



Joana Isabel Lopes de Castro **Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente**



Joana Isabel Lopes de Castro **Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, realizada sob a orientação científica do Doutor Mário Miguel Azevedo Cerqueira, Professor Auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro e coorientação científica da Doutora Teresa Alexandra Peixoto da Rocha Santos, Investigadora Principal do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM) da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho aos meus pais por todo o apoio.

o júri

presidente

Prof. Doutora Ana Paula Duarte Gomes
professora auxiliar, Departamento de Ambiente e Ordenamento, Universidade de Aveiro

arguente

Doutora Cristina Marisa Ribeiro de Almeida
investigadora, Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR)

orientador

Prof. Doutor Mário Miguel Azevedo Cerqueira
professor auxiliar, Departamento de Ambiente e Ordenamento, Universidade de Aveiro

agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores pelo apoio científico prestado. Ao professor Mário Cerqueira, quero agradecer por toda a orientação dada, pelas críticas, sugestões e acima de tudo pela disponibilidade incessante demonstrada. À professora Teresa Santos, por todos os conhecimentos técnicos partilhados e pelo esclarecimento de dúvidas ao longo da execução deste trabalho.

Ao João Costa, pela ajuda, partilha de conhecimentos e disponibilidade constante.

Um agradecimento muito especial à Joana Prata, por todo o apoio no laboratório, pelas palavras de incentivo, pela companhia nas longas horas de trabalho e acima de tudo por ter estado sempre lá quando eu precisei.

Gostaria ainda de agradecer às restantes colegas de laboratório pela simpatia e prestabilidade.

A todos os meus amigos, em especial à Fátima Pinto, Margarida Lopes, Daniela Ferreira e Sara Oliveira que estiveram sempre presentes ao longo de todo o meu percurso académico. Obrigada pela amizade, ajuda, companheirismo e incentivo. Sem vocês esta caminhada não teria sido tão fantástica.

Por fim um grande obrigada à minha família, em especial aos meus pais e irmã pelo apoio incondicional ao longo desta grande jornada, e por terem acreditado sempre no meu potencial, principalmente quando eu mais duvidei dele.

palavras-chave

Microplásticos, compartimento atmosférico, ar interior e exterior, matéria particulada, fibras sintéticas e naturais.

resumo

A presente dissertação teve como objetivo avaliar o conteúdo em microplásticos na matéria particulada com um diâmetro aerodinâmico equivalente inferior a 10 μm (PM_{10}) em suspensão no ar ambiente interior e exterior de uma residência localizada no concelho de Aveiro. Com esse intuito, foram adaptadas ou elaboradas diversas metodologias, as quais envolveram a tentativa de digestão química de fibras naturais e matéria orgânica, aplicação de corantes e a criação de um método chave de identificação visual, que permitiu a distinção entre fibras naturais e sintéticas.

A eficiência de digestão de acordo com a perda de peso, revelou que o tratamento com $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}$ foi considerado o mais eficaz na degradação das fibras de linho (9,1%) e algodão (4,8%), enquanto que o tratamento com KOH foi o mais eficiente na degradação da lã (31,6%), sob um tempo de incubação de 1h a 50°C. Os filtros de quartzo, igualmente testados, revelaram resistência à aplicação destes protocolos.

A análise quantitativa de fibras e fragmentos presentes nas amostras coletadas realizou-se por meio de microscopia ótica, com base numa chave de identificação criada previamente. Esta análise foi realizada antes e após a aplicação de um protocolo de digestão orgânica em combinação com um processo de separação de microplásticos por densidade. Ambas as análises permitiram verificar uma elevada presença de fibras sintéticas, comparativamente às naturais. Após a aplicação do protocolo, ocorreu a eliminação das fibras naturais, devido à possível sedimentação das mesmas durante o processo de separação por densidade.

Por último, foi aplicado um corante, o *Nile Red* ($0,01 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), a todas as amostras, para posterior observação sob radiação UV (470 e 254 nm), de modo a que os fragmentos plásticos, quando presentes, fossem detetados e contabilizados, tanto manualmente como através de um programa informático, o MP-VAT. Em ambos os casos deparou-se com uma maior quantidade de fragmentos na amostra referente ao meio interior. Ao contrário do expectável, a amostra de branco revelou a presença de elevadas quantidades de fibras e fragmentos, o que se traduz, à partida, num elevado índice de contaminação laboratorial ou na possível libertação de fibras do próprio filtro de quartzo.

Adicionalmente, foram realizados três testes com o intuito de averiguar a possibilidade de contaminação dos filtros e das soluções utilizadas no decorrer dos últimos procedimentos efetuados, pelo que apenas se observou a presença de fibras contaminantes nas soluções de H_2O_2 e NaI.

Como conclusão, o presente trabalho fornece um contributo para uma melhor compreensão e aumento do conhecimento do cenário atual da presença dos microplásticos no compartimento atmosférico, podendo servir de ferramenta para estudos futuros que abordem a mesma temática.

keywords

Microplastics, atmospheric compartment, indoor and outdoor air, particulate matter, synthetic and natural fibers.

abstract

The aim of this dissertation was to evaluate the microplastic content of suspended particulate matter with an aerodynamic equivalent diameter less than 10 μm (PM_{10}) in indoor and outdoor air, from a residence located in the Aveiro county. For this purpose, several methodologies were adapted or elaborated, which involved the attempt of natural fibers and organic matter chemical digestion, the application of staining dyes and a creation of a key for visual identification, to distinguish between synthetic and natural fibers.

The efficiency of digestion according to weight loss (%), showed that $\text{H}_2\text{O}_2+\text{Fe}$ treatment was considered the most effective to remove flax (9,1%) and cotton (4,8%), while KOH treatment presented higher digestion efficiencies for wool (31,6%), under 1h incubation period at 50°C. Quartz filters who were also tested revealed resistance to these protocols.

The quantitative analysis of fibers and fragments presented in the collected samples was carried out using an optical microscopy, based on the pre-created identification key. This analysis was performed before and after the application of an organic digestion protocol in combination with a microplastic density separation process. According to both analyzes there was a higher presence of synthetic fibers in comparison to the natural ones. After the protocol application, natural fibers were removed, due to their possible sedimentation during the density separation process.

Finally, *Nile Red* dye (0,01 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) was applied to all samples for further observation under UV radiation (470 and 254 nm), in order to detect and quantify plastic fragments manually and through an informatic program, the MP-VAT. In both cases, a larger number of fragments were found in indoor sample. Contrary to the expected, the blank sample revealed a vast presence of fibers and fragments, probably due to the laboratory contamination or the release of fibers from the quartz filter itself.

Additionally, three tests were carried out in order to investigate the possibility of filters and solutions contamination during the last protocols applied, which revealed the presence of contaminating fibers in H_2O_2 and NaI solutions.

As a conclusion, the present work provides a contribution to a better understanding and increases knowledge of the current scenario on the presence of microplastics in the atmospheric compartment and may serve as a tool for future studies approaching the same theme.

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento	1
1.2. Objetivos.....	2
1.3. Estrutura da dissertação	3
2. Revisão da Literatura	5
2.1. Matéria particulada (PM _{2,5} e PM ₁₀).....	5
2.2. Plásticos e microplásticos	8
2.2.1. Classificação dos microplásticos quanto à origem	13
2.3. Microplásticos no compartimento atmosférico.....	14
2.3.1. Métodos de análise de fibras	17
2.4. Efeitos dos microplásticos na saúde humana.....	19
3. Procedimento Experimental.....	23
3.1. Método de amostragem.....	23
3.1.1. Caracterização do local e do equipamento	23
3.1.2. Método Gravimétrico	24
3.2. Identificação e quantificação dos microplásticos	26
3.2.1. Ensaio preliminares.....	26
3.2.2. Análise de fibras têxteis com recurso a corantes.....	28
3.2.3. Digestão das amostras	30
3.2.4. Caracterização por microscopia ótica.....	35
3.2.5. Microplastic Visual Analysis Tool (MP-VAT) and Scanning electron microscopy (SEM).....	36
4. Resultados e Discussão.....	39
4.1. Concentrações de PM ₁₀	39
4.2. Seleção de um método de digestão de fibras naturais.....	39
4.3. Resultados da aplicação de corantes	48

4.4. Proposta de nova metodologia para a identificação visual de fibras	51
4.5. Determinação de microplásticos e microfibras em amostras reais de PM ₁₀	56
5. Conclusões.....	71
6. Referências Bibliográficas	75
Anexos.....	87

Índice de Figuras

Figura 1- Diferentes tipos de fibras têxteis existentes.....	16
Figura 2- Visão externa do amostrador <i>MiniVol™ TAS</i>	23
Figura 3- Balança analítica eletrónica (RADWAG MYA 5/4Y/F1).....	24
Figura 4- Monitor da balança eletrónica.	24
Figura 5- [A] Amostra do ar interior; [B] Amostra do ar exterior; [C] Amostra de branco.	27
Figura 6- Conteúdo resultante das amostras em análise, imerso numa solução de H ₂ O ₂ a 15%.....	37
Figura 7- Sistema de filtração a vácuo.	37
Figura 8- Eficiência da digestão (%) de amostras de filtro de quartzo expostos a um controlo (H ₂ O) e a cinco soluções (KOH, HNO ₃ , H ₂ O ₂ +Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.....	41
Figura 9- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a um controlo (H ₂ O) e a cinco soluções (KOH, HNO ₃ , H ₂ O ₂ +Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.	42
Figura 10- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a uma solução de proteinase-k, sob um período de incubação de 16h a 50°C.	44
Figura 11- Espetros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de um conjunto de soluções (celulase, proteinase-k, KOH, H ₂ O ₂ +Fe, HNO ₃ , H ₂ O) a fragmentos têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, algodão+poliéster, viscose, <i>rayon</i>).	47
Figura 12- Aplicação de <i>Nile Red</i> (NR) e <i>Rose Bengal</i> (RB) em fibras têxteis, sendo que em ₁ são vistas a “olho nu” e ₂ com o microscópio : [A] Algodão com NR; [B] Poliéster com	

