



DIAGNÓSTICO DOS REQUISITOS NO CONTROLO DE QUALIDADE

Métodos para quantificação de microplásticos

Índice

1. Resumo	2
2. Introdução	3
3. Impacto da presença de microplásticos nas seguintes áreas:	6
3.1 Biota Marinha	6
3.2 Águas de consumo.....	7
4. Metodologias de deteção dos microplásticos	9
4.1 Amostragem.....	11
4.2 Preparação de amostras	12
4.3 Caracterização química e quantificação de microplásticos	13
4.4 Técnicas de Espectroscopia	14
4.4.1 Espectroscopia de Infravermelho	14
4.4.2 Espectroscopia de Raman.....	16
4.4.3 Cromatografia.....	21
5. Conclusão	24
6. Bibliografia	26

1. Resumo

A poluição plástica é um grande problema social, económico e ambiental. Ao serem libertados no meio ambiente, os plásticos são alterados por processos biológicos e físico-químicos que influenciam o seu destino e transporte dentro dos ecossistemas. Grandes detritos de plástico podem-se fragmentar em pedaços menores e são chamados de microplásticos, quando apresentam um tamanho entre 1 μm e 5 mm.

Nos últimos anos o interesse sobre a presença e persistência dos microplásticos no meio ambiente e na espécie humana têm vindo a aumentar. Com esta problemática, são vários os estudos que têm vindo a ser desenvolvidos. No entanto, as opiniões são muito diversificadas, mas todas muito alarmantes.

Neste trabalho serão avaliadas as fontes de distribuição de microplásticos em diferentes compartimentos ambientais, os métodos analíticos que têm sido aplicados e principais desafios analíticos que permanecem na avaliação dos microplásticos.

Para a identificação química de microplásticos, são utilizados principalmente os métodos de FTIR e Raman. No entanto, até agora falta uma comparação crítica e validação de ambos os métodos espectroscópicos em relação à análise de microplásticos. Em alguns casos, especialmente para partículas coloridas, é necessária uma combinação de ambos os métodos para uma caracterização completa e confiável da composição química.

2. Introdução

A contaminação de ambientes aquáticos com resíduos de plásticos, especialmente microplásticos, têm sido relatados através de muitos estudos. Os microplásticos são partículas de tamanho micro e fibras compostas de polímeros sintéticos numa faixa de tamanho inferior a 5mm até alguns microns. Estes ganham cada vez mais importância para a comunidade científica. As primeiras investigações sobre microplásticos em águas superficiais datam do início da década de 1970 (Käppler et al., 2016).

Os microplásticos têm sido detetados em todo o mundo e em todos os ecossistemas marinhos, incluindo superfícies do mar, colunas de água, sedimentos costeiros e águas profundas. Além disso, o acumular de microplásticos em ecossistemas de água doce, principalmente em águas lacustres, sedimentos lacustres, águas fluviais e sedimentos fluviais, também entram no foco da pesquisa científica (Käppler et al., 2016).

Com um conhecimento crescente sobre o acumular de microplásticos em ecossistemas aquáticos, a consciencialização para os impactos ecológicos está a aumentar. A ingestão destas partículas por uma variedade de organismos marinhos é amplamente reconhecida e leva à necessidade de estratégias de avaliação de risco. Esta poluição, em organismos consumidos pelos humanos, mostra uma potencial ameaça à segurança alimentar e à saúde humana (Käppler et al., 2016).

Para esclarecer as questões em aberto e desenvolver uma avaliação de risco, são indispensáveis dados de confiança sobre a ocorrência de microplásticos em ecossistemas marinhos e de água doce. Até agora, nenhum protocolo harmonizado e padronizado para amostragem, extração, purificação, análise, avaliação e classificação de microplásticos em amostras aquáticas existem. A variedade de métodos em relação a todos esses pontos mencionados, torna quase impossível a comparação de diferentes estudos e resultados. Portanto, a padronização e harmonização na pesquisa de microplásticos é altamente necessária, conforme sugerido por muitos autores (Käppler et al., 2016).

O termo "plástico" é utilizado para representar um conjunto de materiais sintéticos poliméricos, constituídos por moléculas de grandes cadeias e pesos moleculares. Consistem em unidades idênticas (homopolímeros) ou sequências de unidades (copolímeros), repetidas, criadas a partir da polimerização de monómeros extraídos do petróleo ou de origem biológica. Podem ser separados em duas categorias, termoplásticos e termofixos. Os termoplásticos, quando aquecidos, podem ser moldados ou plasticamente deformados repetidamente. Plásticos do tipo polietileno, PET, PVC e poliestireno fazem parte deste grupo. Os termofixos têm como características o facto de uma vez solidificados, não é possível moldá-los novamente, tal como o poliuretano e resinas epoxy (Aleixo, 2018).

Nenhum dos plásticos comumente usados é biodegradável. Como resultado, acumulam, em vez de se decompor, em aterros sanitários ou no ambiente natural. A única maneira de eliminar permanentemente resíduos de plástico é por tratamento térmico destrutivo, como a incineração ou a pirólise. Assim, a contaminação quase permanente do ambiente natural com resíduos plásticos é uma preocupação crescente. Uma vez que se encontra em meio marinho, o plástico nunca se biodegrada completamente, decompondo-se, em vez, em pedaços cada vez menores, até ser apelidado de "microplástico" (Aleixo, 2018).

Os tipos de plásticos mais utilizados nos dias de hoje são o polietileno (PE), polipropileno (PP), policloreto de vinil (PVC), politereftalato de etileno (PET), poliestireno (PS) e o poliestireno expandido (EPS). Estes não são biodegradáveis e após a sua utilização são descartados. Se a separação e o tratamento destes resíduos de plástico não forem realizados corretamente, estes serão acumulados em aterros ou no ambiente (Couceiro, 2019).

A maior parte do plástico produzido acaba nos oceanos, devido a uma má gestão ou deposição inadequada do mesmo. As fontes que mais contribuem para a presença de plástico nos oceanos são de origem terrestre, como turismo, descargas industriais e fluviais, ou de origem marítima, como atividades de transporte ou pesca (Cabernard et al., 2018)(Silva et al., 2018).

Os microplásticos estão subdivididos em duas categorias: microplásticos primários e secundários (Besley et al., 2017)(Silva et al., 2018). Os microplásticos de fonte primária são aqueles produzidos propositalmente para serem usados na escala de até 5 mm e, conseqüentemente, são lançados no ambiente nesse tamanho. Esses podem se apresentar em escala microscópica (microesferas), como os utilizados na formulação de cosméticos e produtos de higiene pessoal (PHP) como esfoliantes, sabonetes e cremes dentais. Além disso, são, também, utilizados na indústria farmacêutica, na indústria de plásticos, como matéria prima (pellets), e na indústria química em geral, como abrasivos industriais (Fendall & Sewell, 2009; Browne et al., 2011; Montagner et al., 2021).

Os microplásticos secundários, por sua vez, são aqueles que resultam da fragmentação dos resíduos plásticos maiores (ex: embalagens) expostos às intempéries no ambiente e outros agentes estressores, degradando-se em fragmentos cada vez menores, até atingir o tamanho dos microplásticos. A degradação de um polímero está relacionada ao rompimento de ligações químicas covalentes, seja na cadeia principal ou em cadeia lateral. Esse rompimento é conseqüente da geração de espécies reativas (na maioria dos casos, radicais livres) que são também os responsáveis pela propagação do processo de degradação (Barnes et al., 2009; Rocha-Santos & Duarte, 2015; Montagner et al., 2021).

A **Figura 1a** apresenta exemplos das principais atividades com potencial de emissão de plásticos e microplásticos primários e/ou secundários ao ambiente, bem como a distribuição deles nos diferentes compartimentos ambientais. A **Figura 1b** ilustra a distribuição dos microplásticos ao longo da coluna de água.

