T. M; Filippo, A. M. e Quaresma, V. S. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía da Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. *Cont. Shelf. Res.*, 17(13): 1609-1643. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0278-4343\(97\)00028-9](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(97)00028-9)

LEBRETON, L. C. M. et al. River plastic emissions to the world's oceans. *Nat. Commun.*, v. 8, 15611, 2017. <https://doi.org/10.1038/ncomms15611>

LÉVÊQUE, C., Paugy, D. e Teugels, G. G. Faune des poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest, Tome 2. Coll. Faune et Flore tropicales n° XXVIII. Musée Royal de l'Afrique Centrale. l'orstom, Paris, França , p. 679, 1992.

LIAO Y, Yang J. Microplastic serves as a potential vector for Cr in an in-vitro human digestive model. *Science of The Total Environment*, v. 703, 134805, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134805>

LIU, C. et al. Widespread distribution of PET and PC microplastics in dust in urban China and their estimated human exposure. *Environmental International*, v. 128, p. 116-124, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.024>

LÖDER, M. G. J. e Gerdt, G. Methodology Used for the Detection and Identification of Microplastics - A Critical Appraisal. Em: M. Bergmann et al. *Marine Anthropogenic Litter*, 2015. [10.1007/978-3-319-16510-3_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_8)

LU Y., et al. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environmental Science Technology*, v. 50, p. 4054–4060, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00183>

MAES, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A.G. 2017. A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7:1–10, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep44501>

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Pescado: Manual de procedimentos de inspeção e fiscalização de pescado e derivados em estabelecimentos sob inspeção federal (SIF)*, 2022.

MA Y, et al. Effects of nanoplastics and microplastics on toxicity, bioaccumulation, and environmental fate of phenanthrene in fresh water. *Environ Pollut*, v. 219, p. 166–173, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.061>

MENEZES, N. A. e Figueiredo, J. L. *Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil V teleostei (4)*. São Paulo: Museu de Zoologia USP, p. 42, 1985.

MONTAGNER, C. C. et. al. Microplásticos: ocorrência ambiental e desafios analíticos. *Química Nova*, Vol. 44, No. 10, 1328-1352, 2021. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170791>

MORÉT-FERGUSON, S., Law, K. L., Proskurowski, G., Murphy, E. K., Peacock, E. E. e Reddy, C. M. The size, mass, and composition of plastic debris in the western North Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, v. 60, n. 10, p.1873–1878, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.020>

MUNNO, K. et. al. Impacts of Temperature and Selected Chemical Digestion Methods on Microplastic Particles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 37, n. 1, p. 91–98, 2018. <https://doi.org/10.1002/etc.3935>

NEVES, D., Sobral, P., Ferreira, J. L e Pereira T. Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 101, p. 119–126, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.008>

NORÉN, F. Small plastic particles in coastal Swedish waters. Lysekil, Sweden: KIMO Sweden, N-Research, 2007.

ORONA-NÁVAR, C. et al. Microplastics in Latin America and the Caribbean: A review on current status and perspectives. *Journal of Environmental Management* 309, 114698, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114698>

OLIVATTO, G. P., Martins, M. C. T., Montagner, C. C., Henry, T. B., & Carreira, R. S. Microplastic contamination in surface waters in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 139, 157-162, 2019.

OMENN, G. S. et al. Contribution of environmental fibers to respiratory cancer. *Environ Health Perspect*, v. 70, p. 51–56, 1986. <https://doi.org/10.1289/ehp.867051>

PARK, T. J., et al. Occurrence of microplastics in the Han River and riverine fish in South Korea. *Science of The Total Environment*, v. 708, p. 134535, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134535>

PAULY, J. L., et al. Inhaled cellulosic and plastic fibers found in human lung tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 7, n. 5, p. 419-428, 1998.

PLASTICSEUROPE, E.P.R.O. Plastics - the Facts 2019. An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data, 2019.