NR; [C] Rayon com NR; [D] Algodão com RB; [E] Poliéster com RB; [F] Rayon com RB.	50
Figura 13- Secções longitudinais das fibras de [A]-[B]Algodão; [C]-[D] Lã; [E]-[F]Linho; [G]-[H] <i>Nylon</i> ; [I]-[J] Poliamida [K]-[L] Poliéster [M]-[N] Poliéster+Algodão [O]-[P] <i>Rayon</i> [Q]-[R] Viscose.	53
Figura 14- Fluxograma das principais características longitudinais de diferentes tipos de fibras têxteis.....	55
Figura 15- Fotografias obtidas por microscopia ótica, com uma lente de ampliação 10x. 58	
Figura 16- Fotografia obtida por microscopia ótica, com uma lente de ampliação 10x a uma fibra sintética.	58
Figura 17- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a uma solução de H ₂ O ₂ (15%) à temperatura ambiente durante 8 dias.	60
Figura 18- Amostras com Nile Red (0,01 mg.ml ⁻¹), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 3; [B] Interior, parcela 3; [C] Branco, parcela 2.	62
Figura 19- Amostras com Nile Red (0,01 mg.ml ⁻¹), sob radiação UV (254 nm): [A] Exterior, parcela 3; [B] Interior, parcela 2; [C] Branco, parcela 3.	64
Figura 20- Imagens da amostra: [A-A ₁] ar interior, [B-B ₁] ar exterior e [C-C ₁] branco obtidas por intermédio da técnica analítica SEM. ^[1] Ampliação superior (20 µm).	68
Figura 21- Espectros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de proteinase-K a fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>), durante um período de incubação de 16h a 50°C.	93
Figura 22- Espectros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de celulase a fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>), durante um período de incubação de 5 dias a 50°C.	94

Figura 23- Espectros obtidos por ATR-FTIR resultantes da aplicação de H ₂ O ₂ (15%) a fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>), durante 8 dias ao ar ambiente.	96
Figura 24- Fibras/Fragmentos: [A-D] Amostra Exterior, parcela 1; [E-H] Amostra Exterior, parcela 2; [G-N] Amostra Exterior, parcela 3; [O] Amostra Branco, parcela 1; [P] Amostra Branco, parcela 2; [Q] Amostra Interior, parcela 1; [R] Amostra Interior, parcela 2	98
Figura 25- Fibras/Fragmentos: [A-C] Amostra Interior, parcela 2; [D] Amostra Interior, parcela 3; [E] Amostra Interior, parcela 4; [F-J] Amostra Exterior, parcela 2; [K] Amostra Exterior, parcela 3; [L-M] Amostra Exterior, parcela 3; [N-P] Amostra Exterior, parcela 4; [Q] Amostra Branco, parcela 2; [R-T] Amostra Branco, parcela 3; [U-V] Amostra Branco, parcela 4.....	100
Figura 26- Amostras com <i>Nile Red</i> (0,01 mg.ml ⁻¹), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 2; [B] Exterior, parcela 4; [C] Interior, parcela 2; [D] Interior, parcela 4; [E] Branco, parcela 3; [F] Branco, parcela 4.....	101
Figura 27- Amostras com <i>Nile Red</i> (0,01 mg.ml ⁻¹), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 2; [B] Exterior, parcela 4; [C] Interior, parcela 3; [D] Interior, parcela 4; [E] Branco, parcela 2; [F] Branco, parcela 4.....	102

Índice de Tabelas

Tabela 1- Diferentes padrões de qualidade das PM impostos por entidades distintas.	8
Tabela 2- Diferentes aplicações e características dos diversos tipos de polímeros plásticos existentes.	10
Tabela 3- Contagem das fibras observadas através do método visual, com o auxílio de uma lupa e de um microscópio ótico.	28
Tabela 4- Condições operativas referentes a cada um dos protocolos digestivos utilizados.	34
Tabela 5- Condições de amostragem das partículas PM ₁₀	39
Tabela 6- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (algodão, lã, linho), expostas a uma solução de celulase, sob um período de incubação de 5 dias a 50°C.	44
Tabela 7- Quadro-síntese com as principais características longitudinais de cada tipo de fibra analisada.	54
Tabela 8- Contagem de fibras e fragmentos antes ^[1] e após ^[2] a aplicação de dois protocolos, um de digestão da matéria orgânica e outro de separação de microplásticos através da densidade.	57
Tabela 9- Concentrações de fibras naturais, sintéticas e de fragmentos microplásticos presentes em meio exterior e interior antes ^[1°] e após ^[2°] a aplicação do protocolo de digestão orgânica e de separação de microplásticos por densidade.	59
Tabela 10- Valores de densidade associados a um conjunto de polímeros, fibras naturais, sintéticas e semi-sintéticas.	61
Tabela 11- Contagem manual e através do programa MP-VAT, de fragmentos e partículas após a aplicação do corante <i>Nile Red</i> (0,01 mg.ml ⁻¹) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (470 nm).	63

Tabela 12- Contagem manual de fragmentos e partículas após a aplicação do corante <i>Nile Red</i> (0,01 mg.ml ⁻¹) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (254 nm).	65
Tabela 13- Contagem manual de fibras após a aplicação do corante <i>Nile Red</i> (0,01 mg.ml ⁻¹) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (470 e 254 nm).	66
Tabela 14- Teor de fragmentos, partículas e fibras encontradas nos três testes de identificação de possíveis contaminações.	66
Tabela 15- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de amostras de filtro de quartzo expostas a um controlo (H ₂ O) e a cinco soluções (KOH, HNO ₃ , H ₂ O ₂ +Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.	88
Tabela 16- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a um controlo (H ₂ O) e a cinco soluções (KOH, HNO ₃ , H ₂ O ₂ +Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C. ...	89
Tabela 17- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a uma solução de proteinase-k, sob um período de incubação de 16h a 50°C.....	90
Tabela 18- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, <i>nylon</i> , poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+Algodão, viscose e <i>rayon</i>) expostas a uma solução de H ₂ O ₂ (15%), durante um período de tempo de oito dias ao ar ambiente.	91

Lista de abreviaturas

AED	Diâmetro Aerodinâmico Equivalente (do inglês <i>Aerodynamic Equivalent Diameter</i>)
AQGs	<i>Air Quality Guidelines</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflection</i>
CAAQS	<i>Canadian Ambient Air Quality Standards</i>
CCME	<i>Canadian Council of Ministers of the Environment</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>
GESAMP	<i>Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection</i>
HAPs	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
IR	<i>Infrared Microscopy</i>
MSFD	<i>Marine Strategy Framework Directive</i>
NAAQS	<i>National Ambient Air Quality Standards</i>
NOAA	<i>National Oceanic and Atmospheric Administration</i>
NR	<i>Nile Red</i>
NYSP2I	<i>New York State Pollution Prevention Institute</i>
OSPAR	<i>Oslo-Paris Commission</i>
PCV	Policloreto de Vinilo
PE	Polietileno (do inglês <i>Polyethylene</i>)
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PET	Polietileno Tereftalato
PM	Matéria Particulada (do inglês <i>Particulate Matter</i>)
PM_{0,1}	Matéria Particulada com um diâmetro aerodinâmico equivalente inferior a 0,1 µm
PM_{2,5}	Matéria Particulada com um diâmetro aerodinâmico equivalente inferior a 2,5 µm

PM₁₀	Matéria Particulada com um diâmetro aerodinâmico equivalente inferior a 10 µm
POP's	Poluentes Orgânicos Persistentes
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PSE	Poliestireno Expandido
RB	<i>Rose Bengal</i>
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SEM-EDX	<i>Scanning Electron Microscopy- Energy Dispersive X-rays Spectroscopy</i>
SPI	<i>Society of Plastics Industry</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
UE	União Europeia
UNEP	<i>United Nations Environment Programme</i>
UV	Radiação Ultravioleta
<i>et al..</i>	E outros (do latim <i>et alia</i>)
<i>etc.</i>	E outras coisas mais (do latim <i>et cetera</i>)

Elementos e compostos químicos

C	Carbono
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
Fe	Ferro
H₂O	Água
H₂O₂	Peróxido de Hidrogénio
HNO₃	Ácido Nítrico
KOH	Hidróxido de Potássio
Mg	Magnésio
Na	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio

NaI	Iodeto de Sódio
O	Oxigênio
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio (do inglês <i>sodium dodecyl sulfate</i>)
Si	Silício
ZnCl₂	Cloreto de Zinco

1. Introdução

1.1. Enquadramento

Segundo a *World Health Organization* (WHO), a poluição atmosférica pode ser definida como a contaminação do ar interior e exterior, por uma diversidade de gases e partículas, que acabam por adulterar as suas características naturais [1]. Aproximadamente 91% da população mundial reside em regiões em que a contaminação do ar excede os limites tidos como aceitáveis [2]. Esta forma de poluição poderá ser responsável por um conjunto de doenças, incluindo o cancro do pulmão e diversas patologias respiratórias e cardíacas, resultando num total de 4,2 milhões de mortes anuais [2].

Enquadrada nesta forma de poluição encontra-se a matéria particulada (PM), a qual apresenta uma composição química muito diversificada e onde se encontram inseridos os microplásticos [3]. O interesse pelos efeitos dos microplásticos na saúde pública cresceu de um modo muito significativo nos últimos anos, em particular porque se percebeu que havia um risco de ocorrência dos fenómenos de translocação, bioacumulação e acumulação trófica, por meio da ingestão de organismos contaminados, ou através da inalação, quando os microplásticos estão presentes na atmosfera [4].

Conhecem-se numerosos estudos que demonstram a presença de microplásticos no ambiente aquático e exploram os seus impactes nos seres vivos [5–7]. Todavia, o conhecimento atual no que se refere aos efeitos na saúde humana resultantes da inalação de microplásticos é ainda muito limitado [4]. É de referir, no entanto, que existem diversos estudos que reportam a inalação de fibras plásticas, particularmente em ambiente laboral, ou a presença destas fibras no pó depositado em ambientes domésticos [8–10]. A maior parte dos microplásticos presentes em ambiente aquático, cerca de 80%, tem origem no compartimento continental, do qual são transportados por intermédio do vento [11].

Com o intuito de compreender mais corretamente os efeitos decorrentes da inalação dos microplásticos é necessário ter em consideração um grupo de fatores, tais como, presumíveis fontes que estejam na génese desses microplásticos, as dimensões, concentrações e a composição química por eles apresentada [3]. Dependendo do desempenho destes elementos e da suscetibilidade do indivíduo em questão, estas partículas podem acabar por atingir a região pulmonar, provocando uma diversidade de respostas inflamatórias [3]. Pensa-se que

a maior parte dos microplásticos libertados para atmosfera seja constituída por fibras sintéticas, com origem em peças de vestuário ou em determinados produtos de mobiliário doméstico, como é o caso das carpetes e cortinas [12]. Depreende-se que as concentrações são superiores em meio urbano e em espaços interiores, devido à elevada densidade populacional e à possibilidade de existência de um maior número de fontes, aliado à presença de menores mecanismos de dispersão do ar [8, 12].

Tendo em conta o panorama descrito anteriormente, esta é considerada uma temática emergente, que carece urgentemente de ser mais aprofundada, especialmente o ramo atmosférico, que devido à extrema complexidade e dificuldade de obtenção de resultados plausíveis é alvo de poucos estudos.