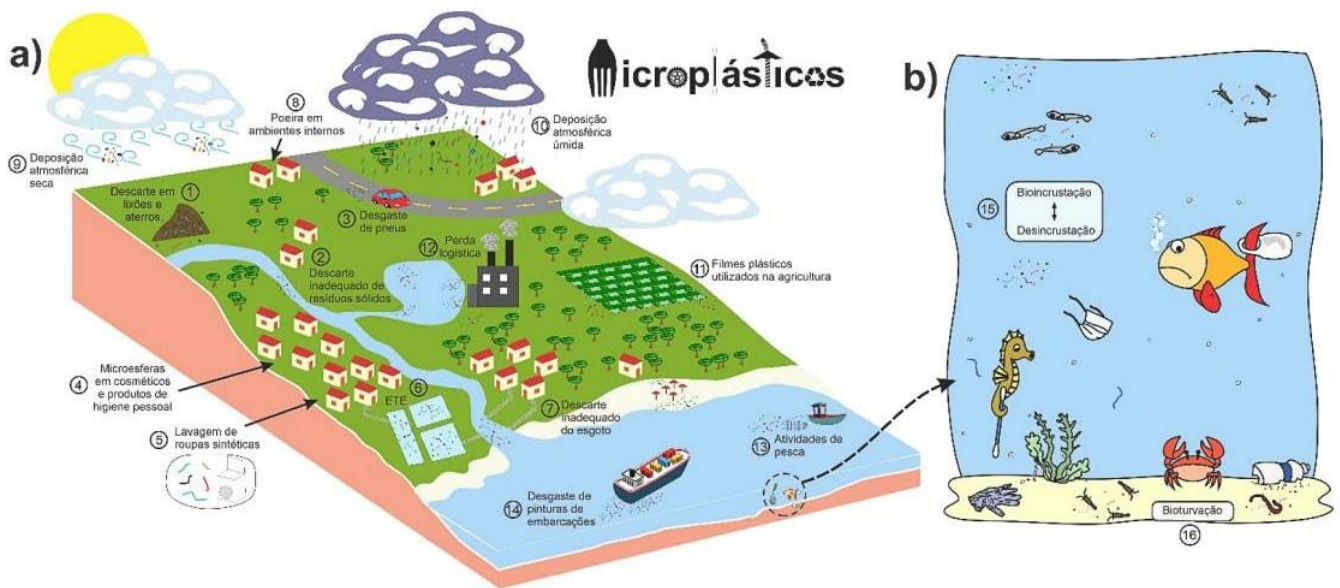


Figura 1 - (a) Principais exemplos de práticas e atividades que são fontes de emissão de microplásticos primários e/ou secundários e sua distribuição em diferentes compartimentos ambientais, como: (1) descarte de resíduos plásticos em lixeiras e aterros; (2) descarte inadequado de resíduos sólidos no ambiente; (3) desgaste de pneus de borracha; (4) utilização de produtos de higiene pessoal e cosméticos compostos por microesferas poliméricas; (5) lavagem de roupas sintéticas com desprendimento de fibras poliméricas; (6) aporte de microfibras e microesferas no esgoto e entrada na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE); (7) lançamento do esgoto diretamente no ambiente, sem nenhum tratamento; (8) transporte de microplásticos pelo ar na poeira de ambientes internos; (9) transporte de microplásticos pelo ar em ambientes externos via deposição seca e (10) húmida; (11) uso de filmes plásticos na agricultura; (12) perda logística nas atividades industriais com a utilização de pellets; (13) uso de materiais plásticos em atividades pesqueiras e (14) desgaste de pinturas de embarcações. (b) Principais exemplos de fenômenos que ocorrem em ambientes aquáticos e afetam a distribuição de microplásticos na coluna de água, como: (15) formação de um biofilme na superfície das partículas de microplásticos - bio incrustação; (15) desprendimento da camada de biofilme no microplástico - desincrustação e (16) desprendimento de microplásticos aderidos ao sedimento - bio turvação

3. Impacto da presença de microplásticos nas seguintes áreas:

3.1 Biota Marinha

De maneira geral, os microplásticos são facilmente ingeridos quando presentes no ambiente, diretamente por organismos ou indiretamente através do consumo de espécies de nível trófico inferior. A ingestão de microplásticos é observada em organismos desde o primeiro nível trófico, como fitoplâncton e zooplâncton, até espécies maiores, como tartarugas e pássaros. Alguns fatores influenciam a biodisponibilidade de microplásticos no ambiente, por exemplo, tamanho, densidade e coloração. Os microplásticos menos densos são ingeridos pelas espécies que habitam superfícies dos corpos de água e os mais densos afetam as espécies presentes na coluna de água e sedimento. Por serem resistentes aos processos de metabolização, os microplásticos podem se bioacumular em diferentes organismos e, de acordo com a distribuição ao longo dos níveis tróficos, também podem ser biomagnificados (Montagner et al., 2021).

Na maioria dos casos, os microplásticos são encontrados no trato gastrointestinal de peixes, portanto, raramente entram na dieta humana, pois são frações não comumente consumidas. Porém, em peixes processados, como as sardinhas, essas partículas podem ser ingeridas pelos seres humanos com maior facilidade. Um estudo relatou a presença de partículas de microplásticos em sardinhas enlatadas provenientes de diferentes regiões do mundo, como Canadá, Alemanha, Irã, Japão, Letônia, Malásia, Marrocos, Polônia, Portugal, Rússia, Escócia, Tailândia e Vietnã. Os microplásticos também têm sido encontrados em diversos alimentos presentes na dieta humana, como mel, sal, cerveja, vinho, refrigerante, leite, entre outros. Com isso, os seres humanos estão constantemente expostos aos microplásticos pela dieta alimentar, sendo estimada uma média de ingestão semanal de 0,1 a 5 g de microplásticos por pessoa. E, finalmente, outra via de exposição humana aos microplásticos dá-se através da inalação de partículas no ar durante a respiração. Estima-se que um homem adulto inale 170 partículas diariamente, no entanto, os efeitos na saúde do sistema respiratório relacionados a essa exposição ainda são desconhecidos. O plástico é um resíduo com um enorme impacto ambiental devido à sua abundância e persistência no meio ambiente, especialmente no ambiente marinho, colocando em risco os oceanos e a sua biodiversidade (Carbery et al., 2018; Montagner et al., 2021).

Os plásticos que são encontrados em maior abundância nos oceanos são: redes de pesca, sacos plásticos, garrafas plásticas e utensílios de cozinha de plástico. Todos estes materiais têm um fator em comum: foram produzidos a partir de combustíveis fósseis, e por sua vez nenhum deles é biodegradável. Os fatores que foram identificados como os principais responsáveis para a ingestão ou assimilação de microplásticos por organismos marinhos são os seguintes (Ugwu et al., 2021):

- Tamanho;
- Densidade (maior a quantidade de microplásticos leva a maior possibilidade de ingestão e/ou adsorção);
- Abundância (maior variedade de microplásticos leva a uma maior possibilidade de os organismos serem atraídos para este material);

- Cor (foi demonstrado que existem certas cores que tendem a atrair certos grupos de organismos).

Para além dos problemas apresentados anteriormente, os microplásticos durante a sua permanência nos oceanos libertam compostos orgânicos voláteis, como o dimetilsulfeto (DMS), um composto presente nas algas. Estes libertam um odor, levando alguns organismos de zooplâncton, como copépodes, a consumirem microplásticos em vez de algas. Esse comportamento também foi apresentado em aves marinhas, mostrando que a química aromática libertada pelos microplásticos produz maior ingestão da fauna (Procter et al., 2019).

Devido a todos estes fatores, é extremamente difícil implementar um método padronizado de amostragem sobre a ingestão de microplásticos para a biota marinha. No entanto, é possível definir guias de orientação, tais como: área, tempo, número e tamanho dos organismos que ajudam a identificar a contaminação por microplásticos (Procter et al., 2019).

3.2 Águas de consumo

Nos últimos anos vários investigadores começaram a estudar a presença de microplásticos na água da torneira e na água engarrafada, no entanto os dados recolhidos são pouco concretos. Existem enormes desafios para identificar e quantificar os microplásticos. Segundo vários investigadores é possível quantificar os microplásticos usando técnicas térmicas, tais como a pirólise e a termogravimetria. Segundo os investigadores é a forma mais promissora para superar a falta de padronização dos métodos de avaliação (Parolini et al., 2021).

Foi feito um estudo entre os anos de 2018 e 2021, onde foi comparada a água potável (torneira) com a água engarrafada. Na análise da água potável o estudo teve por base 24 países, no entanto o número de estudos efetuados foi limitado (1-9). O maior número de estudos foi feito na Alemanha (9), seguido pela China (5). Relativamente à água engarrafada foram feitos estudos em 8 países, e só em dois países foram feitos ambos os estudos. Para facilitar a interpretação, de seguida apresenta-se um quadro global (**Figura 2**) onde foram realizados estes estudos (Kirstein et al., 2021).

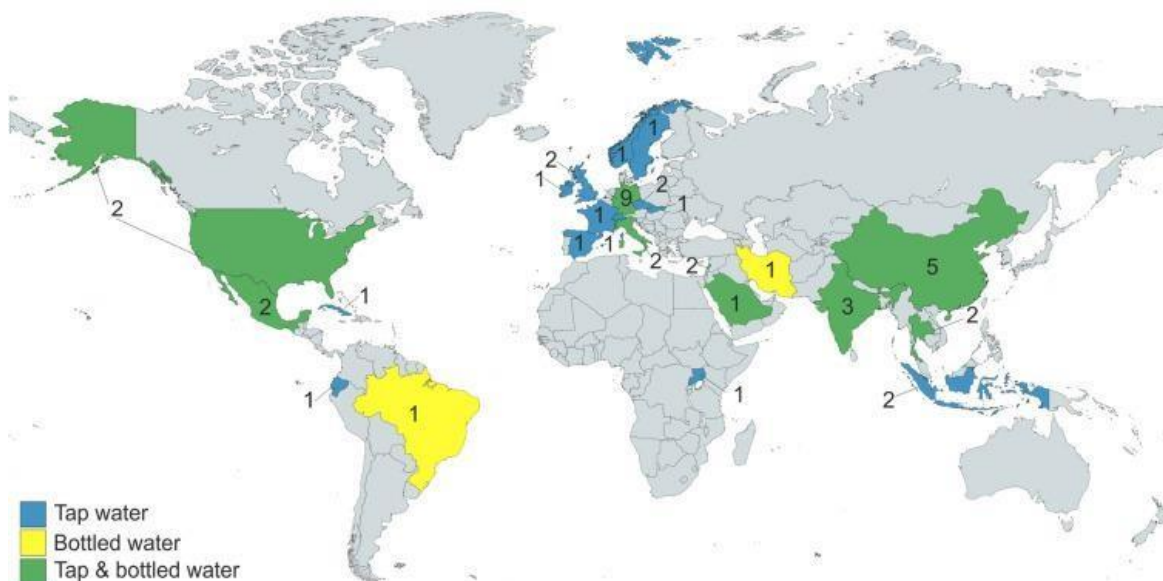


Figura 2 - Microplásticos presentes na água potável no mundo

A azul estão identificados os países onde analisaram a água da torneira, a amarelo, os países que analisaram a água engarrafada e a verde os países que analisaram ambas. Após a realização dos estudos e tratamento de dados, concluíram que os microplásticos na água engarrafada variam de 1,4 microplásticos/L a $5,42 \times 10^7$ microplásticos/L. No entanto, é importante ter em conta que este último valor não teve por base métodos validados para a sua quantificação. Relativamente à água da torneira os valores variam entre 0,0001 e 930 microplásticos/L (Kirstein et al., 2021).

Analisando estes dados, dá a sensação de que a água engarrafada apresenta maior concentração de microplásticos. No entanto só com estes dados é prematuro tirar conclusões, pois também foram feitos estudos a copos e garrafas PET onde a concentração de microplásticos foi muito baixa (Kirstein et al., 2021).

Este estudo teve por base uma enorme variabilidade de fatores, começando pela localização geográfica, embalagens de plástico de uso único, embalagens reutilizáveis e embalagens de vidro, todas elas originárias de diferentes fabricantes. A água da torneira também foi obtida de diferentes locais: torneiras públicas, torneiras domésticas e redes de distribuição. Logo, a enorme variação nas contagens dos microplásticos pode estar relacionada com a localização geográfica, sazonalidade, a origem da água, produção, embalamento e transporte (Kirstein et al., 2021).

