



MARINHA DO BRASIL

INSTITUTO DE ESTUDOS DO MAR ALMIRANTE PAULO
MOREIRA UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA ASSOCIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA MARINHA

BÁRBARA BARROSO ISSA CARDOZO

**Caracterização da degradação de microplásticos em ecossistemas
marinhos fluminenses através de técnicas de isótopos estáveis,
infravermelho e microscopia eletrônica de varredura**

ARRAIAL DO CABO

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

C268c Cardozo, Bárbara Barroso Issa

Caracterização da degradação de microplásticos em ecossistemas marinhos fluminenses através de técnicas de isótopos estáveis, infravermelho e microscopia eletrônica da varredura / Bárbara Barroso Issa Cardozo.– Arraial do Cabo, 2024.

89 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Roberto Meigikos dos Anjos
Coorientador: João Paulo de Sá Felizardo

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e Universidade Federal Fluminense - IEAPM/UFF, Programa Associado de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha, Arraial do Cabo, 2024.

1. Microplásticos. 2. Índices de degradação. 3. Carbonila
I. Anjos, Roberto Meigikos dos. II. Felizardo, João Paulo de Sá. III. Título.

CDD:660.6

BÁRBARA BARROSO ISSA CARDOZO

Caracterização da degradação de microplásticos em ecossistemas marinhos fluminenses através de técnicas de isótopos estáveis, infravermelho e microscopia eletrônica de varredura

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e à Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Marinha.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Meigikos dos Anjos

Coorientador: Dr. João Paulo de Sá Felizardo

ARRAIAL DO CABO

2024

BÁRBARA BARROSO ISSA CARDOZO

Caracterização da degradação de microplásticos em ecossistemas marinhos fluminenses através de técnicas de isótopos estáveis, infravermelho e microscopia eletrônica de varredura

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e à Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Marinha.

COMISSÃO JULGADORA:



Dr. Roberto Meigikos dos Anjos

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira
Professor Orientador – Presidente da Banca Examinadora



Prof. Dr. Lohengrin Dias de Almeida Fernandes

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira



Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman

Universidade Federal de São Carlos



Dra. Fabiana Monteiro de Oliveira

Universidade Federal Fluminense

Arraial do Cabo, 08 de Agosto de 2024.

"La connaissance du réel est une lumière qui projette toujours quelque part des ombres."(Gaston Bachelard)

Agradecimentos

O primeiro agradecimento vai para as três pessoas que mais acreditaram no meu projeto de pesquisa, que me orientaram, mas sem tirar a minha liberdade e criatividade, o que eu acredito que seja essencial para a formação de uma pesquisadora. Ao meu orientador Roberto Meigikos do Anjos que desde 2019 me recebeu no laboratório, receptivo e animado com as minhas ideias e que sempre acreditou em mim. Um agradecimento especial para o Renan Cardoso, que apesar de hoje não fazer parte do LARA, foi meu coorientador de iniciação científica e me ajudou a desenhar esse projeto. Ao João Paulo Felizardo, meu coorientador, que pôs em prática tudo isso comigo, obrigada pelos ensinamentos em campo, nas análises e pelas incansáveis discussões.

Aos colaboradores deste trabalho, gostaria de agradecer à Marinha do Brasil e ao Projeto Grael que cederam suas estruturas para a realização dos experimentos em campo. Ao LAMAR pela parceria das análises com o MEV.

À Alana Guimarães e Lucas Muniz por terem me ajudado tanto com as análises, só nós sabemos como os pellets são escorregadios para colocar no FTIR.

Aos amigos que estavam presentes nesses dois anos compartilhando esta rotina que nem sempre é fácil de vida acadêmica. Agradeço ao Marcelo Muniz, Larissa Chao, Mariana Vezzone, Marianna Guimarães, Vitória Almeida, Mateus Martins, Antonio Bernardo, Yngrid Simen e Thamires Bernardo por serem um respiro de alegria, piadas e picolés de limão nos almoços todos os dias. Vocês fizeram tudo ser mais leve.

Às pessoas que me ajudaram para além dessa rotina acadêmica e que eu posso dizer que as amo. Enzo Cavallo, Karina Schroeder, Felipe Cardozo e Ana Rodarte, vocês foram uma incrível rede de apoio nesses últimos meses. Neste conjunto de pessoas também entram minha mãe, minha avó e meus irmãos, que sempre vibram de felicidade com as minhas conquistas.

À Alexandra Elbakyan por criar uma ferramenta tão essencial para a ciência e inspirar pessoas com suas ideias.

Resumo

Compreender o processo de degradação de microplásticos (MPs) - plásticos menores que 5 mm - é crucial para avaliar o impacto desses contaminantes emergentes em ambientes marinhos. Este estudo, em particular, avaliou a degradação de polietileno (PE), polipropileno (PP) e poliestireno (PS) microplásticos expostos tanto a condições ambientais *in situ* quanto a três cenários de laboratório. Os MPs foram submetidos à degradação por 112 dias na Ilha de Cabo Frio em Arraial do Cabo e por 140 dias na Baía de Guanabara em Niterói (ambos localizados no RJ) a uma profundidade de 1 a 1,5 m. Isso permitiu uma comparação entre ambientes com diferentes níveis de eutrofização. Em um ambiente controlado, os MPs foram expostos por 210 dias em experimentos de laboratório. Para avaliar a degradação dos MPs foram aplicadas as técnicas de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Análise Elementar de Isótopos Estáveis com Espectrometria de Massa de Razão Isotópica (EA-IRMS). Esses métodos permitiram calcular índices de degradação e comparar mudanças nas estruturas de ligação química. Índices de ligação carbonila foram calculados usando picos de interesse nos espectros FTIR, que indicaram mudanças nas estruturas de ligações químicas (especificamente grupos carbonila, 1509 - 1780 cm^{-1}). Além disso, um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) foi usado para avaliar mudanças morfológicas nos MPs. Os resultados de MEV indicaram um aumento na rugosidade da superfície dos polímeros, incluindo a aparência de sulcos. De acordo com análises de EA-IRMS, todas as amostras mostraram algum tipo de alteração dos valores isotópicos de carbono, com os $\delta^{13}C$ diferindo dos iniciais. Notavelmente, no ambiente mais poluído, houve um aumento na formação de biofilme, o desenvolvimento de aglomerados de MP e uma maior presença de grupos carbonila, segundo os resultados de FTIR, esses fatores favoreceram a alteração dos $\delta^{13}C$ para valores menos negativos. Em contraste, as mudanças nos índices de degradação em amostras expostas apenas à água ultrapura sugeriram que a hidrólise foi um fator mais significativo neste processo. Um resultado que foi possível correlacionando as técnicas de FTIR e EA-IRMS foi encontrar tendências para o PE e PP que relacionam o aumento do índice carbonila com o enriquecimento de ^{13}C .

Palavras-chave: Microplásticos, Índices de degradação, Carbonila, Hidrólise.

Abstract

Understanding the degradation process of microplastics (MPs) - plastics smaller than 5 mm - is crucial for assessing the impact of these emerging contaminants in marine environments. This study specifically evaluated the degradation of polyethylene (PE), polypropylene (PP), and polystyrene (PS) microplastics exposed to both *in situ* environmental conditions and three laboratory scenarios.

MPs were subjected to degradation for 112 days at Cabo Frio Island in Arraial do Cabo and for 140 days in Guanabara Bay in Niterói (both located in Rio de Janeiro, RJ) at a depth of 1 to 1.5 m. This allowed for a comparison between environments with different levels of eutrophication. In a controlled environment, MPs were exposed for 210 days in laboratory experiments.

To assess the degradation of MPs, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Elemental Analysis-Isotope Ratio Mass Spectrometry (EA-IRMS) techniques were applied. These methods allowed for the calculation of degradation indices and the comparison of changes in chemical bonding structures. Carbonyl bond indices were calculated using peaks of interest in the FTIR spectra, which indicated changes in chemical bonding structures (specifically carbonyl groups, 1509 - 1780 cm^{-1}). Additionally, a Scanning Electron Microscope (SEM) was used to evaluate morphological changes in the MPs.

SEM results indicated an increase in the surface roughness of the polymers, including the appearance of grooves. According to EA-IRMS analyses, all samples showed carbon isotopic fractionation, with $\delta^{13}C$ values differing from the initial ones. Notably, in the more polluted environment, there was an increase in biofilm formation, the development of MP clusters, and a higher presence of carbonyl groups, according to FTIR results. In contrast, changes in degradation indices in samples exposed only to ultrapure water suggested that hydrolysis was a more significant factor in this process. One result that was obtained by correlating FTIR and EA-IRMS techniques was identifying trends for PE and PP that relate the increase in the carbonyl index to the enrichment of ^{13}C .

Keywords: Microplastics, Degradation index, Carbonyl, Hydrolysis.

Lista de Figuras

| | | |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Unidade repetitiva ou mero dos polímeros mais produzidos mundialmente. | 16 |
| 2 | Representação da estrutura dos plásticos mais produzidos mundialmente. | 17 |
| 3 | Representação do ciclo de degradação autocatalítica para PE (R = H), PP (R = CH ₃) e PS (R = composto aromático), adaptado de (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015) | 20 |
| 4 | Principais componentes de um microscópio eletrônico de varredura (MOREIRA et al., 2023). | 26 |
| 5 | Funcionamento de um espectrômetro de infravermelho. Traduzido de (FAHELELBOM et al., 2022) | 27 |
| 6 | Espectros com os picos de identificação do PE, PP e PS. Traduzido e adaptado de (JUNG et al., 2018) | 28 |
| 7 | Funcionamento do espectrômetro de massas (CARDOSO, 2018) | 29 |
| 8 | Pote de incubação no experimento da baía de Guanabara após 28 dias de exposição ao ambiente. | 32 |
| 9 | Localização do experimento na Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo - Rio de Janeiro, Brasil com foto do experimento na plataforma flutuante da Marinha do Brasil. | 34 |
| 10 | Localização do experimento em Jurujuba, Niterói - Rio de Janeiro, Brasil com foto do experimento no píer do Projeto Grael. | 35 |
| 11 | Fluxograma detalhando o preparo das amostras após a coleta. | 37 |
| 12 | Fluxograma detalhando a ordem das análises que as amostras passaram, sendo N o número total de amostras por coleta. | 39 |
| 13 | Miscros Austria, modelo MZ1240 com câmera acoplada. Foto por Pedro Henrique Andrade | 40 |

| | | |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 14 | MIRS-FTIR mdodelo Tensor II da Bruker com o acessório ATR - Foto por Pedro Henrique Andrade | 41 |
| 15 | Cápsula de estanho na balança de precisão | 44 |
| 16 | Espectro de absorbância de um PE com 140 dias de exposição na baía de Guanabara. | 45 |
| 17 | Script utilizado no Quasar para integrar os espectros. | 46 |
| 18 | Massa de biofilme por unidade de MP observada para Baía de Guanabara (Figura A) e para Arraial do Cabo (Figura B). | 48 |
| 19 | Os três polímeros analisados, de cima para baixo: PP, PS e PE, fotografados em tempos diferentes de exposição em Arraial do Cabo. | 49 |
| 20 | Os três polímeros analisados, de cima para baixo: PP, PS e PE, fotografados em tempos diferentes de exposição na Baía de Guanabara | 49 |
| 21 | Evolução temporal de aglomerados de MPs no experimento da Baía de Guanabara. | 50 |
| 22 | Aglomerado de MPs de PS extraídos do experimento da Baía de Guanabara com 140 dias de exposição. | 51 |
| 23 | Imagem de microscopia eletrônica de varredura de: PE antes do experimento (A e B), PE coletado com 112 dias em Arraial do Cabo (C e D), PE coletado com 140 dias na Baía de Guanabara (E e F) e PE exposto ao tratamento de água ultrapura por 140 dias (G e H). | 52 |
| 24 | Índice de carbonila ao longo da exposição aos tratamentos. | 54 |
| 25 | Regressão linear do índice de carbonila para os experimentos in situ. | 56 |
| 26 | Regressão linear do índice de carbonila para os tratamentos em laboratório. | 57 |
| 27 | $\delta^{13}\text{C}$ ao longo da exposição aos tratamentos. | 58 |
| 28 | Regressão linear dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo da exposição aos tratamentos para os experimentos in situ. | 60 |
| 29 | Regressão linear dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo da exposição aos tratamentos para os experimentos em laboratório. | 61 |
| 30 | Correlação entre índice de carbonila e o $\delta^{13}\text{C}$ para o polietileno (PE) e para o polipropileno (PP). | 62 |

| | | |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 31 | Representação visual e principais fontes das novas formações plásticas descritas na literatura, adaptado e traduzido de (DE-LA-TORRE et al., 2021) | 65 |
| 32 | $\delta^{13}\text{C}$ do polietileno (PE), polipropileno (PP) e poliestireno (PS) antes de serem expostos aos tratamentos. | 69 |
| 33 | $\delta^{13}\text{C}$ no início e no final de cada tratamento. | 70 |

Lista de Tabelas

| | | |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021). . . . | 22 |
| 1 | Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021). . . . | 23 |
| 1 | Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021). . . . | 24 |
| 2 | bandas de absorções dos polímeros utilizados no estudo. Modificado de (JUNG et al., 2018). | 41 |
| 3 | Padrões utilizados nas amostras analisadas | 43 |

Lista de Abreviaturas e Siglas

ATR-FTIR reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier

EA-IRMS espectrometria de massa de razão isotópica

FTIR espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

HOCs contaminantes orgânicos hidrofóbicos

MEV microscopia eletrônica de varredura

MP Microplástico

ResexMarAC Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo

água UP água ultrapura

Sumário

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 | Introdução | 12 |
| 2 | Objetivos | 15 |
| 2.1 | Objetivos específicos | 15 |
| 3 | Fundamentos teóricos | 16 |
| 3.1 | Plásticos | 16 |
| 3.2 | Degradação dos plásticos | 17 |
| 3.2.1 | Degradação abiótica | 18 |
| 3.2.2 | Degradação biótica | 19 |
| 3.3 | Técnicas de identificação da degradação de polímeros | 24 |
| 3.3.1 | Estereomicroscopia | 25 |
| 3.3.2 | Microscopia eletrônica de varredura | 25 |
| 3.3.3 | Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier | 27 |
| 3.3.4 | Espectrometria de massas de razão isotópica | 29 |
| 4 | Metodologia | 31 |
| 4.1 | Experimento | 31 |
| 4.1.1 | Amostras | 31 |
| 4.1.2 | Incubação in situ | 32 |
| 4.1.3 | Experimento em Arraial do Cabo | 33 |
| 4.1.4 | Experimento em Niterói | 34 |
| 4.1.5 | Experimento no laboratório | 36 |

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2 | Coleta e preparo de amostras | 36 |
| 4.3 | Análises das amostras | 38 |
| 4.3.1 | Análise Visual | 38 |
| 4.3.2 | Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier | 38 |
| 4.3.3 | Análise Elementar de Isótopos Estáveis | 42 |
| 4.3.4 | Microscopia Eletrônica de Varredura | 43 |
| 4.4 | Tratamento dos dados | 44 |
| 4.4.1 | Processamento dos espectros de absorvância | 44 |
| 4.4.2 | Análise estatística dos dados | 46 |
| 5 | Resultados | 47 |
| 5.1 | Massa de biofilme | 47 |
| 5.2 | Avaliação morfológica | 47 |
| 5.2.1 | Estereomicroscópio | 47 |
| 5.2.1.1 | Formação de aglomerados | 50 |
| 5.2.2 | Microscopia eletrônica de varredura | 51 |
| 5.3 | Índice de carbonila | 53 |
| 5.4 | Isótopos estáveis do Carbono | 55 |
| 5.4.1 | Correlação do fracionamento isotópico com a formação de carbonila | 59 |
| 6 | Discussão | 63 |
| 6.1 | Massa de biofilme | 63 |
| 6.2 | Avaliação visual | 64 |
| 6.2.1 | Estereomicroscópio | 64 |
| 6.2.1.1 | Formação de aglomerados | 64 |
| 6.2.2 | Microscopia eletrônica de varredura | 66 |
| 6.3 | Índice de carbonila | 67 |

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.4 | Isótopos estáveis do Carbono | 68 |
| 6.5 | Correlação do fracionamento isotópico com a formação de carbonila | 72 |
| 7 | Conclusão | 73 |
| | REFERÊNCIAS | 76 |

1 Introdução

Plástico é um material flexível, resistente e barato e, por isso, seu consumo atual global aumenta a cada ano. Grande parte desse material é descartado incorretamente, chegando aos oceanos. É estimado, que em 2025, a massa de detritos plásticos marinhos ultrapasse de 50 MT (valor estimado em 2015) para 150 MT (JAMBECK *et al.*, 2015). Na sua forma de tamanho reduzida, os MPs (definidos por possuírem entre 1 μm e 5 mm) são praticamente onipresentes em todos os ambientes da Terra (FRIAS; NASH, 2019). Como possuem densidade relativamente baixa, muitos MPs que flutuam nas águas de ecossistemas marinhos, são transportados a lugares ermos e pouco visitados por humanos (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015). Além disso, plásticos já foram encontrados no sal de cozinha e até mesmo no ar que respiramos (PEIXOTO *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019). Esse panorama fica ainda mais assustador, quando são observadas evidências de MPs presentes em tecidos humanos: já foram encontrados na placenta e nos nossos pulmões (RAGUSA *et al.*, 2021; AMATO-LOURENÇO *et al.*, 2021). Ainda não há estudos aprofundados sobre os impactos dos detritos plásticos na saúde humana, mas sabe-se que alguns aditivos comuns em suas composições podem causar alterações hormonais, como é o caso do bisfenol A (AWUCHI; AWUCHI, 2019).

Para a biota marinha, o cenário torna-se ainda mais crítico. Devido à ingestão de detritos plásticos na escala macro ou micro, os animais marinhos podem sofrer com o bloqueio do trato digestivo, impedindo a entrada de alimentos, levando a impactos adversos como disfunção imunológica, metabólica, retardo no crescimento e até mesmo a morte de indivíduos (BAI; WANG; WANG, 2021; FOLEY *et al.*, 2018). Além disso, os MPs e seus aditivos podem causar danos nos tecidos e agir como disruptores endócrino, perturbando a reprodução de diversas espécies e comprometendo as populações futuras destes animais (WANG *et al.*, 2019; ULLAH *et al.*, 2023).

Além dos aditivos colocados no processo de fabricação destes polímeros, os MPs podem acumular poluentes e bactérias em sua superfície, sendo um vetor de transporte destes contaminantes. Especificamente o grupo de contaminantes orgânicos hidrofóbicos (HOCs)

possui uma alta afinidade com os plásticos, pois eles também são hidrofóbicos, favorecendo o transporte dessas substâncias em ecossistemas marinhos (KHAIRY; LOHMANN, 2012; SACKS; LOHMANN, 2011). Quando degradados, vão perdendo essa hidrofobicidade e podem liberar essas substâncias na biota, podendo contaminar a fauna e flora local e, além disso, podem assumir o papel de vetores de poluentes hidrofóbicos como os metais (OGATA et al., 2009).

Estima-se que 80% dos materiais plásticos encontrados no mar tenham fonte terrestre e chegam nos oceanos por meio das fontes fluviais (ROCHMAN, 2018). A degradação de polímeros nos oceanos ocorre pela ação mecânica das ondas, de radiação ultravioleta, salinidade, hidrólise e pela presença de organismos biológicos que modificam a estrutura química e física do material (ANDRADY, 2011; AMOBONYE et al., 2021). Embora a degradação dos plásticos, que tem como resultado final a mineralização em compostos não tóxicos, seja um processo lento, neste processo passam por diversas fases cujos produtos são tóxicos, compreender os fatores que promovem a degradação é crucial e ainda pouco estudado (STANICA-EZEANU; MATEI, 2021). A degradação do plástico no ambiente marinho ocorre muito mais lentamente em comparação com os ambientes terrestres, devido às temperaturas mais baixas e à menor intensidade de radiação ultravioleta (UV) na superfície do mar (KHALDOON et al., 2022). Hoje, o conhecimento sobre o envelhecimento de polímeros foi construído por meio de simulações de envelhecimento e observações de MPs encontrados em campo (BRANDON; GOLDSTEIN; OHMAN, 2016; TER HALLE et al., 2017; ABAROA-PÉREZ et al., 2022). Os estudos de degradação em condições naturais são poucos e apresentam desafios como o tempo de exposição (MADDISON et al., 2023). Isso faz com que na literatura os experimentos de degradação *in situ* sejam de curto período, muitos não ultrapassando os 100 dias de exposição e avaliando apenas um ambiente natural, sem a possibilidade de comparar ambientes diversos (BERTO et al., 2017; TU et al., 2020; MADDISON et al., 2023).

A partir de amostras degradadas, é possível constatar a mudança de propriedades físicas com a microscopia eletrônica de varredura (MEV), observando mudanças na morfologia e entendendo a degradação na escala de micrômetros (TER HALLE et al., 2017). As alterações químicas podem ser avaliadas através das técnicas de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (sigla do inglês, FTIR) e análise elementar de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, quando associada com a espectrometria de massa de razão isotópica (do inglês, EA-IRMS) (MADDISON et al., 2023; TER HALLE et al., 2017; BIRCH et al., 2021). Utilizando, por exemplo, a técnica de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, ATR-FTIR) é possível identificar

os polímeros que constituem o material plástico, além de estimar índices de degradação a partir do grupo Carbonila, que aparece apenas em MPs expostos à radiação ultravioleta (MADDISON et al., 2023). Um sistema EA-IRMS, todavia, permite alterações nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, que se tornam menos negativo em amostras degradadas em ambiente marinho (BERTO et al., 2017)

Durante o processo de envelhecimento das partículas plásticas no meio ambiente, além dos processos físicos e químicos de degradação, quando os MPs são expostos ao ambiente marinho, há, em pouco tempo, o início da formação de biofilme. Esse biofilme pode tanto biodegradar o material plástico (HADAD; GERESH; SIVAN, 2005), quanto agregar moléculas orgânicas e poluentes na superfície dos MPs (RICHARD et al., 2019). Os processos citados são cruciais para a compreensão do destino que estes polímeros podem assumir em ecossistemas marinhos.

Assim, nesta dissertação, serão avaliados alguns dos principais métodos para a identificação e caracterização química de processos da degradação de MPs em ecossistemas marinhos, através da aplicação de técnicas de isótopos estáveis e infravermelho e microscopia eletrônica. Todas as técnicas utilizadas neste estudo fazem parte da infraestrutura de dois laboratórios do Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense: Laboratório de Radioecologia e alterações ambientais (LARA) e Laboratório de Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (LaMAR).

Através de uma parceria com o Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) da Marinha do Brasil e com o Projeto Grael foi possível realizar experimentos *in situ* para compreender de forma mais realista este problema em ambientes marinhos preservados e com forte perturbação antrópica. Ambos os experimentos foram colocados estrategicamente em regiões distintas na costa do Rio de Janeiro, em Arraial do Cabo e em Niterói.

O estudo da degradação e interação dos MPs no ambiente marinho é um tema que ainda apresenta várias questões em aberto e de grande interesse científico. Se faz necessário compreender como e com qual rapidez essas partículas se degradam em diferentes sistemas aquáticos. Para além da degradação, é fundamental entender as relações com organismos dos sistemas afetados. Compreender a formação de biofilme como um facilitador ou não da degradação é um passo importante para compreender este sistema.

2 Objetivos

O objetivo principal da presente dissertação é o de avaliar a degradação de MPs em dois ambientes marinhos do Estado do Rio de Janeiro: um preservado (município de Arraial do Cabo) e outro com elevado nível de eutrofização (Baía da Guanabara), aplicando-se técnicas inovadoras de isótopos estáveis e de infravermelho médio. Para tanto, algumas perguntas-chave foram formuladas:

O índice de carbonila é capaz de distinguir MPs degradados em distribuições temporais? Como esse índice se comporta para os ambientes analisados?

A formação de biofilme é um fator relevante na degradação dos polímeros?

Há diferenças entre a degradação dos MPs para sistemas com diferentes níveis de eutrofização?

Como se comportam os valores $\delta^{13}\text{C}$ durante a degradação de detritos plásticos em ambientes marinhos?

2.1 Objetivos específicos

Neste contexto, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

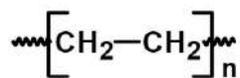
- Acompanhar as alterações visuais por meio de análises por estereomicroscópio;
- Quantificar a formação de biofilme durante o processo de degradação in situ através da massa deste;
- Avaliar os índices de carbonila dos polímeros por meio de FTIR;
- Avaliar o processo de fracionamento isotópico do Carbono, através de EA-IRMS;
- Avaliar a degradação superficial das partículas por meio de MEV.

3 Fundamentos teóricos

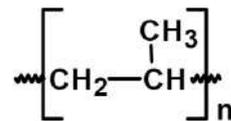
3.1 Plásticos

Plásticos são materiais sintéticos compostos de longas cadeias poliméricas. A palavra polímero vem da combinação de duas palavras em grego: poli (muitas) e meros (partes), já que devido à repetição dos meros, unidades químicas iguais, são formadas macromoléculas.

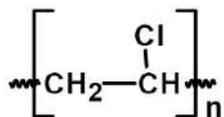
Na nomenclatura de polímeros, utiliza-se o nome do monômero em sua síntese, e não o nome químico da unidade repetitiva da cadeia polimérica (Figura 1). Por exemplo, no caso do poli(etileno), o monômero utilizado na síntese é o etileno ($H_2C = CH_2$), embora a unidade repetitiva na cadeia polimérica seja $[CH_2 - CH_2]_n$, sem ligações duplas (PAOLI, 2009).



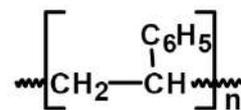
Polietileno (PE)



Polipropileno (PP)



Policloreto de vinila (PVC)



Poliestireno (PS)

Figura 1: Unidade repetitiva ou mero dos polímeros mais produzidos mundialmente.

Os plásticos mais produzidos no mundo são o polietileno (PE) com 22,1% total da produção, o polipropileno (PP) com 15,4%, seguido do policloreto de vinil (PVC) com

9,1% e com 5,4% poliestireno (PS) (EUROPE, 2023). Estes plásticos apresentam uma cadeia formada por um esqueleto de carbono-carbono, como é possível observar na Figura 2.