1.2. Objetivos

Esta dissertação teve como objetivo principal a elaboração de um protocolo experimental que possibilite a deteção e quantificação de microplásticos nas partículas em suspensão no compartimento atmosférico.

Em relação aos objetivos específicos pretendeu-se:

- Recolher amostras de matéria particulada, em simultâneo, no ar ambiente interior e exterior de uma residência;
- Desenvolver um método destinado a eliminar as partículas não sintéticas ou que permita diferenciar estas das naturais, presentes nas amostras recolhidas;
- Quantificar fisicamente as fibras sintéticas e os fragmentos de microplásticos presentes nas amostras, a partir do método desenvolvido;
- Determinar as concentrações de microplásticos nos ambientes interior e exterior.

1.3. Estrutura da dissertação

A presente dissertação encontra-se dividida em 5 capítulos e 4 anexos.

No capítulo 1 é apresentada uma visão geral do tema proposto, elucidando qual a sua relevância, são definidos os objetivos principais e é apresentada a ordem pela qual a dissertação se encontra estruturada.

No capítulo 2 é realizado o enquadramento teórico, é feita uma revisão da literatura existente sobre os microplásticos nos mais diversos ecossistemas, são descritos sucintamente outros trabalhos de investigação previamente realizados no domínio atmosférico e que serviram de orientação para o estudo aqui apresentado e, por último, são explorados alguns efeitos possíveis dos microplásticos a nível da saúde pública.

O capítulo 3 é dedicado ao procedimento experimental utilizado neste estudo. O local de amostragem é caracterizado, assim como o método e o equipamento de recolha de matéria particulada utilizados. Posteriormente, são explicados todos os protocolos adaptados e elaborados para que fosse possível a quantificação física dos microplásticos presentes nas amostras recolhidas.

No capítulo 4, são apresentados os resultados do tratamento de dados com origem nas análises efetuadas ao material recolhido na atmosfera.

Por último, no capítulo 5, são apresentadas as conclusões retiradas do estudo e são tecidas algumas considerações finais a adotar em trabalhos futuros no mesmo âmbito.

No final do documento, são apresentadas as referências bibliográficas, exibindo-se em anexo alguma informação complementar sobre o trabalho realizado.

Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.

2. Revisão da Literatura

2.1. *Matéria particulada (PM_{2,5} e PM₁₀)*

De acordo com a *World Health Organization* (WHO), a matéria particulada (PM), vulgarmente designada de aerossol atmosférico, pode ser definida como um conjunto de partículas sólidas ou líquidas em suspensão, dispersas no ar atmosférico, cuja gama de dimensões é bastante variável [13]. Esta mistura de partículas pode incluir fumos, poeiras, pólen, cinzas, esporos, nevoeiros, *sprays*, entre outros materiais [14]. Os microplásticos, também podem estar inseridos numa fração da matéria particulada, contudo, atualmente, esta presença ainda é desconhecida, assim como as respetivas concentrações atmosféricas [3].

Certas características da matéria particulada, como a sua composição química, o seu tamanho, assim como determinadas propriedades biológicas e físicas, divergem consoante as condições meteorológicas e a localidade em circunstância [15]. Devido à diversidade de formas geométricas, tamanhos e densidades que as partículas podem adquirir é frequente a utilização do diâmetro aerodinâmico equivalente (AED), de modo a que as características físicas possam ser mensuradas [16,17]. O AED pode ser definido como o diâmetro de uma partícula hipotética esférica com densidade igual a 1 g/cm³, que apresente a mesma velocidade de sedimentação da partícula em análise na atmosfera [18].

As partículas cujo diâmetro aerodinâmico seja inferior a 2,5 µm denominam-se usualmente por finas- PM_{2,5} (<2,5 µm), enquanto que as que possuem um tamanho superior a este valor inserem-se na categoria de partículas grosseiras (2,5 a 10 µm). Deste modo, as partículas do tipo PM₁₀ incluem as finas e as grosseiras (<10 µm). Por sua vez, na fração fina das partículas em suspensão distingue-se ainda outra fração, correspondente às partículas de tamanho inferior a 0,1 µm, e que são apelidadas de ultrafinas- PM_{0,1} (<0,1 µm) [19].

A emissão de material particulado para a atmosfera provém de uma grande variedade de fontes, classificadas em dois grupos distintos, as naturais e as antropogénicas [20]. No que concerne às fontes naturais, resultantes da própria dinâmica do ambiente, podem ser referidos os fogos florestais, a atividade vulcânica, tempestades de areia, “*spray marinho*”, grãos de pólen, entre outros [21]. As fontes antropogénicas por sua vez, resultam da ação humana sobre o ambiente, estando relacionadas com certas atividades como os transportes, a indústria, a queima de combustíveis em meio habitacional, etc. [22]. Este último grupo de

fontes, quando presente em meio urbano, é responsável pela emissão de elevadas quantidades de material particulado para a atmosfera, devido à elevada densidade populacional que é própria destes meios [23].

Estas partículas podem ser ainda caracterizadas como primárias ou secundárias, atendendo aos mecanismos de formação pelos quais tiveram origem, dependendo do tipo de emissão, das condições químicas e/ou meteorológicas vivenciadas na atmosfera [14]. As partículas primárias são emitidas diretamente para a atmosfera (antropogénica ou natural), na forma líquida ou sólida, sem qualquer tipo de modificação em termos de conteúdo químico. Em oposição, o material particulado apelidado de secundário, constitui a fração do aerossol gerada na atmosfera, mediante uma sequência de reações químicas [24]. Estas partículas são formadas através do processo de conversão gás-partícula, caracterizado pela transição entre a fase gasosa e particulada. Este inclui a formação de partículas novas através de diversos fenómenos como a nucleação, coagulação e condensação [25].

As partículas finas apresentam normalmente tempos de residência atmosféricos maiores quando comparadas com as grosseiras, uma vez que se costumam depositar menos rapidamente, ficando suspensas durante um tempo superior, podendo ser transportadas para localidades longínquas do seu lugar de origem [26].

Certos fatores meteorológicos, como a velocidade do vento, a temperatura do ar e do solo, a precipitação e a humidade do solo influenciam a forma como as partículas sofrem o fenómeno da dispersão. A precipitação é um processo que afeta e remove as partículas maiores que 2,5 μm da atmosfera, ajudando à deposição das mesmas. O vento, por sua vez, transporta os poluentes através do processo de advecção, sendo que velocidades maiores correspondem a uma melhor diluição e dispersão dos poluentes. O aumento da temperatura provoca o aumento da atividade química dos compostos gasosos na atmosfera e a consequente geração de compostos secundários, levando ao aumento da concentração das PM [3,27].

Associado à inalação destas partículas, consideradas um dos poluentes com implicações mais significativas em termos de saúde pública, encontra-se uma panóplia de riscos que dependem de diversos parâmetros, tais como, o formato, a dimensão, a densidade, a capacidade de reação e, por último, o local em que se depositam no sistema respiratório. É importante mencionar que quanto menor for o tamanho da partícula, maior será a penetração no sistema respiratório e piores serão as consequências para a saúde humana [19].

As partículas pertencentes à fração fina mais a grosseira (PM₁₀), consideradas como inaláveis, são de grande preocupação pois não conseguem ser retidas pelos mecanismos naturais de defesa encontrados no sistema respiratório superior. Estas depositam-se normalmente na região bronquial, nariz e laringe, causando irritações a nível destas cavidades [28].

Segundo a *United States Environmental Protection Agency* (EPA), as partículas pertencentes à fração fina (PM_{2,5}) são aquelas cujas consequências em termos de saúde pública são as mais nefastas, uma vez que conseguem penetrar no interior da região pulmonar, depositando-se nos bronquíolos e alvéolos pulmonares, podendo inclusive passar para o sistema circulatório [21]. A exposição a longo prazo às PM_{2,5} pode levar à ocorrência de certos problemas, como paragens e insuficiências cardíacas, lesões pulmonares, arritmia e em última instância à morte [29].

As partículas ultrafinas (PM_{0,1}) são particularmente perigosas para a saúde humana, porque são suficientemente pequenas para conseguirem penetrar nas membranas respiratórias e entrar na corrente sanguínea, ou ainda serem guiadas pelos nervos olfatórios até à região cerebral [30].

O método utilizado como referência na amostragem das PM é o gravimétrico, em que um certo volume de ar atmosférico é “sugado” através de um filtro pré-pesado, onde as partículas ficam retidas, sendo este posteriormente pesado para que a massa de PM presente nesse mesmo volume possa ser calculada [31].

Relativamente ao enquadramento legal, foram impostos valores limite por diversas entidades com o intuito de controlar a emissão de poluentes para a atmosfera, entre eles as PM, de forma a assegurar a proteção dos ecossistemas e da saúde humana.

Em termos da legislação a nível da União Europeia (UE), pode ser referida a Diretiva 2008/50/CE, de 21 de Maio de 2008, que estabelece o valor limite, anual e diário, relativo à concentração das PM₁₀, e unicamente o valor de exposição a curto-prazo (média de 24 horas) para as PM_{2,5} [32,33]. A WHO disponibilizou os valores limite ao público no documento *Air Quality Guidelines* (AQGs), em 2006, sendo estes mais restritos em comparação com os estipulados pela UE [32], [34]. A *Environmental Protection Agency* (EPA), dos Estados Unidos da América, por sua vez, na década de 90 apresentou no documento *National Ambient Air Quality Standards* (NAAQs) os valores limite anuais e diários para um conjunto de poluentes, entre eles a matéria particulada, sendo que em 2006

alguns destes valores foram modificados [35,36]. Este regulamento encontra-se dividido em dois tipos de “standards” de qualidade. O “*primary standard*” refere-se à proteção da saúde pública, o que inclui a população mais sensível, enquanto que o “*secondary standard*” salvaguarda o bem-estar público e ainda a proteção dos animais, plantações, vegetação e conservação dos edifícios [37]. O *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME) também se encarregou de fixar limites da qualidade do ar, exclusivamente para as $PM_{2,5}$, através do desenvolvimento do *Canadian Ambient Air Quality Standards* (CAAQS), onde são encontrados valores-limite para o ano de 2015, 2020, 2025, respetivamente [38,39]. Na tabela 1 encontra-se resumida a informação relativa aos valores limite das PM exigidos pelas diferentes entidades relatadas anteriormente.

Tabela 1- Diferentes padrões de qualidade das PM impostos por entidades distintas.