PELAMATTI, T., Cardelli, L. R. e Rios-Mendoza, L. The Role of Microplastics in Bioaccumulation of Pollutants. p. 667-696. Em: M. T. Rocha-Santos et al. (eds.), *Handbook of Microplastics in the Environment*. 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39041-9_18

POHL, F., et al. Transport and burial of microplastics in deepmarine sediments by turbidity currents. *Environmental Science & Technology*, v. 54, p. 4180–4189, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07527>

PORTER, D. W., et al. Acute inflammatory reaction in rats after intratracheal instillation of material collected from a nylon flocking plant. *J Toxicol Environ Health, Part A*, v. 57, p. 25–45, 1999. <https://doi.org/10.1080/009841099157845>

PRATA, J. C., et al. Influence of microplastics on the toxicity of the pharmaceuticals procainamide and doxycycline on the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Aquat Toxicol*, v. 197, p. 143–152, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.015>

PRATA, J. C. et. al. Preparation of biological samples for microplastic identification by Nile Red. *Science of the Total Environment*, v. 783, 147065, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147065>.

PRISM. Software GraphPad Prism 10, 2023. Disponível em: <<https://www.graphpad.com/features>> Acessado em: de outubro de 2023.

QIAO, R., Lu, K., Deng, Y., Ren, H. e Zhang, Y. Combined effects of polystyrene microplastics and natural organic matter on the accumulation and toxicity of copper in zebrafish. *Sci Total Environ*, v. 682, p. 128–137, 2019. <https://doi.org/DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.05.163>

QU, H., et al. Effects of microplastics on the uptake, distribution and biotransformation of chiral antidepressant venlafaxine in aquatic ecosystem. *J Hazard Mater*, v. 359, p. 104–112, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.016>

RANGEL, C. M. A., e Oliveira, P. S. Bacia de drenagem da Baía de Guanabara. In FONSECA, E. M., Baptista Neto, J. A., e Pompermayer, F. C. L. (Ed.), *Baía de Guanabara: um ambiente em transformação*. 1. ed., Vol. 1, pp. 121-146. Rio de Janeiro: Ape'Ku Editora. 2021

REDONDO-HASSELERHARM, P. E., Falahudin, D., Peeters, E. T. H. M. e Koelmans, A. A. Microplastic effect thresholds for freshwater benthic macroinvertebrates. *Environmental Science Technology*, v. 52, p. 2278–2286, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05367>

REISSER J, et al. Marine plastic pollution in waters around Australia: characteristics, concentrations, and pathways. *PLOS One*, v. 8, p. 1–11, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080466>.

ROCHA-SANTOS, T. A. P. e Duarte, A. C. Characterization and analysis of microplastics *Comprehensive Analytical Chemistry*, v. 75 (Cambridge, MA: Elsevier), 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.004>

ROCHA-SANTOS, T. et al. *Handbook of Microplastics in the Environment*. Springer Cham, ISBN 978-3-030-39040-2, 2022. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-39041-9>

SANTOS, A. D. O; et al. Evaluation of the presence of Bisphenol A and microplastics in the bottom sediments of Guanabara Bay. In *Proceedings of 6th International Conference on Sustainable Solid Waste Management*. Atenas: National Technical University of Athens. (2018)

SHAPIRO, S. S. e WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, v. 52, p. 591-611, 1965.

SHIM, W. J. et. al. Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 113, p. 469-476, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.049>

SHRUTI, V. C. et. al. Analyzing microplastics with Nile Red: Emerging trends, challenges, and prospects. *Journal of Hazardous Materials*, v. 423, part B, 27171, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127171>

SILVIA, C. O. et al. A degradação ambiental causada pelo descarte inadequado das embalagens plásticas: estudo de caso. *REGET/UFSC*, v. 13, n. 13, p. 2683–2689, 2013.

SILVA, M. M; et. al. Dispersal of potentially pathogenic bacteria by plastic debris in Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 141(March), 561-568, 2019.

SILVA, V. C. C., Andrade, R. C., Vernin, N. S., & Torres Netto, A. Estudo das fontes de poluição por microplásticos recorrentes na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. *Revista de Gestão de Água da América Latina*, 20, e5, 2023. <https://doi.org/10.21168/rega.v20e5>

SNELGROVE, P. V. E. Marine Sediments. *Encyclopedia of Biodiversity* (Second Edition), SA Levin, Academic Press, p. 105-115, ISBN 9780123847201, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00008-3>

SOBRAL, P., Frias, J. e Martins, J. Microplásticos nos oceanos – um problema sem fim à vista. *Ecologi@*, v. 3, p. 12–21, 2011.