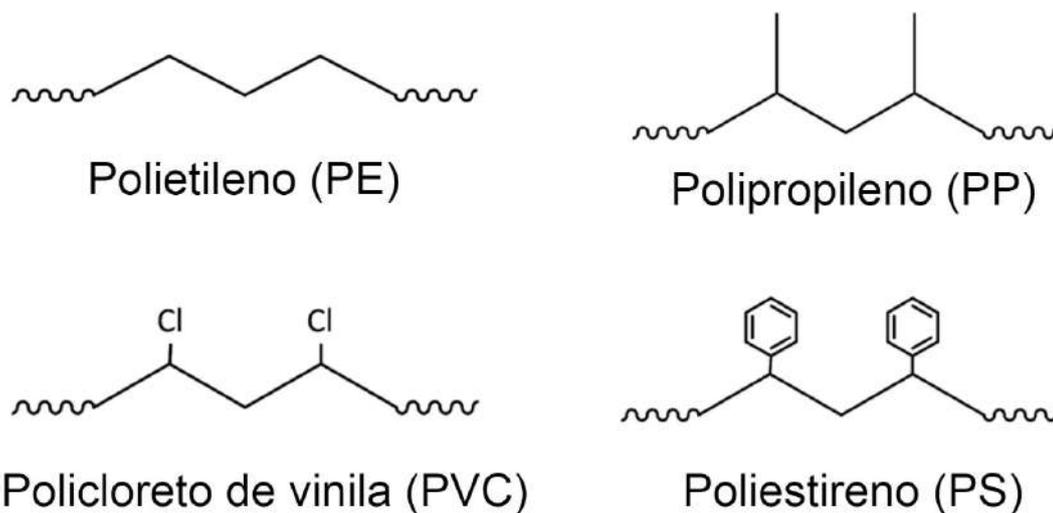


Figura 2: Representação da estrutura dos plásticos mais produzidos mundialmente.

O PE é o polímero mais comum e isso pode ser explicado pela sua versatilidade, pois é usado em embalagens, na produção de filmes plásticos, recipientes de alimentos e muitas outras aplicações. O PP é amplamente utilizado como embalagens de alimentos e cosméticos, tecidos-não-tecidos (TNT) e em aplicações automotivas e médicas. O PVC já apresenta um uso mais específico como tubos e conexões, revestimentos de cabos, embalagens e produtos médicos. Com aplicações em materiais de uso único, o PS é muito utilizado em embalagens alimentícias, copos, também é utilizado em aplicações de isolamento térmico (EUROPE, 2023).

3.2 Degradação dos plásticos

A degradação dos plásticos ocorre de diferentes maneiras dependendo do polímero e de como o processo se inicia e se propaga. Tendo em vista o experimento realizado neste trabalho, as descrições a seguir tiveram um enfoque em degradação de homopolímeros (polímeros que possuem uma unidade de monômero que se repete ao longo da cadeia) com uma cadeia de esqueleto de Carbono com a presença de Oxigênio no ambiente. Este estudo parte da definição de degradação pensando em mudanças nas estruturas física e

química dos polímeros (SHAH et al., 2008):

Qualquer mudança física ou química em polímeros como resultado de fatores ambientais, como luz, calor, umidade, condições químicas ou atividade biológica. Processos que induzem mudanças nas propriedades dos polímeros (deterioração da funcionalidade) devido a reações químicas, físicas ou biológicas que resultam na quebra de ligações e subsequentes transformações químicas (formação de inomogeneidades estruturais) têm sido categorizados como degradação de polímeros.

Existem vários fatores que podem colaborar com a degradação dos polímeros, sendo eles abióticos (quando os fatores não têm origem biológica) ou bióticos (quando possuem origem a partir de seres vivos) (ANDRADY2011).

3.2.1 Degradação abiótica

Diversos fatores abióticos contribuem significativamente com o processo de degradação da cadeia polimérica, a luz UV é o que mais apresenta contribuição, mas fatores como a interação com a água, temperatura e cisalhamento são fontes importantes de degradação. Em ambientes marinhos, a temperatura não é um fator muito relevante para a degradação abiótica, pois não são consideradas altas a ponto de fusão/descharacterização do polímero. As outras fontes, no entanto, podem iniciar, em um ambiente com a presença de oxigênio, a oxidegradação.

A oxidegradação pode se iniciar por diversas fontes energéticas diferentes, como por exemplo, o cisalhamento, energia térmica e luminosa. Este é um processo autocatalítico, mostrado na Figura 3 que pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e finalização.

O processo de iniciação começa quando uma fonte energética interage com a cadeia polimérica (P), quebrando uma ligação de C-H e com isso, produzindo um radical livre (P●). O PE e o PP têm uma cadeia simples, sem ligações insaturadas, ou ligações duplas de carbono, e isso implicaria em dificuldade para iniciar este processo, visto que essas ligações são responsáveis por absorver a luz UV e iniciar a oxidação. No entanto, os polímeros não são produzidos à perfeição, então existem essas insaturações por algumas falhas no processo de sintetização dos polímeros (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015; MENA et al., 2020).

Na propagação, o radical do polímero reage com o Oxigênio (O₂) presente no ambiente e forma um radical peroxil (POO●), que interagindo com a própria cadeia polimérica, pode

captar um hidrogênio (H) produzindo um $P\bullet$ e um hidroperóxido (POOH). Esse POOH irá passar por uma cisão homolítica, que interagindo com parte da cadeia polimérica, irá formar um radical alcoxi ($PO\bullet$), H_2O e um novo $P\bullet$. Durante todo o processo de propagação é possível observar a formação de novos $P\bullet$, o que acaba acelerando o processo e por isso sendo nomeado como autocatalítico.

A fase de finalização acontece devido a uma cisão de cadeia do $PO\bullet$, onde o resultado da cisão será a produção de quetonas e oleofinas (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015). Na quetona, existe uma parte da cadeia que consiste em uma ligação dupla entre o Carbono e o Oxigênio ($C=O$), esta parte se chama carbonila e pode ser usada como proxy de degradação, pois é um produto desse processo nos polímeros (BRANDON; GOLDSTEIN; OHMAN, 2016; TER HALLE et al., 2017; MADDISON et al., 2023).

Esse processo é fundamental para a compreensão da degradação dos plásticos e, consequentemente, de MPs. Ele define a foto-oxidação, quando a energia luminosa que gera o primeiro radical livre que dá início ao ciclo (MENA et al., 2020).

O plástico é hidrofóbico (LOHMANN, 2017), mas a degradação abiótica faz com que o polímero fique mais hidrofílico, fazendo com que seja mais fácil ocorrer a biodegradação (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015; SHAH et al., 2008).

3.2.2 Degradação biótica

A degradação biótica, também chamada de biodegradação, depende de diversos fatores para ocorrer, como o microrganismo que vai se associar ao plástico para degradá-lo, características do próprio polímero e condições abióticas. Como ocorre em ambientes onde há a disponibilidade biológica desses seres para atuarem na quebra da molécula, é importante ressaltar que esses ambientes também são locais propícios para a degradação abiótica e que esta facilita o processo de biodegradação ocorrer (ZEE, 2005, Capítulo 1: Biodegradability of Polymers – Mechanisms and Evaluation Methods).

A biodegradação é o processo pelo qual substâncias orgânicas são decompostas por organismos vivos. Um termo associado à biodegradação é a biomineralização, onde a matéria orgânica é convertida em minerais no final do processo. Este processo ocorre em diversos lugares, naturalmente de forma aeróbica, ou seja, com a presença do Oxigênio, mas também ocorre anaerobicamente principalmente em sedimentos e aterros sanitários e parcialmente anaerobicamente em compostos e solos. Dessa forma, conclui-se que os

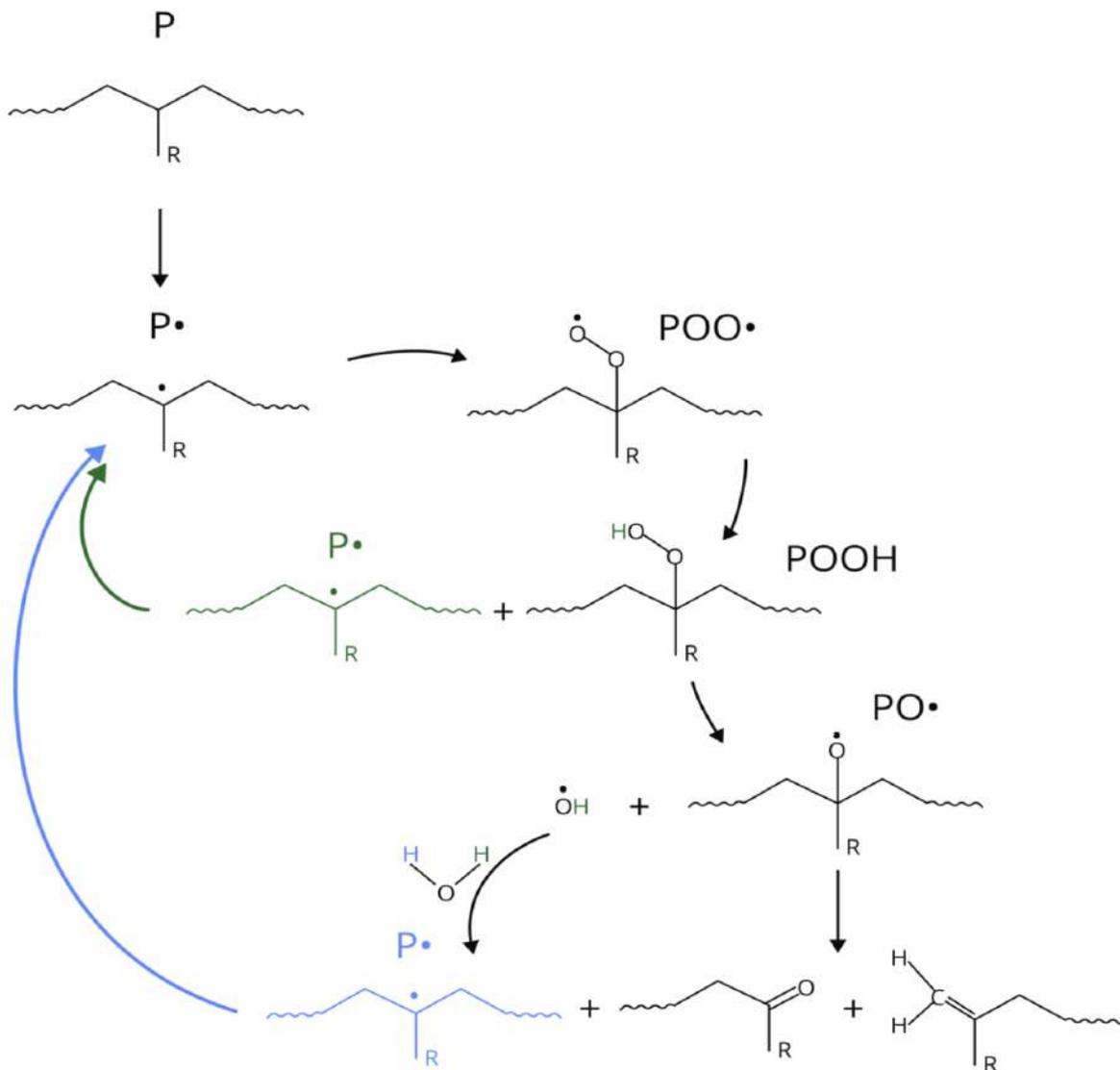
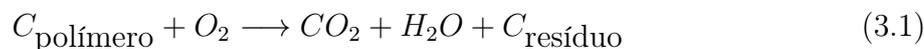


Figura 3: Representação do ciclo de degradação autocatalítica para PE ($R = H$), PP ($R = CH_3$) e PS ($R =$ composto aromático), adaptado de (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015)

ambientes estudados neste trabalho, os marinhos, são favoráveis à biodegradação aeróbica. Este processo acontece principalmente com enzimas e microrganismos isolados, no meio ambiente ocorre de maneira lenta e pouco endossador para a degradação do polímero até sua mineralização.

A biodegradação acontece em quatro etapas: biodeterioração, biofragmentação, assimilação e mineralização (AMOBONYE et al., 2021). Para os casos aeróbicos, a equação 3.1 descreve o início com o Carbono do polímero ($C_{\text{polímero}}$) e a presença do Oxigênio (O_2) e no final com os produtos da degradação: Dióxido de Carbono (CO_2), água (H_2O)

e biomassa de Carbono residual ($C_{\text{resíduo}}$) (ZEE, 2005, Capítulo 1: Biodegradability of Polymers – Mechanisms and Evaluation Methods).



A primeira parte deste processo, a biodeterioração, marca o início da interação entre os microrganismos e os materiais plásticos. Essa etapa é caracterizada pela adesão inicial dos microrganismos à superfície do polímero, seguida pela colonização e crescimento subsequente. Essa colonização microbiana pode ser facilitada por diversos fatores, como a presença de nutrientes na superfície do plástico, a rugosidade da superfície que oferece locais de ancoragem para os microrganismos e degradação causada por fatores abióticos (GEWERT; PLASSMANN; MACLEOD, 2015). Uma camada de biofilme é criada em torno da superfície desse plástico e para materiais com maior hidrofobicidade, como o PE, a formação de biofilmes é necessária para aumentar a interação da superfície polimérica com as bactérias (SCHWIBBERT et al., 2019).

O biofilme é formado por polímeros extracelulares secretados por microrganismos, por partículas inorgânicas aderidas e pela própria comunidade microbiana. Essas comunidades microbianas são funcionalmente diversas e podem incluir bactérias, algas, protozoários e fungos, referidas coletivamente como assembleias microbianas ou comunidades de bioincrustação. A presença de biofilme nos MPs pode aumentar a capacidade destes polímeros adsorver poluentes do ambiente, fazendo com que as partículas sejam vetores de contaminação de diversos contaminantes (RICHARD et al., 2019; VASEASHTA, 2022). O resultado da interação dos componentes é muitas vezes citado como *plastisfera* (DĄBROWSKA, 2021).

Com um biofilme estabelecido, a biofragmentação começa a acontecer com a clivagem catalítica de polímeros em unidades menores por ação de enzimas extracelulares e radicais livres gerados pelos microrganismos aderidos no plástico (SHAH et al., 2008). As principais mudanças nas moléculas dos polímeros nesse processo são a redução do peso molecular do polímero e a oxidação das moléculas de menor massa molecular (RESTREPO-FLÓREZ; BASSI; THOMPSON, 2014).

Com os polímeros reduzidos aos monômeros e com massa molecular menor é possível a passagem destes para dentro de células de microrganismos, sendo transportados para o citoplasma na fase de assimilação (AMOBONYE et al., 2021).

Uma vez que esses produtos da biofragmentação são transportados com sucesso para

as células, eles passam por uma série de reações enzimáticas que levam à sua completa degradação em metabólitos oxidados, que incluem CO_2 , N_2 , CH_4 e H_2O (HO; ROBERTS; LUCAS, 2018). A mineralização pode ser acompanhada dentro dessas células por meio de técnicas isotópicas (YANG; WANG; XIA, 2020). Os intermediários para isso podem ser diversos, como exemplo pode-se citar a mineralização do estireno, a unidade monomérica do poliestireno, que é principalmente oxidado para fenilacetato, que é então introduzido no ciclo de Krebs como fenilacetil coenzima A para metabolismo completo (HO; ROBERTS; LUCAS, 2018). São caminhos diversos, onde muitos ainda precisam ser compreendidos em sua totalidade. Na Tabela 1 estão listados alguns microrganismos que atuam nessa degradação.

Tabela 1: Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021).

| Microrganismo | Polímero | Produtos da degradação |
|------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bactéria | | |
| <i>Streptomyces sp.</i> | PE | Ácido ftálico, heneicosano, benzoico. |
| <i>Streptomyces sp.</i> | PE | Poxinaftaleno-1(2h)-metanol, 4,5,7-tris(1,1-dimetiletílico)-2,3; 2-t-butil-5-clorometil-3-metil-4- oxoimidazolidina-1-carboxílico, etc. Benzeno, Tetracloroetileno Heptadecilester, |
| <i>Achromobacter denitrificans</i> | PE | Benzeno, 1 - 3, Dimetil, Ácido Hexadecanoico, Eicosano, Octano. |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | PE | Metano, dicloro-, Eteno, 2-Buteno, Hexanal. 1-Trimetilsililmetanol, 1,2,3,4 Tetrametilbenzeno e Ácido hexadecanoico, |
| <i>Bacillus cereus</i> | PE | 1,2,3 Trimetilbenzeno, 1-Etil-3,5-dimetilbenzeno, 1,4-Dimetil-2-etilbenzeno, Dibutiltália. |
| <i>Bacillus spp.</i> | PE | 4,4-Dimetil-2-penteno. |

Tabela 1: Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021).

| Microrganismo | Polímero | Produtos da degradação |
|----------------------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>B. amyloliquefaciens</i> | PE | 3-Hidroxiacetato. |
| <i>Bacillus sp.</i> | PE e PVC | Ácidos carboxílicos, álcoois. |
| <i>Enterobacter sp.</i> | PE | Monobenzil ftalato. |
| <i>Lysinibacillus fusiformis</i> | PE | 1-Trimetilsililmetanol, 1,2,3,4 tetrametilbenzeno e hexadecanoico. |
| <i>Pseudomonas sp.</i> | PS | Ácido 2-(noniloxycarbonil)benzoico, 1-cloro-2-metilciclohexano, éster di-hexílico 1,2-benzenodicarboxílico, etc. |
| <i>Stenotrophomonas pavarii</i> | PE | 4,6-Octadiin-3-ona, 2-metil. |
| Fungo | | |
| <i>Aspergillus flavus</i> | PVC | Oligômeros de baixo peso molecular não especificado. |
| <i>A. fumigatus</i> | PE | Oligômeros de baixo peso molecular não especificado. Fenol, 3,5-bis(1,1-dimetiletílico); 2-t-butil-5-clorometil-3-metil-4- oxoimidazolidina-1-carboxílico; |
| <i>Aspergillus nomius</i> | PE | dotriacontano; etil 14-metil-hexadecanoato; ftalato de dietila; benzeno, 1,3-bis(1,1-dimetiletílico); dodecano. |
| <i>A. oryzae</i> | PE | 4,4-Dimetil-2-penteno, 4,6-Octadiin-3-ona. Ácido naftaleno carboxílico; |
| <i>Aspergillus terreus</i> | PE | Ftalato de dibutila; 2-Ciclohexeno; 1,2-Bis(trimetilsilil)benzeno; Hexasiloxano e Ácido hexadecanoico. |

Tabela 1: Organismos que atuam na degradação dos principais plásticos produzidos mundialmente. Traduzido e adaptado de (AMOBONYE et al., 2021).

| Microrganismo | Polímero | Produtos da degradação |
|------------------------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Aspergillus sydowii</i> | PE | 7-Metilenobiciclo [3.2.0] hept-3-en-2-ona; Ftalato de dibutila; 1,4-Benzenodiol e Dodecaidropirido [1,2-b] isoquinolin-6-ona. Piridina, Benzeno, cloro, |
| <i>Cephalosporium sp.</i> | PS | 2,4-Difenil-4-metil-2(E)-penteno, Ácido octadecanoico, éster etílico, Metano, etc. Dimetilguanidina, |
| <i>Cochliobolus sp.</i> | PVC | Ácido 1,2-benzenodicarboxílico, Diethyl [(fenil sulfonil) metil] fosfonato, Diethyl [(fenil sulfonil) metil] fosfonato, etc. |
| <i>Mucor spp.</i> | PS | Benzeno, Piridina, 1,3,5-cicloheptatrieno, n-Hexano, etc. Octano, Pentano, 9-Eicosino, |
| <i>Phanerochaete chrysosporium</i> | PP | Acrilonitrila, Ácido hexanoico, Éster de 2,7-dimetiloct-7-en-5-yn-4-ilo, 3-Hexanol. |

Conclui-se que a degradação biótica consiste em reduzir a cadeia polimérica aos monômeros utilizados como fonte energética para organismos vivos, mineralizando-os por meio de diversas rotas metabólicas.

3.3 Técnicas de identificação da degradação de polímeros

Existem muitas técnicas para a identificação polimérica de um material, algumas permitem ir além e identificar mudanças ao longo da degradação destes. Mudanças físicas que ocorrem neste período podem ser acompanhadas com análises visuais observando a distinção de coloração, o aparecimento de ranhuras e o aumento da tridimensionalidade (ABAROA-PÉREZ et al., 2022; TER HALLE et al., 2017; MADDISON et al., 2023). Técnicas de análise como estereomicroscopia e microscopia eletrônica de varredura permi-

tem a visualização microscópica da superfície dos MPs e acompanhar essas mudanças. No âmbito das mudanças químicas, este trabalho utiliza duas técnicas que permitem observar ligações moleculares e o fracionamento isotópico. Mais detalhes sobre o funcionamento destas técnicas serão apresentados nas subseções seguintes.

3.3.1 Estereomicroscopia

A estereomicroscopia é uma técnica de microscopia que fornece uma visão tridimensional de amostras. Isso é alcançado com duas lentes objetivas, formando dois caminhos ópticos separados, um para cada olho, permitindo a observação de uma imagem estereoscópica. Esta técnica permite visualizar a amostra por diversos ângulos para ver detalhes superficiais como ranhuras e coloração (ABAROA-PÉREZ et al., 2022). Quando acoplado com uma câmera, pode-se utilizar de suas fotografias bidimensionais para caracterizar visualmente uma partícula. Essa técnica necessita de uma fonte de luz para que seja transmitida (quando a amostra é translúcida e iluminada por baixo) ou refletida (quando a amostra é iluminada por cima e reflete a luz em sua superfície). Os estereomicroscópios possuem uma menor magnitude de ampliação quando comprados ao microscópio composto.

3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica tem a mesma função da microscopia óptica: observar os aspectos morfológicos da superfície dos materiais. Enquanto os microscópios ópticos dependem de uma fonte de luz para o seu funcionamento, os eletrônicos utilizam um feixe de elétrons. Isto modifica totalmente o poder de ampliação e investigação morfológica, já que a resolução dos microscópios ópticos dependem do comprimento do feixe de onda incidido no material, não podendo passar de uma ampliação de 200 vezes, enquanto o eletrônico pode chegar a 1.000.000 vezes de magnitude (DAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

O princípio de funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (Figura 4) envolve o uso de um feixe de elétrons de diâmetro reduzido para explorar a superfície de uma amostra de maneira ponto a ponto, em linhas sucessivas. O sinal gerado pelo detector é transmitido para uma tela catódica, cuja varredura está sincronizada com a do feixe incidente. O sinal de imagem resulta da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra, e o sinal coletado pelo detector é usado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação.

A maioria dos microscópios eletrônicos de varredura utiliza um filamento de tungstênio

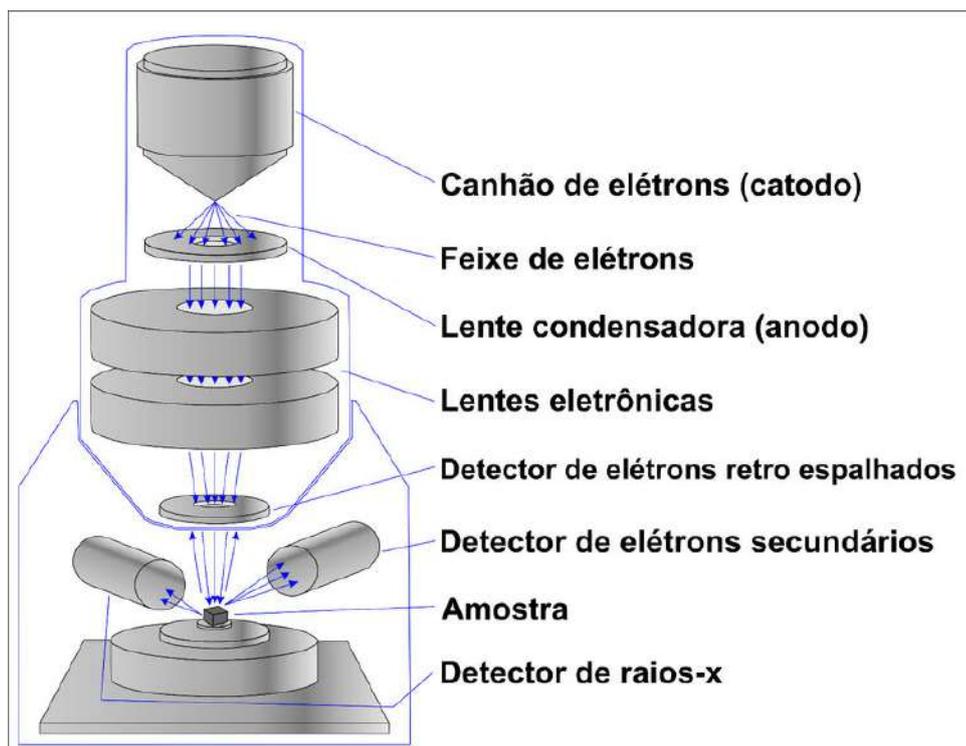


Figura 4: Principais componentes de um microscópio eletrônico de varredura (MOREIRA et al., 2023).

aquecido como fonte de elétrons, operando em uma faixa de tensões de aceleração de 1 a 50 kV. O feixe de elétrons é acelerado por uma alta tensão entre o filamento e o ânodo e é focalizado na amostra por um conjunto de três lentes eletromagnéticas, formando um ponto focal menor que 4 nm. Ao interagir com a amostra, o feixe gera elétrons e fótons coletados por detectores apropriados e convertidos em um sinal de vídeo.

Para serem detectados, as partículas e/ou radiações eletromagnéticas resultantes da interação do feixe com a amostra devem retornar à superfície da amostra e atingir o detector. A profundidade máxima de detecção, e conseqüentemente a resolução espacial, depende da energia com que essas partículas ou radiações atingem o detector. Por exemplo, elétrons retroespalhados possuem maior energia que elétrons secundários, então os detectores de elétrons retroespalhados operam em uma faixa de energia maior, enquanto os detectores de elétrons secundários operam em uma faixa de energia menor (DAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

A imagem formada a partir do sinal captado durante a varredura eletrônica de uma superfície pode apresentar diferentes características, resultando da amplificação de um sinal obtido da interação entre o feixe eletrônico e o material da amostra. Com alta resolução, este tipo de imagem permite o estudo das mudanças morfológicas na superfície dos

MPs, podendo indicar até mesmo a perda de massa durante este processo (MADDISON et al., 2023; TER HALLE et al., 2017).

3.3.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier é a principal técnica para a identificação de polímeros (JUNG et al., 2018). Se trata de um método não destrutivo e que se baseia na interação da radiação infravermelha, com comprimentos de onda $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$, com a amostra, resultando em transições vibracionais (FAHELELBOM et al., 2022).