PM	Valor limite ($\mu\text{m}/\text{m}^3$)	UE	WHO	EPA	Canadá ^[4]
$PM_{2,5}$	Diário	-	25	35 ^[1]	27
	Anual	25	10	15 ^[2]	8,8
PM_{10}	Diário	50	50	150 ^[3]	-
	Anual	40	20	-	-

[1] Valor limite diário das $PM_{2,5}$ correspondente ao “primary and secondary standard”.

[2] Valor limite anual das $PM_{2,5}$ correspondente ao “secondary standard”.

[3] Valor limite diário das PM_{10} correspondente ao “primary and secondary standard”.

[4] Valor limite, diário e anual das $PM_{2,5}$ correspondente ao ano de 2020, segundo o CAAQS.

2.2. Plásticos e microplásticos

A contaminação provocada pela produção e utilização excessiva de plástico, assim como os efeitos deletérios do mesmo na saúde humana, são considerados uma grande adversidade que a sociedade enfrenta atualmente e que tem suscitado uma vaga de preocupação a nível político, científico e do público em geral [40].

Segundo os últimos dados disponibilizados pela associação *Plastic Europe*, a produção mundial de plástico aumentou drasticamente de 1,7 milhões de toneladas em 1950, para 348 milhões de toneladas em 2017 [41,42].

Tendo em conta os benefícios que a sociedade retira desta produção e o enorme apetite pelo seu consumo, este padrão certamente manter-se-á no futuro. Segundo Rochman *et al.* (2013) estima-se que até 2050 este valor atinja os 33 mil milhões de toneladas [43]. Aproximadamente 10% a 15% dos resíduos sólidos urbanos (RSU) produzidos nos dias de

hoje são constituídos por plástico, sendo que uma grande parte acaba por ser eliminada, ao invés de devidamente tratada [44]. De acordo com a base de dados estatística Pordata, e consoante o tipo de operação de destino final dos RSU processados em Portugal no ano de 2017, sabe-se que 49,6% foram eliminados em aterro, contrastando com o valor aproximado de resíduos submetidos a processos de valorização, como a reciclagem (12,0%), valorização energética (20,7%) e valorização orgânica (17,7%) [45].

O termo universal “plástico” é comumente empregue para designar materiais compostos por polímeros orgânicos sintéticos. O processo químico que dá origem a estes polímeros é designado por polimerização, que pode ser definido como sendo a junção de diferentes monómeros, derivados usualmente dos combustíveis fósseis, como o petróleo, gás natural e carvão, entre outros [46].

Genericamente, a maior parte dos polímeros manufaturados são termoplásticos, o que significa que estes podem ser reestruturados múltiplas vezes, mediante o aquecimento dos mesmos. Tal característica, faz com que este tipo de polímeros seja facilmente reciclável. Em oposição, os *termosets* são constituídos por um grupo de polímeros, que após a sua formação não podem ser remoldados, visto que o reaquecimento provocaria a subsequente degradação do material [47].

Em 1988, foi criado um sistema de classificação pela *Society of Plastics Industry* (SPI), que tornou possível a identificação e posterior diferenciação por parte dos consumidores, dos diferentes tipos de plásticos por eles utilizados [48]. Na tabela 2, é possível observar de forma sucinta, algumas das principais aplicações e funcionalidades associadas a cada um dos polímeros, constituintes desse sistema.

Segundo a associação *Plastic Europe*, em 2016, a procura por tipo de polímero, posicionou o polipropileno (PP) em primeiro lugar, com 19,3%, seguido do Polietileno (PE), com 12,3% [49].

Tabela 2- Diferentes aplicações e características dos diversos tipos de polímeros plásticos existentes.

Símbolo	Descrição	Aplicações comuns	Características
	Polietileno Tereftalato [PET]	Embalagens de bebidas (água/sumos), fibras têxteis de embalagens recicladas aplicadas em peças de vestuário e carpetes.	Facilmente moldável quando aquecido, de fácil reciclagem, evita a entrada de oxigénio (O ₂) e saída de dióxido de carbono (CO ₂) em refrigerantes.
	Polietileno de Alta Densidade [PEAD]	Pacotes de leite, embalagens de produtos de limpeza/ bebida/ champô, medicamentos produtos de telecomunicações, sacos de mercearia, adornos. Aplicado em peças de mobiliário após reciclado.	Versátil, rígido.
	Policloreto de Vinilo [PVC]	Embalagens de champô, óleo, equipamentos médicos, tubos de canalização, produtos de limpeza, revestimento de piscinas e de canalizações, pavimentos, carpetes, brinquedos.	Material rígido, alta resistência às condições do meio onde está inserido, obtenção de produtos flexíveis.
	Polietileno de Baixa Densidade [PEBD]	Garrafas compressíveis, sacos de compras/ lixo, carpetes, embalagens compressíveis de alimentos e cosméticos, mobiliário.	Impermeável, flexível, económico.
	Polipropileno [PP]	Embalagens herméticas para alimentos, pacotes de iogurte, garrafas de <i>ketchup</i> , frascos de medicamentos, palhetas, cabides, peças para automóveis, vasos para plantas.	Impermeável, leve, grande resistência a altas/baixas temperaturas.
	Poliestireno [PS]	Bandejas, embalagens de ovos, talheres, caixas de CD, eletrodomésticos, brinquedos, embalagens de uma só utilização.	Leve
	Outros tipos de plásticos (ex:policarbonato, acrílico)	Garrafas de refrigeração de água, biberões de bebé, revestimentos eletrónicos.	Diversas

Fonte: elaborado com base em Banerjee *et al.* (2014) [50].

É invulgar os polímeros serem utilizados na sua forma natural, sendo comum o acréscimo de aditivos, de forma a que o desempenho do produto final possa ser mais satisfatório, através do melhoramento das características intrínsecas ao mesmo. Dentro dos aditivos existentes, podem ser referidos as cargas inorgânicas (como o carbono e a sílica, que fortalecem o material), os plastificantes que asseguram a sua maleabilidade, os estabilizadores térmicos, retardantes de chama e corantes, entre outros. Alguns destes aditivos podem ser potencialmente tóxicos, provocando efeitos prejudiciais a nível humano e ambiental, como é o caso do bisfenol A, que é um disruptor endócrino, que exerce toxicidade em concentrações muito baixas, e que provoca problemas de infertilidade, puberdade precoce, cancro da mama e da próstata [51,52].

Aliado a este problema, quando os plásticos são libertados para o ambiente podem ainda ficar sujeitos à acumulação de poluentes orgânicos persistentes (POP's). Estes são considerados uma grave ameaça devido à sua elevada persistência, capacidade de serem transportáveis a grandes distâncias e pelo facto de serem bioacumuláveis. Os efeitos nefastos provocados por estes químicos são também notáveis a nível da saúde humana, na medida em que, estes podem acabar por ser ingeridos e/ou inalados [53].

A presença dos plásticos na sociedade moderna tornou-se indispensável, estando inserida na confeção de inúmeros produtos de utilização diária, incluindo peças de vestuário, meios de transporte, telecomunicações, equipamentos médico-cirúrgicos e embalagens de produtos alimentares e de cuidado pessoal [54]. É de mencionar que a maior parte dessa produção, centra-se na confeção de embalagens (39,5% da produção total de plástico), que obviamente possuem um tempo de vida relativamente curto [55].

Uma das propriedades que tornam a sua utilização tão imprescindível é a sua durabilidade, contudo, esta torna-o uma ameaça ainda maior em termos ambientais, devido à sua elevada resistência à degradação e conseqüente acumulação nos compartimentos ambientais [56]. Existem ainda outras características igualmente importantes que o tornam tão valorizado, entre elas, o facto de ser um material leve, barato e que atua como isolador térmico e eléctrico [46].

De forma generalizada, o termo “microplástico” é aplicado a partículas ou fragmentos sintéticos que se encontrem presentes nos diferentes ecossistemas ambientais, responsáveis por causarem inúmeros impactos a nível ambiental, ecológico e em termos de saúde pública [57].

O aparecimento de porções de plástico de pequenas dimensões no compartimento marinho foi inicialmente reportado na década de 70, primeiramente observadas por Buchanan (1971) e posteriormente por Carpenter e Smith (1972) [58,59]. Todavia, o termo etimológico utilizado para definir estas partículas foi mencionado primordialmente por Ryan *et al.* (1990), na descrição de diversos artefactos, de diâmetro inferior a 20 mm, encontrados em praias localizadas na África do Sul. Uma década após tal ocorrência, o termo foi utilizado novamente por Thompson *et al.* (2004) para descrever partículas sintéticas encontradas em sedimentos marinhos e estuarinos, na região de Plymouth, Reino Unido, cujos diâmetros rondavam os 20 μm [60,61].

Apesar do termo “microplástico” estar relacionado com uma classificação baseada no seu tamanho, de momento não existe um consenso geral sobre quais os valores a adotar na sua identificação, variando consoante o estudo e as preferências dos autores em questão. A inexistência da chamada padronização acaba por ser uma adversidade aquando da comparação de resultados obtidos entre diferentes estudos, devido à não conformidade dos dados e dos métodos de amostragem utilizados, tornando imprescindível a criação de um tamanho considerado universal [62].

A dimensão dos microplásticos foi discutida no primeiro workshop organizado pela *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA), que atribuiu a estas partículas, um tamanho inferior a 5 mm [63]. Posteriormente, este valor foi empregue noutros estudos, sendo de destacar a adoção do mesmo pelo *Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection* (GESAMP,2015) e pelo *United Nations Environment Programme* (UNEP,2016). De momento, este é o valor limite utilizado na maior parte dos estudos realizados [64].

Além da classe dos microplásticos, existem ainda mais três grupos distintos pertencentes à família dos plásticos, qualificados conforme a dimensão por eles apresentada, sendo que macroplástico é o nome atribuído a todos os plásticos que possuam um tamanho superior a 5 mm [65]. Adicionalmente, Andrady (2011) sugeriu que fosse ainda adicionado um novo termo “mesoplástico”, para que pudesse ser possível fazer a diferenciação entre fragmentos de plásticos visíveis a olho “nu” e aqueles que unicamente conseguem ser examinados com a utilização de equipamento próprio [53]. Por último, o tamanho apresentado pelos nanoplásticos ainda não é um tema consensual, tendo sido considerado para o estudo em

questão a utilização do valor <100 nm, sugerido por Klaine *et al.* (2012) em referência aos nanomateriais [66].

2.2.1. *Classificação dos microplásticos quanto à origem*

Os microplásticos presentes no ambiente divergem entre si através de um conjunto de características que são intrínsecas aos mesmos, em termos da composição química, tamanho, formato, densidade, e inclusive nas fontes pelos quais tiveram origem. Os microplásticos encontram-se subdivididos em duas categorias, primários e secundários, classificados com base na sua origem. Em suma, microplásticos primários é o nome atribuído às partículas diretamente manufaturadas em tamanho milimétrico ou submilimétrico, enquanto que os secundários resultam da fragmentação de plásticos de maiores dimensões, durante a sua manufatura, uso e manutenção [64]. De seguida, encontram-se apresentadas as duas classes mencionadas anteriormente, em formato mais minucioso e aprofundado.