Outro fator que tem um enorme peso para a variabilidade das concentrações dos microplásticos na água, é o tipo de metodologias utilizadas para a identificação e quantificação dos mesmos, nem todos os países tiveram por base as mesmas metodologias. Em 2018 foi publicado outro artigo sobre a mesma problemática, mas a técnica analítica para identificar a presença dos microplásticos na água engarrafada foi por FTIR usando o corante vermelho de Nilo para facilitar a identificação (Kirstein et al., 2021).

Segundo os últimos estudos, a utilização do Vermelho do Nilo tem sido uma mais valia para a deteção e quantificação dos microplásticos na água engarrafada, devido à sua adsorção nas superfícies dos plásticos e propriedades fluorescentes. Neste estudo, a principal preocupação foi a validação da utilização do vermelho de Nilo para a deteção dos microplásticos. Testaram especificamente a adsorção do vermelho de Nilo em materiais poliméricos, em materiais orgânicos (algas, madeiras, penas) e inorgânicos (conchas). Cada um deles apresentou manchas de cor variável dependendo do comprimento de onda. Desta forma validaram o uso da mancha e com a utilização do FTIR identificaram o conteúdo polimérico das partículas fluorescentes. Esta técnica pode ser muito promissora para identificar rapidamente os microplásticos, pois não necessita de análise espectral adicional, reduzindo assim o tempo necessário para analisar uma amostra ambiental. Desta forma concluíram que a adsorção do vermelho de Nilo por si só é suficiente para identificar uma partícula como polimérica na natureza (Kirstein et al., 2021).

4. Metodologias de deteção dos microplásticos

Os procedimentos analíticos para microplásticos em amostras ambientais incluem amostragem, separação, purificação, extração, identificação e quantificação. No entanto, ainda falta um procedimento padronizado para análise de rotina destes, e as metodologias utilizadas em diferentes estudos variam muito, levando a dados incomparáveis (Renner et al., 2018).

Neste capítulo irá ser explorado os principais procedimentos para amostragem, colheita, identificação e quantificação da abundância de partículas de microplásticos no ambiente marinho. Será também dada uma atenção especial aos desafios existentes nas práticas atuais de identificação de microplásticos ambientais a partir de matrizes complexas, e as suas possíveis soluções.

A análise dos microplásticos é desafiadora devido às características e propriedades dos mesmos. Para além de serem materiais constituídos por cadeias poliméricas, muitas vezes também contêm uma enorme variedade de aditivos. Desta forma é importante que a técnica utilizada para identificar os microplásticos tenha em conta a sua morfologia, massa e tamanho (Kirstein et al., 2021).

Os estudos que envolvem a elucidação dos níveis de contaminação e, conseqüentemente, o impacto causado pela presença dos microplásticos no ambiente, devem considerar inúmeros fatores, tais como (Montagner et al., 2021):

- Extensão da contaminação e a variação sazonal das concentrações;
- Identificação e caracterização dos microplásticos incluindo os estágios de degradação dos mesmos;
- Capacidade de sorção de outros contaminantes incluindo compostos orgânicos, inorgânicos e patógenos;
- Capacidade de transporte deste material, bem como a identificação de fontes pontuais e difusas de contaminação.

Um dos grandes avanços analíticos envolvendo a análise de microplásticos, está relacionado com o controlo cada vez mais rigoroso da qualidade dos resultados. Sabe-se que as partículas de microplásticos provenientes de outras fontes são responsáveis pela contaminação durante cada etapa de análise. Assim, o cuidado para evitar contaminações, inicia-se na etapa de amostragem. As duas principais fontes de contaminação são: o local onde as amostras são manuseadas e o analista (Montagner et al., 2021).

Para as análises de microplásticos, tenta-se evitar ao máximo o uso de materiais plásticos, recomendando-se fortemente o uso de utensílios de vidro e metal. No entanto, o cuidado a ter com a limpeza desses utensílios também é fundamental, de modo a garantir a qualidade dos resultados (Kirstein et al., 2021).

Na **Figura 3** é possível observar um panorama de várias possibilidades de um método analítico para a investigação de microplásticos no ambiente que tem sido estudado internacionalmente.

microp|ásticos

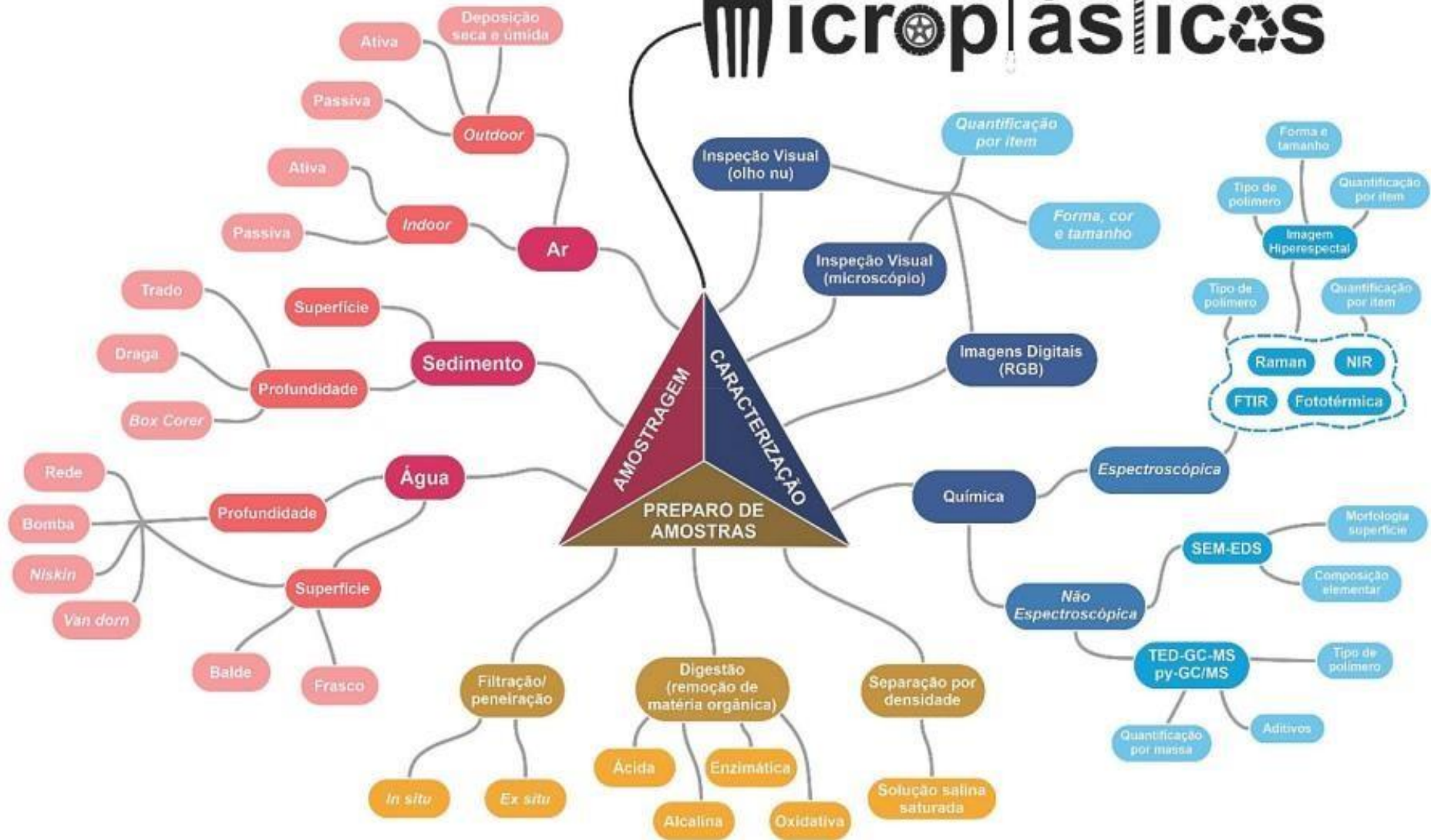


Figura 3 - Panorama das possibilidades de um método analítico para a determinação de microp|ásticos no ambiente, considerando amostragem do compartimento ambiental de interesse, preparo de amostras e caracterização

Já existem muitos estudos onde analisam os microplásticos na água potável, mas muitos deles não têm resultados promissores, o que leva a questionar o que pode estar a contribuir para esta vulnerabilidade. É importante ter em conta um conjunto de fatores, para além da escolha da técnica mais adequada, nomeadamente (Kirstein et al., 2021):

- **Escolha de métodos padronizados para fazer a amostragem** – Deve ser recolhido volume suficiente para garantir um número adequado de microplásticos na amostragem. Para obter uma análise confiável, o valor deve estar acima do limite de quantificação da técnica aplicada. Também deve ser tido em conta a variação de tempo e espaço

Se existir algum tipo de contaminação durante a amostragem, a preparação da amostra e a análise devem ser documentadas e levadas em conta.

- **Escolha de métodos padronizados para preparar a amostra** – A sala onde é feita a preparação da amostra deve ser cuidadosamente limpa, não devem ser utilizados materiais e acessórios com materiais plásticos para evitar contaminações

Idealmente a preparação da amostra deve ser feita em ambiente de fluxo laminar para evitar partículas/ fibras no ar que podem contaminar a amostra.

- **Critérios de controlo de qualidade bem definidos**, nomeadamente: limite de deteção e limite de quantificação - O limite de quantificação deve ter em conta, para além de outros fatores, a relação entre o tamanho do microplástico e o tipo de polímero. Ou seja, um limite de quantificação combinado deverá ter em conta o menor tamanho até ao qual os microplásticos de certos tipos podem ser quantificados de forma confiável

- **Falsos positivos e falsos negativos** – Não existe nenhuma técnica analítica capaz de identificar com 100% de certeza todos os tipos de polímeros. Erros como, falha na identificação de microplásticos e microplásticos que são confundidos com partículas naturais, são cometidos em todas as técnicas analíticas. Para além destes fatores, o número de falsos positivos e falsos negativos dependerá também do tipo de matriz, tamanho de partícula e tipo de polímero

A seguir será falado um pouco mais sobre os pontos referidos acima, mais especificamente sobre a amostragem, preparação de amostras, caracterização química e quantificação de microplásticos e sobre as técnicas espetroscópicas.