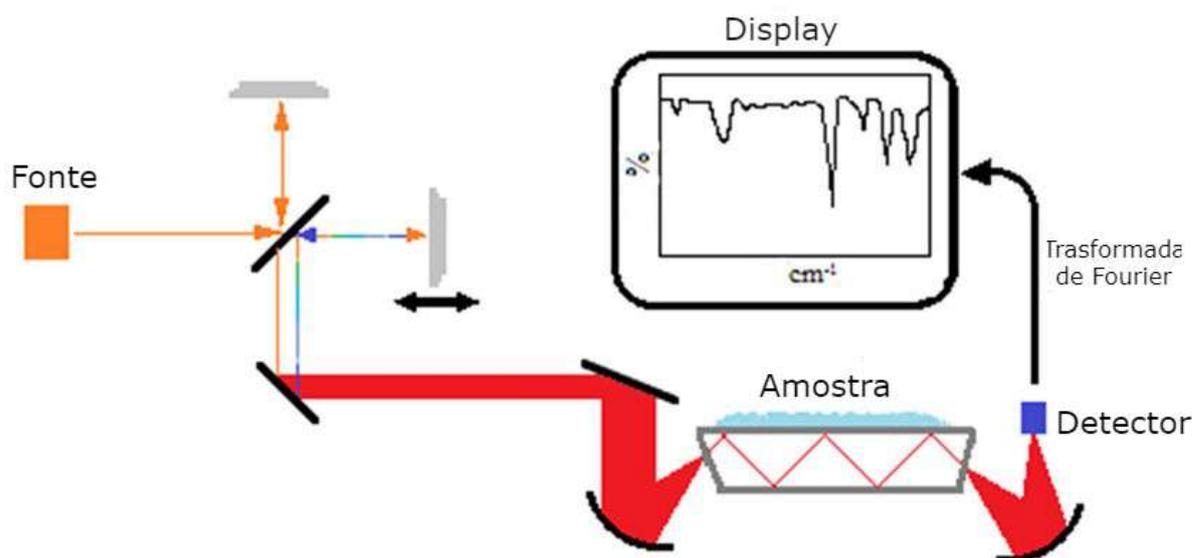


Figura 5: Funcionamento de um espectrômetro de infravermelho. Traduzido de (FAHELELBOM et al., 2022)

Utilizando um espectrômetro de infravermelho (Figura 5), a amostra é exposta a uma fonte de radiação infravermelha, e a intensidade da radiação transmitida ou refletida é medida em um detector como uma função do número de onda. As regiões de absorção no espectro resultante são características das frequências vibracionais dos grupos funcionais presentes na molécula. Isto porque os dipolos elétricos absorvem radiações eletromagnéticas de mesma frequência que a sua frequência de oscilação. A frequência de vibração destes dipolos varia da ordem de 10^{13} a 10^{14} vibrações por segundo, o que corresponde à região do infravermelho no espectro eletromagnético, por isso essa técnica utiliza este tipo de radiação (SODERBERG, 2016).

O espectro é tipicamente registrado como uma série de picos, onde cada pico corresponde a uma transição vibracional específica, proporcionando uma "impressão digi-

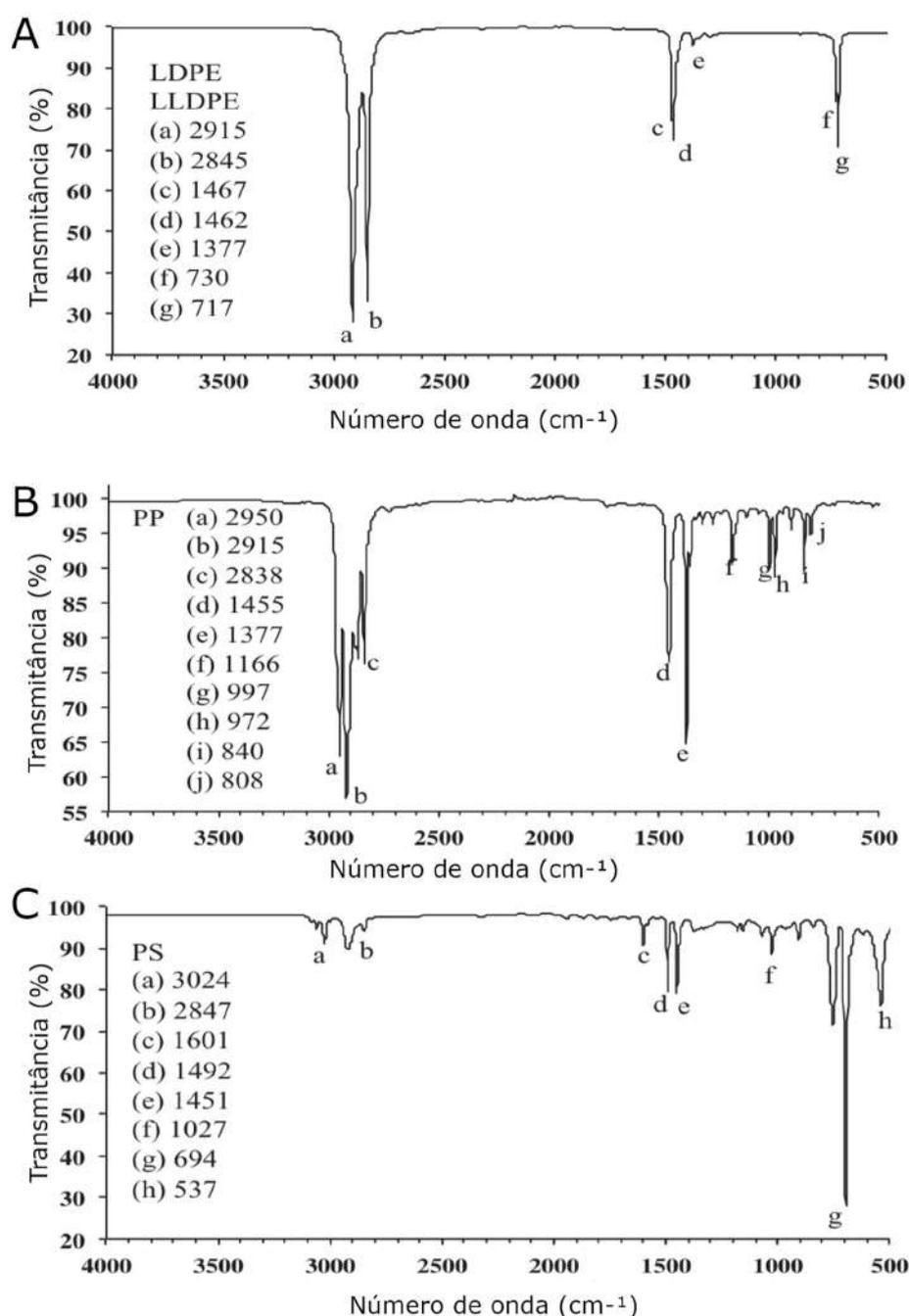


Figura 6: Espectros com os picos de identificação do PE, PP e PS. Traduzido e adaptado de (JUNG et al., 2018)

tal"para aquela molécula. A transformada de Fourier é empregada para aumentar a resolução e a sensibilidade da espectroscopia, transformando essa série de picos em um espectro de absorbância ou transmitância, facilitando a análise detalhada de complexas misturas químicas e materiais diversos. Com a unicidade destas vibrações é possível verificar a presença de grupos nessas moléculas e identificar o material (Figura 6). Tal como é possível saber o tipo de material polimérico, também é possível identificar ligações que

surtem conforme a degradação deste material ocorre, como os grupos de carbonila (TERHALLE et al., 2017; BRANDON; GOLDSTEIN; OHMAN, 2016; MADDISON et al., 2023).

3.3.4 Espectrometria de massas de razão isotópica

A técnica de espectrometria de massas de razão isotópica é um método de alta precisão para medir as razões isotópicas de elementos específicos em amostras. Como apresentado na Figura 7, inicialmente, a amostra é introduzida em um analisador elementar (EA), onde é oxidada em altas temperaturas na presença de um catalisador, resultando na conversão dos componentes da amostra em gases simples, como dióxido de carbono (CO_2), nitrogênio (N_2) e água (H_2O). Esses gases são então separados cromatograficamente para garantir a pureza do gás de interesse antes de serem encaminhados para o espectrômetro de massa de razão isotópica (do inglês, IRMS).

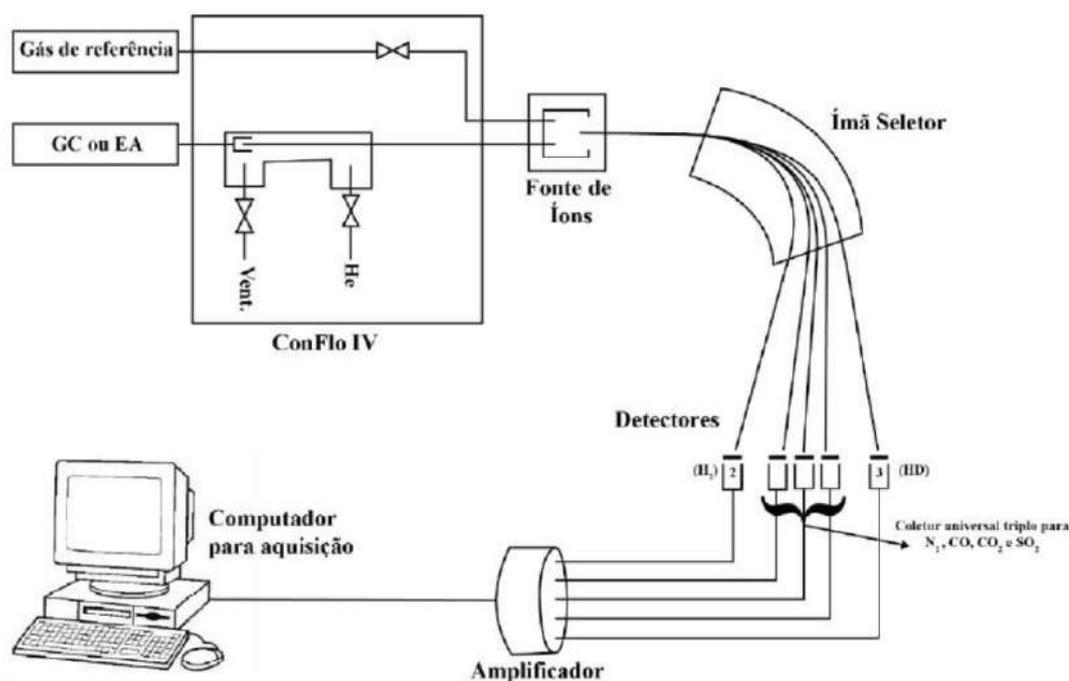


Figura 7: Funcionamento do espectrômetro de massas (CARDOSO, 2018)

No IRMS, os gases separados são ionizados e acelerados por um campo elétrico, criando um feixe de íons. Esses íons são introduzidos em um analisador de massa, que utiliza um campo magnético para separar os íons com base em suas razões massa/carga. Detectores posicionados estrategicamente medem as intensidades dos íons correspondentes aos diferentes isótopos de um elemento específico, permitindo a determinação precisa das

razões isotópicas ([CARDOSO, 2018](#)).

O EA junto ao o IRMS oferecem uma abordagem para a análise isotópica de polímeros. A precisão das medidas isotópicas fornecidas por EA-IRMS permite a investigação de processos de fracionamento durante a degradação e estudos de fonte da matéria-prima nestas amostras ([BIRCH et al., 2021](#); [BERTO et al., 2017](#)).

4 Metodologia

4.1 Experimento

O experimento foi realizado com o objetivo de comparar a degradação ocorrida em microplásticos (MPs) de polietileno (PE), polipropileno (PP) e poliestireno (PS), utilizando pellets industriais, pedaços de máscaras cirúrgicas e isopor, respectivamente. Foram construídos dois experimentos *in situ*, a fim de observar a degradação em ambientes naturais com diferentes níveis de impactos antropogênicos. O primeiro local escolhido foi Arraial do Cabo, caracterizado por ter um menor impacto, enquanto o segundo local foi a baía de Guanabara, conhecida por ser mais impactada e um ambiente tradicionalmente eutrofizado (VIANA *et al.*, 2019; COTOVICZ *et al.*, 2015). Essa abordagem permitiu uma comparação direta entre os dois ambientes, analisando como os diferentes níveis de impacto afetam a degradação dos MPs.

Além dos experimentos *in situ*, também foram realizados testes em laboratório. As partículas de microplástico foram incubadas e expostas a três tratamentos distintos, a fim de testar a relevância da composição da água e da influência da luz nas taxas de degradação a serem medidas. Esses tratamentos foram cuidadosamente selecionados para simular diferentes condições ambientais e verificar como esses fatores podem influenciar a degradação dos MPs. Essa abordagem abrangente permitirá obter uma compreensão mais completa dos processos de degradação dos microplásticos em diferentes ambientes e condições.

4.1.1 Amostras

Os MP utilizados neste estudo foram classificados em MPs primários, produzidos em tamanhos reduzidos, como pellets de PE e esferas de isopor de PS, e MPs secundários, que foram gerados a partir de macroplásticos reduzidos em tamanho, como máscaras cirúrgicas de PP. Para as amostras de MPs secundários, os tecidos das máscaras foram separados,

utilizando apenas a camada externa e descartando o tecido interno e o elástico, devido às diferentes composições poliméricas. Os tecidos externos foram cortados em quadrados de aproximadamente 5 mm. Os MPs primários foram adquiridos com um tamanho inferior a 5 mm, portanto, não necessitaram passar por esse processo. As esferas de isopor (PS) foram compradas em uma loja de enchimento de pelúcias, enquanto os pellets de PE foram adquiridos da Sigma-Aldrich como polietileno de baixa densidade.

4.1.2 Incubação in situ

Para expor as amostras dos experimentos às condições ambientais, as partículas foram colocadas em potes de aço inoxidável com furos que permitiam a troca de água com o ambiente em que foram expostas, conforme ilustrado na Figura 8. Inicialmente, os potes de incubação foram fixados nos ambientes fechados utilizando as cintas metálicas soldadas aos potes e arame de alumínio para prendê-los à corda.



Figura 8: Pote de incubação no experimento da baía de Guanabara após 28 dias de exposição ao ambiente.

Ao longo do experimento, ocorreu o afrouxamento dos lacres originais, resultando na perda de alguns potes de incubação devido à oxidação, força da maré ou condições climáticas adversas. Em resposta a isso, foram realizadas adaptações nos potes para minimizar a perda, como a utilização de cintas plásticas para prender a tampa e o pote, a fixação de mosquetões de pesca de alumínio nas cordas para prendê-los e a colocação de uma proteção feita com rede de nylon presa também ao mosquetão. Essas modificações

foram implementadas visando minimizar a perda dos potes de incubação e garantir a integridade das amostras ao longo do experimento.

4.1.3 Experimento em Arraial do Cabo

Arraial do Cabo é um município localizado na Região dos Lagos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Possui uma população de aproximadamente 30.986 pessoas e uma área total de 152,106 Km² (IBGE, 2022). Com 91,1 % de esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2010), cidade é conhecida por suas belas praias com areia branca e águas cristalinas e turquesas, que são consideradas algumas das mais bonitas do Brasil, por isso o turismo é uma das principais atividades econômicas do local. Esse fator faz com que essa região receba durante o verão muitos turistas e a cidade não possui um plano adequado para receber esse montante de turistas agravando a vulnerabilidade socioeconômica e os impactos ambientais. Este impacto pode ser observado pelo aumento no lixo marinho, destacando a necessidade de um melhor planejamento e gestão dos locais turísticos (SILVA et al., 2018).

Desde janeiro de 1997, foi criada a Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo (ResexMarAC), com sua extensão de aproximadamente 516 Km² cobrindo toda a lâmina de água do município (ICMBIO, 2020). Esta reserva permite que a pesca seja explorada de maneira sustentável, pensando nas comunidades tradicionais e também na conservação das espécies locais.

Eventos de ressurgência, que ocorrem em Arraial do Cabo, Brasil, são fenômenos oceanográficos significativos que influenciam as temperaturas da superfície do mar e têm um impacto profundo nos ecossistemas marinhos locais, particularmente em termos de produção primária. A ressurgência em Arraial do Cabo tem um efeito de resfriamento na temperatura superficial da água e desempenha um papel crucial no aumento da produção primária, aumentando a disponibilidade de nutrientes na região. Este fenômeno natural, aliado às influências antropogênicas de aumento de amônia em regiões de alta densidade populacional, pode afetar significativamente a produtividade biológica da área, aumentando a atividade bacteriana heterotrófica com implicações para todo o ecossistema marinho (AREIAS et al., 2020; FERRAZ et al., 2004).

A Ilha do Cabo Frio está contornada pela ResexMarAC e este espaço é um protegido pela Marinha do Brasil, onde a visitação e pesca são limitados. Neste local ocorre o fenômeno de ressurgência, principalmente no verão, podendo atingir temperaturas abaixo de 15°C na região (RODRIGUES; LORENZZETTI, 2001). O experimento ficou alocado

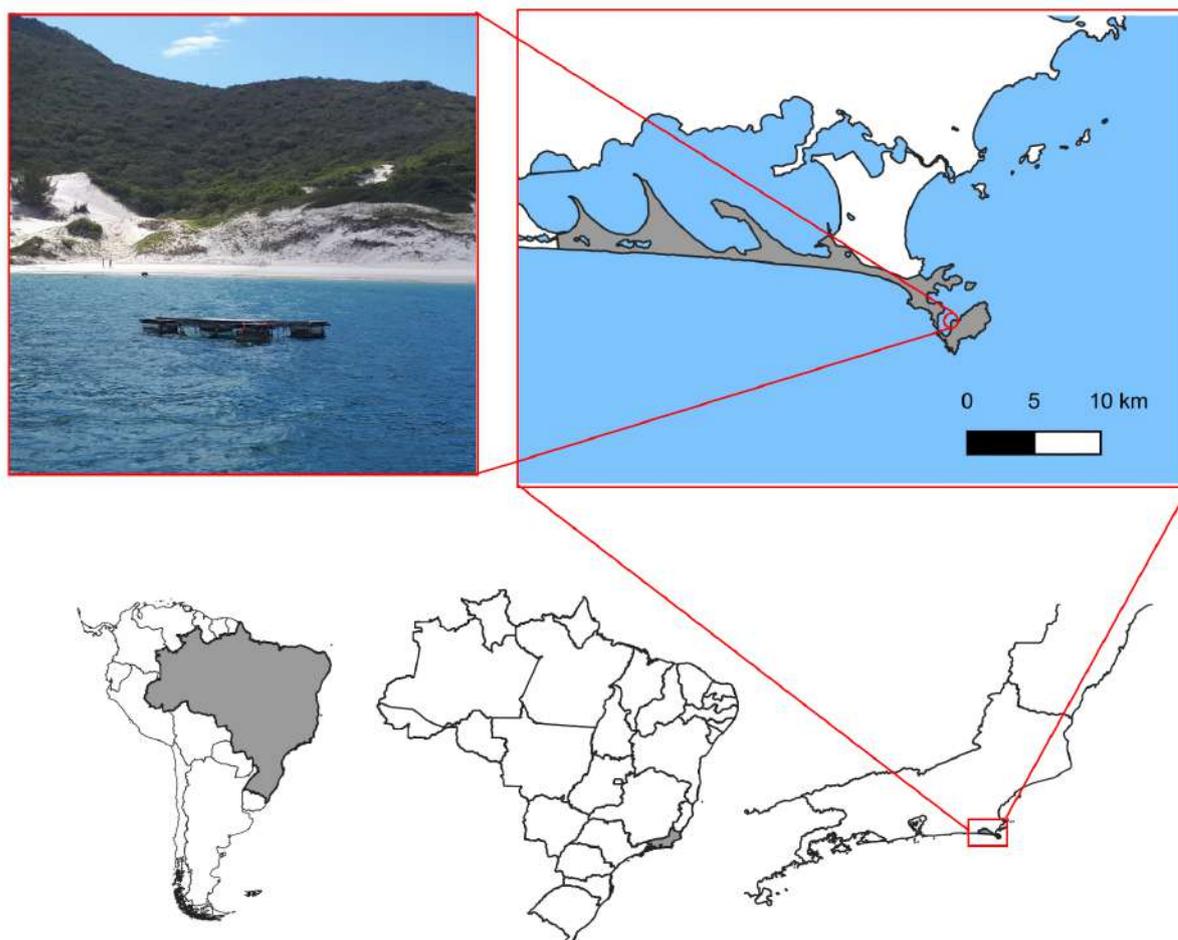


Figura 9: Localização do experimento na Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo - Rio de Janeiro, Brasil com foto do experimento na plataforma flutuante da Marinha do Brasil.

em uma plataforma flutuante na Ilha do Cabo Frio (Figura 9), em um local controlado pela Marinha do Brasil onde o acesso de turistas é proibido. Na plataforma, cordas de 1,5 m foram amarradas com os potes de incubação na ponta, ficando submersos sempre a 1 m de profundidade, enquanto a profundidade total do local foi cerca de 8 m.

4.1.4 Experimento em Niterói

A baía de Guanabara fica localizada na região metropolitana do Estado do Rio de Janeiro e possui 131 km de extensão. Nela desembocam corpos hídricos que atravessam 17 municípios do Estado: Rio de Janeiro, Duque de Caxias, Magé, Guapimirim, Itaboraí, São Gonçalo, Niterói, Belford Roxo, Mesquita, São João de Meriti, Nilópolis, Nova Iguaçu, Tanguá, Maricá, Rio Bonito, Cachoeiras de Macacu e Petrópolis (RANGEL; OLIVEIRA, 2021). Niterói além de fazer parte do corpo hídrico, também abriga grande parte da baía,

estando presente na região onde ocorrem as trocas com o oceano, uma vez que a estreita entrada de água de apenas 1,6 km está localizada entre os municípios de Niterói e Rio de Janeiro (RANGEL; OLIVEIRA, 2021).

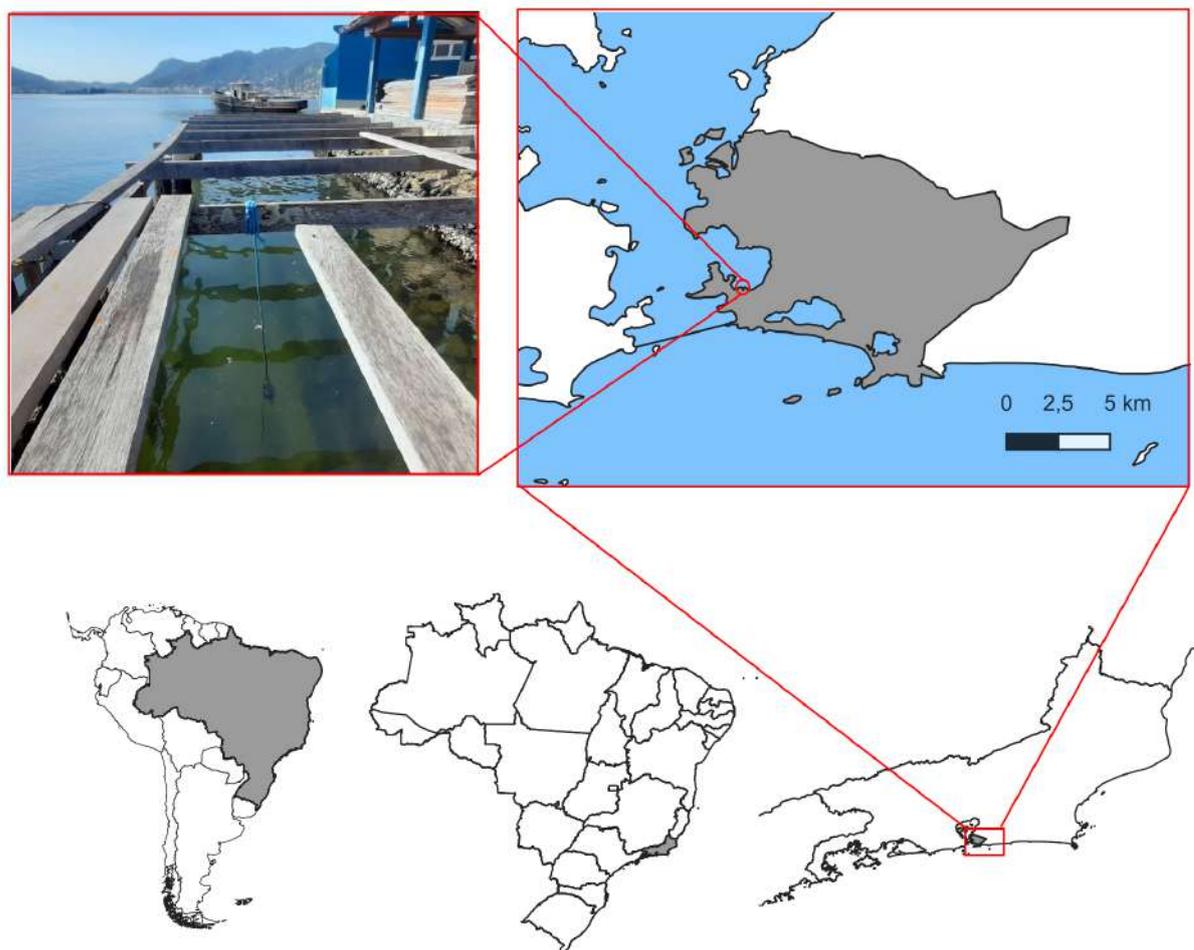


Figura 10: Localização do experimento em Jurujuba, Niterói - Rio de Janeiro, Brasil com foto do experimento no píer do Projeto Grael.

A baía é marcada por suas condições eutróficas, influenciadas tanto por atividades humanas quanto por processos naturais. A eutrofização, evidente em altas cargas de nutrientes e matéria orgânica (VIANA et al., 2019), muitas vezes resulta em florações de algas nocivas e diminuição da transparência da água. O setor nordeste da baía tem é mais poluído, exibindo altos níveis de elementos potencialmente tóxicos, baixo conteúdo de oxigênio, e uma comunidade de foraminíferos bentônicos escassa e de baixa diversidade, dominada por espécies tolerantes ao estresse (DE PAULA et al., 2020). Estudos de longo prazo revelam um declínio constante na biodiversidade de macroalgas nos últimos 200 anos, refletindo mudanças negativas nas assembleias de macroalgas devido à crescente degradação ambiental (CHAVES et al., 2018).

É nessa região de troca que fica situado o bairro de Jurujuba, em Niterói, onde o experimento foi realizado. Esse bairro é conhecido pela comunidade pesqueira, atividade importante socioeconomicamente para os moradores, mas que assim como toda a baía de Guanabara, sofre com o despejo de esgoto in natura, descarte de materiais provenientes de embarcações e aporte de lixo doméstico advindo do sistema fluvial que desemboca na baía (FISTAROL et al., 2015). No sedimento na Enseada de Jurujuba já foram encontrados elementos como Zinco, Cobre, Cobalto, Níquel e Chumbo (BAPTISTA NETO; DA SILVA, 1996), o que é preocupante para as principais atividades realizadas: pesca e turismo.