Em relação aos microplásticos primários, estes são produzidos com dimensões microscópicas para que se possa fazer uso dos mesmos na formulação de certos produtos de cuidado pessoal, cosmética e de limpeza, sendo considerados materiais com características abrasivas [67]. Estes são confeccionados sob a forma de microesferas, provavelmente a fisionomia mais abordada e comum de ser encontrada, presentes na constituição de esfoliantes, cremes de mãos, géis de banho e nas pastas de dentes. O polímero mais utilizado na obtenção das microesferas é o polietileno (PE). Além da presença destas microesferas nestes produtos, também é comum a utilização de plásticos “micro-coloridos” nas pastas de dentes, para que estas visualmente consigam apresentar um aspeto colorido [68].

Incluídas nos microplásticos primários também podem ser mencionadas as *pellets* de resina, esferas microscópicas empregues no setor industrial como matéria-prima na confeção de certos materiais plásticos. Estas acabam por atingir o ambiente facilmente, devido à ocorrência de perdas acidentais, durante o desenrolar dos processos produtivos ou junto aos portos, em detrimento do transporte marítimo [69].

Por último, outra fonte de poluição que pode ser referida é a utilização abrasiva dos microplásticos na remoção de pinturas, superfícies com ferrugem e de outros tipos de coberturas indesejáveis em carros, edifícios, navios e no setor aeronáutico, em alternativa à aplicação de produtos químicos [70].

Contrariamente aos microplásticos primários, a entrada dos secundários no compartimento ambiental é muito mais difícil de avaliar. Plásticos de grandes dimensões fragmentam-se em pequenas porções através da ação de uma série de fatores abióticos e bióticos. Entre os diversos processos que estão na origem dessa desagregação progressiva têm-se a biodegradação, em consequência da atividade dos microrganismos (ex: micróbios), a degradação térmica, que resulta da variação entre temperaturas baixas e altas, a termo-oxidação, que resulta da ocorrência do fenómeno de oxidação a temperaturas moderadas, a hidrólise, que é a reação química com a água e, por último, a fotodegradação, que ocorre por ação da luz solar, normalmente no ambiente exterior [53].

Esta classe abarca as porções de fibras têxteis microscópicas que acabam por serem libertadas no decurso da “lavagem” de vestuário, desde que constituído por tecidos sintéticos [44]. Estas fibras descartadas nos efluentes domésticos, acabam por alcançar o ambiente aquático, uma vez que as estações de tratamento de água residuais (ETAR’s) não são suficientemente eficientes na remoção deste tipo de material, devido às suas dimensões tão reduzidas e à dificuldade de decomposição pelos processos tradicionais, aeróbios ou anaeróbios [71]. Browne *et al.* (2011) demonstraram que uma única peça de vestuário pode produzir uma quantidade superior a 1900 fibras por lavagem [72]. Além das partículas descartadas durante o processo de lavagem nos efluentes domésticos, pode ocorrer a libertação das mesmas para o ar atmosférico durante a utilização habitual de peças de vestuário sintéticas [12].

Por último, existem as partículas de plástico obtidas mediante o fenómeno de abrasão mecânica dos pneus dos automóveis, feitos usualmente de borracha sintética ou de poliéster, no pavimento das estradas durante a condução, que faz com que estas acabem por se agregar às escorrências superficiais, contaminando as águas, ou então por se propagarem na atmosfera, por intermédio do vento [9].

2.3. Microplásticos no compartimento atmosférico

Atualmente os microplásticos já foram identificados em diversos compartimentos ambientais, nomeadamente em ambientes aquáticos, tanto marinhos como de água doce, em diversas espécies de organismos, em sedimentos e inclusive em determinados produtos para consumo humano, tais como, água potável, sal e mel [73].

A detecção de microplásticos no compartimento atmosférico, como transmissor de poluição, foi abordada recentemente em dois artigos que tiveram como foco a área metropolitana de Paris. Em Dris *et al.* (2016), esta análise foi efetuada em duas localidades com densidades populacionais dispare, uma zona urbana e uma zona suburbana, aplicando-se o método de deposição contínua de partículas pela primeira vez. Por outro lado, em Dris *et al.* (2017), o fator observacional tido em conta foi o meio interior e exterior, tendo sido utilizado um sistema de bombagem, para a recolha de partículas, e um aspirador, para recolha do pó depositado. As concentrações de pó depositado estimadas em Dris *et al.* (2017) foram de 1,0-60 fibras/m³ em ambiente interior e 0,3-1,5 fibras/m³ em meio exterior [8].

Em 2017, Dehghani *et al.* publicaram um estudo, aplicado à cidade de Teerão, no Irão, que também abordava a deposição de microplásticos sob a forma de poeira. Com base em 10 amostras de pó recolhidas em estradas, foi determinada a quantidade de microplásticos presentes, tendo-se obtido 88-605 microplásticos em cada 30 g de pó recolhido. Em relação ao tamanho predominante dos fragmentos encontrados, estes situavam-se entre os 250-500 µm [10].

Similarmente ao estudo de Dris *et al.* (2017), a Agência Ambiental da Noruega, Miljødirektoret, publicou um estudo, cujos autores do projeto, Sundt *et al.* (2014) também procederam à identificação de microfibras têxteis no pó depositado em algumas habitações localizadas na Noruega. Após a realização de algumas estimativas e aplicando alguns valores presentes na literatura, os autores estimaram que a massa de fibras têxteis depositada nessas casas, cerca de 0,08 kg fibras/pessoa/ano, seria semelhante à quantidade descartada nos efluentes resultantes da lavagem de roupa, sensivelmente 0,12 kg fibras/pessoa/ano [9]. Contudo, neste estudo, a porção de fibras naturais e sintéticas existentes nessa massa total não foi determinada, o que não permite retirar conclusões sobre a importância relativa de microplásticos naquelas amostras.

Em contrapartida, em Dris *et al.* (2017), estimou-se mediante análise por *fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR) que 67% das fibras recolhidas no ar ambiente eram compostas por materiais não sintéticos, contrastando com as restantes 33% que possuíam origem petroquímica [8].

As fibras observadas eram maioritariamente de dimensões submilimétricas, variando entre 200-600 µm em Dris *et al.* (2017) e 50-450 µm em Dris *et al.* (2017), sendo que o limite de deteção visual estabelecido em ambos os estudos foi de 50 µm [8,12].

Apesar de em ambos os artigos terem sido classificadas como fibras sintéticas qualquer fibra que contivesse vestígios petroquímicos, algumas questões podem ser colocadas, uma vez que a maioria dos estudos realizados considera que apenas as fibras de origem exclusivamente sintética deveria estar inserida nesta categoria [74].

Mediante os resultados obtidos, a precipitação revelou ser um fator importante na deposição de fibras, estando associada a períodos de concentração mais elevados. Além desta condição, a densidade populacional também afetou substancialmente a concentração, de forma linear, facto corroborado pela presença de concentrações consideravelmente superiores na zona urbana [12].

Além disso, é importante mencionar que a presença de concentrações mais elevadas em meio urbano deve-se ao facto das densidades populacionais serem superiores, o que acaba por gerar um maior consumo de materiais plásticos, e consequentemente, de resíduos resultantes dessa utilização [12].

Pressupõe-se que o descarte de fibras têxteis a partir de peças de vestuário seja uma das principais fontes responsáveis pelas elevadas quantidades emitidas para a atmosfera, sendo que, aproximadamente 2/3 dessas fibras possuem origem sintética, dando destaque a polímeros tais como poliéster, poliamida e acrílico [75]. Tal facto pode ser fundamentado com base em alguns estudos onde se constatou a deposição de fibras contaminantes que se encontravam em suspensão no ar ambiente laboratorial [62].

Na figura 1, apresentam-se alguns exemplos dos vários tipos de fibras têxteis existentes.

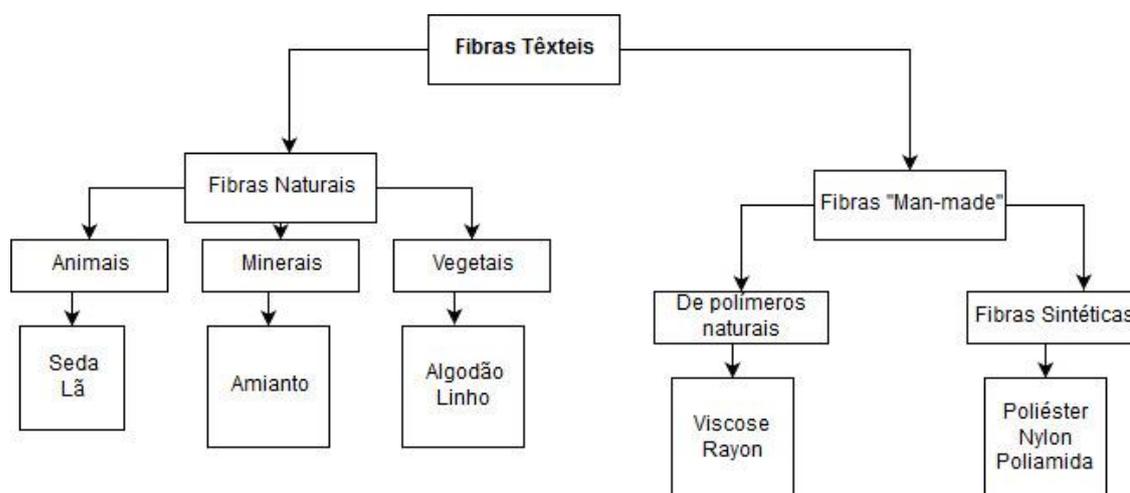


Figura 1- Diferentes tipos de fibras têxteis existentes.

Fonte: elaborado com base em Cesa *et al.* (2017) [76].

Atualmente, as fibras têxteis mais procuradas são o poliéster, seguido do algodão e das fibras com origem celulósica [77]. É de mencionar que a utilização de fibras sintéticas na indústria têxtil, a nível mundial, cresceu de cerca de 10 milhões de toneladas em 1980 para quase 65 milhões de toneladas em 2017, aumentando dessa forma a quantidade de microplásticos presentes no ambiente [78]. Este tipo de fibras está presente nas mais variadas peças de vestuário, em têxteis para o lar, como por exemplo, nas cortinas e em tapetes, em têxteis exclusivos para posterior aplicação na indústria automóvel, no ramo da saúde ou da engenharia [79].