4.1 Amostragem

Para a quantificação de microplásticos é preciso conhecer o volume exato de amostra de água. A forma de amostragem mais comum em amostras de água é a de volume reduzido, existindo alguns estudos que abordam volumes maiores. Devido às concentrações relativamente baixas de microplásticos no ambiente, a amostragem requer grandes volumes de amostra (Oliveira, 2020).

Ao recolher as amostras de água, são utilizadas redes de malha arrastadas por um barco (**Figura 4**), tendo um medidor de volume para calcular o volume filtrado. No geral as redes são fabricadas em Nylon (PA) e acopladas a um recipiente para armazenamento da amostra produzido em PVC. No entanto, a imprecisão do volume é algo recorrente, podendo ser gerada pela ação do movimento da água (ondas e

correntes), em que a submersão da rede pode não ser constante durante toda a amostragem (Montagner et al., 2021).



Figura 4 – Exemplos de redes utilizadas para a recolha de microplásticos

Num estudo de comparação, foram utilizadas redes com três tamanhos de malha diferentes (100, 300 e 500 μm). Na rede de 100 μm observou-se uma quantidade de microplásticos 10 vezes superior quando comparada à quantidade de microplásticos existentes na rede de 500 μm e 2,5 vezes maior com a rede de 300 μm . No entanto, com a diminuição do tamanho da malha, as redes tornam-se mais propícias a sofrer entupimento com material orgânico, podendo resultar na perda da sua eficiência e na diminuição do volume de água colhido (Montagner et al., 2021).

A recolha de microplásticos em ambiente aquático também pode ser realizada com a utilização de bombas de amostragem, que possibilitam a separação *in situ* das partículas através do uso de peneiras com diferentes aberturas ou de copos de amostragem. Este tipo de recolha pode ser aplicado para águas superficiais ao longo da coluna de água, em ambientes marinhos e água doce, incluindo lagos e estações de tratamento de esgoto (Montagner et al., 2021).

4.2 Preparação de amostras

A preparação de amostras recolhidas em ambientes aquáticos é composta por duas etapas: separação de partículas e remoção da matéria orgânica. A separação das partículas é um processo muito importante, uma vez que os detritos orgânicos e inorgânicos (minerais e impurezas não dissolvidas) são facilmente confundidos com

microplásticos, quando apenas uma inspeção visual é realizada. A separação pode ser realizada por filtração, peneiração ou por diferença de densidade (Montagner et al., 2021).

De modo a isolar os microplásticos da matriz de estudo, adicionam-se soluções salinas com altas densidades, como NaCl, NaI, ZnCl₂ ou ZnBr₂. Assim, com a diferença de densidade das partículas, são obtidas duas frações no sistema, uma com baixa e outra com alta densidade. Além das soluções citadas anteriormente, a água do mar também pode ser utilizada nesta etapa. Na **Figura 5** observa-se os polímeros que ficam à superfície com as soluções referidas acima (Oliveira, 2020; Montagner et al., 2021).

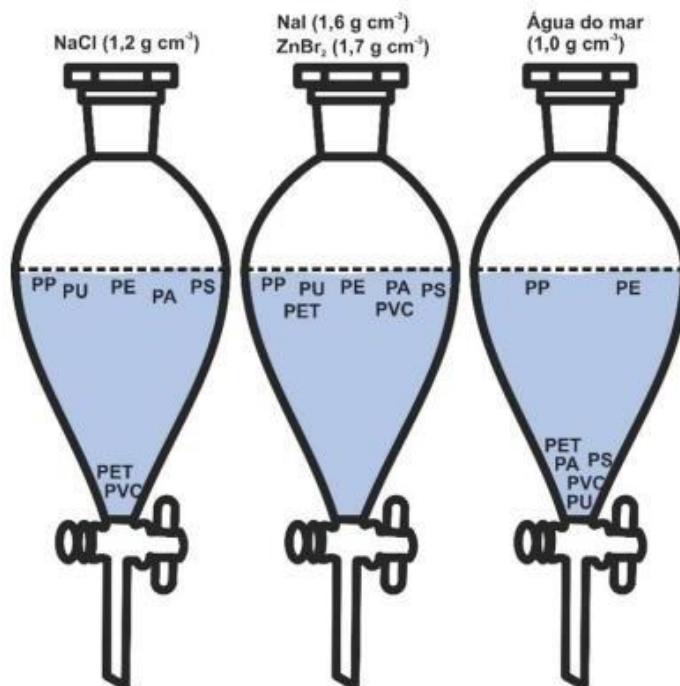


Figura 5 – Separação por densidade e contendo microplásticos de diferentes composições poliméricas utilizando as principais soluções salinas saturadas (NaCl, NaI, ZnCl₂, ZnBr₂) e água do mar

Na etapa da caracterização química pode ser possível observar certas interferências, devido à presença de matéria orgânica na superfície dos microplásticos. Posto isto, é necessária a utilização de métodos para a eliminação da matéria orgânica que não danifiquem as propriedades químicas e estruturais dos polímeros. Os métodos mais comuns são baseados na digestão com soluções ácidas ou alcalinas, digestão enzimática e digestão branda utilizando oxidantes (H₂O₂ ou NaClO) (Oliveira, 2020; Montagner et al., 2021).

4.3 Caracterização química e quantificação de microplásticos

Os microplásticos são caracterizados maioritariamente por tamanho, forma (fibra, fragmentos, filmes, esferas ou *pellets*), cor, tipo (composição polimérica) e origem (primário ou secundário) (Montagner et al., 2021).

A identificação dos polímeros pode ser feita através de várias técnicas, como a técnica de Espectroscopia de Infravermelho por Transformação de Fourier (FTIR), Espectroscopia no Infravermelho por transformação de Fourier de Reflexão Total Atenuada (ATR-FTIR), Espectroscopia de Raman e Cromatografia em fase gasosa de Pirólise (Py-GCMS), sendo as duas primeiras as técnicas mais recomendadas, pois são

mais económicas e apresentam uma maior disponibilidade que os outros (Leonor, 2020; Kirstein et al., 2021).

A técnica de Raman é importante, uma vez que é considerada destrutiva se a energia de excitação for elevada, o que não acontece com as técnicas FTIR. Ambas as técnicas se complementam uma vez que, a espectroscopia de Raman fornece uma melhor resposta de ligações simétricas não polares e o FTIR permite uma identificação mais clara dos grupos polares. Todavia, a técnica de Raman é capaz de apresentar uma melhor resolução espacial, visto que os equipamentos modernos alcançam resoluções abaixo de 1 μm . No FTIR é apenas possível identificar polímeros de partículas com um tamanho mínimo de 10 μm (Lenz et al., 2015; Leonor, 2020).

Atualmente, o método mais confiável e recomendado para identificar a composição química dos microplásticos, é o ATR-FTIR devido à sua simplicidade de análise e informação espectral fornecida. Este também é económico e de fácil disponibilidade em relação aos outros. No entanto, uma vez que os microplásticos são analisados um a um, as técnicas analíticas são demoradas (Leonor, 2020; Cutroneo et al., 2020).

4.4 Técnicas de Espectroscopia

4.4.1 Espectroscopia de Infravermelho

Devido à alteração na sua estrutura molecular, cada microplástico apresenta propriedades químicas únicas e pode levar a diferentes níveis de ameaças ao meio ambiente. Para avaliar adequadamente o impacto ambiental, devem ser identificados os microplásticos presentes numa amostra ambiental e por sua vez, o seu risco para o meio ambiente. Com vista a minimizar este problema, vários estudos têm vindo a ser realizados, com o objetivo de obter o melhor método de identificação e quantificação de microplásticos na água (Käppler et al., 2016).

A espectroscopia de infravermelho (Espectroscopia IV) mede as transições entre os níveis de energia vibracional molecular numa amostra medida por absorção de radiação IV. No geral, os modos vibracionais observados na espectroscopia IV surgem do alongamento da ligação (associado a uma mudança no comprimento de onda) e da flexão (envolve uma mudança no ângulo de ligação). Uma ligação IV-ativa é uma ligação que altera o seu dipolo durante a vibração, por exemplo, C=O, O-H e N-H. Como referido anteriormente, os plásticos consistem em vários grupos funcionais, muitas vezes repetidos, ligados a uma cadeia de carbono, tornando a espectroscopia de IV útil para a identificação de microplásticos. A banda de energia IV é dividida em três regiões: IV próximo (NIR, 12800-4000 cm^{-1}), IV médio (MIR, 4000-200 cm^{-1}) e IV distante (FIR, 200-10 cm^{-1}) (Andrady, 2022).

O IV médio de transformada de Fourier (FT-MIR) é uma técnica comum para identificação de microplásticos, proporcionando uma medição rápida, bem como um perfil espectral com picos característicos bem definidos para cada polímero. Para análise de microplásticos podem ser utilizadas três configurações diferentes: transmitância, reflexão e refletância total atenuada (Andrady, 2022).

No modo de transmitância o feixe IV passa pela amostra e a energia transmitida produz um espectro. A luz passa completamente pela secção transversal da amostra, maximizando a sensibilidade. Assim, transições com baixos coeficientes de extinção são detetáveis. A transparência da amostra para este teste é a chave para obter um

espectro de transmitância. Plásticos coloridos, que absorvem intensamente quando a luz transmitida insuficiente chega ao detetor, não são aconselháveis (Andrady, 2022).

O modo ATR é uma das configurações mais comuns para análise de microplásticos por espectroscopia FTIR. Um espectro de refletância é adquirido quando o feixe incidente passa de volta através da amostra por uma combinação de refletância difusa da superfície/subsuperfície da amostra e transferência de um substrato refletivo IV. Embora os espectros de refletância possam produzir um sinal mensurável para materiais espessos e principalmente absorventes, o sinal tende a ser afetado por variações causadas pela dispersão da luz devido à morfologia (tamanho, forma e índice de refração) da amostra (Andrady, 2022).