O experimento foi montado em um píer nas instalações do Projeto Grael, como mostra a Figura 10, um local de fácil acesso que permitiu manutenções constantes no experimento. Uma corda de 1,5 m foi amarrada do píer ao pote de incubação, onde o experimento ficou submerso à cerca de 1 metro da superfície, dependendo da variação da maré. A profundidade do local escolhido foi de 2,5 m da superfície ao fundo. Devido à facilidade de acesso, foi possível realizar limpezas quinzenais nos potes de incubação para retirar incrustações e permitir uma maior troca de água com o ambiente, assim como manutenções necessárias após tempestades e condições climáticas adversas.

4.1.5 Experimento no laboratório

Amostras de MP foram incubadas em laboratório em uma estufa (modelo EL202/3 da Eletrolab) à 25°C e expostas à radiação luminosa acoplada na porta da estufa por fotoperíodo de 12 horas. Para a incubação foram utilizados beakers de borossilicato transparentes e 500 ml de água ultrapura (MiliQ tipo 1) ou água do mar filtrada. Os tratamentos que não foram expostos à luz tiveram os beakers totalmente cobertos com papel alumínio. Três tratamentos foram monitorados: água ultrapura (UP), água do mar filtrada e água do mar filtrada com fotoperíodo. Além desses, houve o controle, que consistiu em manter os MPs em local seco e escuro à temperatura de 20°C. A água de todos os beakers foi trocada quinzenalmente ao longo de todo o experimento.

4.2 Coleta e preparo de amostras

As coletas foram realizadas, no primeiro mês, quinzenalmente e posteriormente foram feitas com um mês de intervalo entre elas. Em todas as coletas cerca de 10 MPs de cada uma das 4 réplicas foram coletados para os três tipos de polímeros. Nas amostras in situ houve uma variação de amostras coletadas por período de tempo, porque houve algumas

perdas nos potes de incubação durante o experimento e seguiu-se coletando 10 de cada réplica.

Após a coleta, as amostras foram preparadas como indicado no fluxograma da Figura 11. Para as amostras coletadas em laboratório, o processo de lavagem foi realizado com água UP e um vórtex por 30 segundos na velocidade máxima repetindo este processo por três vezes e descartando a água da lavagem.

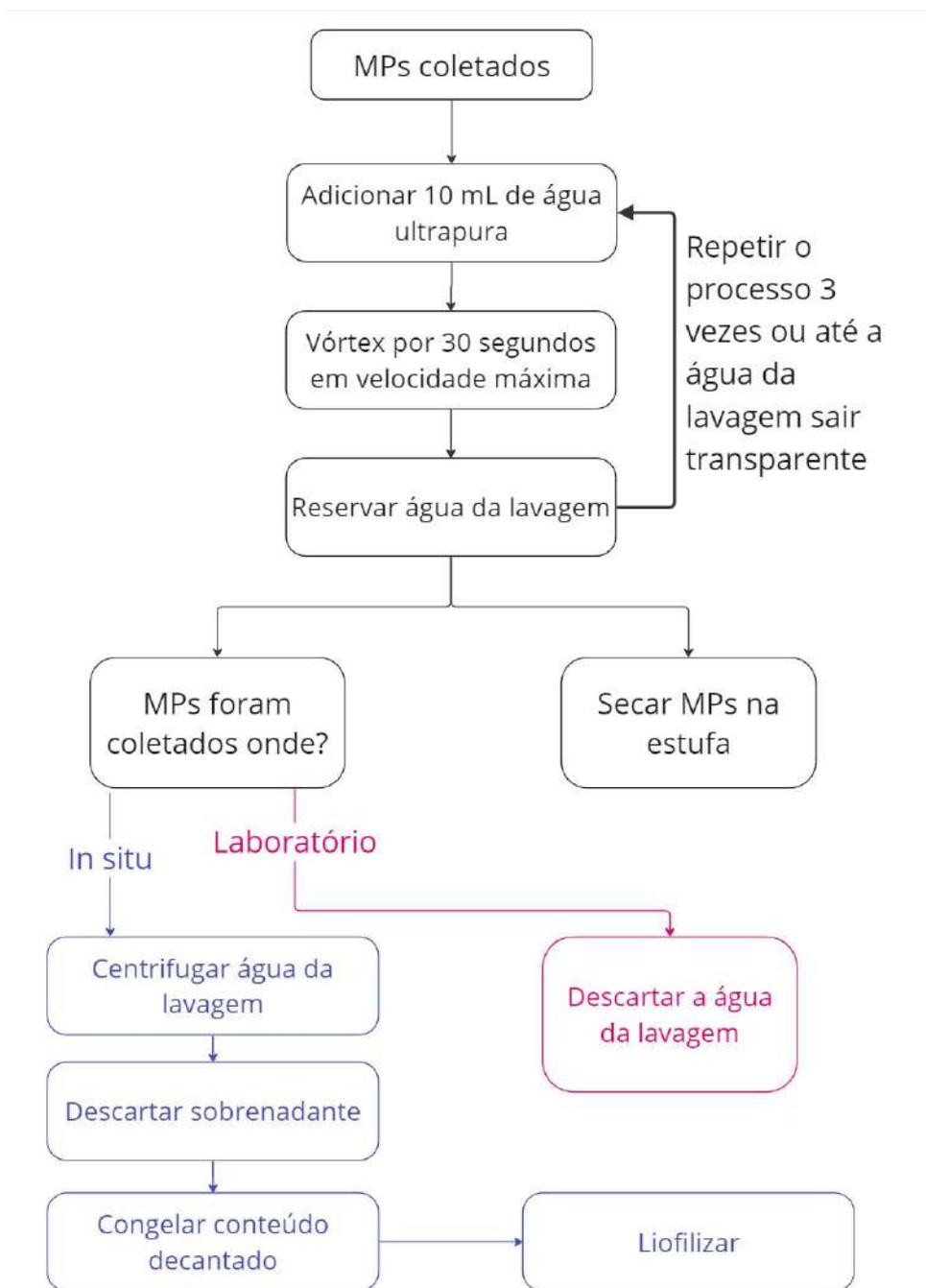


Figura 11: Fluxograma detalhando o preparo das amostras após a coleta.

Como nas amostras *in situ* houve o crescimento de biofilme, elas foram lavadas mais vezes, para minimizar o sinal do biofilme nas análises dos plásticos. A lavagem ocorreu com água UP e 30 segundos no vórtex até que a água saísse transparente. A água da lavagem contendo o biofilme foi centrifugada por 15 minutos à 2000 rotações por minuto (rpm) na Centrífuga Hettich - Universal 320, o material sobrenadante foi descartado e o material sedimentado foi congelado por 24h e em seguida liofilizado. Após a limpeza os MPs foram secos na estufa à 60°C por 48 horas e armazenados em local escuro com temperatura de 20°C até o momento da análise.

4.3 Análises das amostras

As amostras coletadas após serem lavadas e secas passaram por análises distintas (Figura 12) para a avaliação da degradação ocorrida nos tempos de exposição aos tratamentos. A primeira análise realizada foi a análise visual, onde foram fotografadas 10% do total de amostras. A segunda análise foi a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), onde todas as partículas de plástico foram analisadas.

Do total de partículas amostradas, 10% dos MPs, passaram pela espectrometria de massa de razão isotópica (EA-IRMS). Algumas amostras selecionadas passaram pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliação da degradação superficial das partículas. Nas subseções seguintes as técnicas serão descritas com detalhes.

4.3.1 Análise Visual

Com o auxílio de um estereomicroscópio binocular Micos Austria, modelo MZ1240 (Figura 13), uma câmera e com o programa Microvisible Image Analyzing Software imagens foram capturadas de 10% das amostras. Estas foram escolhidas de maneira aleatória, uma vez que a exposição aos tratamentos pode não resultar nas mesmas mudanças físicas em todas as partículas, tendo variação de cor e texturas entre elas.

4.3.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) acoplada a um acessório de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) permite caracterizar a composição química dos plásticos, sendo uma técnica simples e não destrutiva. Esta análise consiste na interação de um feixe de infraver-

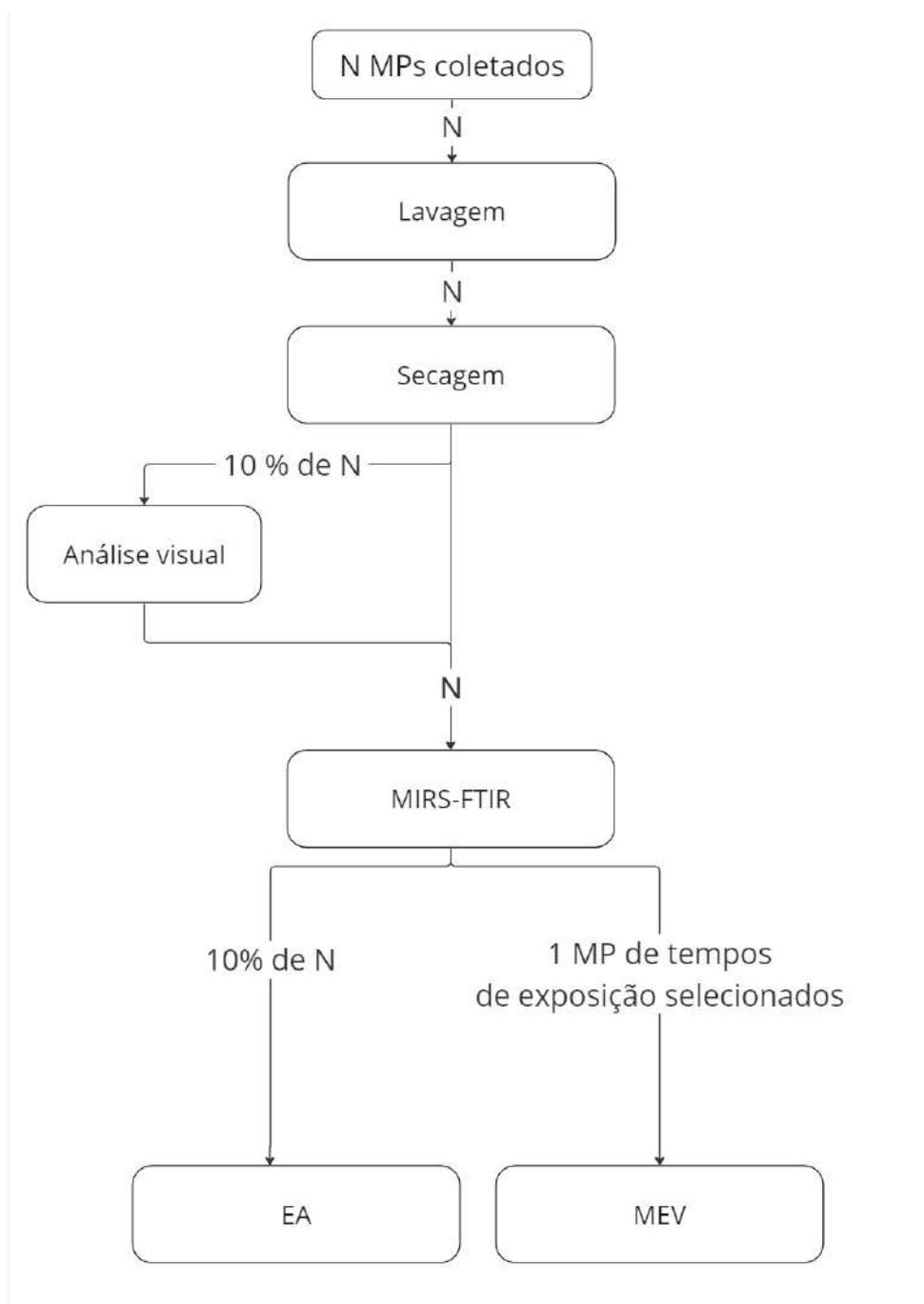


Figura 12: Fluxograma detalhando a ordem das análises que as amostras passaram, sendo N o número total de amostras por coleta.

melho médio e a superfície da amostra, onde a amostra irá absorver parte desse espectro e outra parte será transmitida para um detector. Com a radiação infravermelha detectada, é possível aferir a vibração molecular através das frequências faltantes que foram absorvidas pela amostra, resultando em um interferograma. Por meio de uma transformada de Fourier esse interferograma é convertido para um espectro de absorbância em função do número de onda.



Figura 13: Micros Austria, modelo MZ1240 com câmera acoplada. Foto por Pedro Henrique Andrade

O espectro de absorvância apresenta picos ligados às vibrações das ligações moleculares que os compõem. Para caracterizar uma amostra basta comparar as bandas de absorção do espectro obtido com as assinaturas específicas de cada polímero, encontradas/obtidas na literatura. Na tabela 2, pode-se encontrar as bandas para os polímeros estudados. Percebe-se que o polietileno de baixa densidade e o de alta densidade tem bandas muito parecidas e por isso experimentalmente é difícil distingui-los, por isso utilizaremos apenas a classificação de polietileno. Para ser possível confirmar a composição da amostra, é necessário que todas as bandas de caracterização deste polímero estejam presentes no espectro gerado.

Com essa técnica é possível avaliar as mudanças estruturais do polímero antes e depois do processo de degradação. O aparecimento de novos picos no espectro de absorção do infravermelho, como a formação de compostos carbonílicos e o alongamento das ligações C//C são características da degradação microplástica (PAOLI, 2009; BRANDON; GOLDSTEIN; OHMAN, 2016).

As medidas desse estudo foram realizadas com o FTIR modelo Tensor II da marca Bruker juntamente com o acessório ATR-FTIR (Figura 14) e o software OPUS, também da Bruker. Utilizamos a janela de aquisição de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, combinando 16 varreduras

Tabela 2: bandas de absorções dos polímeros utilizados no estudo. Modificado de (JUNG et al., 2018).

| Polímero | Bandas de absorção, cm^{-1} |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Polietileno de baixa densidade (PEBD) | 2915, 2845, 1467, 1462, 1377, 730, 717 |
| Polietileno de alta densidade (PEAD) | 2915, 2845, 1472, 1462, 730, 717 |
| Polipropileno (PP) | 2950, 2915, 2838, 1455, 1377, 1166, 997, 972, 840, 808 |
| Poliestireno (PS) | 3024, 2847, 1601, 1492, 1451, 1027, 694, 537 |



Figura 14: MIRS-FTIR mdodelo Tensor II da Bruker com o acessório ATR - Foto por Pedro Henrique Andrade

(scans) individuais a uma resolução de 4 cm^{-1} ; o modo de aquisição foi o Double Sided Foward-Backward e a função de apodização usada foi a Blackman-Harris-3.

A informação de composição das moléculas de amostras adquiridas pela análise de infravermelho alem de ter a funcionalidade de auxiliar na identificação de polímeros, traz informação quanto a formação de radicais relacionados a processos de degradação como a formação do radical carbonila (oxidação da superfície ou biogênico), hidroxila (umidade ou oxidação da superfície) e a ligação carbono-oxigênio (biogênico ou oxidação da superfície) (MADDISON et al., 2023).

4.3.3 Análise Elementar de Isótopos Estáveis

Através da técnica de espectrometria de massa de razão isotópica (EA-IRMS) é possível investigar a fração de isótopos do Carbono nos plásticos nos seus distintos estágios de exposição aos tratamentos. O fracionamento isotópico ocorre naturalmente, em diversos processos físicos ou biológicos, já que os isótopos mais leves, como o ^{12}C , são mais abundantes que os pesados, como os ^{13}C e ^{14}C (BOUTTON, 1991). Neste caso específico, será investigada a proporção de ^{12}C e ^{13}C , tendo em vista que o ^{14}C tem o núcleo instável e por isso é radioativo.

Apesar de possuírem o mesmo número de prótons (Z), a diferença no número de nêutrons (N) é suficiente para implicar em diferenças cinéticas entre interações e reações. Isso implica diretamente no fracionamento, pois em reações, os isótopos mais pesados tendem a ficar sempre onde as ligações químicas são mais fortes (BOUTTON, 1991). Utiliza-se o isótopo mais pesado para representar o fracionamento, representado por valores da ordem de 1 parte por 1000 (1‰), que representa um nível trófico. Por exemplo, se ocorre uma diminuição de 1‰ na proporção de ^{13}C em um organismo, esse organismo ficou empobrecido de 1 nível trófico (GIBBS, 2014).

O equipamento utilizado nesse estudo faz parte da infraestrutura do LARA e consiste em um FlashEA2000 com amostrador automático MAS200R, ambos configurados para operar com um IRMS, DELTA V Advantage, produzidos pela Thermo Fisher Scientific Co. O fracionamento dos isótopos é expresso em notação Delta como parte por mil (‰) de um padrão de referência.

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{amostra}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{VPDB}} \cdot 1000 \quad (4.1)$$

A análise de isótopos estáveis de carbono, em estudos de polímeros, é reconhecida como um método confiável para autenticar bioplásticos e distinguir as suas origens, sejam elas à base de bio-material ou petróleo. Isso se deve às suas distintas assinaturas isotópicas, sendo o isótopo de carbono em bio-plásticos menos negativo do que em plásticos convencionais. No entanto, é importante considerar que, durante o processo de degradação, ocorre a oxidação dos polímeros. Este fenômeno pode ser iniciado por ação da luz, interação com a molécula de H_2O ou por enzimas, levando a uma cisão na cadeia polimérica. Este processo resulta na produção de compostos carbonílicos de menor peso molecular, como esteres, ácidos e aldeídos. Neste estudo, pretendemos avaliar se este processo de degradação também impacta na proporção entre o ^{12}C e o ^{13}C nos microplásticos

(LIANG et al., 2013).

Neste estudo utilizou-se o padrão internacional Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB), como é possível observar na equação 4.1.

É necessário configurar uma sequência de injeção das amostras no equipamento em cápsulas de estanho. No LARA utiliza-se a seguinte sequência: uma amostra padrão interna de ureia, uma cápsula de estanho vazia para medir o fundo, três padrões de referência, dez amostras, três padrões de referência, dez amostras e novamente os três padrões de referência. Os padrões são repetidos no início, meio e final da sequência para serem usados de referência para a configuração do TCD (Detector de Condutividade Térmica) e garante a confiabilidade dos resultados. Os padrões mostrados na Tabela 3 foram escolhidos para ter uma janela de valores de $\delta^{13}C$ que compreenda os valores para as amostras em estudo.

Tabela 3: Padrões utilizados nas amostras analisadas

| Código | Empresa fornecedora | Matriz | $\delta^{13}C$ (‰) |
|----------------------|---------------------|---------|--------------------|
| Ureia | Thermo | Ureia | - 41,30 ± 0,04 |
| CAS 57- 13-6 | Indiana University | Uréia | -34,13 ± 0,03 |
| IAEA-600 | IAEA | Cafeína | - 27,77 ± 0,04 |
| USGS65 - CAS 56-40-6 | Indiana University | Glicina | -20,29 ± 0,04 |

Todas as amostras e padrões utilizados foram pesados em balança de precisão (Figura 15), sendo colocados em cápsulas de estanho $0,30 \pm 0,03$ mg. Foi necessário cortar com um bisturi as amostras de MPs, utilizando a parte mais externas delas para avaliar a degradação superficial das partículas.

4.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foi utilizada a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para comparar as mudanças morfológicas nas amostras em tempos diferentes de exposição aos tratamentos (TER HALLE et al., 2017). O equipamento utilizado foi o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Tescam Amber do Laboratório de Microscopia de Alta Resolução (La-Mar) da Universidade Federal Fluminense. Este possui uma coluna de íons focalizados de Gálio (FIB), coluna FEG (canhão de emissão de campo), detector de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e de difração de elétrons retroespalhados (EBSD). Para fazer essa análise foi necessário cobrir a superfície das amostras com uma camada de 10 nm de Ouro.

A MEV foi utilizada para investigar alterações em pequena escala na superfície de plásticos desgastados pelo tempo. Analisamos 4 partículas de PE sendo uma sem ser



Figura 15: Cápsula de estanho na balança de precisão

exposta aos tratamentos, uma coletada em Arraial do Cabo após 112 dias de exposição, uma coletada após 140 dias de exposição na baía de Guanabara e um PE que ficou exposto apenas na água UP por 140 dias.

4.4 Tratamento dos dados

4.4.1 Processamento dos espectros de absorvância

Os espectros de absorvância do infravermelho médio (Figura 16) gerados pela FTIR junto ao Software OPUS da Bruker necessitam de alguns ajustes para melhorar a qualidade do espectro, diminuindo ruídos.

Portanto, foi utilizado o intervalo entre 400 e 4000 cm^{-1} , além disso, a função de Baseline Correction do software, faz a correção da linha da base do espectro, alinhando com o zero e ressaltando os picos de interesse. A função Water-Compensation também foi aplicada a todos os espectros para corrigir o nível da água e do dióxido de Carbono presentes naturalmente na atmosfera, baseando-se nos modelos físicos que estimam a quantidade de gases atmosféricos no espectro de Single-Channel (BRUKER, 2014).

Com os ajustes realizados, os espectros estão aptos a serem integrados para gerar o índice de Carbonila. Para isso, foi utilizado o Quasar, um software livre de machine learning e visualização de dados (TOPLAK et al., 2021). Foi criado um script (Figura 17)

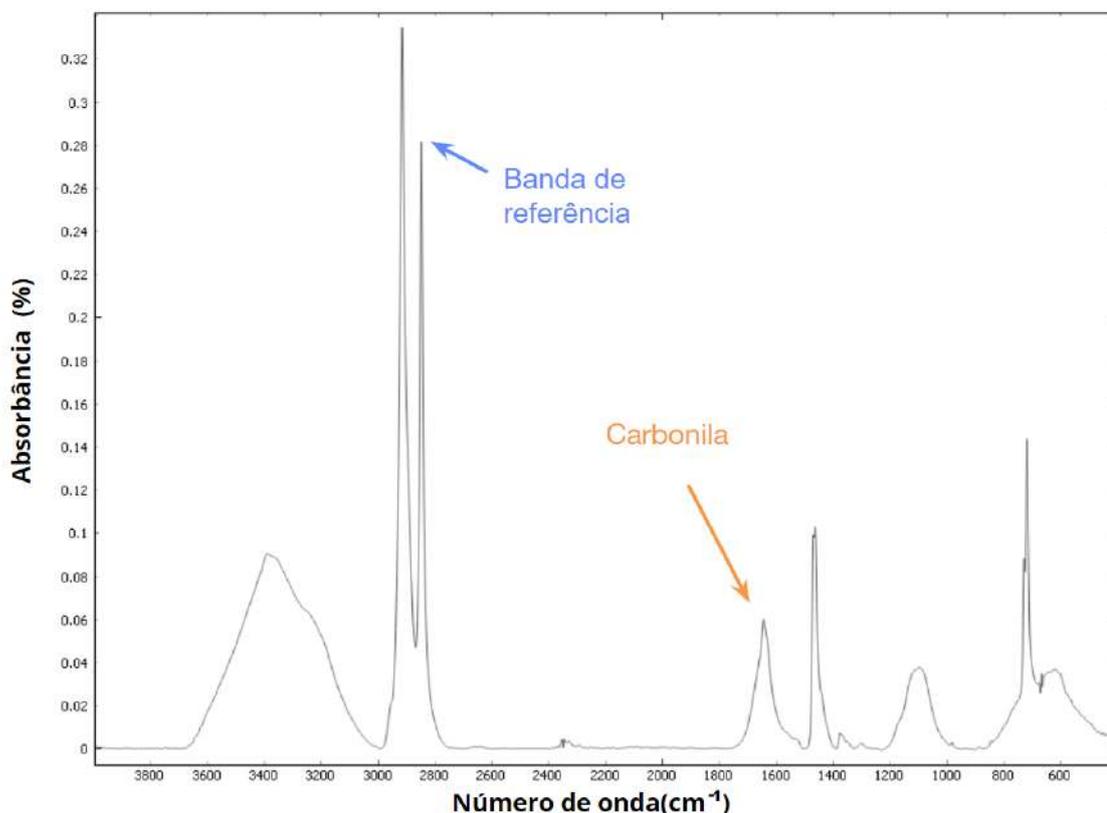


Figura 16: Espectro de absorvância de um PE com 140 dias de exposição na baía de Guanabara.

que recebe os espectros separados por tipo de polímero, tempo de exposição e tratamento, cria um espectro médio dos polímeros e também gera uma tabela desses dados. Nesse script tem dois passos para a integração, o primeiro integra o pico de carbonila, de 1500 até 1780 cm^{-1} e retorna os valores em uma tabela, enquanto o segundo passo retorna os valores da integração do pico de referência do polímero: 683 a 708 cm^{-1} , centrado em 694 cm^{-1} para o PS e 2820 a 2870 cm^{-1} centrado em 2845 cm^{-1} para o PE e centrado em 2838 cm^{-1} para o PP.

Com as áreas dos picos integrados, é possível calcular o Índice de Carbonila (I_C) a partir da razão entre a área do pico de carbonila ($A_{carbonila}$) e a área do pico de referência (A_{ref}):

$$I_C = \frac{A_{carbonila}}{A_{ref}} \quad (4.2)$$

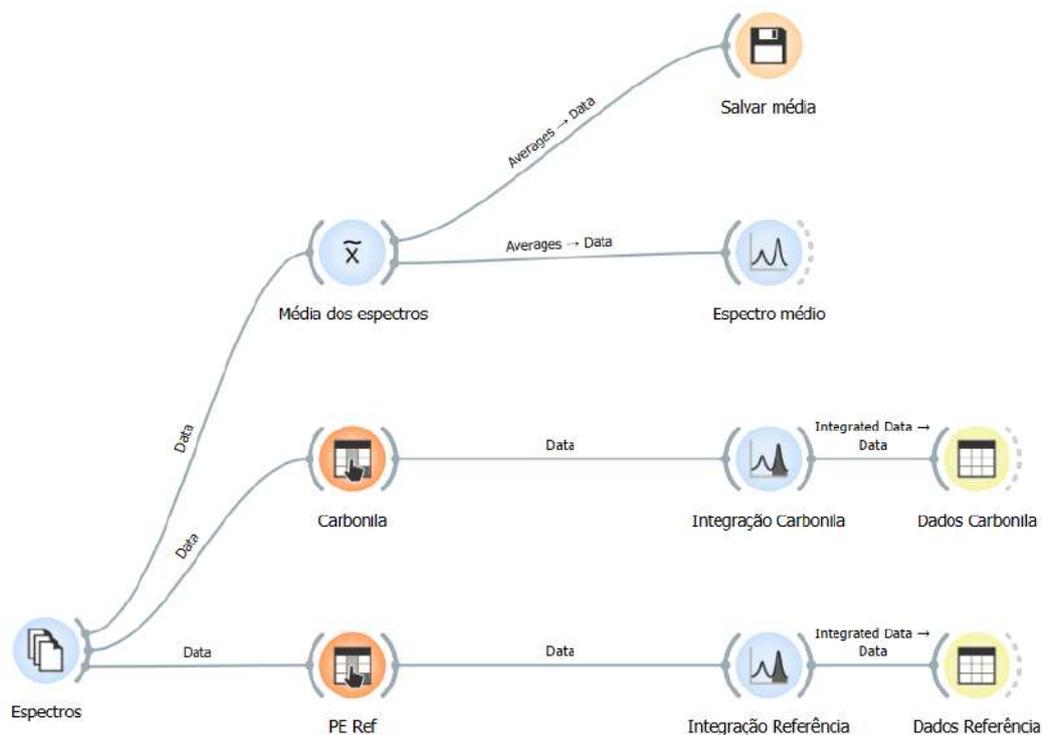


Figura 17: Script utilizado no Quasar para integrar os espectros.