Uma das fontes que pode estar na génese de microplásticos em meio exterior é o vento, que propicia o transporte de fragmentos plásticos de certas localidades, como aterros, provocando a deposição destas partículas noutras locais [80].

2.3.1. Métodos de análise de fibras

A contaminação do ambiente marinho e de água doce por pequenas fibras de plástico, normalmente designadas por microfibras, é um problema grave, reportado preliminarmente em 2011 [72]. De acordo com Browne *et al.* (2011), as fibras representam um dos tipos de microplásticos mais vulgarmente encontrados no meio aquático, facto corroborado por outro estudo, efetuado por Mizraji *et al.* (2017), que referiram que as microfibras são a principal forma plástica encontrada no intestino de diversas espécies marinhas [72,81].

Como já referido anteriormente, as fibras sintéticas também já foram identificadas no compartimento atmosférico em alguns estudos, através da deposição de pó, sendo que essas fibras foram posteriormente analisadas pelo método visual e químico [8,12]. O método visual, foi aplicado através da utilização de um estereomicroscópio, de acordo com um conjunto de critérios presentes em outros artigos, que permitiam a diferenciação de fibras visualmente [62,83]. Segundo alguns dos parâmetros mencionados por estes autores, uma partícula/fibra é considerada plástica, caso a sua estrutura orgânica ou celular não esteja visível, as cores sejam homogêneas, ou caso apresentem uma cor esbranquiçada/transparente. Estas fibras devem ser examinadas cuidadosamente sob um microscópio com fluorescência, de maneira a excluir a hipótese de serem orgânicas. Se a partícula for uma fibra, esta deve apresentar-se espessa ao longo de todo o comprimento [62,83]. A caracterização química das fibras tem sido realizada através da utilização do equipamento FTIR acoplado ao

acessório *attenuated total reflectance* (ATR). Deste modo é possível determinar a proporção de fibras sintéticas e naturais e identificar os polímeros constituinte [8,12].

A caracterização dos microplásticos pelo método visual é umas das técnicas de identificação mais utilizadas, contudo, esta não permite determinar os diferentes tipos de polímeros. Para além desta dificuldade, alguns autores, sugerem que a identificação visual não deveria ser utilizada para partículas de tamanhos inferiores a 500 μm , especialmente no caso das microfibras [83]. Em face do exposto, e como o presente estudo se debruça sobre a análise de microplásticos na matéria particulada em suspensão, os quais deverão ser compostos maioritariamente por fibras, são esperados desafios importantes para dar resposta aos objetivos traçados inicialmente [12].

Relativamente às técnicas normalmente empregues na análise dos polímeros constituintes de uma fibra plástica, estas são idênticas às utilizadas na análise de fragmentos plásticos, destacando-se a utilização do FTIR, que possibilita a identificação de partículas desde 100 μm até 5 mm, mediante o espetro infravermelho obtido, sendo considerada a técnica espectroscópica mais vulgar [84]. Como referido anteriormente, o equipamento encontra-se geralmente acoplado a um acessório intitulado ATR, que possibilita a análise das amostras diretamente, no estado sólido ou líquido, sem qualquer tipo de preparação prévia [84]. Esta é considerada uma técnica ótima na identificação de microplásticos, uma vez que, os polímeros presentes nos plásticos possuem espectros de radiação infravermelha muito específicos, facilmente diferenciados [83].

O ATR permite a análise da amostra através da compressão da mesma contra uma superfície cristalina, que possibilita a ocorrência do fenómeno de reflexão interna total e a consequente obtenção do espetro do material. Nesta técnica, a radiação infravermelha atravessa o cristal até à amostra em análise, sendo que uma porção dessa radiação acaba por ser absorvida pela mesma, enquanto uma fração perpassa a amostra, ocorrendo a transmissão da radiação. Como resultado final, a adsorção e transmissão molecular são retratadas mediante um espetro, que serve como impressão digital molecular da amostra [85].

O *Infrared Microscopy* (IR) e o *Raman Microscopy*, que é similar ao equipamento FTIR, são outros dos equipamentos que permitem a identificação de polímeros, contudo, a sua aplicabilidade é mais abrangente, podendo ser utilizados em partículas desde 1 μm até 100 μm , inclusive [84]. A utilização destes equipamentos no estudo em questão, seria ótima, uma vez que permitiria a análise de fibras sintéticas de tamanhos muito reduzidos, similares às

encontradas em suspensão na atmosfera. Todavia, a existência destes aparelhos em contexto laboratorial é muito rara, uma vez que, são muito dispendiosos.

2.4.Efeitos dos microplásticos na saúde humana

Em virtude dos microplásticos exibirem dimensões muito diminutas, estes podem acabar por ser consumidos acidentalmente por uma grande variedade de seres vivos, provocando múltiplos efeitos deletérios, tópico exaustivamente investigado pela comunidade científica, principalmente em ambiente marinho [7]. Esta ingestão pode suscitar indiretamente a ocorrência do fenómeno de biomagnificação, com a conseqüente acumulação de microplásticos em níveis tróficos superiores da cadeia alimentar [5].

No que concerne às repercussões dos microplásticos em termos de saúde pública, este é uma temática ainda pouco debatida, sendo que os estudos existentes focalizam-se predominantemente no sistema digestivo, pela ingestão de organismos aquáticos contaminados ou de pó depositado [6]. Um estudo piloto, realizado em 2018 e tornado público pela jornalista Laura Parker, revelou a presença de microplásticos em amostras fecais, provenientes de oito indivíduos testados, tornando verosímil a hipótese de ingestão destes pelo ser humano, apesar do número reduzido de amostras analisadas [86]. De qualquer forma, ainda não existem evidências concretas dos efeitos biológicos produzidos pelos mesmos. Contudo, é presumível que os humanos estejam sob risco, uma vez que já foram encontradas fibras de dimensões superiores a 250 µm na região pulmonar, fibras essas que se inserem na gama predominante de tamanhos encontrada nos estudos já referidos anteriormente sobre deposição de matéria particulada [87].

Recentemente, foi divulgado um artigo por Catarino *et al.* (2018), que demonstra o potencial de ingestão de fibras oriundas de pó doméstico, no decurso de uma única refeição, o qual consegue ser consideravelmente mais elevado e alarmante do que o próprio consumo de frutos do mar, como é o caso do mexilhão, organismo objeto de estudo por estes autores [88].

No entanto, é pertinente referir que existem outras vias de exposição humana, como é o caso da inalação de partículas em suspensão, cujos efeitos não são ainda completamente conhecidos [3]. Este cenário em específico, foi somente abordado até ao momento em dois artigos, os quais foram redigidos por Wright *et al.* (2017) e Prata (2018) [3,4].

Relativamente a este assunto, justifica-se ainda mencionar outros trabalhos de investigação que descrevem outros efeitos da inalação de fibras sintéticas a nível da saúde humana em meio ocupacional, incidindo maioritariamente na indústria têxtil. Ao contrário da exposição ambiental, pressupõe-se que este tipo de exposição acarreta consequências de magnitude mais elevada, uma vez que, os trabalhadores se encontram expostos de forma ininterrupta a elevadas concentrações destas fibras, em muitos casos de natureza sintética [89].

A dimensão, concentração e a composição química destas partículas influencia a potencialidade das sequelas que os microplásticos poderão representar em termos de saúde pública, sendo que, mesmo sob concentrações relativamente baixas, os efeitos produzidos continuam a ser indesejáveis. Contudo, como é de esperar que uma fração dos microplásticos se encontre inserida na matéria particulada, presume-se que as repercussões dos mesmos na saúde humana sejam análogas às da matéria particulada [3].

Uma extensa parcela das fibras inaladas, as que conseguem penetrar no trato respiratório, acaba por ficar retida mediante a atuação do sistema mucociliar, o principal mecanismo de defesa das vias respiratórias contra microrganismos ou substâncias potencialmente perigosas. Contudo, dependendo dos fatores enumerados precedentemente e da suscetibilidade do indivíduo em causa, algumas fibras conseguem penetrar na região pulmonar, induzindo a ocorrência de uma diversidade de respostas inflamatórias [4]. As crianças são possivelmente o grupo etário mais gravemente afetado por este problema, uma vez que o sistema respiratório das mesmas ainda se encontra em desenvolvimento. Por outro lado, o processo de respiração ocorre de forma mais rápida do que nos adultos, a que acresce ainda o facto de estas passarem um grande período de tempo em contacto direto com o chão, onde os microplásticos se encontram depositados [90].

As partículas mais pequenas podem inclusive entrar na corrente sanguínea, causando problemas cardiovasculares e cerebrais, induzir ao cancro, e afetar o sistema imunitário e nervoso humano. As fibras plásticas que são encontradas nos tecidos pulmonares, sugerem que o corpo não está a conseguir eliminá-las eficazmente, o que salienta a biopersistência das mesmas [87].

O que torna os microplásticos tão perigosos para a saúde humana é o facto de exercerem o papel de “hospedeiros” perante outros poluentes presentes na atmosfera, isto é, devido a fatores tais como a dimensão e o formato, certos poluentes, como é o caso dos emitidos pelo

tráfego rodoviário, as bactérias e os vírus, conseguem aglutinar-se facilmente às partículas de microplásticos, penetrando posteriormente na corrente sanguínea através dos tecidos pulmonares, elevando o risco gerado [91].

É relevante mencionar que certos contaminantes, que podem eventualmente associar-se à constituição dos plásticos por intermédio de um processo de contaminação, como é o caso dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP's) ou de alguns aditivos, como os plastificantes, produzem efeitos tóxicos, mutagénicos e carcinogénicos, contribuindo para o aumento das taxas de morbidade e mortalidade [92].

É pertinente referir ainda que as concentrações atmosféricas de microplásticos mais elevadas parecem estar associadas a ambientes interiores. As poucas medições já realizadas sugerem que tal se deve a um conjunto de fatores, incluindo a existência de um elevado número de fontes que fomentam essa libertação, nomeadamente, materiais de construção usados, mobiliário, peças de adorno, hábitos de limpeza e atividades diárias, associado ao facto dos mecanismos de disseminação do ar serem menos eficazes do que no meio exterior. Grande parte das partículas que se encontram presentes em espaços exteriores apresentam-se de modo equitativo no interior, sendo que estas podem infiltrar-se através da ventilação natural e/ou forçada [8].

Por conseguinte, e tendo em consideração o estilo de vida exercido pelas sociedades modernas, quer em termos lúdicos ou ocupacionais, os cidadãos despendem, na generalidade, a maior parte do seu tempo (cerca de 90%) confinados em espaços interiores, valor conjecturado com base num inquérito aplicado a 14 países da Europa e América do Norte, por uma empresa dinamarquesa e corroborado pela própria EPA, o que exacerba o risco humano associado à exposição aos microplásticos [94,95].

Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.

3. Procedimento Experimental

3.1. Método de amostragem

3.1.1. Caracterização do local e do equipamento

Para a realização da amostragem de partículas do tipo PM₁₀, foram empregues filtros de fibra de quartzo (Whatman QMA) com diâmetro de 47 mm.

As amostragens decorreram simultaneamente em ambiente interior, numa sala de estar, e exterior, num terraço de uma residência situada em Aveiro, habitada por cinco residentes, sendo que ambos os sítios em análise se localizam ao nível de um primeiro andar. O período de amostragem foi de 24 h, sob um caudal de 5 l.min⁻¹ aproximadamente.

Esta atividade processou-se através da utilização de dois amostradores portáteis de baixo caudal da AirMetrics (modelo MinVol™ TAS). Este equipamento encontra-se equipado com uma cabeça de pré-separação inercial de matéria particulada ≤10 µm, um suporte para a colocação do filtro, uma bomba de sucção, um medidor de controlo de caudal, regulável pelo utilizador, e um módulo eletrónico que permite a programação do tempo de amostragem pretendido [95]. Na figura 2 é possível visualizar o esquema de um amostrador análogo ao utilizado, com os respetivos elementos essenciais identificados.



Figura 2- Visão externa do amostrador *MiniVol™ TAS*.

Fonte: Airmetrics

Os filtros foram dispostos em cada um dos amostradores, sendo que, inicialmente, foi necessário calibrar o equipamento de modo a que o caudal de amostragem se encontrasse próximo do valor pretendido, tendo-se posteriormente programado o tempo de amostragem para um período de 24 h.

3.1.2. Método Gravimétrico

A quantificação da matéria particulada depositada em cada um dos filtros de fibra de quartzo usados foi efetuada pelo método gravimétrico, através da utilização de uma balança analítica eletrónica (RADWAG MYA 5/4Y/F1), dotada de uma sensibilidade de 1 µg, disposta numa sala de pesagem climatizada, em condições controladas de temperatura e humidade relativa.



Figura 3- Balança analítica eletrónica (RADWAG MYA 5/4Y/F1).

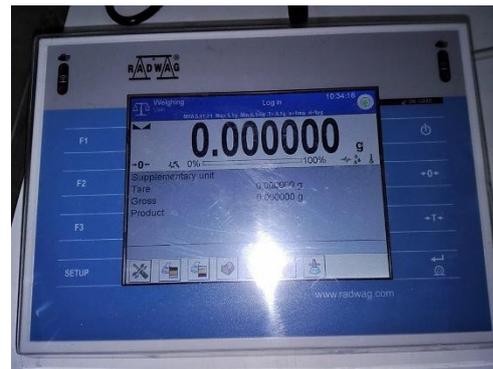


Figura 4- Monitor da balança eletrónica.

Previamente, procedeu-se à calcinação dos filtros na mufla, a uma temperatura de 550°C, durante um período de tempo de 4 h, de modo a que os contaminantes orgânicos presentes pudessem ser removidos. Após esta etapa, e em cada uma das duas amostragens realizadas, os filtros foram dispostos individualmente em três caixas de Petri, convenientemente identificadas, referentes ao ambiente interior, exterior e a um branco. Posteriormente, os filtros foram acondicionados no interior de um exsiccador, de forma a estarem armazenados sob vácuo, para controlo das condições de humidade.

A massa dos filtros registada, antes e após a amostragem, foi obtida através da média de dez pesagens efetuadas, perfazendo um total de sessenta pesagens por amostragem. Os filtros a pesar foram manuseados com o máximo de cuidado, com o auxílio de uma pinça de aço inoxidável, para evitar que as fibras neles presentes não fossem perdidas e minimizar o risco de contaminações.

Com o intento de proceder à determinação da concentração de matéria particulada presente na atmosfera, foi necessário calcular o caudal médio de amostragem, através da média do caudal inicial e final nas condições de amostragem. Cada um desses caudais foi estimado através da aplicação da equação seguinte:

$$Q_{\text{inicial;final}} = 5,768 * \sqrt{\frac{\Delta H_{\text{inicial;final}} * (273 + T_{\text{inicial;final}})}{(P_{\text{inicial;final}} * 0,75)}} - 0,1109 \quad (1)$$

Onde,

$Q_{\text{inicial;final}}$, corresponde ao caudal registado no início ou no final de cada amostragem pelo rotâmetro ($L\text{min}^{-1}$);

$\Delta H_{\text{inicial;final}}$, refere-se à leitura da pressão no início ou no fim da amostragem nos manómetros do calibrador (in H_2O);

$T_{\text{inicial;final}}$, representa a temperatura ambiente no início ou no fim da amostragem ($^{\circ}C$);

$P_{\text{inicial;final}}$, diz respeito à pressão atmosférica no início ou no fim da amostragem (hPa).

Seguidamente, calculou-se o volume amostrado que atravessa o filtro durante um período de tempo de 24 h, aplicando-se com esse objetivo a equação 2.

$$V_{\text{amostrado}} = \frac{Q_{\text{médio}} * t_{\text{amostragem}} * 60}{1000} \quad (2)$$

Onde,

V, volume amostrado (m^3);

t, tempo de amostragem (h).

Por fim, após a determinação da quantidade de matéria particulada existente, calculada através da diferença de massa dos filtros (μg), antes e depois da amostragem, e sabendo o volume de ar amostrado, pôde-se então calcular a respetiva concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), através da equação 3.

$$\text{PM}_{10} = \frac{m_{\text{final}} - m_{\text{inicial}}}{V_{\text{amostrado}}} \quad (3)$$

3.2. Identificação e quantificação dos microplásticos

O trabalho experimental envolveu a realização de diversos testes laboratoriais, com o propósito de apurar qual o protocolo mais conveniente e eficaz na contabilização dos microplásticos presentes na matéria particulada em suspensão no ar ambiente.

Uma vez que as microfibras estão presentes no nosso dia-a-dia, inclusive em ambiente laboratorial, foram tomados diversos cuidados ao longo de todo o procedimento experimental, de modo a minimizar a ocorrência de possíveis contaminações. Todo o material utilizado em laboratório foi devidamente lavado com uma solução ácida e posteriormente com água destilada, previamente a qualquer utilização. Relativamente às amostras oriundas das amostragens realizadas, estas encontravam-se devidamente protegidas, tendo sido somente abertas imediatamente antes da sua utilização. Além disso, foi evitado o manuseamento de materiais plásticos durante a execução do trabalho laboratorial e foram utilizadas batas de algodão de forma a evitar contaminações acrescidas.

3.2.1. Ensaios preliminares

Numa fase preliminar, efetuou-se uma amostragem em ambiente interior e exterior de uma habitação, o qual serviu de apoio à realização de um primeiro diagnóstico observacional às amostras recolhidas. Iniciou-se o estudo com a quantificação física dos microplásticos através da aplicação do método visual. Com essa finalidade, foram utilizados dois equipamentos distintos, uma lupa e um microscópio ótico (Olympus BX41) para que todos os fragmentos, fibras e partículas presentes pudessem ser enumerados.

Foram várias as limitações e entraves apurados relativos ao uso deste método, sendo crucial referir que, apesar de este permitir diferenciar, mesmo que dificilmente, a parte sintética, onde se encontram inseridos os microplásticos, da parte não sintética presente em cada uma das amostras, esta seria uma técnica muito demorada e exaustiva, o que poderia condicionar o número de amostras a analisar.

Associada a esta adversidade, acresceu ainda o facto de ter sido observado um elevado número de outras partículas, maioritariamente de tonalidade escura, cuja contabilização foi impraticável, devido às dimensões muito reduzidas e pouco nítidas. Contudo, deduziu-se que a maior parte desses fragmentos não seriam microplásticos, mas sim matéria particulada, com origem diversa daqueles, nomeadamente carbono elementar e matéria orgânica não plástica. Por último, este é um procedimento cujos resultados podem variar consoante o operador em questão. Na figura 5 encontram-se representadas algumas das imagens obtidas, por meio da utilização do microscópio ótico, com a objetiva 4x.



Figura 5- [A] Amostra do ar interior; [B] Amostra do ar exterior; [C] Amostra de branco.

Devido aos problemas mencionados anteriormente, inicialmente apenas foi realizada com clareza a contabilização das fibras presentes, sintéticas e não sintéticas. Foi notável a existência de uma porção superior de fibras em meio interior, e a maior eficácia do microscópio em relação à lupa, pois permitiu uma observação mais fácil do material presente. Na tabela 3 é possível observar os resultados obtidos nesta primeira determinação analítica.

Tabela 3- Contagem das fibras observadas através do método visual, com o auxílio de uma lupa e de um microscópio ótico.

Equipamento	Amostra	Contagem das fibras
<i>Lupa</i>	Interior	17
	Exterior	11
	Branco	8
<i>Microscópio</i>	Interior	34
	Exterior	17
	Branco	13

3.2.2. Análise de fibras têxteis com recurso a corantes

Tendo em conta as dificuldades apontadas anteriormente, considerou-se a hipótese de aplicar outros métodos que pudessem simplificar a tarefa de contabilização dos microplásticos, tornando-a mais simples e expedita.

O método da aplicação de corantes lipofílicos surgiu como uma alternativa possível, devido à sua predisposição para serem facilmente adsorvidos pelos plásticos e apresentarem fluorescência sob comprimentos de onda específicos, possibilitando a diferenciação dos mesmos de outras substâncias presentes [96]. Esta é uma técnica muito usual na identificação de microplásticos que se encontrem inseridos em amostras que contenham partículas inorgânicas, como é o caso dos sedimentos marinhos, e em partículas orgânicas, como a matéria vegetal [97].

Com esse objetivo, foram analisados alguns procedimentos presentes na literatura que abordassem a aplicação de corantes, de maneira a eleger um que melhor se enquadrasse na temática desta dissertação. O estudo escolhido, elaborado por Prata *et al.* (2019), consistiu na aplicação de diversos corantes a diferentes tipos de fragmentos têxteis (origem natural, sintética e semi-sintética), a filtros e matéria orgânica de origem diversa. Todas estes elementos foram posteriormente analisados sob radiação ultravioleta (UV) a diferentes comprimentos de onda, de modo a que os efeitos fossem observados em termos de fluorescência provocada. Com base nos resultados, e tendo em conta o objetivo deste estudo, o corante *Nile Red* (NR) foi aquele que produziu efeitos mais satisfatórios quando aplicado em fibras têxteis. Os comprimentos de onda cujos resultados foram mais favoráveis

situaram-se a 254 nm e 470 nm, sendo que o carvão, substância semelhante ao próprio carbono que possa estar presente na matéria particulada nas amostras, não apresentou fluorescência sob nenhum dos comprimentos de onda. É importante mencionar que a lã apresentou fluorescência em todos os ensaios realizados, devido à própria coloração apresentada pela fibra, mesmo antes da aplicação do corante [98].