Como se pode observar na **Figura 6**, o feixe IV percorre um cristal ATR de alto índice de refração e interage com a amostra na superfície. A reflexão interna total ocorre e gera uma onda que se estende a uma curta distância (da ordem de 1 μm), além da superfície na forma de ondas (ondas evanescentes), levando a uma reflexão total ligeiramente atenuada. Devido à profundidade de penetração de luz curta na configuração ATR, é ideal para amostras fortemente absorventes ou espessas que muitas vezes produzem picos intensos quando medidos por transmitância (Andrady, 2022).

Em alguns casos, os microplásticos extraídos de matrizes ambientais, são cobertos com biofilme e outros contaminantes. Assim, a baixa profundidade de penetração no ATR pode ser uma desvantagem, uma vez que, o feixe IV pode não passar pela camada superficial para atingir o microplástico. Além disso, o cristal de ATR deve ser completamente coberto pela partícula analisada, portanto, partículas com tamanho menor que o cristal não irão gerar um espectro desejável (Andrady, 2022).

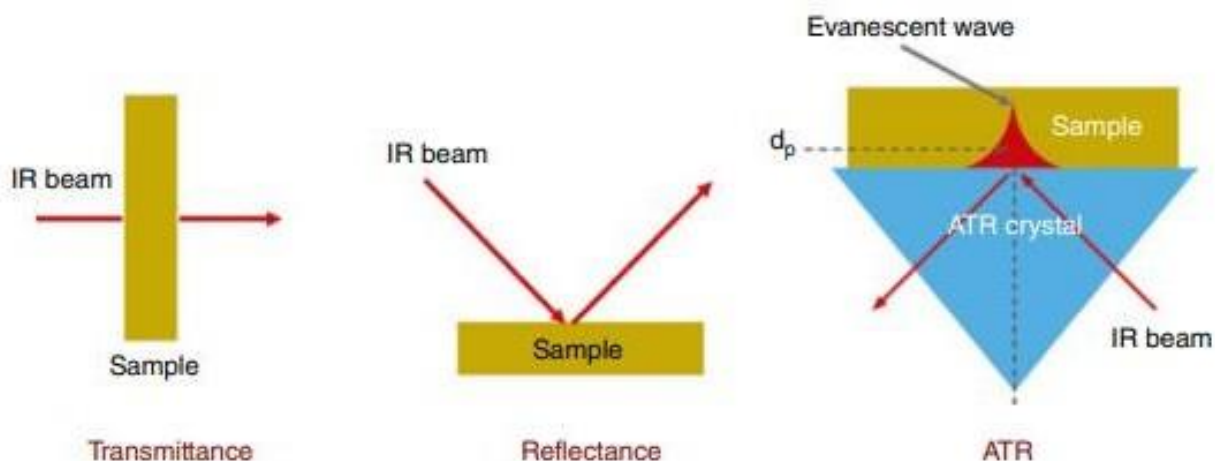


Figura 6 – Esquema simplificado dos vários modos de análise FTIR

Para análises em μ -FTIR, a amostra de microplásticos de fração menor é purificada química ou enzimaticamente e depois concentrada em filtros. O analista pode procurar possíveis microplásticos sobre o filtro realizando uma inspeção visual não padronizada pelo microscópio para posterior aquisição do espectro, sendo um trabalho pouco laborioso e pouco preciso. A principal dificuldade neste método prende-se com o enorme número de partículas orgânicas e inorgânicas existentes em amostras ambientais, dificultando a deteção exata do número de microplásticos por filtro, a

tipologia do polímero e o tamanho da partícula (Köppler et al., 2016; Montagner et al., 2021).

Segundo a literatura, o filtro pode ser analisado de duas formas (Köppler et al., 2016):

- O filtro é analisado visualmente na identificação de microplásticos com base em critérios morfológicos. Estes microplásticos depois são medidos usando a técnica ATR-FTIR ou a técnica de Raman.

Esta abordagem é muito demorada, pois depende da experiência do analista e tende a uma subestimação devido à pré-classificação visual subjetiva. Para além disso, não é possível automatizar este procedimento.

- É feita a análise espectroscópica sem qualquer pré-seleção visual, levando a dados mais confiáveis.

A maneira mais promissora de detetar microplásticos em filtros é através da imagem FTIR no modo de transmissão. As imagens FTIR permitem a análise de pequenos microplásticos diretamente nos filtros sem qualquer pré-classificação visual e abrem a possibilidade de automatização (Köppler et al., 2016).

4.4.2 Espetroscopia de Raman

A espectroscopia de Raman explora as vibrações moleculares dentro dos microplásticos, podendo ser utilizada para identificação do tipo de polímero. Tanto a espectroscopia de IV como a de Raman monitorizam a interação da radiação com as vibrações moleculares. No entanto, estas diferem na maneira como a energia do fóton é transferida para a molécula, para alterar o seu estado vibracional (Andrady, 2022).

Em comparação com a espectroscopia de IV, as vantagens que a técnica de Raman apresenta, incluem uma alta resolução espacial e baixa sensibilidade à água. No entanto, não existem muitos dados sobre a identificação de partículas de microplásticos por esta técnica, devido a procedimentos exigentes de preparação de amostras (separação e purificação) e a um maior tempo de medição (Andrady, 2022).

A característica mais atraente da espectroscopia de Raman relativamente à espectroscopia FTIR é a sua maior resolução, que é bastante relevante para identificar microplásticos muito pequenos (<20 μm) que seriam indetetáveis usando técnicas de IV (Araujo et al., 2018).

Os microplásticos existentes no ambiente sofrem transformações constantes, o que leva ao aparecimento de microplásticos mais pequenos. Apesar deste problema, esta fração de microplásticos tem sido consistentemente negligenciada em estudos de quantificação. Em 2018 cerca de 80% dos estudos realizados não tinham em conta a fração de menor tamanho dos microplásticos, o que levou a uma enorme subestimação da carga real de microplásticos presentes no ambiente (Araujo et al., 2018).

Tendo por base estudos realizados anteriormente para identificar microplásticos, a espectroscopia de Raman conseguiu detetar microplásticos tão pequenos como 5 μm . Apesar de a espectroscopia FTIR ter conseguido identificar alguns microplásticos na gama 11-20 μm , a qualidade dos espectros diminuiu devido à baixa relação sinal/ruído, consequência direta do tamanho da partícula que se aproxima do limite

de difração do instrumento. Para melhor compreensão são apresentados na **Figura 7** os espectros das duas técnicas, FTIR e Raman de uma partícula de polipropileno (PP) pequena com 15-20 μm , na esquerda é apresentado um espectro Raman bastante nítido, e na direita está apresentado um espectro FTIR com muito ruído e pouco nítido (Araujo et al., 2018).

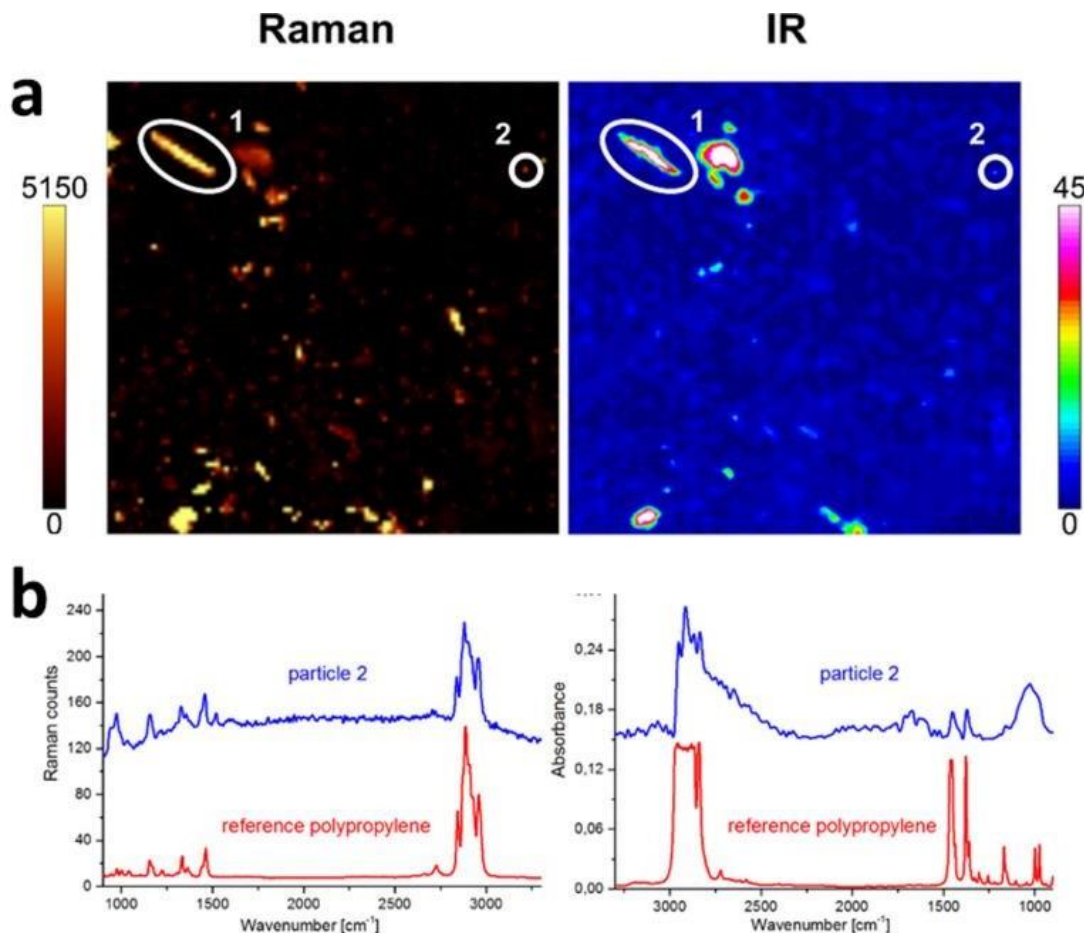


Figura 7 – a) Imagem Raman (esquerda) e imagem IV (direita) com falsa coloração revelando a intensidade espectral na faixa de 2780 e 2980 cm^{-1} . b) Espectro Raman (esquerda) e espectro IV (direita) da partícula 2 em comparação com uma referência de polipropileno

Apesar das enormes vantagens da espectroscopia de Raman, ainda não está a ser aplicada em maior escala devido a algumas limitações. A espectroscopia de Raman é propensa a interferências de fluorescência, tem uma relação sinal-ruído baixa, utiliza um laser como fonte de luz que pode causar aquecimento da amostra levando à emissão de fundo ocasionalmente seguido por degradação do polímero (Araujo et al., 2018).