4.4.2 Análise estatística dos dados

Os dados quantitativos foram avaliados sua normalidade e posteriormente passaram por testes de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey-Kramer para verificar a existência de diferença significativa estatística entre os grupos analisados e testes de correlação. Essas análises foram aplicadas no software de análise estatística Prism 8 do GraphPad.

5 Resultados

5.1 Massa de biofilme

As quantidades de biofilme coletadas pela limpeza dos MPs, detalhada no Capítulo 4 podem ser visualizadas na Figura 18. Ocorreu um aumento de biofilme em todos os polímeros analisados, sendo o crescimento mais expressivo para o PP na Baía de Guanabara (12,68 mg), seguido do PS (4,03 mg) no mesmo ambiente. O PE exibiu um comportamento diferente dos restantes MPs na Baía de Guanabara, onde houve um pico de maior intensidade de biofilme (10,83 mg) em 84 dias de exposição e reverteu para um valor inferior (2,38 mg) na coleta seguinte.

Em Arraial do Cabo também houve o aumento do biofilme para todos os polímeros analisados, mas de forma significativamente menor. Para o PE em Arraial do Cabo não houve massa de biofilme recuperada da limpeza para 112 dias, por isso o dado não consta no gráfico.

5.2 Avaliação morfológica

5.2.1 Estereomicroscópio

As imagens produzidas com o auxílio do microscópio óptico permitiram a observação das alterações físicas nos MPs. Ao examinar as amostras coletadas em Arraial do Cabo (Figura 19), tornou-se evidente um fenômeno marcante: um aumento gradual no amarelamento proporcional ao tempo de exposição ao ambiente marinho.

Uma observação interessante foi realizada nos MPs de máscaras cirúrgicas fabricadas com PP: uma clara separação dos fios que compõem o tecido não tecido (TNT), material utilizado na produção das máscaras.

Na Baía de Guanabara, durante o processo de exposição ao tratamento, as amostras

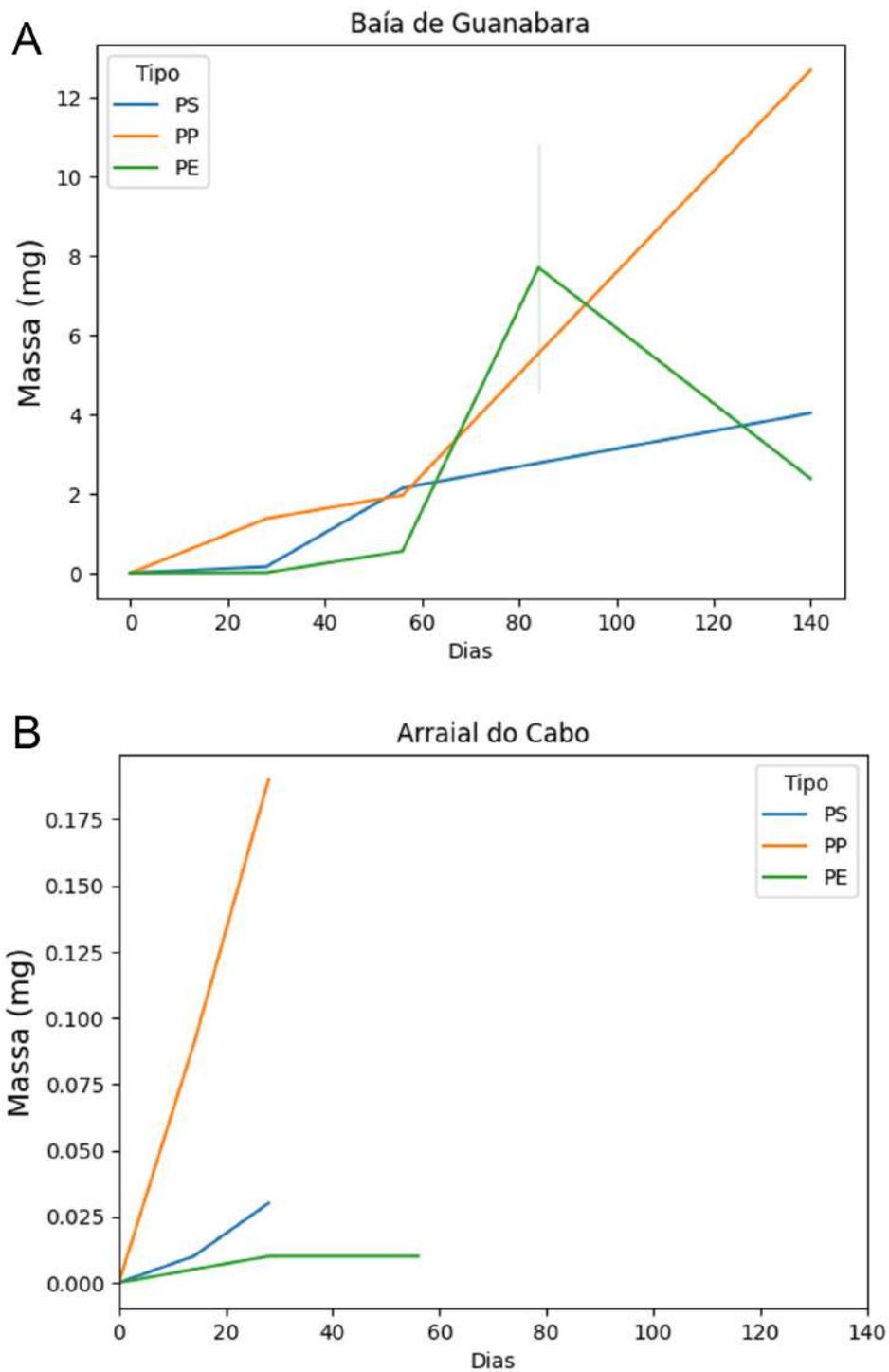


Figura 18: Massa de biofilme por unidade de MP observada para Baía de Guanabara (Figura A) e para Arraial do Cabo (Figura B).

gradualmente adquiriram uma tonalidade âmbar, revelando uma mudança visível em sua aparência (Figura 20). Ao contrário das amostras de Arraial do Cabo, que mantiveram uma coloração uniforme, na Baía de Guanabara surgiram manchas.

Além disso, um fenômeno interessante foi observado: a formação de estruturas de

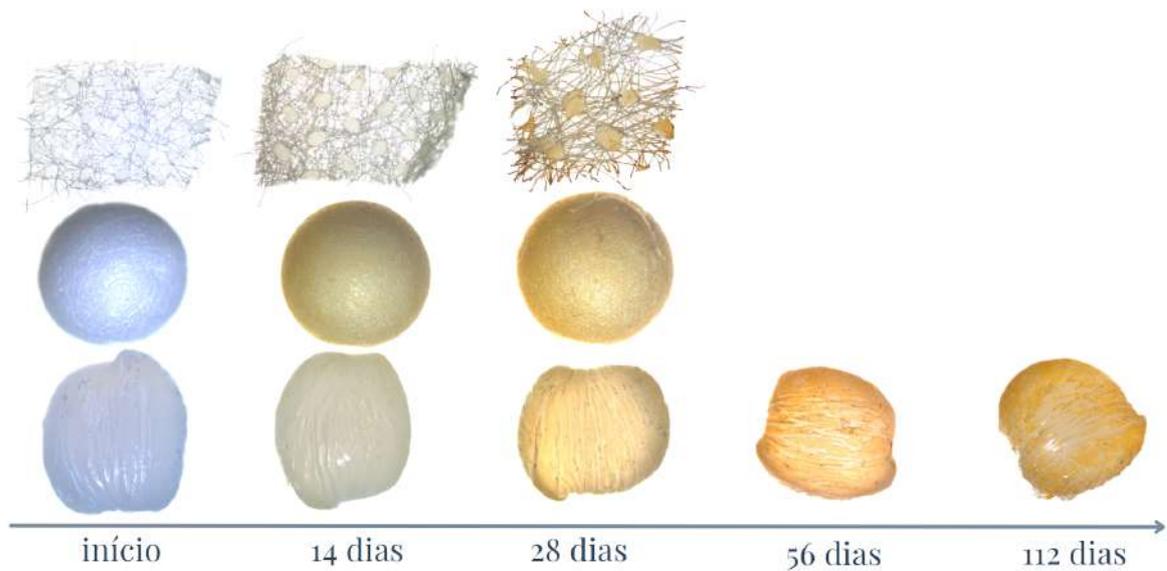


Figura 19: Os três polímeros analisados, de cima para baixo: PP, PS e PE, fotografados em tempos diferentes de exposição em Arraijal do Cabo.

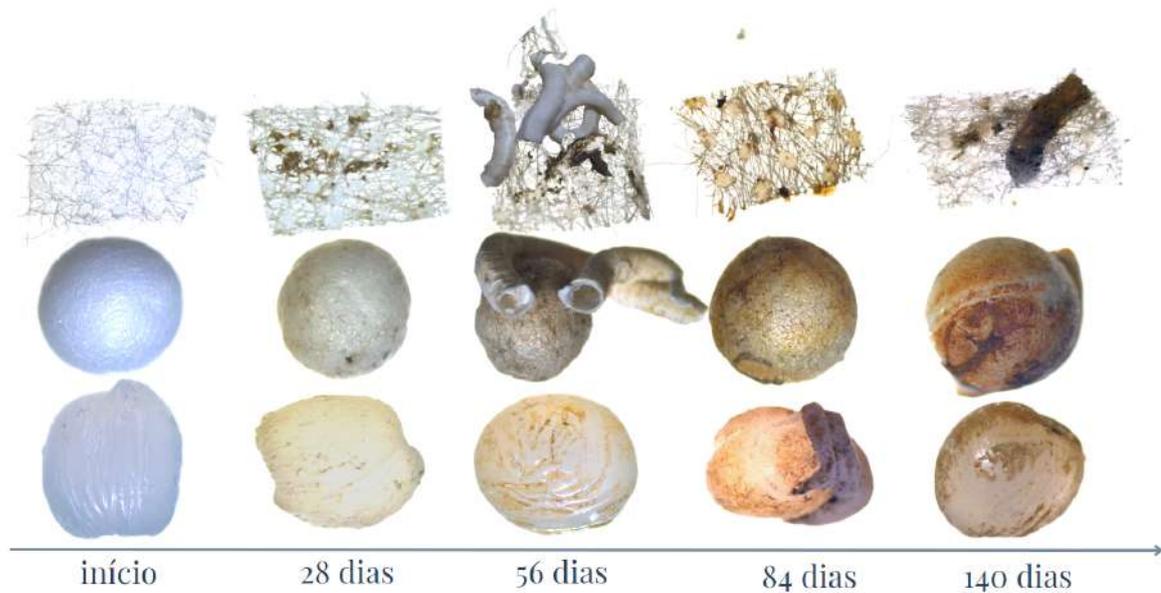


Figura 20: Os três polímeros analisados, de cima para baixo: PP, PS e PE, fotografados em tempos diferentes de exposição na Baía de Guanabara

Carbonato de Cálcio em todos os polímeros estudados. Essas estruturas, embora presentes em diferentes quantidades e em tempos variados de exposição, representam um aspecto relevante a ser considerado na compreensão dos processos de degradação dos polímeros na Baía de Guanabara.

5.2.1.1 Formação de aglomerados

Durante o experimento, foi observada formação de aglomerados de MPs. Esses aglomerados surgiram como resultado da interação complexa entre os MPs e as formações de carbonato de cálcio, cuja origem está associada à atividade dos poliquetas presentes no ecossistema da Baía de Guanabara. Ao longo do período de exposição das amostras, essas formações se agregaram aos MPs, criando estruturas distintas e observáveis a olho nu.

O processo de formação desses aglomerados teve evolução notável ao longo do tempo do experimento (Figura 21). Inicialmente, as formações de carbonato de cálcio começaram a ser detectadas apenas nas amostras de poliestireno (PS) após 14 dias de exposição. No entanto, nas coletas subsequentes, após 28 dias de experimento, já era possível observar essas formações também nas amostras de polipropileno (PP) e polietileno (PE), mas forma mais moderada.

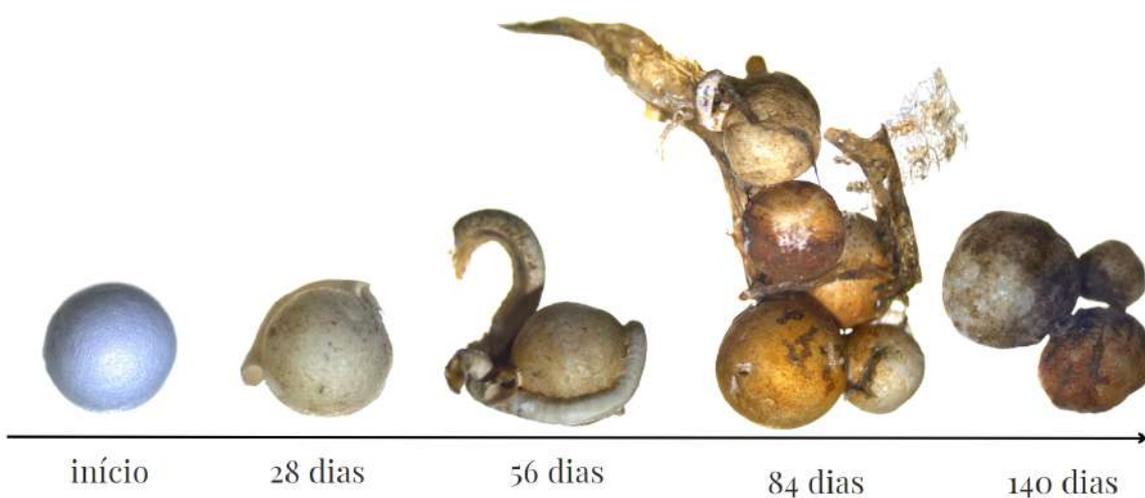


Figura 21: Evolução temporal de aglomerados de MPs no experimento da Baía de Guanabara.

Com o avanço do experimento, os aglomerados tornaram-se mais evidentes e robustos. Após 56 dias, aglomerados de maiores começaram a se formar, embora fossem frágeis e propensos a se desintegrar durante a manipulação no laboratório. No entanto, à medida que o tempo de exposição se estendia, os aglomerados se fortaleciam. Após 84 dias, eles já envolviam outros tipos de plásticos presentes no pote de incubação e suportavam manipulações mais intensas no laboratório, embora ainda se soltassem um do outro durante o processo de limpeza das amostras.

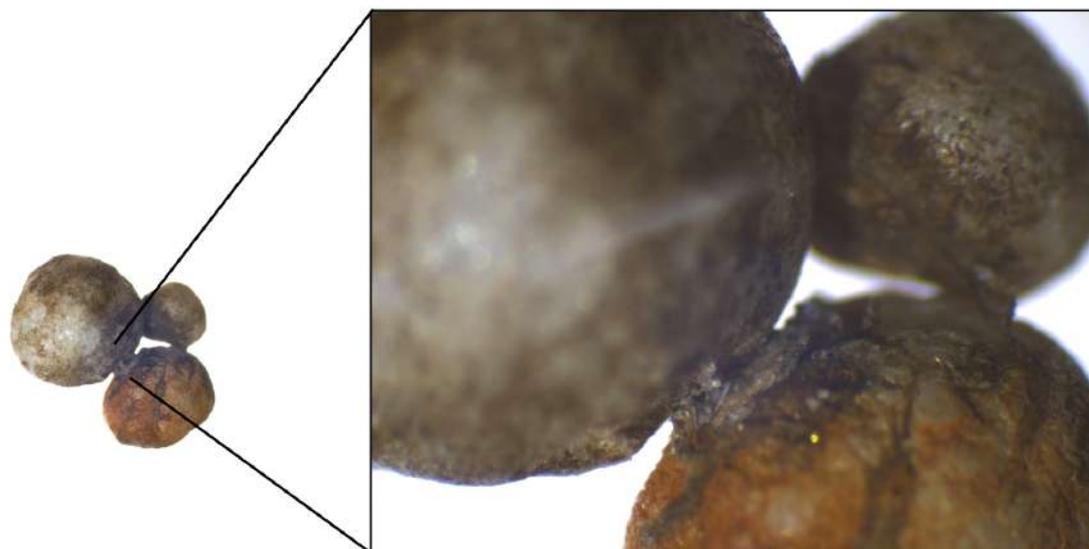


Figura 22: Aglomerado de MPs de PS extraídos do experimento da Baía de Guanabara com 140 dias de exposição.

Ao atingir 140 dias de experimento, os aglomerados haviam atingido um estágio avançado de desenvolvimento. Alguns MPs estavam fortemente ligados através de uma camada de carbonato de cálcio (Figura 22), exigindo o uso de pinças para separá-los durante as análises laboratoriais.

5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

Com o MEV foi possível obter imagens de pellets de PE (Figura 23) que não foram expostos ao tratamento, que foram expostos aos experimentos *in situ* em Arraial do Cabo e na Baía de Guanabara por 112 e 140 dias, respectivamente e foram incubados em laboratório na água ultrapura no escuro.

No MP que não foi exposto aos tratamentos é possível notar uma superfície mais lisa e uniforme nas duas ampliações. Na amostra coletada em Arraial do Cabo é possível notar uma camada disforme de biofilme cobrindo-a quase completamente (Figura 23 C), mas mais zoom em um local descoberto (Figura 23 D) encontram-se ranhuras na superfície do plástico.

No MP proveniente da Baía de Guanabara (Figura 23 E e D) é possível observar ranhuras maiores e mais profundas na superfície polimérica, com alguns aglomerados de biofilme. No PE que foi exposto à água ultrapura no escuro (Figura 23 G e H) dá para

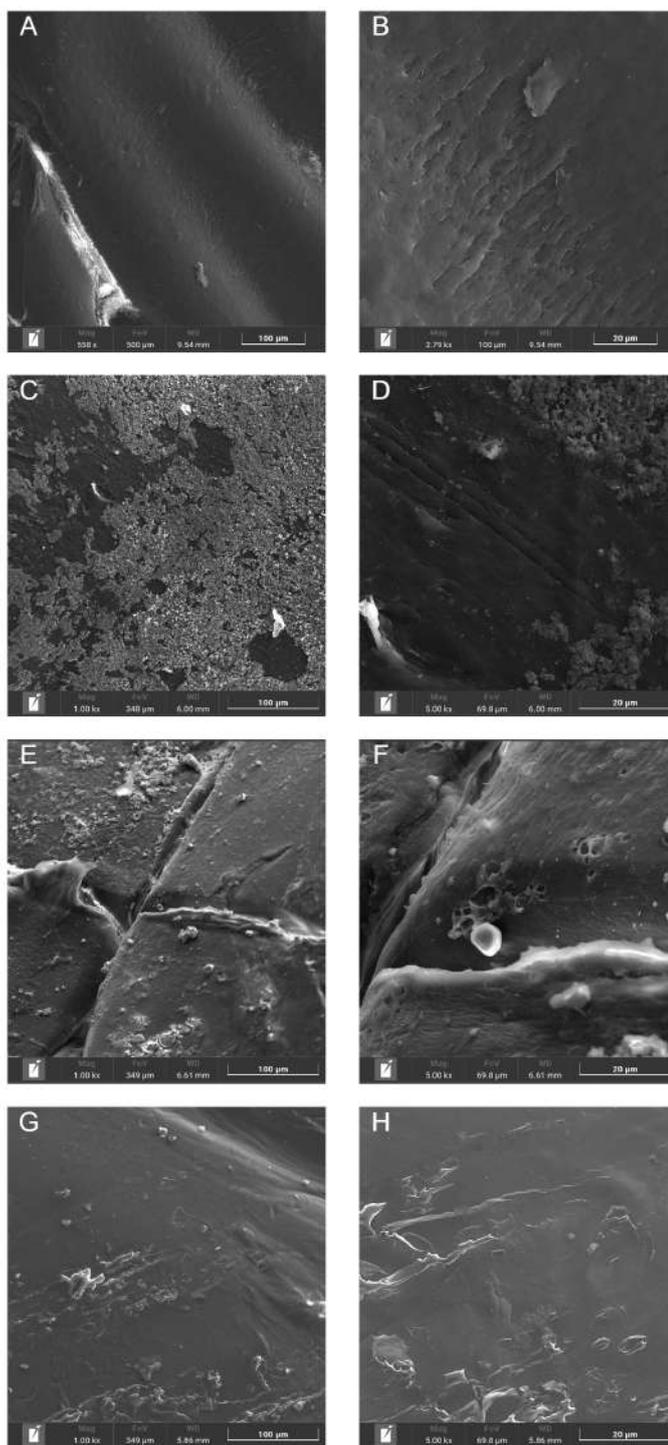


Figura 23: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de: PE antes do experimento (A e B), PE coletado com 112 dias em Arraial do Cabo (C e D), PE coletado com 140 dias na Baía de Guanabara (E e F) e PE exposto ao tratamento de água ultrapura por 140 dias (G e H).

notar rugosidades na superfície do material.

5.3 Índice de carbonila

O Índice de Carbonila revelou um aumento consistente para todos os microplásticos (MPs) ao longo dos experimentos, conforme evidenciado na Figura 24.

Na Baía de Guanabara, o PE demonstrou o maior índice e variância em 86 dias de exposição, seguido por um decréscimo no índice na coleta subsequente. Este declínio pode sugerir uma possível estabilização na taxa de oxidação do PE após um período inicial de exposição mais intenso. Por outro lado, o PP na mesma região apresentou um crescimento constante ao longo do tratamento, indicando uma contínua oxidação do material ao longo do tempo. Quanto ao PS, observou-se um aumento até o dia 68, seguido por um declínio até 140 dias.

Em Arraial do Cabo, tanto o PP quanto o PS exibiram comportamentos similares, com um aumento nos índices de carbonila até o dia 28, quando o experimento foi interrompido. Isso indica uma rápida oxidação dos polímeros durante o período inicial de exposição. Por outro lado, o PE apresentou um padrão oscilatório até 58 dias, seguido por um aumento significativo a partir dessa coleta.

No ambiente controlado do laboratório, todos os polímeros inicialmente apresentaram um comportamento similar nos primeiros 28 dias de exposição, caracterizado por oscilações no índice de carbonila. No entanto, a partir do dia 86, observou-se um aumento significativo no índice de carbonila do PP, que continuou a aumentar até o final do experimento, alcançando os maiores índices de carbonila registrados nos experimentos.

Por outro lado, na água do mar sob luz e na água ultrapura no escuro, o polietileno (PE) apresentou um padrão similar de crescimento progressivo do índice de carbonila até o dia 112, seguido de uma estabilização, permanecendo constante após esse período. No entanto, na água do mar no escuro, o comportamento do PE divergiu dos resultados anteriores. Observaram-se três flutuações distintas, caracterizadas por picos máximos no índice de carbonila, que atingiram valores de até 10.

Para o PS exposto à água marinha com um ciclo de luz de 12 horas, foi notado um modelo oscilatório, com uma queda inicial a partir do dia 14, seguida por um crescimento no dia 68 e outra queda no dia 112. Contudo, o índice retomou sua ascensão a partir do dia 168, tanto na água marinha quanto na água ultra pura, ambas sem exposição à

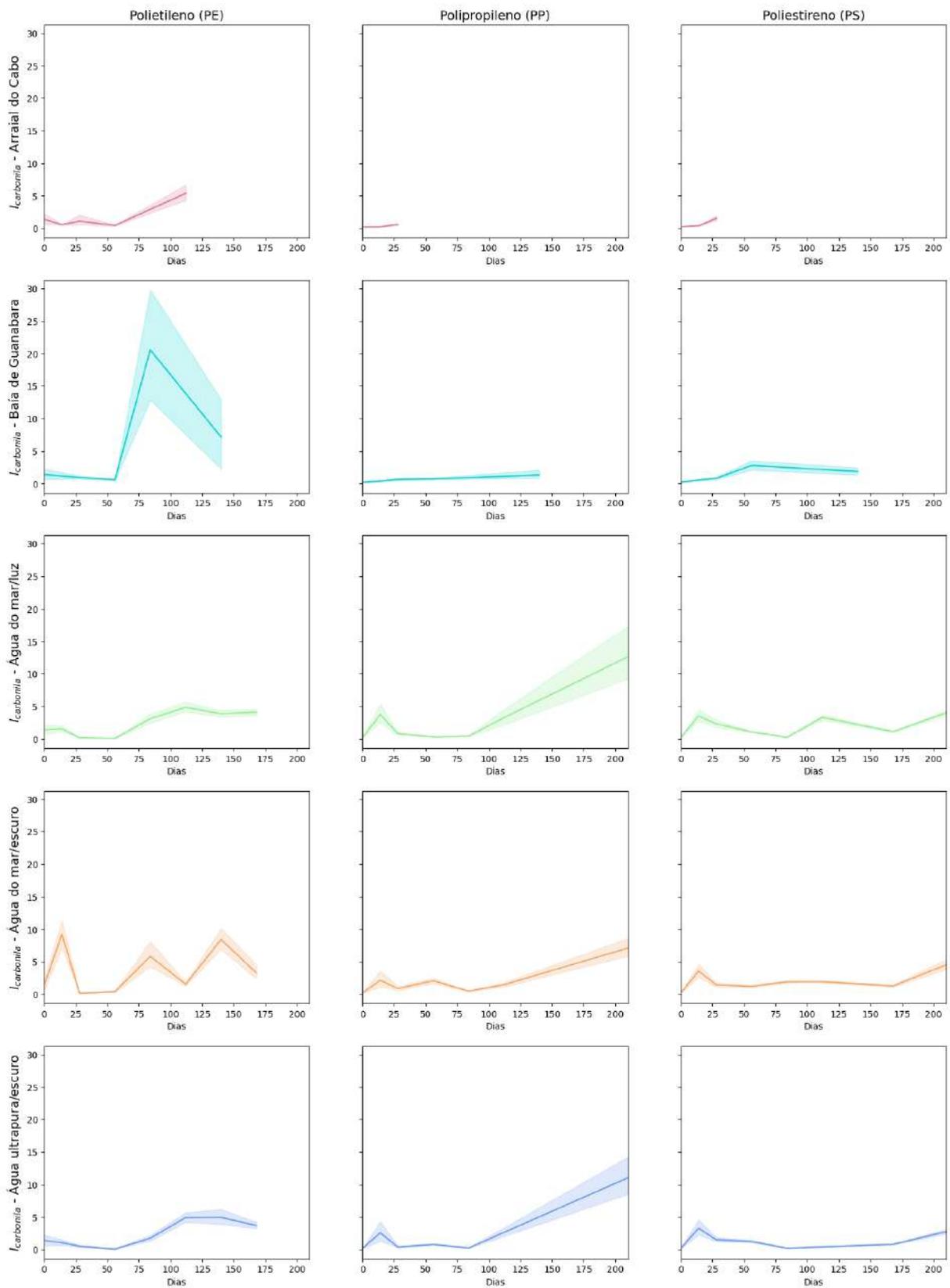


Figura 24: Índice de carbonila ao longo da exposição aos tratamentos.

iluminação.