SODERBERG, T. Organic Chemistry with a Biological Emphasis. [S.l.]: University of Minnesota, 2016. v. 1, p. 213.

STRAFELLA, P., Correa, M. L., Pyko, I., Teichert, S. e Gomiero, A. Distribution of Microplastics in the Marine Environment. p. 813-847. Em: M. T. Rocha-Santos et al. (eds.), *Handbook of Microplastics in the Environment*. 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39041-9_43

SYBERG, K., et al. Microplastic potentiates triclosan toxicity to the marine copepod *Acartia tonsa* (Dana). *J Toxicol Environ Health*, v. 80, p. 1369–1371, 2017. <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1385046>

TIRKEY, A. e Upadhyay, L. S. B. Microplastics: An overview on separation, identification and characterization of microplastics. *Marine Pollution Bulletin*, v. 170, 112604, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112604>

TODD, G., Wohlers, D. e Citra, M. Agency for toxic substances and disease registry. Atlanta, GA, 2003.

UNEP, United Nations Environment Programme. NEGLECTED: Environmental Justice Impacts of Marine Litter and Plastic, 2021. <http://www.unep.org/resources/report/neglected-environmental-justice-impacts-marine-litter-and-plastic-pollution>.

VAN CAUWENBERGHE L., Devriese, L., Galgani, F., Robbens, J. e Janssen, C. R. Microplastics in sediments: a review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research*, v. 111, p. 5–17, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>

VAN DER VEGT, A. K. From polymers to plastics. VSSD, Noruega, 2006. ISBN: 978-90-71301-62-9.

VAN FRANKER, J. A., et al. Monitoring plastic ingestion by the northern fulmar *Fulmarus glacialis* in the North Sea. *Environmental Pollution*, v. 159, p. 2609–2615, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.06.008>

VASCONCELOS, Y. Planeta plástico. Pesquisa FAPESP, 2019. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/planeta-plastico/>>. Acesso em: 28 de set. de 2023.

VERMEIREN, P. et. al. Microplastic identification and quantification from organic rich sediments: A validated laboratory protocol. *Environmental Pollution*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114298>

VIANELLO, A. et al. Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 130, p. 54–61, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.03.022>

WAGNER, M. e Lambert, S. Freshwater microplastics. Em: *The handbook of environmental chemistry*, vol 58. Springer International Publishing, Switzerland, p 302, 2018. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5>

WANG, W., et al. The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: a review. *Ecotoxicology Environmental Safety*, v. 173, p. 110–117, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.113>

WATTS, A. J. R., et al.. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. Environmental Science Technology 2014, v. 48, p. 8823-8830. <https://doi.org/10.1021/es501090e>

WEIS, J. S. Improving microplastic research. AIMS Environmental Science, v. 6, p. 326–340, 2019. <https://doi.org/10.3934/environsci.2019.5.326>

WRIGHT, S. L. e KELLY, F. J. Plastic and human health: a micro issue? Environmental Science Technology, v. 51, n. 12, p. 6634–664, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00423>

YU P., et al. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. Aquatic Toxicology, v. 200, p. 28–36, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.04.015>

ZHAO S., Zhu, L. e Li, D. Microscopic anthropogenic litter in terrestrial birds from Shanghai, China: not only plastics but also natural fibers. Science of The Total Environment, v. 550, p. 1110–1115, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.112>

ZHOU, X., et al. Microplastic pollution of bottled water in China. Journal of Water Process Engineering, v. 40, p. 101848, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101884>

ZHU, J., et al. Microplastic pollution in the Maowei Sea, a typical mariculture bay of China. Sci Total Environ, v. 658, p. 62–68, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.192>

ZETTLER, E. R., Mincer, T. J., Amaral-Zettler, L. A. Life in the “Plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. Environ Sci Technol, v. 47, p. 7137–7146, 2013. <https://doi.org/10.1021/es401288x>