Quando existe um sinal fraco é necessário aumentar o tempo de integração que na melhor das hipóteses aumenta o tempo de medição, e na pior das hipóteses resulta na degradação da amostra devido ao laser. A fluorescência origina uma linha de base elevada que, num dos piores casos, ofusca completamente o sinal. Há muitos caminhos possíveis para minimizar estes problemas. A abordagem mais radical é abdicar do espalhamento de Raman espontâneo em favor das técnicas de Raman não lineares. Com estas, obtém-se uma relação sinal-ruído alta, livre da interferência de fluorescência. No entanto, os métodos de Raman não lineares exigem equipamentos caros e conhecimento técnico especializado para implementar

corretamente o método de análise dos microplásticos, pois é um campo ainda com pouca informação (Araujo et al., 2018).

Em 2016 foi publicado um artigo com dados muito promissores, onde avaliaram a eficiência e o efeito da degradação de seis métodos. Os autores concluíram que a digestão com ácido nítrico, método oficial recomendado pelo Conselho Internacional para a Exploração do Mar (CIEM), leva à degradação do polímero e consequente subestimação do microplástico. Com este estudo os autores chegaram à conclusão de que o melhor é fazer uma digestão com uma solução de KOH a 10%. Seguindo esta teoria, surgiu outro artigo em 2017 com conclusões semelhantes, onde confirmaram que a digestão da amostra com ácido nítrico provocava a subestimação dos microplásticos. Assim, em parceria com o CIEM emitiram uma nova recomendação oficial para a limpeza dos microplásticos, usando uma mistura de 30% KOH:NaClO (Dehaut et al., 2016; Araujo et al., 2018).

Apesar das enormes melhorias, algumas amostras, após uma limpeza completa, exibiram um grau problemático de fluorescência, principalmente devido à presença dos agentes corantes muito difíceis de remover. Uma solução apresentada na literatura para eliminar esta fluorescência, é foto branquear a amostra, ou seja, colocá-la sob o laser durante o tempo necessário para degradar o agente fluorescente. No entanto, além de ser demorada, esta estratégia não pode ser aplicada a amostras propensas a foto degradação ou pirólise e mesmo quando aplicado nem sempre funciona (Dehaut et al., 2016).

Em 2018, um grupo de investigadores apresentou um algoritmo automatizado para remover o fundo de fluorescência e revelar o espectro do polímero subjacente. Na **Figura 8** está representado o espectro de uma partícula de plástico (preto) parcialmente coberta por um biofilme (vermelho). Como se pode observar, antes da subtração do ruído, o espectro do biofilme está saturado com o sinal da fluorescência que oculta os picos característicos do polímero. O espectro depois de tratado apresenta picos do polímero perfeitamente visíveis, permitindo a sua identificação através de um software de correspondência de biblioteca (Araujo et al., 2018).

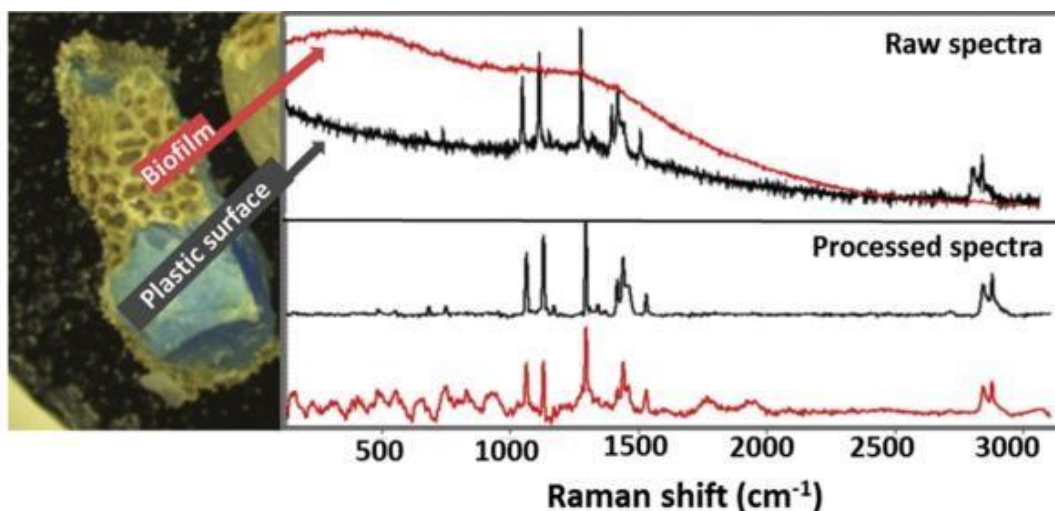


Figura 8 - Espectro Raman de uma partícula de polietileno parcialmente coberta por biofilme

A partir da **Figura 8**, observa-se que no espectro superior, os picos característicos do Polietileno parecem estar ausentes da superfície plástica coberta com biofilme (linha vermelha, painel superior). Após a correção de fluorescência automatizada, a impressão digital espectral do Polietileno aparece claramente no espectro processado da superfície plástica coberta por biofilme (linha vermelha, painel inferior) (Araujo et al., 2018).

Outra fonte adicional de fluorescência sobre os microplásticos pode ser o substrato (filtro). Foram feitos ensaios onde compararam seis filtros comerciais diferentes usados para a análise de Raman e substratos de policarbonato revestidos com três metais diferentes. Dos vários testes, aquele que deu melhores resultados foi com policarbonato revestido a alumínio, minimizando a fluorescência e a queima da amostra. Este também otimizou o contraste ótico entre o filtro e os microplásticos, facilitando assim a busca automatizada de partículas (Araujo et al., 2018).

De forma a melhorar o sinal, foram desenvolvidos sistemas de deteção mais eficientes. Os detetores de dispositivos carregados convencionais (CCD) ficaram muito aquém dos detetores com multiplicadores de eletrões (EM-CCD). Estes são equipados com um registrador de multiplicação que atua antes da leitura e amplifica o ganho até 1000 vezes (Lindeque et al., 2020).

Esta melhoria na identificação dos microplásticos é perfeitamente visível na análise da **Figura 9**, onde está apresentado uma imagem Raman do polimetacrilato de metilo (PMMA) contaminado numa lâmina de vidro obtida usando um detetor CCD clássico e com um tempo de integração de 36 ms/espectro. Neste a relação sinal/ruído é baixa, e a faixa vertical no centro das regiões laterais (PMMA + impurezas) é praticamente impercetível. Quando é utilizado um detetor EM-CCD, a mesma relação sinal-ruído é alcançada em um décimo do tempo de integração. Ao definir o mesmo tempo de integração utilizado pelo detetor CCD, obtém-se uma imagem mais nítida, onde é possível distinguir claramente o centro do PMMA, e até as estrias das impurezas são facilmente discerníveis (Araujo et al., 2018).

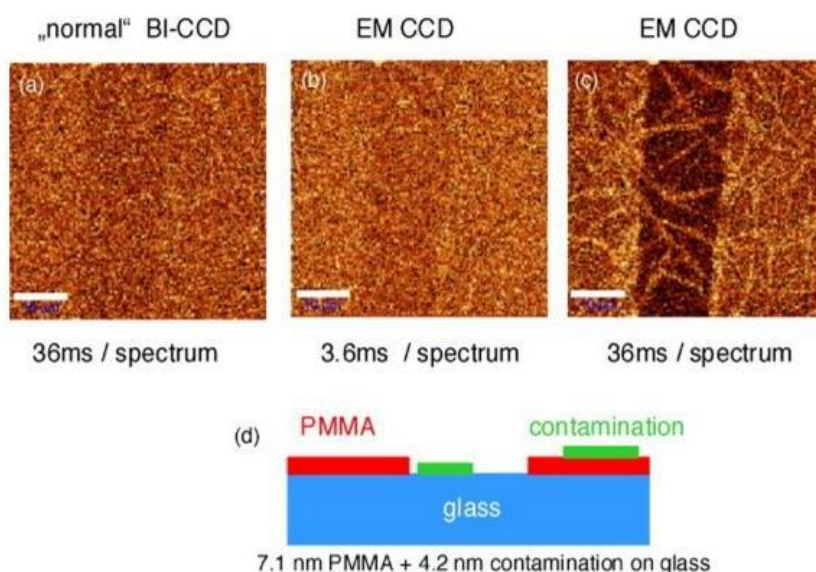


Figura 9 - Imagens de Raman de uma lâmina de vidro parcialmente coberta com uma camada de PMMA e contaminações (esquema d), obtidas com: (a) CCD retro-iluminado; (b e c) EMCCD. Escala barra: 10 milímetros

Outro tipo de análise estudada foi o mapeamento de todo o filtro, onde este se encontrava sobre uma platina motorizada, e sempre que esta se movimentava era recolhido um espectro desse ponto. Esta técnica apesar de ser bastante completa tinha um tempo de análise extremamente longo. Apenas a título de exemplo, um ensaio ponto a ponto sem pré-seleção demorou 38 horas para analisar 1 mm² do filtro de amostra usando uma distância de ponto de 10 µm e um tempo total de integração de 10 s por ponto. Ao reduzir o tempo de integração para 0,5 s por ponto e ao usar uma ferramenta de imagem topográfica para melhorar o foco, o tempo total de medição foi reduzido para 90 min, equivalente à técnica de imagem FTIR (Käppler et al., 2016).

A principal desvantagem do mapeamento ponto a ponto para analisar os microplásticos, é que este não faz um pré varrimento da amostra selecionando as zonas onde existem partículas, o que faz com que a maioria do tempo de aquisição dos espectros seja na análise do próprio filtro, caindo por terra esta metodologia de análise (Käppler et al., 2016).