Através da aplicação da técnica de regressão linear (ilustrada nas Figuras 25 e 26), foi possível investigar se o índice de carbonila apresenta uma variação similar para os mesmos polímeros nos diferentes tratamentos experimentais. Os resultados revelam uma tendência positiva consistente em relação ao tempo para todos os polímeros em todos os tratamentos.

5.4 Isótopos estáveis do Carbono

O resultado das análises de isótopos estáveis do carbono revelou um fenômeno de empobrecimento de ^{13}C , resultando em valores mais negativos de $\delta^{13}\text{C}$ no final do experimento de degradação do PE e PS, enquanto o PP manteve um valor próximo ao inicial em todos os tratamentos (Figura 27).

Na Baía de Guanabara o PE apresentou uma variância grande no primeiro mês de experimento (dia 14 e dia 28), apresentando média de valores de ^{13}C menos negativos do que o inicial. No entanto, conforme o experimento progrediu, os valores decresceram. O PP e o PS se comportaram de forma semelhante neste ambiente, tendo uma variação positiva em 28 dias e depois com os valores ficando mais negativos.

Em Arraial do Cabo, a análise dos isótopos estáveis do carbono revelou padrões distintos de variação desde o início do experimento. Tanto o PE quanto o PS apresentaram uma tendência de valores negativos de $\delta^{13}\text{C}$ desde o dia 14. Por outro lado, o PP mostrou uma variação positiva nos valores de $\delta^{13}\text{C}$.

No laboratório, o comportamento do PE apresentou um acréscimo positivo no $\delta^{13}\text{C}$ no dia 14, mas em sequência houve a diminuição desse mesmo parâmetro, sendo que apenas no tratamento de água do mar no escuro houve outra oscilação no dia 84, onde o $\delta^{13}\text{C}$ ficou mais positivo, no entanto, na coleta seguinte o $\delta^{13}\text{C}$ volta a ficar mais negativo.

O PP foi o polímero que manteve o $\delta^{13}\text{C}$ com menor variação no final do experimento, mas isso não impediu de ter oscilações durante o período de incubação. Na água do mar com luz, em 84 dias, houve uma oscilação de praticamente 4 $\delta^{13}\text{C}$, no mesmo tempo também houve uma queda para o tratamento na água do mar no escuro e houve uma variância grande para o tratamento de água ultrapura no escuro, que antes, no dia 56, sofrera uma queda também de 4 $\delta^{13}\text{C}$.

Já o PS apresentou o mesmo comportamento quando exposto à água de mar com luz e

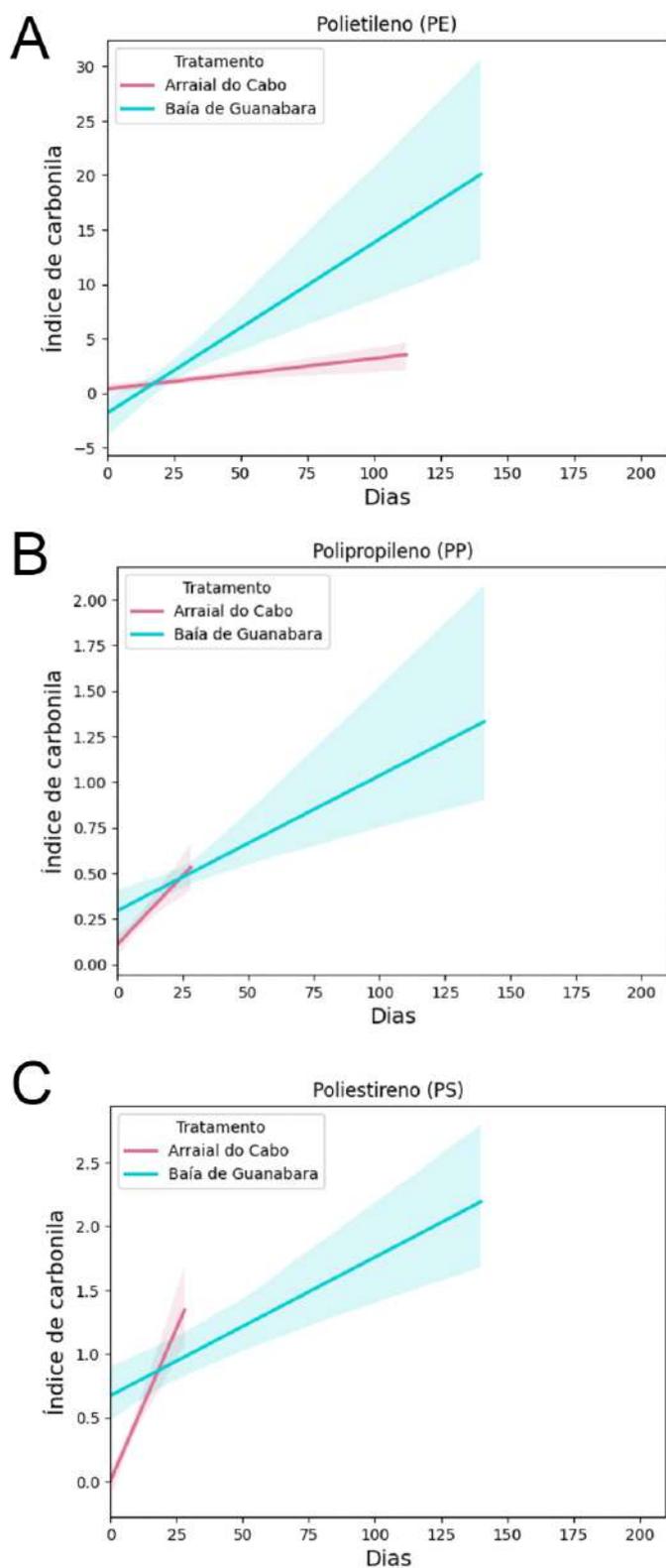


Figura 25: Regressão linear do índice de carbonila para os experimentos in situ.

à água ultrapura no escuro: três oscilações de valores mais negativos. A primeira ocorreu antes do dia 56, que se seguiu a segunda oscilação até o dia 168 e posteriormente houve

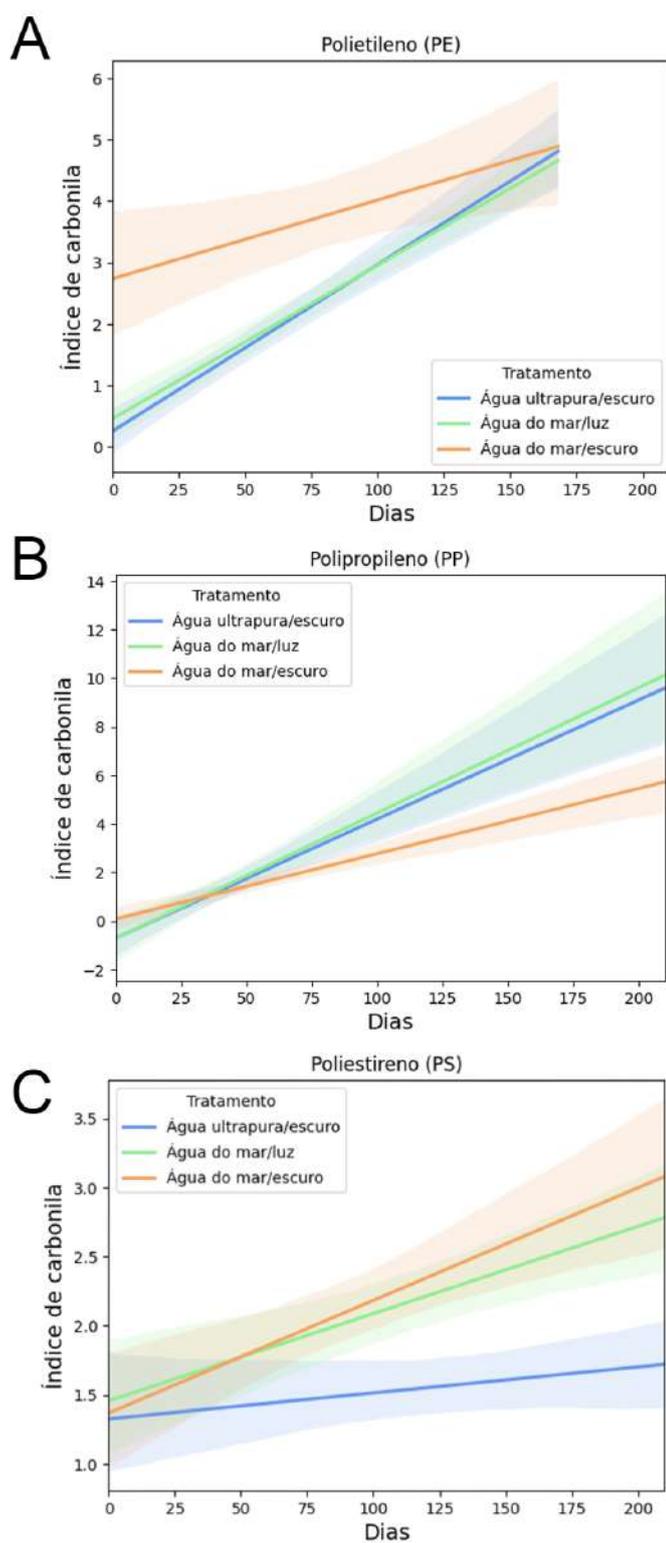
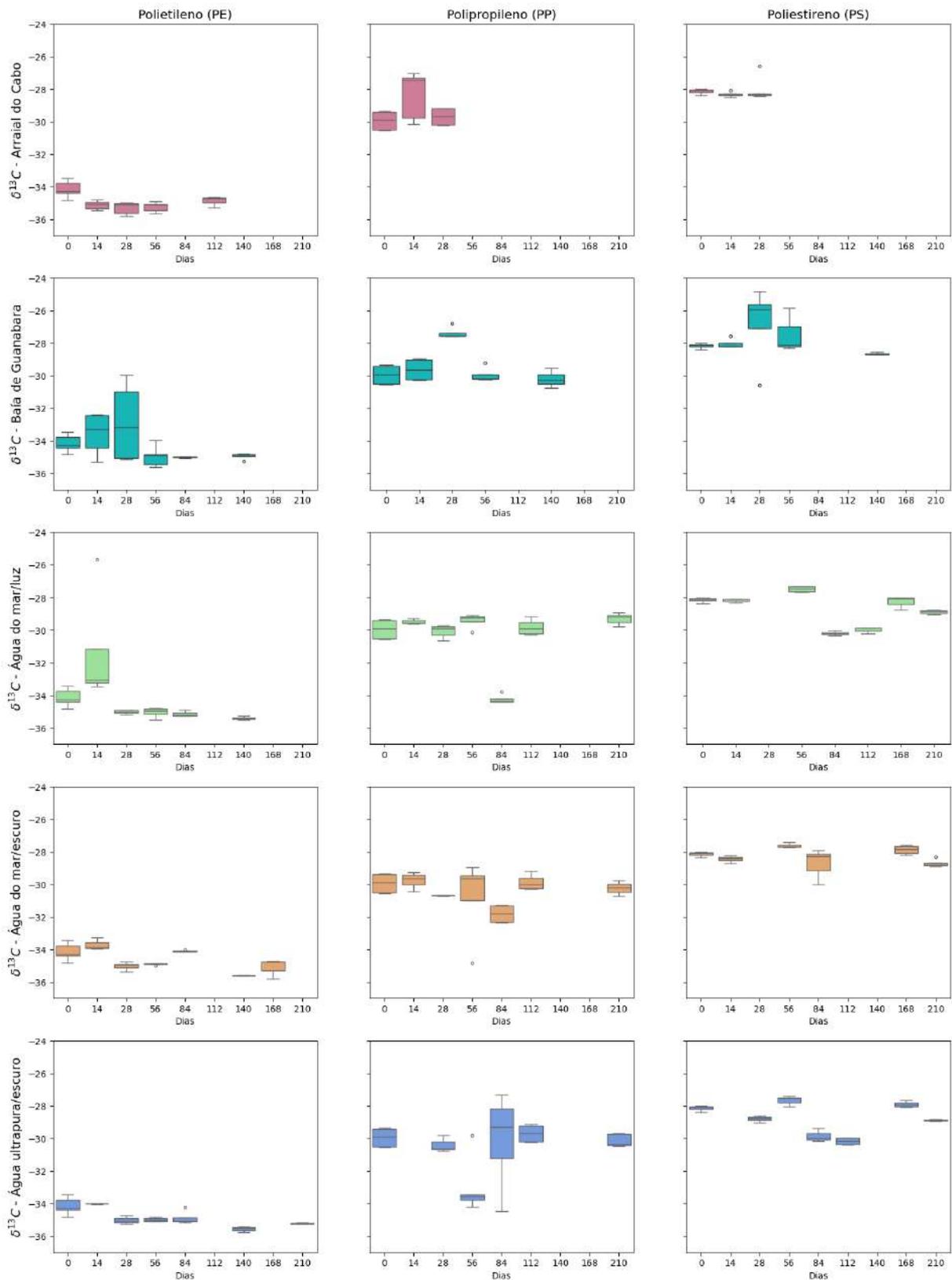


Figura 26: Regressão linear do índice de carbonila para os tratamentos em laboratório.

um valor mais negativo na última coleta. No tratamento de água do mar e escuro o $\delta^{13}\text{C}$ se manteve mais constante, sem variações grandes.

Figura 27: $\delta^{13}C$ ao longo da exposição aos tratamentos.

Para compreender melhor a tendência do $\delta^{13}C$ da degradação dos MPs in situ (Figura 28) e em laboratório (Figura 29) foi feita uma regressão linear com os dados. Fica claro

que na Baía de Guanabara para todos os polímeros o $\delta^{13}\text{C}$ fica mais negativo, para o PE a inclinação -0,0100 seguido de -0,0028 e -0,0020 para o PS e o PP respectivamente. Para Arraial do Cabo, temos o PE com uma inclinação negativa (-0,0073) e PP e o PS com inclinações positivas de 0,0226 e 0,0018. Para ambos os tratamentos in situ, apenas o PE apresentou $p < 0,05$, sendo então estatisticamente significativo.

Para os tratamentos em laboratório o PE apresenta uma tendência negativa, sendo mais intenso no tratamento de água do mar com luz (inclinação de -0,0146), enquanto a regressão para os tratamentos de água do mar no escuro (inclinação de -0,0068) e água ultrapura no escuro (inclinação de -0,0560).

O PP apresentou regressões pouco significativas, devido às diversas flutuações dos resultados, tendo como regressão significativa uma inclinação de -0,0108 para o tratamento de água do mar e escuro. Já o PS apresentou mais inclinações negativas, mas apenas o tratamento de água do mar com luz obteve significância estatística com uma inclinação de -0,0049.

5.4.1 Correlação do fracionamento isotópico com a formação de carbonila

Neste estudo, foi avaliada a correlação entre os índices carbonila e $\delta^{13}\text{C}$ por meio de regressões lineares (Figura 30). Foram notáveis as tendências nos experimentos conduzidos em ambientes marinhos, principalmente para os polímeros PE e PP, que relacionam o aumento do índice carbonila com o enriquecimento de ^{13}C . Esses resultados corroboram com estudos anteriores que atribuem tal comportamento à presença do biofilme ou à degradação preferencial de carbono mais leve ^{12}C (BERTO et al., 2017). No entanto, nos experimentos de laboratório, foi observada a tendência inversa. Os momentos de maiores índices de degradação foram acompanhados por valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos, principalmente para o PE.

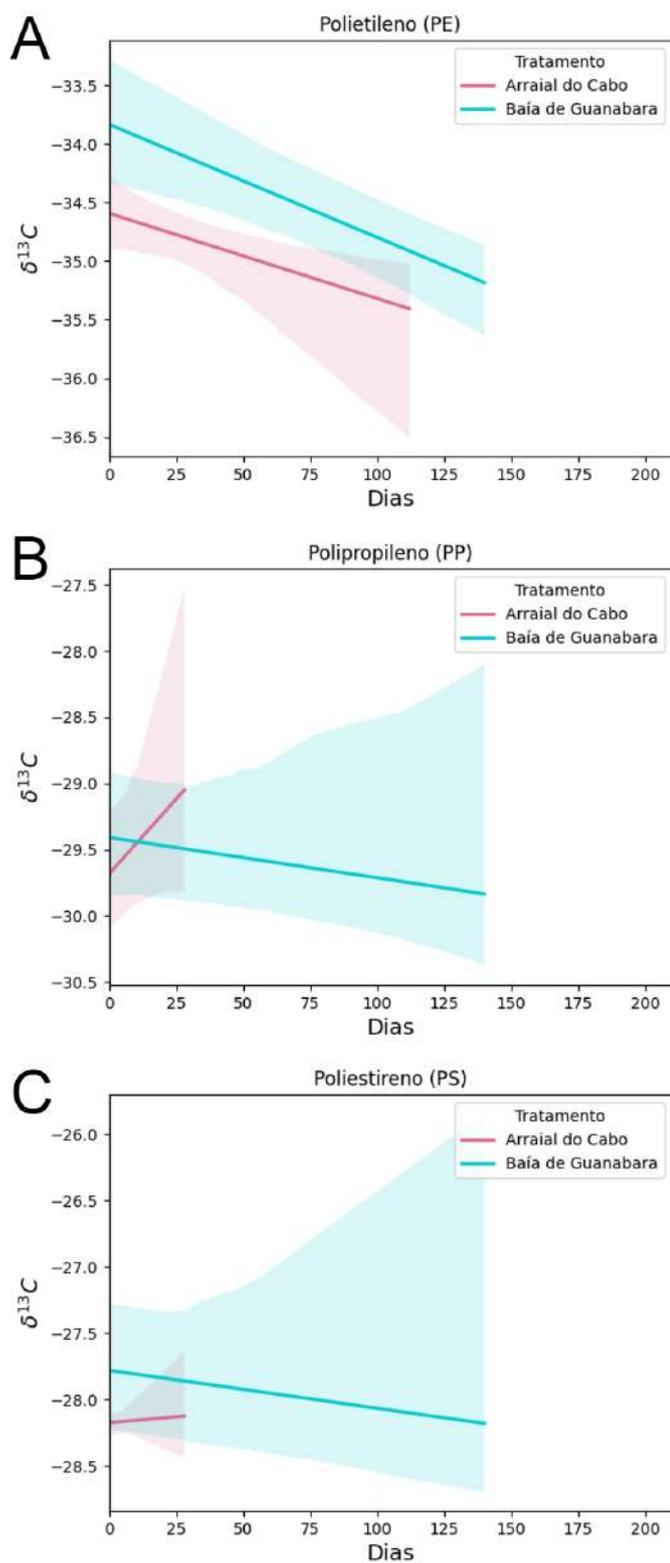


Figura 28: Regressão linear dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo da exposição aos tratamentos para os experimentos in situ.

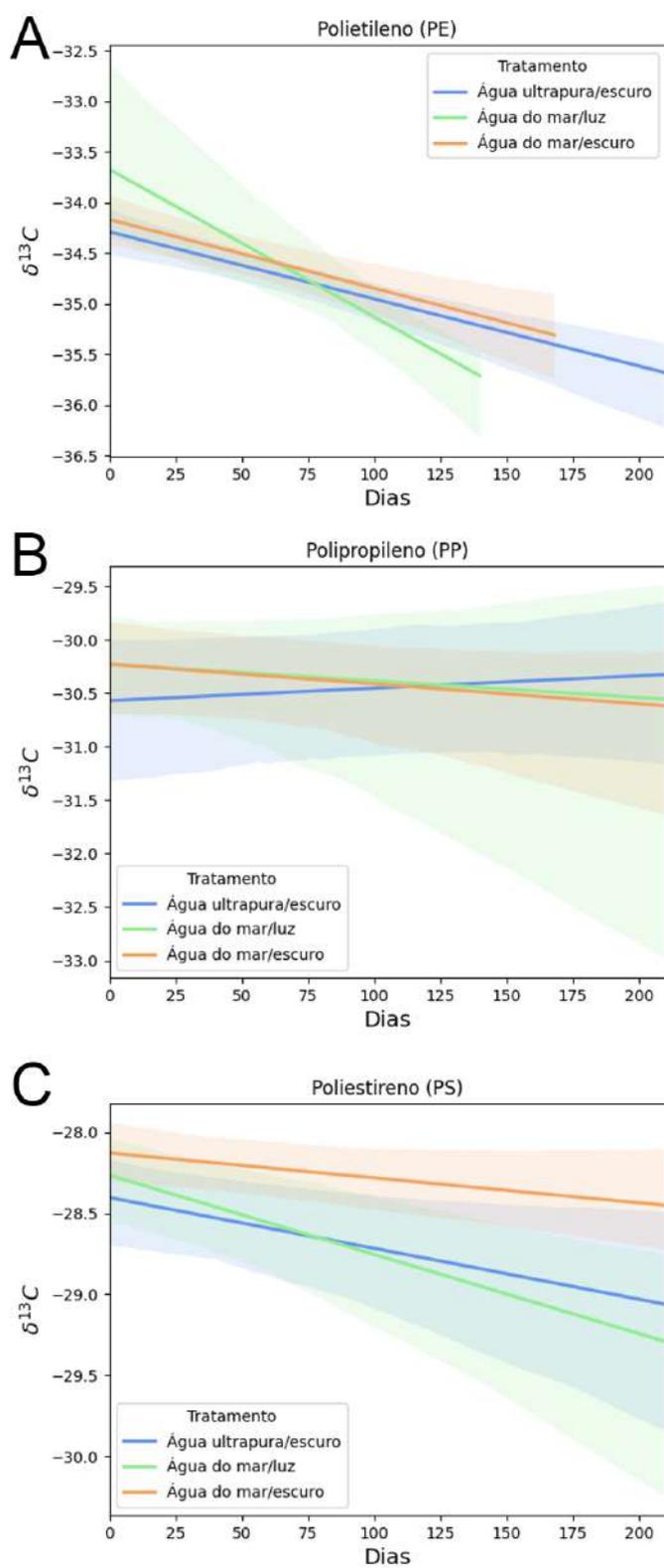


Figura 29: Regressão linear dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo da exposição aos tratamentos para os experimentos em laboratório.

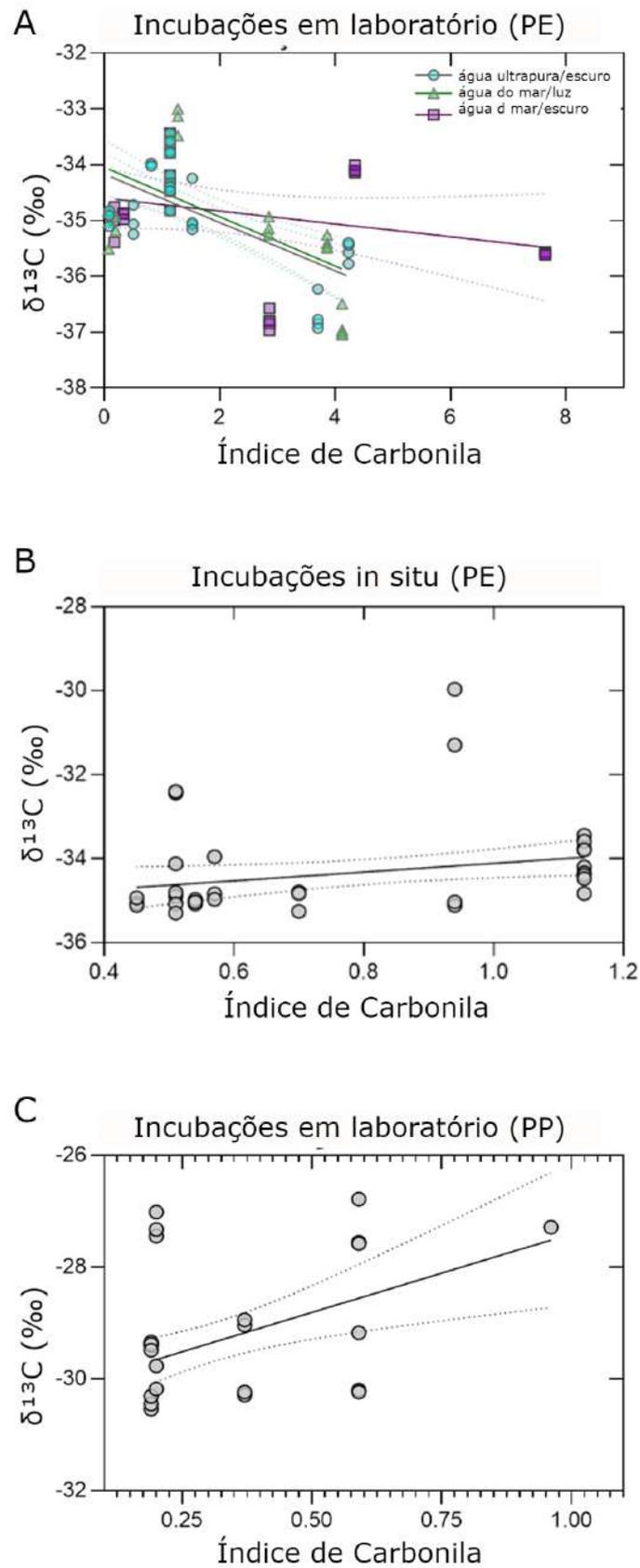


Figura 30: Correlação entre índice de carbonila e o $\delta^{13}\text{C}$ para o polietileno (PE) e para o polipropileno (PP).

6 Discussão

6.1 Massa de biofilme

O biofilme no presente estudo se refere a plastisfera que engloba componentes bióticos e abióticos formando um ecossistema único e complexo que se forma em microplásticos em vários ambientes. É caracterizado por comunidades microbianas distintas que diferem das do ambiente circundante e são influenciadas por uma série de fatores ambientais. Esse conjunto de interações tem implicações para o ciclo biogeoquímico, invasão microbiana e potencialmente a degradação dos plásticos. Representa um novo habitat ecológico com diversas funções e é uma área emergente de pesquisa com implicações ambientais significativas (DĄBROWSKA, 2021).

A alta concentração de massa de biofilme nas amostras provenientes da Baía de Guanabara em comparação com as amostras de Arraial do Cabo (Figura 18) pode ser um produto da alta concentração de nutrientes na água, e conseqüentemente uma maior densidade celular, ou até mesmo da distância do experimento com o fundo, que em comparação a Arraial do Cabo esteve muito mais próximo (± 4 m de diferença). Desta maneira organismos que são ativos neste ambiente podem ter influenciado na acumulação de biofilme nos MPs, além da Baía de Guanabara apresentar mais sólidos totais em suspensão e estes poderiam se aderir também a superfície das partículas.

Essa elevada presença do biofilme no ambiente mais poluído sugere que microrganismos e animais do local possam ser mais afetados pela ingestão de MPs do que em áreas mais pristinas, já que o biofilme é um dos fatores que aumentam a ingestão de plástico por organismos (VROOM *et al.*, 2017). Ambos, a textura e a estrutura da superfície dos polímeros são fatores relevantes nas taxas de acúmulo de biofilme e incrustação, pois influenciam a adesão do biofilme e a sucessão da comunidade (KERR; COWLING, 2003; BRAVO *et al.*, 2011). Nesta dissertação, observa-se um acúmulo mais expressivo de material aderido nos microplásticos (MPs) de polipropileno, seguido do poliestireno e, por fim, do polietileno. Este resultado pode ser atribuído à forma das partículas: o polipropileno,

sendo um fragmento de máscara, possui uma malha que atua como uma "armadilha" para partículas e um meio propício para o crescimento de biofilme. Embora o poliestireno seja esférico assim como o polietileno, sua superfície mais rugosa pode facilitar o acúmulo de material.

A presença do biofilme pode ter influenciado diretamente na coloração da superfície dos polímeros, modificando-a temporalmente conforme o crescimento da colônia (Figuras 19 e 20). No plástico ocorre também a alteração dos índices de cristalinidade, onde o material passa a ser opaco com as mudanças químicas ocorridas em sua estrutura, o que implica na mudança visual dos plásticos.

6.2 Avaliação visual

6.2.1 Estereomicroscópio

A mudança de coloração dos MPs revelou um gradiente de cores distintas quando expostos aos diferentes ambientes *in situ*. No local mais preservado foi possível notar um amarelamento das amostras (Figura 19), enquanto no local mais poluído as partículas adquiriam uma coloração âmbar (Figura 20). Há uma relação proporcional entre a coloração e o tempo em que o MP foi exposto ao ambiente. No entanto, deve-se levar em consideração essa diferença vista nos ambientes ao utilizar técnicas que levam apenas a coloração, como o Índice de Amarelamento (YI, do inglês) como estimativa do envelhecimento de um plástico (ABAROA-PÉREZ et al., 2022). Usar esta técnica pode trazer resultados equivocados, uma vez que os MPs âmbar representariam um grupo mais exposto pela classificação do YI, quando, na verdade essa coloração depende do meio em que a partícula fora exposta.

6.2.1.1 Formação de aglomerados

Assim como a presença do biofilme, a existência de Carbonato de Cálcio nas amostras da Baía de Guanabara, notadas visualmente, posteriormente comprovadas por análises de ATR-FTIR discutidas mais profundamente adiante, é mais um indicativo da influência de fatores ambientais específicos, como a presença de organismos biológicos, que desempenham um papel crucial na formação e na evolução dessas estruturas calcárias. Os políquetos que apareceram e agruparam os MPs em grupos maiores podem incorporar moléculas poliméricas sintéticas, que podem ser usados como indicadores da poluição plástica (BI-

RARDA et al., 2021). A construção do seu esqueleto externo de calcário junto com os MPs deu a formação à plasticoglomerados, novo tipo de poluição plástica descrita pela primeira vez em 2014 (PATRICIA L. CORCORAN CHARLES J. MOORE, 2014).

Os plasticoglomerados ou aglomerados de plástico são materiais multicompostos de plásticos e materiais naturais como rochas, madeira e areia que podem se tornar registro geológico do antropoceno (DE-LA-TORRE et al., 2021). Hoje existem quatro tipos distintos dessa formação reportados na literatura: plasticoglomerados, pyroplásticos, plasticrusts e antropoquinas (Figura 31).

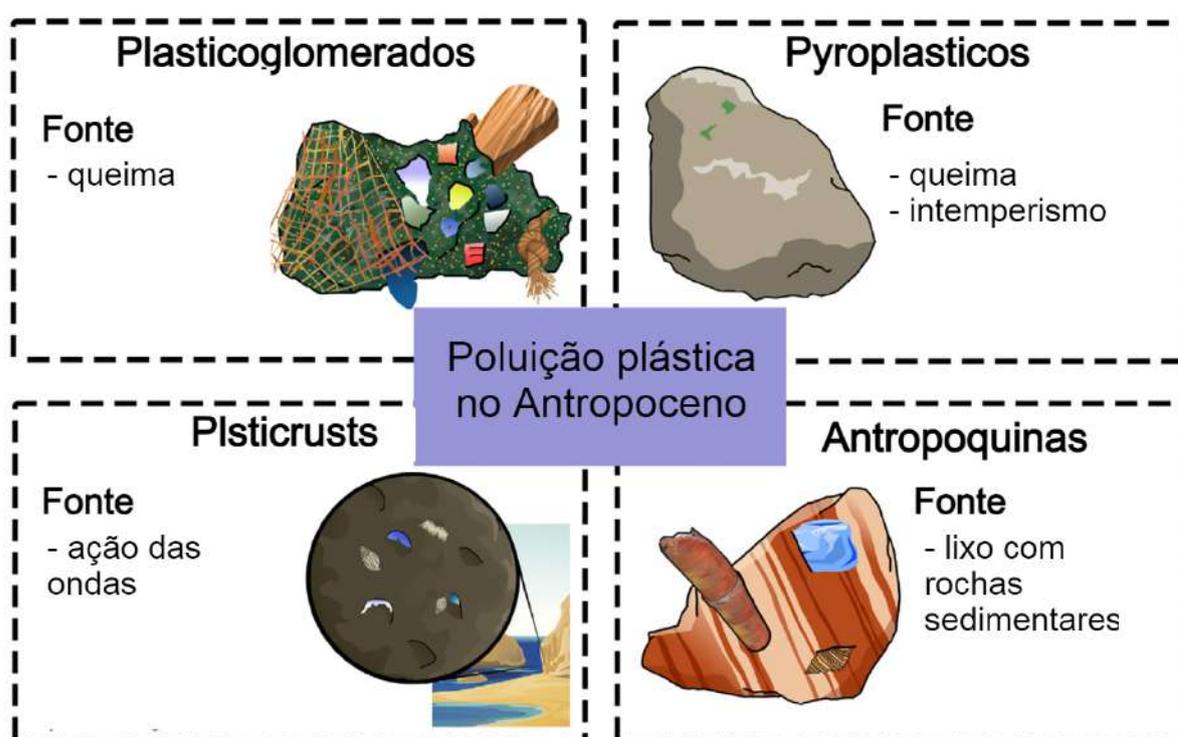


Figura 31: Representação visual e principais fontes das novas formações plásticas descritas na literatura, adaptado e traduzido de (DE-LA-TORRE et al., 2021)

Os plasticoglomerados são uma mistura de plástico derretido, areia, detritos de lava basáltica e matéria orgânica. Eles tem sua origem em atividades humanas, resultado da queima de plástico durante incêndios ou queimas de resíduos. Estes são mais densos tendem a ficar enterrados ou, no fundo, de locais com água. Apesar de serem chamados de "nova rocha", eles não podem ser reconhecidos como tal, visto que são produtos da atividade humana. Eles já foram encontrados nos Estados Unidos, na Indonésia, em Portugal e no Canadá (PATRICIA L. CORCORAN, 2020).

De forma semelhante, os pyroplásticos são formados também a partir da queima e derretimento de plásticos, mas essa é caracterizada por uma cor única e flutuam. Pode

haver uns pontos de cores azul, verde ou cinza e já foram reportados em praias da Inglaterra, Escócia, Irlanda, Espanha, Canadá e no Brasil (TURNER et al., 2019; SANTOS et al., 2022)

Os plasticrust foram reportados pela primeira vez em 2019, encontrados na Ilha da Madeira, em Portugal, e foram descritos como pedaços plásticos incrustados na textura de rochas intertidais que podem persistir ao longo do tempo (GESTOSO et al., 2019).

Criado em 2020, o termo antropoquinas descreve diversos materiais antropogênicos, incluindo o plástico, cimentados em rochas sedimentares, fazendo com que esses objetos sejam conhecidos como tecnofósseis (FERNANDINO et al., 2020).

Os aglomerados foram observados apenas no experimento da Baía de Guanabara (Figuras 21 e 22) e não se adequam em nenhuma das descrições dos tipos de aglomerados já existentes, pois não é formada a partir da queima e derretimento do polímero, não são formadas pela ação das ondas e não estão passando pelo processo de serem cimentadas a rochas sedimentares. O processo de formação desses aglomerados é aliado com o processo de formação biológica do esqueleto de poliquetas, que utilizaram o plástico como um substrato. O crescimento e a persistência desses aglomerados ao longo do estudo mostra que é uma nova forma de poluição plástica que ainda não foi descrita.

Essas descobertas destacam a complexidade dos processos de degradação dos polímeros na Baía de Guanabara, evidenciando a importância de uma investigação detalhada para compreender melhor os impactos ambientais e os mecanismos subjacentes à deterioração desses materiais nestes ambientes.

6.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

O envelhecimento dos plásticos causa alterações na morfologia destes materiais e em escalas de micrômetros é possível observar essas mudanças em pouco espaço temporal (TER HALLE et al., 2017). Assim com nos MPs estudados por Maddison et al. (2023), nas amostras *in situ*, fica clara a incrustação biológica na superfície das partículas. Na amostra proveniente de Arraial do Cabo (Figura 23 C e D) a camada de biofilme se mostra com uma distribuição mais homogênea, enquanto a da Baía de Guanabara (Figura 23 E e F) aparece de forma mais aglomerada em pontos da superfície. Essa distribuição de biofilme está relacionada com a coloração apresentadas na superfície das amostras, sendo as de Arraial uniformemente amareladas (Figura 19) e da Baía de Guanabara (Figura 20) sendo de tonalidade amarela com manchas âmbar e marrom. Esses resultados corroboram com

a literatura, mostrando que o MP degradado fornece um habitat adequado para microrganismos marinhos, possibilitando a ocupação e crescimento de uma complexa colônia no MP (TU *et al.*, 2020; MADDISON *et al.*, 2023).

Fica evidente a maior presença de ranhuras na amostra da Baía de Guanabara. A amostra de Arraial do Cabo apresenta poucas ranhuras quando comparada com os outros dois tratamentos, isso pode ser decorrência da diferença de dias de exposição ao ambiente, mas as condições ambientais também podem influenciado esse resultado, uma vez que foi constatado um maior crescimento de biofilme na Baía de Guanabara, bem como uma maior concentração de sólidos em suspensão. Segundo Maddison *et al.* (2023) estas rugosidades fazem com que a tridimensionalidade da partícula seja aumentada, podendo fazê-la perder material para o meio, diminuindo sua massa e diâmetro e fazendo com que nanoplásticos sejam formados a partir da soltura dessas rugosidades das amostras.

Além disso, foi possível observar uma superfície mais rugosa, com tridimensionalidade aumentada, para o pellet que foi exposto por 140 dias na água ultrapura (Figura 23 H e G) quando comparado ao pellet virgem, antes de ser exposto ao tratamento (Figura 23 A e B). Essa mudança na exposição da água ultrapura não havia sido observada nessas condições e sugere que a hidrólise é um fator importante que resulta nessa mudança morfológica e causa a perda de massa das partículas poliméricas e a formação de nanoplásticos.

6.3 Índice de carbonila

Mudanças químicas na superfície dos polímeros aconteceram, visto que a partir da análise de FTIR todos os MPs tiveram mudanças no seu espectro de absorvância de infravermelho quando comparados aos plásticos antes da exposição aos tratamentos de degradação e aos controles (Figura 24).

Em todas as amostras o pico em, 1645 cm^{-1} (C = O), referente à presença de carbonila, esteve presente e este pico é correspondente à presença de grupos funcionais contendo oxigênio é relacionado tanto à hidrólise, oxidação superficial como também à influência biogênica (MADDISON *et al.*, 2023; TU *et al.*, 2020). No PE é possível notar que há a presença desse pico, mesmo nas amostras antes de serem expostas aos tratamentos, o que não acontece com o PP e PS.

É notável que houve diferença entre a degradação que ocorreu nos experimentos realizados nos ambientes marinhos em relação aos realizados no laboratório. O índice se mostrou mais eficaz para descrever a degradação em polímeros de PE, em questão de

dias de exposição, o Índice de Carbonila apresentou uma variação final maior, indicando processos de oxidação e atividade biológica maior principalmente nos ecossistemas marinhos.

Comparando apenas os tratamentos em condições controladas, é possível aferir que a degradação ocorrida a partir da água ultrapura e no escuro deve-se à hidrólise, já que apenas a água esteve presente neste experimento. Sob essas condições, o PP foi o que mais apresentou o aumento do pico de carbonila, mostrando que esse polímero pode ter uma suscetibilidade semelhante a esse tipo de degradação a partir da água quando exposto à água do mar e luminosidade. Esse resultado mostra um paralelo do resultado para o PET de Stanica-Ezeanu e Danuta Matei (2021), onde a hidrólise é considerada como um fator importante de degradação que deve ser considerado para cálculos de tempo de permanência destes polímeros no ambiente marinho.

Já para o PS a hidrólise não ocasiona mudanças significativas no índice de carbonila. Isso indica que o índice carbonila pode não ser o melhor indicativo de degradação para esse tipo de polímero, uma vez que é esperada uma maior suscetibilidade a oxidação desses polímeros por conta da presença de radicais aromático em seus monômeros (MADDISON et al., 2023). A água do mar produziu efeitos de degradação parecidos no PS, com e sem luz, enquanto para o PE e o PP, houve uma maior degradação na presença de luz. Isso pode ocorrer devido a insaturações na cadeia desses polímeros acidentais, como foi visto no Capítulo 3. Estes resultados corroboram com os de Brandon et al. (2016), que observou degradação em dois polímeros, onde o PP mostrou uma variância maior quando comparado ao PE quando expostos à água do mar no escuro e com fotoperíodos de luz.

As flutuações do índice durante a degradação também pode acontecer devido ao "intemperismo reverso", quando a parte mais degradada do polímero sai da superfície da partícula expondo uma região que ao ser analisada exibe um estágio anterior de degradação, pois essa não ocorre uniformemente em todas as partículas (MADDISON et al., 2023).

6.4 Isótopos estáveis do Carbono

Cada polímero tem a sua própria assinatura de Carbono, resultando em um valor diferente de $\delta^{13}\text{C}$, essa assinatura depende de diversos fatores como a estrutura química, processos de produção e origem dos materiais utilizados em sua síntese. Esta assinatura é independente da cor do plástico (BERTO et al., 2017). Como existem variações de abundâncias

isotópicas diferentes para os mesmos tipos de polímeros, na Figura 32 é possível observar as assinaturas dos três polímeros utilizados neste estudo.

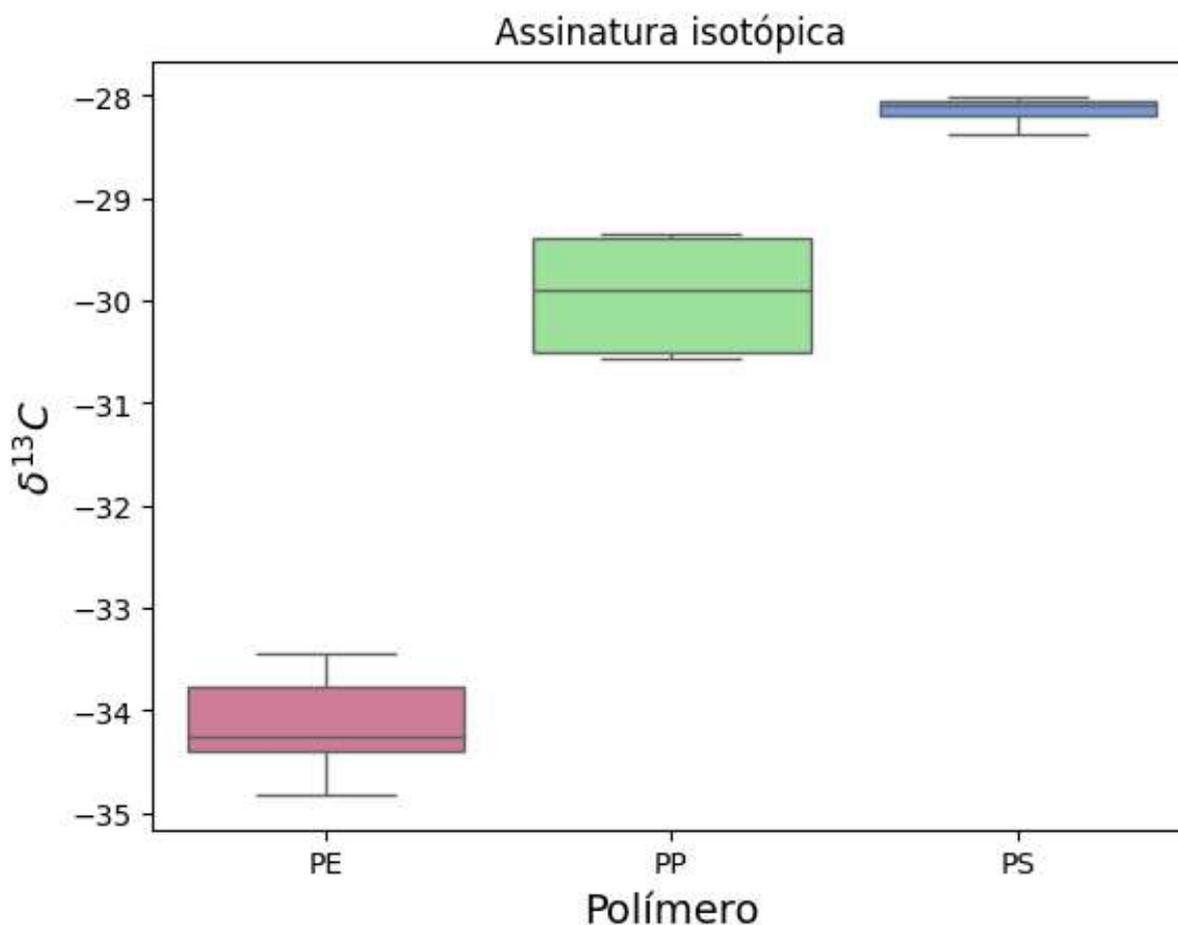


Figura 32: $\delta^{13}C$ do polietileno (PE), polipropileno (PP) e poliestireno (PS) antes de serem expostos aos tratamentos.

A análise dos isótopos estáveis do carbono forneceu informações valiosas sobre as mudanças na composição química dos polímeros ao longo do tempo (Figura 33). A hidrólise, fonte primária de degradação no tratamento de água ultrapura e escuro, afetou o PE e o PS de forma semelhante, com o empobrecimento de ^{13}C , tornando o $\delta^{13}C$ mais negativo, enquanto, no PP, não apresentou mudança significativa.

O fracionamento isotópico das amostras expostas ao tratamento de água do mar e escuro também ocorreu com variações e amplitudes similares ao tratamento com água ultrapura, o que pode significar que a salinidade do ambiente não contribuiu significativamente para a degradação seletiva de ligações químicas. Já as amostras expostas a fotoperíodos de luz na água do mar mostraram a maior variação entre o início e o final do experimento, onde o PE e o PS ficaram mais negativos e o PP ficou mais positivo ao fim do experimento. Para o PP, pode ser que a luz tenha uma contribuição maior na quebra

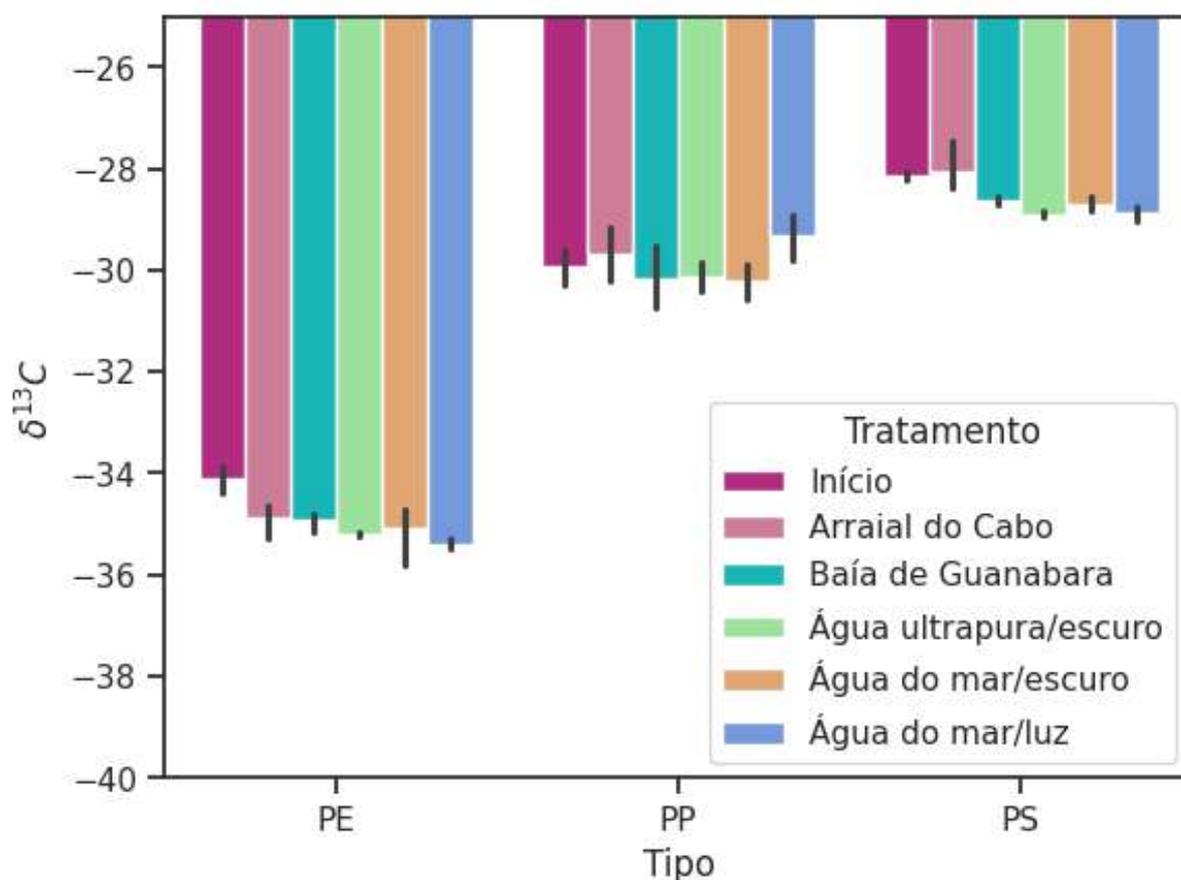


Figura 33: $\delta^{13}\text{C}$ no início e no final de cada tratamento.

de determinadas partes da cadeia polimérica, fazendo com que ocorra o enriquecimento de ^{12}C ou a depleção de ^{13}C .

Para as amostras de PE e PP in situ não houve diferença entre os valores finais para os índices de degradação, mostrando que a quantidade de biofilme maior na baía de Guanabara não foi representativa ao ponto de mudar o $\delta^{13}\text{C}$ ou que esse biofilme pode ter contribuído para mascarar empobrecimento de ^{13}C na Baía de Guanabara. Para o PS é possível observar que houve diferença nos dois ambientes, onde em Arraial não houve mudança do estado inicial da amostra e na Baía de Guanabara.

Assim como nos outros estudos de degradação utilizando a formação de carbonila como indicador de degradação, houve grande flutuação dos valores de índices de degradação ao longo do experimento, fenômeno atribuído anteriormente por outros autores ao "reverse weathering" (MADDISON et al., 2023; TER HALLE et al., 2017; BRANDON; GOLDSTEIN; OHMAN, 2016). Avaliou-se a covariância entre os valores observados para os índices de carbonila e as razões isotópicas dos polímeros estudados. Para as ocasiões que essas regressões apresentaram valores estatisticamente significativos foram observados

os seguintes pontos.

O plástico com a maior taxa de fracionamento (Figuras 29 e 28) foi o PE quando exposto à água do mar com luz, indicando que o processo de fracionamento ocorre junto com o processo de fotoxidação, durante o processo de quebra da molécula. Durante a quebra e liberação de partes radicais da cadeia, é possível que essas partes perdidas sejam ricas em ^{13}C , fazendo com que ocorra essa diminuição do $\delta^{13}\text{C}$. Esses resultados contrapõem estudos que mostram uma tendência positiva para o fracionamento isotópico durante a degradação de polímeros (BERTO et al., 2017; BIRCH et al., 2021). Observações de estudos anteriores se deram com no máximo 60 dias, ao passo que este estudo ampliou temporalmente as análises de EA-IRMS para a melhor compreensão do fenômeno. Outros aspectos são muito relevantes para a compreensão da maneira como ocorrem o fracionamento dos polímeros estudados. Neste estudo, observa-se uma variação nos índices de degradação ao longo do tempo, provavelmente devido ao fenômeno de "reverse weathering" (MADDISON et al., 2023). Assim, foi avaliada a correlação entre os índices carbonila e $\delta^{13}\text{C}$ por meio de regressões lineares (Figura 30). Foram notáveis as tendências nos experimentos conduzidos em ambientes marinhos, principalmente para os polímeros PE e PP, que relacionam o aumento do índice carbonila com o enriquecimento de ^{13}C . Esses resultados corroboram com estudos anteriores que atribuem tal comportamento à presença do biofilme ou à degradação preferencial de carbono mais leve ^{12}C (BERTO et al., 2017).

No entanto, nos experimentos de laboratório, foi observada a tendência inversa. Os momentos de maiores índices de degradação foram acompanhados por valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos, principalmente para o PE. Considerando que a influência de matéria orgânica proveniente de biofilme foi nula ou desprezível nesses experimentos, concluímos que durante a quebra e liberação de partes radicais da cadeia, as partes perdidas podem ser ricas em ^{13}C . Isso é corroborado por estudos que observam o mesmo durante a biodegradação de óleos de hidrocarbonetos (SUN et al., 2005) principalmente para as moléculas de maior peso molecular.