O estudo que parece mais promissor para a deteção dos microplásticos é a espectroscopia de Raman usando um corante fluorescente, o Vermelho de Nilo, que atualmente é o que obtém melhor relação velocidade-precisão (Käppler et al., 2016).

O vermelho de Nilo cora seletivamente polímeros sintéticos, mas não cora por exemplo a borracha de pneu, permitindo a sua deteção rápida sob luz UV, conforme ilustrado na **Figura 10**.

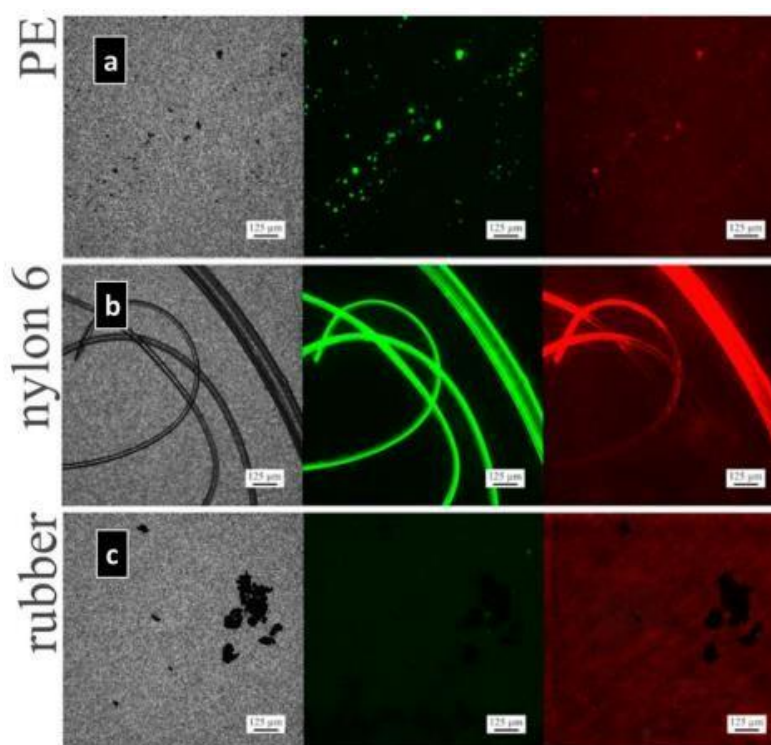


Figura 10 - Imagens microscópicas de a) polietileno, b) nylon 6 e c) borracha corada com vermelho do Nilo. Lado esquerdo: imagens em campo claro, imagens ao centro e lado direito: imagem fluorescente na excitação/emissão 460/525 nm (verde) e 565/630 nm (vermelho), respetivamente

Nem todas as partículas coradas são necessariamente plásticas. Fragmentos não plásticos contaminados com material biológico hidrofóbico também podem ser corados. No entanto, esta interferência pode ser minimizada com uma etapa de limpeza eficaz antes da coloração com o vermelho do Nilo, e o uso de um comprimento de onda UV que vai induzir a fluorescência verde em vez da vermelha. Como as partículas de plástico apresentam melhor fluorescência em verde é mais fácil a sua deteção junto do restante material (Käppler et al., 2016).

Com estas melhorias existem estudos onde conseguiram resultados com tempos de medição de apenas 2 min/mm² e se a etapa do foto-branqueamento tivesse sido eliminada, o tempo total de análise seria de aproximadamente 40 s/mm² (Käppler et al., 2016).

Um procedimento que poderia ser aplicado para ser mais eficiente em termos de tempo seria (Käppler et al., 2016):

- Executar primeiro um teste de foto-branqueamento sem microplásticos;
- Obter os espectros brutos por meio de um *script* automatizado, com a correção da linha de base;
- Tentar a identificação automática fazendo a correspondência com uma biblioteca de polímeros;
- Foto-branquear e reanalisar apenas as partículas que não puderam ser identificadas com sucesso na primeira corrida.

Atualmente, a imagem FTIR com um detetor de matriz de plano focal (FPA) não é necessariamente mais eficiente em termos de tempo do que o mapeamento de Raman. Ambas as categorias apresentam exemplos em que 1 mm² de área de amostra foi analisado em poucos minutos e até segundos. Uma outra estratégia interessante é a utilização de um software de análise de imagens que, ao aumentar o contraste entre as partículas e o filtro, cria um mapa de todas as partículas em uma determinada área e os espectros Raman são obtidos apenas nesses pontos (Schymanski et al., 2018).

O *software* utilizado pelo grupo de investigadores foi o *Single Particle Explorer* (rapID) onde detetava automaticamente partículas maiores que 5 μm até um máximo de 5.000 partículas por área digitalizada. A identificação química foi obtida através da comparação com a biblioteca de todos os microplásticos com uma classificação entre 550 e 700, onde foram então analisados individualmente usando tempos de integração mais longos para melhorar a relação sinal-ruído. Apesar de ser uma etapa demorada, a análise foi realizada a uma taxa de 56 min/mm², uma melhoria significativa em relação às abordagens de mapeamento de pontos. Outro grupo de investigadores utilizou o *software Particle Finder* (Horiba) e obtiveram tempos de medição ainda menores, cerca de 20 s/mm². A maior eficiência de velocidade desta medição deve-se ao tamanho dos microplásticos amostrados (>300nm) e a ausência de uma etapa de verificação completa (Araujo et al., 2018).

4.4.3 Cromatografia

Os métodos cromatográficos permitem a identificação qualitativa e quantitativa de polímeros individuais. A cromatografia de permeação de gel (GPC) é utilizada para medir o peso molecular distribuído nos microplásticos, incluindo a o GPC de alta temperatura usado com poliolefinas que não se dissolvem em solventes à temperatura

ambiente. Resultados promissores também foram demonstrados usando cromatografia gasosa de pirólise-espetrometria de massa (Pyr GC-MS), agora reconhecido como um método sensível e bem estabelecido para a quantificação de massa de tipos de polímeros juntamente com os seus aditivos orgânicos. Para análise Pyr GC-MS, uma amostra é aquecida na ausência de oxigênio e os produtos de pirólise voláteis evoluídos são analisados usando GC-MS (Andrady, 2022).

Geralmente, a elucidação de produtos de pirólise de polímeros específicos é conhecida, e os espectros adquiridos dos produtos de pirólise de microplásticos desconhecidos, são comparados a uma biblioteca de dados de produtos de tipos de plástico comuns conhecidos. Pyr GC-MS fornece informações sobre aditivos plásticos orgânicos (OPAs), que também podem ser tóxicos. No entanto, este método tem várias desvantagens. O tamanho da cápsula de pirólise pode acomodar apenas de uma quantidade muito pequena por corrida, 1,5 mm e 0,5 mm. Além disso, os microplásticos precisam de ser colocados manualmente no tubo de pirólise, resultando na análise de uma partícula por corrida, que leva a aproximadamente 70 minutos, tornando-o bastante inadequado para análise em massa. Nenhuma informação sobre a morfologia dos plásticos pode ser obtida usando este método. Este também é propenso a contaminações ou mesmo bloqueios (Andrady, 2022).

Mais recentemente, a espectrometria de massa por cromatografia gasosa de dessorção por extração térmica (TEDGC-MS), foi proposta de modo a superar algumas das dificuldades do Pyr GC-MS. Volumes de amostra mais altos (0,5-100mg) são utilizados com esta técnica e são responsáveis por uma maior sensibilidade. No entanto, o método requer um pré-tratamento limitado da amostra além desta sofrer uma moagem e mistura para homogeneizá-la. Embora o tempo de medição por amostra seja longo ($\approx 2,5$ horas), um rendimento mais alto pode ser alcançado por meio de automatização total do processo. (Eisentraut et al., 2018) confirmaram a adequação do uso do TEDGC-MS para a identificação de tipos de microplásticos derivados do desgaste de pneus em amostras ambientais. No entanto, como a pirólise GC, TEDGC-MS também é uma abordagem destrutiva e não fornece informações suficientes sobre a forma e o tamanho das partículas de microplásticos, o que pode ser crucial no contexto da avaliação dos efeitos de microplásticos em organismos e sistemas económicos (Andrady, 2022).

As vantagens e as limitações de cada técnica para análise de microplásticos, estão resumidas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Vantagens e limitações dos métodos comuns utilizados para identificação de microplásticos

Técnicas	Vantagens	Limitações
Identificação Visual	<ul style="list-style-type: none"> • Simples e fácil • Custo Baixo 	<ul style="list-style-type: none"> • Grandes erros devido à subjetividade do analista
Observação Microscópica	<ul style="list-style-type: none"> • Tamanho, cor e forma das partículas são de fácil deteção 	<ul style="list-style-type: none"> • Nenhuma informação química • Demorado • Limitação de tamanho
Microscopia de Eletrões	<ul style="list-style-type: none"> • Alta resolução (<0,5 nm) • Composição química das amostras podem ser identificadas por SEM-EDS 	<ul style="list-style-type: none"> • Consumo de tempo e esforço • A amostra precisa de uma boa preparação • Instrumento caro
Espectroscopia de IV	<ul style="list-style-type: none"> • Métodos Confiáveis e não destrutivos (exceto ATR-FTIR) • Possível analisar partículas menores por μ-FTIR • FPA-FTIR pode identificar várias partículas através de uma única medição • Mapeamento automático com FPA-FTIR 	<ul style="list-style-type: none"> • Limitação de tamanho • Instrumento Caro • Exige operadores experientes • Pré-tratamento de amostras necessário • Sensibilidade à água
Espectroscopia de Raman	<ul style="list-style-type: none"> • Permite detetar partículas com tamanho de 1 μm • Método confiável • Insensível à água • Análise não destrutiva • Análise sem contacto 	<ul style="list-style-type: none"> • Distorção de fluorescência • Equipamento caro • Pré-tratamento de amostras necessário • Demorado e às vezes destrutivo
Pyr GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> • Os tipos de polímeros e aditivos podem ser analisados em apenas uma corrida • Forma, tamanho e cor das amostras não afeta o resultado • Confiável 	<ul style="list-style-type: none"> • Demorado e destrutivo • Caracterização morfológica é indisponível • Adequado para amostras com tamanho >100 μm
TED-GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> • Mais rápido que Pyr GC-MS • Maior sensibilidade • Pré-tratamento de amostra limitado 	<ul style="list-style-type: none"> • Destrutivo • Falta de informação sobre forma, tamanho e número de partículas de microplásticos

5. Conclusão

A preocupação com a presença dos microplásticos nos oceanos e na vida marinha tem vindo a crescer nos últimos anos, mas ganhou uma nova dimensão quando a sua presença também foi detetada na espécie humana. Desde então têm sido vários os estudos desenvolvidos para identificar e quantificar os microplásticos em vários ambientes.