É possível que esses fracionamentos estejam atrelados aos pesos moleculares dos polímeros avaliados. Os polímeros, sendo formados por macromoléculas, apresentam peso molecular muito alto. O PE e o PS têm peso molecular similar, enquanto o PP apresenta cerca de um quinto desse peso. Foi observado um padrão de correlação semelhante entre os índices e o $\delta^{13}\text{C}$ para o PE e o PS, sendo essa correlação estatisticamente significativa apenas para polímeros PE. Isso pode estar relacionado com a capacidade do índice carbonila de descrever bem a degradação que ocorre em polímeros PS já que para esse polímero

outros índices são mais indicados (MADDISON et al., 2023).

Essas descobertas ressaltam a importância da análise de isótopos estáveis na compreensão de fontes e dos mecanismos de degradação dos polímeros e destacam a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre os efeitos da degradação de plásticos nos ecossistemas marinhos. Necessita-se compreender o processo de quebra da cadeia dos polímeros para entender como acontece o fracionamento, além dos parâmetros apresentados nesse estudo.

6.5 Correlação do fracionamento isotópico com a formação de carbonila

A partir da combinação das técnicas de espectroscopia de massas de razão isotópica e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, foi possível correlacioná-las. Conforme observado na Figura 30 e considerando que a influência de matéria orgânica proveniente de biofilme foi nula ou desprezível nesses experimentos, conclui-se que durante a quebra e liberação de partes radicais da cadeia, as partes perdidas podem ser ricas em ^{13}C . Isso é corroborado por estudos que observam o mesmo durante a biodegradação de óleos de hidrocarbonetos (SUN et al., 2005) principalmente para as moléculas de maior peso molecular.

É possível que esses fracionamentos estejam atrelados aos pesos moleculares dos polímeros avaliados. Os polímeros, sendo formados por macromoléculas, apresentam peso molecular muito alto. O PE e o PS têm peso molecular similar, enquanto o PP apresenta cerca de um quinto desse peso. Foi observado um padrão de correlação semelhante entre os índices e o $\delta^{13}\text{C}$ para o PE e o PS, sendo essa correlação estatisticamente significativa apenas para polímeros PE. Isso pode estar relacionado com a capacidade do índice carbonila de descrever bem a degradação que ocorre em polímeros PS já que para esse polímero outros índices são mais indicados (MADDISON et al., 2023).

Essas descobertas ressaltam a importância da análise de isótopos estáveis na compreensão de fontes e dos mecanismos de degradação dos polímeros e destacam a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre os efeitos da degradação de plásticos nos ecossistemas marinhos. Necessita-se compreender o processo de quebra da cadeia dos polímeros para entender como acontece o fracionamento, além dos parâmetros apresentados nesse estudo.

7 Conclusão

Essa dissertação possui o objetivo de avaliar a degradação de MPs em ambientes marinhos com distintos graus de impactos antropogênicos, como contaminação por metais pesados e eutrofização, aplicando-se técnicas de isótopos estáveis, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier e microscopia eletrônica de varredura. Além disso, foram avaliados tratamentos controlados para entender melhor os fatores que influenciam na degradação de maneira isolada.

A presença abundante de biofilme nas amostras da Baía de Guanabara em comparação com as de Arraial do Cabo sugere uma interação complexa entre os fatores ambientais locais e a formação desse biofilme. Fatores como a alta concentração de nutrientes na água e a atividade dos organismos presentes nesse ambiente podem influenciar significativamente a formação e acumulação de biofilme nos microplásticos (MPs). Esse biofilme não apenas afeta a morfologia e a coloração dos MPs, mas também pode aumentar sua capacidade de adsorção de poluentes do ambiente, tornando-os vetores de contaminação. Resultado desse estudo, a maior presença de biofilme em ambientes marinhos poluídos promoveu maiores índices de degradação em todos os polímeros estudados, esses achados em conjunto com conhecimentos da literatura, como a maior ingestão de MPs por organismos quando há a presença de biofilme, revelam que, em ambientes eutrofizados, podem promover uma maior ingestão de MPs por seres deste ambiente.

Além disso, a presença de carbonato de cálcio nas amostras da Baía de Guanabara indica a influência de organismos calcificantes na formação dessas estruturas calcárias, como os foraminíferos. Esses microrganismos podem incorporar moléculas poliméricas sintéticas, contribuindo para a formação de um novo tipo de plasticoglomerado, ainda não descrito pela literatura. Esses aglomerados podem afetar a biota marinha, devido à possibilidade da ingestão por seres que pastam nas formações de foraminíferos, entrando na cadeia alimentar. Como é uma formação recentemente descoberta, necessita-se mais estudos para compreender as mudanças que essa nova estrutura pode causar na a organismos e até mesmo nas dinâmicas de transporte desses aglomerados.

Os resultados também evidenciam diferenças na degradação dos MPs entre os ambientes estudados, com o Índice de Carbonila indicando processos de oxidação e atividade biológica mais intensos em um ambiente eutrofizado do que em um ambiente oligotrófico. Isso pode ocorrer devido à presença maior de biofilme, que faz com que os microrganismos presentes possam estar realizando o processo de biodegradação com a degradação abiótica, acelerando este processo.

Também fica evidente a contribuição da hidrólise no processo de oxidação do PP e PE, ambos poliolefinas, atribuído pelo crescimento do pico de carbonila no final do experimento. Nas imagens de MEV isso também se faz perceptível com o aparecimento de ranhuras, aumentando a área superficial do MP para este tratamento. A hidrólise aponta para uma degradação seletiva de ligações químicas para o PE e o PS, polímeros que mostraram ser mais suscetíveis à depleção de ^{13}C ou a enriquecimento de ^{12}C .

A análise dos isótopos estáveis do carbono forneceu informações adicionais sobre as diferentes assinaturas que diferentes polímeros possuem e sobre os processos de degradação, destacando a importância da compreensão dos mecanismos de quebra da cadeia polimérica para entender o fracionamento isotópico observado. Neste estudo, se observa um comportamento mais estável para o PS, não havendo muita modificação no seu fracionamento isotópico. Isso pode ocorrer pela diferença de sua composição polimérica, com a presença de insaturações que não existem no PE e PP, ou pela presença de possíveis aditivos que não foram avaliados no presente estudo.

De modo geral, a exposição aos experimentos *insitu* levou à bioincrustação, alterações morfológicas, aumento da área superficial, alteração da química de superfície e o fracionamento dos polímeros, com algumas exceções. O PE apresentou diferenças significativas quanto a sua degradação entre os ambientes, sendo o polímero que apresentou mais mudança entre o início e o final dos experimentos. Quando comparado o PE entre os ambientes *in situ*, o mais eutrofizado, a Baía de Guanabara, apresentou maiores índices de carbonila e maior modificação do $\delta^{13}\text{C}$. Isso significa que ambientes eutrofizados podem degradar mais rapidamente MPs de PE. Essas maiores taxas observadas nos polímeros de PE que em comparação aos outros avaliados pode se dever ao fato desse polímero ser realmente o mais sensível à degradação, ou o índice carbonila representa de melhor maneira a degradação nesses tipos de polímeros que em comparação ao PP e ao PS, ou como o PE foi o único material comprado de um fabricante certificado (SigmaAldrich), era o material com menor influência de aditivos que, em geral, pretendem aumentar a estabilidade desses polímeros.

Este estudo explorou a simultaneamente a aplicação da EA-IRMS e FTIR para investigar a degradação de PE, PP e PS em ambientes marinhos simulados e in situ. Com isso, foi possível traçar uma correlação inédita entre as duas técnicas, revelando uma correlação positiva significativa para PE e PP entre o índice de carbonila e $\delta^{13}C$ em ambientes marinhos, à presença de biofilme ou compostos orgânicos que possuem uma assinatura menos negativa do que a constatada para os polímeros antes de iniciarmos os experimentos.

Em contraste com os ambientes marinhos, esta correlação para o PE no laboratório, apresentou uma tendência inversa, com $\delta^{13}C$ mais negativo em momentos de maior índice carbonila. Isso sugere que a liberação de partes ricas em ^{13}C durante a quebra da cadeia pode ser um mecanismo importante de degradação.

Em resumo, essas descobertas sublinham a complexidade dos processos de degradação dos polímeros em ambientes marinhos e ressaltam a necessidade de investigações mais detalhadas para compreender melhor os impactos ambientais e os mecanismos da deterioração desses materiais. A análise multidisciplinar dos processos de degradação, combinando abordagens químicas, isotópicas e ambientais, é essencial para desenvolver estratégias eficazes de mitigação desse problema crescente nos ecossistemas marinhos.

As observações inéditas como a formação de novos plasticoglomerados, diferenciação de gradiente de coloração conforme exposição à diferentes ambientes, estabilidade do PS quanto ao fracionamento isotópico, uma degradação maior do PE em ambiente eutrofizado e correlações entre índices de degradação e resultados relativos a valores de $\delta^{13}C$ de polímeros plásticos, podem contribuir como ponto de partida para estudos futuros. Entender a diferença da degradação de diferentes polímeros em meios naturais ainda é um caminho a ser percorrido pela ciência e estes resultados colaboram com isso.

REFERÊNCIAS

ABAROA-PÉREZ, Bárbara et al. Yellowing, Weathering and Degradation of Marine Pellets and Their Influence on the Adsorption of Chemical Pollutants. **Polymers**, v. 14, n. 7, 2022. ISSN 2073-4360. DOI: [10.3390/polym14071305](https://doi.org/10.3390/polym14071305). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/7/1305>.

AMATO-LOURENÇO, Luís Fernando et al. Presence of airborne microplastics in human lung tissue. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 126124, 2021. ISSN 0304-3894. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126124>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389421010888>.

AMOBONYE, Ayodeji et al. Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. **Science of The Total Environment**, v. 759, p. 143536, 2021. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720370674>.

ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596–1605, 2011. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2011.05.030](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030).

AREIAS, Camila et al. Holocene sea-surface temperatures and related coastal upwelling regime recorded by vermetid assemblages, southeastern Brazil (Arraial do Cabo, RJ). **Marine Geology**, v. 425, p. 106183, 2020. ISSN 0025-3227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2020.106183>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025322720300712>.

AWUCHI, Chinaza; AWUCHI, Chibueze. Physiological Effects of Plastic Wastes on the Endocrine System (Bisphenol A, Phthalates, Bisphenol S, PBDEs, TBBPA). v. 4, p. 11–29, dez. 2019.

BAI, Zhuoan; WANG, Nan; WANG, Minghua. Effects of microplastics on marine copepods. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 217, p. 112243, 2021. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2021.112243](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112243).

- BAPTISTA NETO, JOSÉ ANTONIO; DA SILVA, MARIA AUGUSTA MARTINS. Caracterização do Sedimentos de Fundo e Dinâmica Sedimentar da Enseada de Jurujuba (Baía de Guanabara), Niterói, RJ. **Pesquisas em Geociências**, v. 23, p. 7–16, dez. 1996. DOI: [10.22456/1807-9806.21221](https://doi.org/10.22456/1807-9806.21221). Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/PesquisasemGeociencias/article/view/21221>>.
- BERTO, Daniela et al. Preliminary study to characterize plastic polymers using elemental analyser/isotope ratio mass spectrometry (EA/IRMS). **Chemosphere**, v. 176, p. 47–56, 2017. ISSN 0045-6535. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.090>.
- BIRARDA, Giovanni et al. Plastics, (bio)polymers and their apparent biogeochemical cycle: An infrared spectroscopy study on foraminifera. **Environmental Pollution**, v. 279, p. 116912, 2021. ISSN 0269-7491. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116912>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749121004942>>.
- BIRCH, Quinn T. et al. Isotope ratio mass spectrometry and spectroscopic techniques for microplastics characterization. **Talanta**, v. 224, p. 121743, 2021. ISSN 0039-9140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121743>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914020310341>>.
- BOUTTON, T.W. **Stable carbon isotope ratios of natural materials: 1 Sample preparation and mass spectrometric analysis**. [S. l.]: Academic Press, Inc, 1991.
- BRANDON, Jennifer; GOLDSTEIN, Miriam; OHMAN, Mark D. Long-term aging and degradation of microplastic particles: Comparing in situ oceanic and experimental weathering patterns. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, n. 1, p. 299–308, 2016. ISSN 0025-326X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.048>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X16304520>>.
- BRAVO, M. et al. Rafting on abiotic substrata: properties of floating items and their influence on community succession. **Marine Ecology Progress Series**, v. 439, p. 1–17, 2011. DOI: [10.3354/meps09344](https://doi.org/10.3354/meps09344). Disponível em: <<https://www.intres.com/abstracts/meps/v439/p1-17/>>.
- BRUKER. **OPUS/IR - Reference Manual**. [S. l.]: Ettlingen, 2014.
- CARDOSO, Renan Pereira. **Análises isotópica específica e de infravermelho no fortalecimento de estratégias de conservação na bacia de Guapi-Macacu**. 2018. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ - Brasil.

- CHAVES, Maria Clara Nunes Ramos et al. Testing the ecocline concept for fish assemblages along the marine-estuarine gradient in a highly-eutrophic estuary (Guanabara Bay, Brazil). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 211, p. 118–126, 2018. ECSA 56 Coastal Systems in Transition - From a 'natural' to an 'anthropogenically-modified' state. ISSN 0272-7714. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.02.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272771416308198>.
- COTOVICZ, Luiz C. et al. A strong CO₂ sink enhanced by eutrophication in a tropical coastal embayment (Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil). **Biogeosciences**, v. 12, p. 6125–6146, 2015. DOI: [10.5194/bg-12-6125-2015](https://doi.org/10.5194/bg-12-6125-2015).
- DAȔBROWSKA, Agnieszka. A roadmap for a Plastisphere. **Marine Pollution Bulletin**, v. 167, p. 112322, 2021. ISSN 0025-326X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112322>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X21003568>.
- DAVID, Berenice Anina de; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. **Microscopia: Fundamentos, Métodos e Aplicações**. [S. l.]: EDIPUCRS, 2007. Disponível em: <https://editora.pucrs.br/edipucrs/acessolivres/livros/microscopia.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2024.
- DE PAULA, Joel Campos et al. Long-term changes in macroalgae assemblages reveal a gradual biodiversity loss over the last 200 years in the hypereutrophic Guanabara Bay. **Marine Environmental Research**, v. 162, p. 105153, 2020. ISSN 0141-1136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105153>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141113619308529>.
- EUROPE, Plastics. **Plastics – the fast Facts 2023**. [S. l.: s. n.], 2023. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/> [Accessed: (25/03/2024)].
- FAHELELBOM, Khairi Mustafa et al. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 21–33, 2022. DOI: [doi:10.1515/revac-2022-0030](https://doi.org/10.1515/revac-2022-0030). Disponível em: <https://doi.org/10.1515/revac-2022-0030>.
- FERNANDINO, Gerson et al. Anthroquinas: First description of plastics and other man-made materials in recently formed coastal sedimentary rocks in the southern hemisphere. **Marine Pollution Bulletin**, v. 154, p. 111044, 2020. ISSN 0025-326X.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111044>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X20301624>>.

FERRAZ, K. C. et al. Use of ¹⁴C-AMS in the study of biological production in coastal upwelling areas. **Brazilian Journal of Physics**, Sociedade Brasileira de Física, v. 34, 3a, p. 732–736, set. 2004. ISSN 0103-9733. DOI: [10.1590/S0103-97332004000500007](https://doi.org/10.1590/S0103-97332004000500007).

Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-97332004000500007>>.

FISTAROL, Giovana O. et al. Environmental and Sanitary Conditions of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015. ISSN 1664-302X. DOI: [10.3389/fmicb.2015.01232](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01232). Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.01232>>.

FOLEY, Carolyn J et al. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. **The Science of the total environment**, v. 631-632, p. 550–559, 2018. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.03.046](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.046).

FRIAS, João P.G.L.; NASH, Róisín. Microplastics: Finding a consensus on the definition. **Marine pollution bulletin**, v. 138, p. 145–147, 2019.

GESTOSO, Ignacio et al. Plasticrusts: A new potential threat in the Anthropocene's rocky shores. **Science of The Total Environment**, v. 687, p. 413–415, 2019. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.123>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719326919>>.

GEWERT, Berit; PLASSMANN, Merle M.; MACLEOD, Matthew. Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. **Environ. Sci.: Processes Impacts**, v. 17, p. 1513–1521, 9 2015.

GIBBS, Max. **Protocols on the use of the CSSI Technique to identify and apportion soil sources from land use**. [S. l.]: Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food e Agriculture CRP Number D1.20.11, 2014.

HADAD, D.; GERESH, S.; SIVAN, A. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, n. 5, p. 1093–1100, 2005. DOI:

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02553.x>.

HO, Ba Thanh; ROBERTS, Timothy K.; LUCAS, Steven. An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach.

Critical Reviews in Biotechnology, Taylor & Francis, v. 38, n. 2, p. 308–320, 2018.

DOI: [10.1080/07388551.2017.1355293](https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1355293). Disponível em:

<<https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1355293>>.

IBGE. **Cidades e estados do Brasil**. 2010. Disponível em:

<<https://cidades.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 11 fev. 2024.

_____. _____. 2022. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 11 fev. 2024.

ICMBIO. PLANO DE MANEJO DA RESERVA EXTRAVISTA MARINHA DO ARRAIAL DO CABO, 2020.

JAMBECK, Jenna R. et al. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, v. 347, n. 6223, p. 768–771, 2015. DOI: [10.1126/science.1260352](https://doi.org/10.1126/science.1260352). Disponível em:

<<https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.1260352>>.

JUNG, Melissa R. et al. 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. ISSN 0025-326X. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.061>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X17310949>>.

KERR, A.; COWLING, M. J. The effects of surface topography on the accumulation of biofouling. **Philosophical Magazine**, Taylor & Francis, v. 83, n. 24, p. 2779–2795, 2003. DOI: [10.1080/1478643031000148451](https://doi.org/10.1080/1478643031000148451). Disponível em:

<<https://doi.org/10.1080/1478643031000148451>>.

KHAIRY, Mohammed A.; LOHMANN, Rainer. Field Validation of Polyethylene Passive Air Samplers for Parent and Alkylated PAHs in Alexandria, Egypt. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 7, p. 3990–3998, 2012. PMID: 22397460. DOI:

[10.1021/es300012u](https://doi.org/10.1021/es300012u). Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/es300012u>>.

KHALDOON, Shahad et al. A Review on the Role of Earthworms in Plastics Degradation: Issues and Challenges. **Polymers**, v. 14, n. 21, 2022. ISSN 2073-4360.

DOI: [10.3390/polym14214770](https://doi.org/10.3390/polym14214770). Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/2073-4360/14/21/4770>>.

DE-LA-TORRE, Gabriel Enrique et al. New plastic formations in the Anthropocene.

Science of The Total Environment, v. 754, p. 142216, 2021. ISSN 0048-9697. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142216>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720357454>>.

LIANG, Wenyao et al. High photocatalytic degradation activity of polyethylene containing polyacrylamide grafted TiO₂. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 9, p. 1754–1761, 2013. ISSN 0141-3910. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.polyimdegstab.2013.05.027>. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391013001717>>.

LIU, Kai et al. Source and potential risk assessment of suspended atmospheric microplastics in Shanghai. **Science of The Total Environment**, v. 675, p. 462–471, 2019. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.110>.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719316304>>.

LOHMANN, Rainer. Microplastics are not important for the cycling and bioaccumulation of organic pollutants in the oceans—but should microplastics be considered POPs themselves? **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 13, n. 3, p. 460–465, 2017. DOI:

<https://doi.org/10.1002/ieam.1914>. Disponível em:

<<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ieam.1914>>.

MADDISON, Carbery et al. An advanced analytical approach to assess the long-term degradation of microplastics in the marine environment. **npj Materials Degradation**, v. 7, p. 59, 2023. ECSA 56 Coastal Systems in Transition - From a 'natural' to an 'anthropogenically-modified' state. ISSN 0272-7714. DOI:

<https://doi.org/10.1038/s41529-023-00377-y>. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/s41529-023-00377-y#citeas>>.

MENA, Rodrigo L. et al. Fotodegradação de Polímeros Acompanhada por Infravermelho: Um Tutorial. **Rev. Virtual Quim.**, v. 12, p. 959–968, 2020. ISSN 1984-6835. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20200077>.

MOREIRA, Silvino et al. CAPÍTULO 5 -MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA. In: [s. l.: s. n.], jan. 2023. P. 94–108. ISBN 978-65-00-59327-3.

OGATA, Yuko et al. International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal waters. 1. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs.

Marine Pollution Bulletin, v. 58, n. 10, p. 1437–1446, 2009. ISSN 0025-326X. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.06.014>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X09002690>>.

PAOLI, Marco-Aurelio De. **Degradação e Estabilização de Polímeros**. [S. l.]: Artliber Editora, 2009.

- PATRICIA L. CORCORAN, Kelly Jazvac. The consequence that is plastiglomerate. **Nature Reviews Earth and Environment**, 2020. DOI: [10.1038/s43017-019-0010-9](https://doi.org/10.1038/s43017-019-0010-9). Disponível em: [10.1038/s43017-019-0010-9](https://doi.org/10.1038/s43017-019-0010-9).
- PATRICIA L. CORCORAN1 CHARLES J. MOORE, Kelly Jazvac. An anthropogenic marker horizon in the future rock record. **GSA TODAY**, 2014.
- PEIXOTO, Diogo et al. Microplastic pollution in commercial salt for human consumption: A review. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 2019.
- RAGUSA, Antonio et al. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. **Environment international**, v. 146, p. 106274, 2021.
- RANGEL, Carlos Marclei Arruda; OLIVEIRA, Priscilla Soares de. **Baía de Guanabara: um ambiente em transformação**. [S. l.]: Ape'Ku Editora, 2021. P. 121–146.
- RESTREPO-FLÓREZ, Juan-Manuel; BASSI, Amarjeet; THOMPSON, Michael R. Microbial degradation and deterioration of polyethylene – A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 88, p. 83–90, 2014. ISSN 0964-8305. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051300454X>.
- RICHARD, Heather et al. Biofilm facilitates metal accumulation onto microplastics in estuarine waters. **Science of The Total Environment**, v. 683, p. 600–608, 2019. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.331>.
- ROCHMAN, C. Microplastics research—from sink to source. **Science**, v. 360, p. 28–29, 2018. DOI: [10.1126/science.aar7734](https://doi.org/10.1126/science.aar7734).
- RODRIGUES, Regina R.; LORENZZETTI, João A. A numerical study of the effects of bottom topography and coastline geometry on the Southeast Brazilian coastal upwelling. **Continental Shelf Research**, v. 21, n. 4, p. 371–394, 2001. ISSN 0278-4343. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0278-4343\(00\)00094-7](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(00)00094-7). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278434300000947>.
- SACKS, Victoria P.; LOHMANN, Rainer. Development and Use of Polyethylene Passive Samplers To Detect Triclosans and Alkylphenols in an Urban Estuary. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 6, p. 2270–2277, 2011. PMID: 21341696. DOI: [10.1021/es1040865](https://doi.org/10.1021/es1040865).

- SANTOS, Fernanda Avelar et al. Plastic debris forms: Rock analogues emerging from marine pollution. **Marine Pollution Bulletin**, v. 182, p. 114031, 2022. ISSN 0025-326X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114031>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X22007135>>.
- SCHWIBBERT, Karin et al. Bacterial Adhesion on Femtosecond Laser-Modified Polyethylene. **Materials**, v. 12, n. 19, 2019. ISSN 1996-1944. DOI: [10.3390/ma12193107](https://doi.org/10.3390/ma12193107). Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1996-1944/12/19/3107>>.
- SHAH, Aamer Ali et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 246–265, 2008. ISSN 0734-9750. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000141>>.
- SILVA, Melanie Lopes da et al. Marine debris on beaches of Arraial do Cabo, RJ, Brazil: An important coastal tourist destination. **Marine Pollution Bulletin**, v. 130, p. 153–158, 2018. ISSN 0025-326X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.026>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X18301887>>.
- SODERBERG, T. **Organic Chemistry with a Biological Emphasis**. [S. l.]: University of Minnesota, 2016.
- STANICA-EZEANU, Dorin; MATEI, Danuta. Natural depolymerization of waste poly(ethylene terephthalate) by neutral hydrolysis in marine water. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4431, 2021. DOI: [10.1038/s41598-021-83659-2](https://doi.org/10.1038/s41598-021-83659-2). Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83659-2>>.
- SUN, Yongge et al. Stable carbon and hydrogen isotopic fractionation of individual n-alkanes accompanying biodegradation: evidence from a group of progressively biodegraded oils. **Organic Geochemistry**, v. 36, n. 2, p. 225–238, 2005. ISSN 0146-6380. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2004.09.002>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0146638004002293>>.
- TER HALLE, Alexandra et al. To what extent are microplastics from the open ocean weathered? **Environmental Pollution**, v. 227, p. 167–174, 2017. ISSN 0269-7491. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.051>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749117302361>>.

TOPLAK, Marko et al. Quasar: Easy Machine Learning for Biospectroscopy. **Cells**, v. 10, n. 9, 2021. ISSN 2073-4409. DOI: [10.3390/cells10092300](https://doi.org/10.3390/cells10092300). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2300>.

TU, Chen et al. Biofilm formation and its influences on the properties of microplastics as affected by exposure time and depth in the seawater. **Science of The Total Environment**, v. 734, p. 139237, 2020. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139237>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720327546>.

TURNER, Andrew et al. Marine pollution from pyroplastics. **Science of The Total Environment**, v. 694, p. 133610, 2019. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133610>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719335351>.

ULLAH, Sana et al. A review of the endocrine disrupting effects of micro and nano plastic and their associated chemicals in mammals. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 2023. DOI: [10.3389/fendo.2022.1084236](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1084236).

VASEASHTA, Olena Stabnikova Viktor Stabnikov Andriy Marinin Maris Klavins Ashok. The role of microplastics biofilm in accumulation of trace metals in aquatic environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 117, 2022. DOI: [10.1007/s11274-022-03293-6](https://doi.org/10.1007/s11274-022-03293-6). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03293-6>.

VIANA, Tatiana V. et al. Massive Blooms of *Chattonella subsalsa* Biecheler (Raphidophyceae) in a Hypereutrophic, Tropical Estuary—Guanabara Bay, Brazil. **Frontiers in Marine Science**, 2019. DOI: [10.3389/fmars.2019.00085](https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00085).

VROOM, R. et al. Aging of microplastics promotes their ingestion by marine zooplankton. **Environmental pollution**, 231 Pt 1, p. 987–996, 2017. DOI: [10.1016/j.envpol.2017.08.088](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.088).

WANG, Jun et al. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). **Environmental pollution**, 254 Pt B, p. 113024, 2019. DOI: [10.1016/J.ENVPOL.2019.113024](https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2019.113024).

YANG, Yu; WANG, Jialei; XIA, Mengli. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus*. **Science of The Total Environment**, v. 708, p. 135233, 2020. ISSN 0048-9697. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135233>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719352258>>.

ZEE, Maarten van der. **Handbook of Biodegradable Polymers**. Reino Unido:

Rapra Technology Limited, 2005. P. 1–32.