A caracterização e/ou quantificação de microplásticos pode requerer a determinação do seu tamanho, a composição química do polímero, a morfologia, a origem do microplástico (primária ou secundária) e o grau de degradação deles no ambiente, uma vez que essas informações ajudam a explicar a toxicidade, os mecanismos de transporte, a capacidade de lixiviação e de sorção dos mesmos, e consequentemente, o nível de contaminação a que os seres vivos estão expostos.

Os químicos ambientais têm um compromisso importante nessa área, pois os protocolos analíticos estão em crescente desenvolvimento e, na maioria, estão baseados na aplicação de técnicas comumente empregadas em análise de materiais, mas agora adaptadas ao contexto ambiental. De maneira geral, técnicas complementares são necessárias para responder a uma ou mais perguntas da área, tornando a escolha dos métodos analíticos estritamente relacionada com a hipótese da pesquisa, a logística de amostragem e a complexidade das amostras recolhidas.

Com este trabalho concluiu-se que ainda existem várias melhorias a serem feitas nas técnicas para analisar a presença dos microplásticos na água, melhorando a sua incerteza, tempo de medição e o custo, pois, só assim poderão ser aplicadas no mercado atual.

A inspeção visual tem sido a maneira mais usual de se caracterizar os microplásticos em amostras ambientais. No entanto, há uma tendência e demanda importante pela caracterização química, o que tem impulsionado o desenvolvimento de diferentes métodos analíticos nessa área. Os maiores avanços relacionados à caracterização são consequentes da necessidade de diminuir cada vez mais a subjetividade da análise, possibilitados pelos avanços na instrumentação analítica. Assim, a caracterização vem se tornando mais precisa em evitar falsos positivos, bem como a produtividade aumentada pela possibilidade de análises de microplásticos cada vez menores e com técnicas cada vez mais rápidas e modernas.

É de salientar que neste estudo foram abordadas com maior detalhe as técnicas FTIR e Raman, pois são aquelas que até ao momento têm melhores resultados, cumprindo com maior rigor os critérios de qualidade.

Comparando as duas técnicas à primeira vista ambas são indicadas para identificar os microplásticos. Idealmente, devem ser usadas em conjunto de forma a complementarem-se, garantindo resultados mais fiáveis e precisos. No entanto, verificou-se que os microplásticos mais pequenos ($<10\ \mu\text{m}$) não foram detetados utilizando apenas a imagem FTIR, e os microplásticos com tamanho inferior a $20\ \mu\text{m}$ foram subestimados.

Relativamente à imagem Raman, o seu uso exclusivo, em alguns casos pode levar a erros de identificação, especialmente de partículas de tinta. No entanto, tem a capacidade de detetar partículas tão pequenas ($<5\ \mu\text{m}$), e provavelmente até $1\ \mu\text{m}$,

considerado por definição, o limite de tamanho inferior dos microplásticos. Esta técnica é bastante promissora tendo em conta os resultados, mas tem a desvantagem de tempos de análise demorados. De forma a minimizar este problema, devem ser feitas várias otimizações ao método, nomeadamente a alteração dos parâmetros de medição, mas deve ser feito com cautela, de forma a garantir a qualidade do espectro e por sua vez a deteção dos microplásticos, caso contrário, irá resultar numa diminuição na deteção dos microplásticos.

Outra otimização que pode ser feita para identificar os microplásticos, é fazer uma purificação inicial para evitar as fluorescências para as imagens Raman e aumentar a qualidade dos espectros para as imagens Raman e FTIR.

Em conclusão, o ideal é fazer uma divisão de tamanho adicional dentro da fração de microplásticos menor ($<500 \mu\text{m}$). Assim, as partículas de $500-50 \mu\text{m}$ podem ser analisadas por imagens FTIR de forma comparativamente rápida e confiável. Para a fração entre $50-1 \mu\text{m}$ deve ser feita uma investigação detalhada e mais demorada por imagem Raman.

Atualmente o parlamento europeu já está a trabalhar nesta problemática, e já foi publicada uma Diretiva em 2020, (Diretiva (UE) 2020/2184), onde define a data de janeiro de 2024 para ser criada uma metodologia para medir os microplásticos de forma a incluí-los na lista de vigilância.

6. Bibliografia

- Aleixo, A. M. M. (2018). *Microplásticos em águas residuais domésticas Emissão de microfibras poliméricas devido a lavagem mecânica Engenharia do Ambiente Júri*.
- Andrady, A. L. (2022). Plastics and The Ocean: origin, characterization, fate and impacts. In *John Wiley & Sons, Inc.* https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625
- Araujo, C. F., Nolasco, M. M., Ribeiro, A. M. P., & Ribeiro-Claro, P. J. A. (2018). Identification of microplastics using Raman spectroscopy: Latest developments and future prospects. *Water Research*, 142, 426–440. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.060>
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Besley, A., Vijver, M. G., Behrens, P., & Bosker, T. (2017). A standardized method for sampling and extraction methods for quantifying microplastics in beach sand. *Marine Pollution Bulletin*, 114(1), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.055>
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks - Environmental Science & Technology. *Environ. Sci. Technol*, 9175–9179. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es201811s%5Cnhttp://files/82/es201811s.html>
- Cabernard, L., Roscher, L., Lorenz, C., Gerdts, G., & Primpke, S. (2018). Comparison of Raman and Fourier Transform Infrared Spectroscopy for the Quantification of Microplastics in the Aquatic Environment. *Environmental Science and Technology*, 52(22), 13279–13288. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03438>
- Carbery, M., O'Connor, W., & Palanisami, T. (2018). Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environment International*, 115(March), 400–409. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.007>
- Couceiro, D. C. da S. (2019). *Definição de uma metodologia para extração e quantificação de microplásticos em areia de praia*.
- Cutroneo, L., Reboa, A., Besio, G., Borgogno, F., Canesi, L., Canuto, S., Dara, M., Enrile, F., Forioso, I., Greco, G., Lenoble, V., Malatesta, A., Mounier, S., Petrillo, M., Rovetta, R., Stocchino, A., Tesan, J., Vagge, G., & Capello, M. (2020). Correction to: Microplastics in seawater: sampling strategies, laboratory methodologies, and identification techniques applied to port environment (Environmental Science and Pollution Research, (2020), 27, 9, (8938-8952), 10.1007/s11356-020-07783-8). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 20571.

<https://doi.org/10.1007/s11356-020-08704-5>

- Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., & Paul-Pont, I. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>
- Eisentraut, P., Dümichen, E., Ruhl, A. S., Jekel, M., Albrecht, M., Gehde, M., & Braun, U. (2018). Two Birds with One Stone - Fast and Simultaneous Analysis of Microplastics: Microparticles Derived from Thermoplastics and Tire Wear. *Environmental Science and Technology Letters*, 5(10), 608–613. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00446>
- Fendall, L. S., & Sewell, M. A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin*, 58(8), 1225–1228. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025>
- Käppler, A., Fischer, D., Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K. J., & Voit, B. (2016). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(29), 8377–8391. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>
- Kirstein, I. V., Gomiero, A., & Vollertsen, J. (2021). Microplastic pollution in drinking water. *Current Opinion in Toxicology*, 28, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.09.003>
- Lenz, R., Enders, K., Stedmon, C. A., MacKenzie, D. M. A., & Nielsen, T. G. (2015). A critical assessment of visual identification of marine microplastic using Raman spectroscopy for analysis improvement. *Marine Pollution Bulletin*, 100(1), 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.026>
- Leonor, D. A. dos S. (2020). *Microplásticos em águas e sedimentos da costa algarvia*.
- Lindeque, P. K., Cole, M., Coppock, R. L., Lewis, C. N., Miller, R. Z., Watts, A. J. R., Wilson-McNeal, A., Wright, S. L., & Galloway, T. S. (2020). Are we underestimating microplastic abundance in the marine environment? A comparison of microplastic capture with nets of different mesh-size. *Environmental Pollution*, 265, 114721. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114721>
- Montagner, C. C., Dias, M. A., Paiva, E. M., & Vidal, C. (2021). Microplásticos: ocorrência ambiental e desafios analíticos. *Química Nova*, 44(10), 1328–1352. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170791>
- Oliveira, B. L. M. C. de. (2020). Quantificação e distribuição vertical de microplásticos na coluna d'água em represa urbana. In *Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul*. <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/3810>
- Parolini, M., Ortenzi, M. A., Morelli, C., & Gianotti, V. (2021). Emerging use of thermal analysis in the assessment of micro(nano)plastics exposure. *Current Opinion in Toxicology*, 28, 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.09.007>
- Procter, J., Hopkins, F. E., Fileman, E. S., & Lindeque, P. K. (2019). Smells good enough to eat: Dimethyl sulfide (DMS) enhances copepod ingestion of microplastics. *Marine Pollution Bulletin*, 138(November 2018), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.014>
- Renner, G., Schmidt, T. C., & Schram, J. (2018). Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics: Which are fit for purpose? *Current Opinion in Environmental*

Science and Health, 1, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2017.11.001>

Rocha-Santos, T., & Duarte, A. C. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 65, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>

Schymanski, D., Goldbeck, C., Humpf, H. U., & Fürst, P. (2018). Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. *Water Research*, 129, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.011>

Silva, A. B., Bastos, A. S., Justino, C. I. L., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. A. P. (2018). Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. *Analytica Chimica Acta*, 1017, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.043>

Ugwu, K., Herrera, A., & Gómez, M. (2021). Microplastics in marine biota: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 169(February). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112540>