Contudo, mesmo esses comprimentos de onda apresentaram alguns problemas, que são clarificados de seguida. Sob um comprimento de 254 nm, apesar de ocorrer a coloração da maior parte das fibras sintéticas, apenas a poliamida e o *rayon* apresentaram uma grande intensidade de fluorescência, sendo que, a viscosa, o *nylon* e o poliéster apresentavam-se muito ténues. Por sua vez, fibras como a lã e o algodão não apresentaram fluorescência, como o pretendido. Apesar dos ótimos resultados obtidos e de o linho ter sido a única fibra natural corada, o próprio filtro de quartzo apresentou fluorescência sob este comprimento, inviabilizando a sua aplicação [98].

Contrariamente, quando os elementos foram submetidos a um comprimento de onda de 470 nm, o filtro não corou, mas tanto as fibras sintéticas (exceto o *nylon*) como as não sintéticas acabaram por apresentar fluorescência no geral [98].

Deste modo, esta última tentativa poderia vir a ser aplicada, caso fosse possível proceder à degradação da matéria não sintética que estivesse presente nas amostras, deixando apenas a parte sintética, que posteriormente seria submetida à aplicação do corante.

A par deste estudo, foi realizado um teste com o único intuito de se averiguar os efeitos da aplicação de corantes a fibras individualizadas, por serem similares ao formato encontrado nas amostragens efetuadas. Este teste consistiu na aplicação de dois tipos de corantes, *Nile Red* e *Rose Bengal* (RB) a três tipos de fibras distintas, poliéster, *rayon* e algodão, representativas de cada um dos grupos existentes.

As fibras foram recolhidas com o auxílio de pinças de aço inoxidável a partir de fragmentos têxteis. Deste modo, foram preparadas seis amostras em caixas de Petri, relativas aos diferentes tipos de fibras e corantes a utilizar. Os filtros empregues foram de fibra de vidro (*Flat Filter*), com um diâmetro de 47 mm e um tamanho de poro de 1,2 μm , por serem resistentes aos corantes a utilizar, segundo o estudo de Prata *et al.* (2019) [98]. Cada uma das amostras foi colocada individualmente num sistema de filtração a vácuo, com posterior adição do respetivo corante durante um intervalo de tempo de 15 min aproximadamente, de modo a possibilitar a atuação do mesmo. As concentrações dos corantes utilizados, o *Nile*

Red e o *Rose Bengal*, foram de $0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$ e de $0,2 \text{ mg.ml}^{-1}$, em solução de etanol, respetivamente. De seguida, cada uma das amostras foi filtrada com água destilada e deixada a secar em ambiente escuro para posterior análise. No final deste processo, todas as amostras foram examinadas de dois modos, diretamente sob radiação ultravioleta, sendo a fluorescência detetada quando presente, através de um filtro laranja (ProMaster 62 mm) e também com o auxílio de um microscópio, de modo a que, estando a imagem ampliada, possíveis fluorescências não visíveis a olho “nu” conseguissem ser observadas. Ambas as análises foram feitas a um comprimento de onda de 470 nm.

3.2.3. Digestão das amostras

Devido às enormes dificuldades sentidas no decorrer da contabilização dos microplásticos presentes na primeira amostragem efetuada, houve a necessidade de adaptar diversas metodologias e pressupostos já existentes para que fosse possível desenvolver um protocolo adequado em termos de custo, tempo e eficácia. A finalidade destas experiências seria encontrar o protocolo ideal que permitisse a eliminação do material não sintético que estivesse presente nas amostras recolhidas, sendo, ao mesmo tempo, inerte em relação às fibras de plástico.

Desta forma, foi realizada uma revisão da literatura existente, sendo relevante mencionar que, até ao momento, não há registo de estudos que permitam caracterizar a fração de microplásticos incorporada na matéria particulada.

Todavia, há referência a numerosas experiências desenvolvidas que promovem a remoção de microplásticos que estejam presentes em sedimentos e organismos biológicos, tais como o zooplâncton, crustáceos, bivalves, mexilhões, tartarugas e peixes. É de referir que a maior parte destes procedimentos não é apropriada quando necessária a sua aplicação em trabalhos de monitorização de larga escala, isto é, em estudos que impliquem a análise de um grande número de amostras, devido ao facto de serem técnicas muito dispendiosas, tanto em termos monetários como temporais [99]. Além disso, algumas das soluções utilizadas nalguns protocolos, como é o caso de certas misturas com ácido nítrico, apresentam efeitos indesejáveis, podendo causar a degradação de material plástico, como é o caso das fibras de poliamida e do *nylon* [100]. Por esse motivo, não foi estipulado até à data presente nenhum método *standard* que vá de encontro às recomendações e requisitos

de certas organizações internacionais, como a *Oslo-Paris Commission* (OSPAR) e a *Marine Strategy Framework Directive* (MSFD) [99].

Em conformidade com os estudos existentes, os procedimentos de remoção de matéria orgânica natural empregues podem ser categorizados como ácidos, como descrito no artigo de Claessens *et al.* (2013); alcalinos em Fockema *et al.* (2013); oxidantes em Nuelle *et al.* (2015) e por fim enzimáticos em Cole *et al.* (2014) [102–105].

Foram selecionados e adaptados seis protocolos existentes para serem testados na digestão de um grupo de fibras, de modo a averiguar a eficiência das soluções utilizadas. Com esse intuito, foram escolhidas aleatoriamente 9 fibras para serem examinadas, as mesmas que foram utilizadas previamente no método do corante, sendo 3 delas sintéticas (poliéster, *nylon*, poliamida), 3 semi-sintéticas (poliéster+algodão, viscose, *rayon*) e, por último, 3 naturais (algodão, lã, linho).

Os protocolos são descritos de seguida, sendo que todas as amostras foram submetidas à adição de um determinado volume de solução e sujeitas a um período de incubação previamente estipulado, valores esses apresentados subsequentemente. Além disso, é importante mencionar que a preparação de todas as soluções envolveu a adição de água destilada, excluindo a solução de proteinase-k, que foi preparada em meio de dodecil sulfato de sódio (SDS).

Protocolo 1, considerado o protocolo de referência, utilizou-se água destilada (H₂O).

Protocolo 2, foi adaptado do método utilizado pelo NOAA *Marine Debris Program* (2015), tendo-se utilizado uma solução combinada de peróxido de hidrogénio + ferro (H₂O₂+Fe; Sigma-Aldrich). A solução de Fe (0,05M) obtida consistiu na adição de 7,5 g de Fe num balão de 500mL, acrescentando-se de seguida 3mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Por sua vez, utilizou-se uma solução de H₂O₂ com uma concentração de 30% [105].

Protocolo 3, baseou-se no estudo de Fockema *et al.* (2013), utilizando-se uma solução de hidróxido de potássio (KOH; Sigma-Aldrich) a 10% (w/v) [102].

Protocolo 4, adaptado do estudo de Catarino (2017), procedeu-se à manipulação de uma solução de ácido nítrico (HNO₃; Sigma-Aldrich) a 35% [106].

Protocolo 5, baseado no estudo de Cole *et al.* (2014), utilizou-se uma enzima, a proteinase-k (*Aspergillus melleus*), cuja solução previamente preparada apresentava uma concentração de 500 µg.ml⁻¹, em solução de SDS a 1% [104].

Protocolo 6, executado tendo em conta o protocolo de Mintenig *et al.* (2016), utilizando-se a enzima celulase (*Aspergillus niger*), sob uma concentração de 40 mg.ml⁻¹ [107].

Antes dos ensaios, o pH das soluções de proteinase-k e de celulase foi medido, para garantir que se encontravam na gama ótima de atividade enzimática especificada pelo fabricante.

Numa primeira fase, todos estes métodos foram aplicados ao próprio filtro de quartzo, visto ser o utilizado nas amostragens, de maneira a averiguar qual seria a reação do mesmo perante as diferentes soluções testadas, pretendendo-se evitar a sua destruição. Deste modo, foram realizadas quatro réplicas por protocolo, tendo-se usado 2,5 ml de solução por cada réplica, exceto nos protocolos 5 e 6, em que foram realizadas apenas três réplicas e utilizados somente 0,8 ml de solução em cada amostra.

As análises posteriores às fibras foram realizadas aplicando-se o mesmo número de réplicas, 4 por protocolo efetuado e por tipo de fibra utilizado, à exceção do método com proteinase-k e com celulase, onde foram efetuadas unicamente 3 réplicas. Todas as fibras foram cortadas com o auxílio de uma tesoura em pequenos fragmentos de formato irregular, os quais foram colocados em tubos, que se encontravam convenientemente identificados. Cada uma das fibras utilizadas foi pesada três vezes com a ajuda de uma balança analítica (Sartorius, Entris), com uma sensibilidade de 0,1 mg. Além destas, foram igualmente pesados três vezes os filtros a utilizar posteriormente durante o processo de filtração. A pesagem foi efetuada antes e depois da aplicação dos processos de digestão, de modo a que os efeitos produzidos pudessem ser avaliados através da perda de peso das amostras.

Todas as amostras de fibras foram colocadas no volume de solução de digestão pré-definido por tubo, 1 ml, de forma a que a amostra conseguisse estar convenientemente coberta por líquido, exceto no protocolo 4, em que foram adicionados 0,5 ml da solução de Fe, acrescidos de 0,5ml da solução de H₂O₂, e no protocolo 5 e 6, onde foram inseridos 0,8 ml de cada uma das enzimas proteinase-k e celulase, por questões económicas. Após a adição das soluções, procedeu-se à colocação das mesmas numa incubadora durante uma hora, a 50 °C, tendo sido realizados outros ensaios sob um período de duração superior.

Foram realizados dois ensaios adicionais, um com proteinase-k, onde o tempo de incubação foi aumentado para 16 h, e outro teste com celulase, onde foram analisadas

exclusivamente as fibras naturais, sujeitas a um período de incubação de cinco dias, para que fosse averiguada a influência da variação do tempo na consequente degradação da amostra.

A seguir à incubação, cada uma das soluções foi submetida ao processo de filtração por vácuo, através da utilização de filtros de acetato de celulose (*Gridded Filter*), com um diâmetro de 47 mm e um tamanho de poro de 0,45 µm. De seguida, as amostras foram submetidas ao processo de secagem na estufa, durante um período de tempo variável, sob uma temperatura de 60 °C.

A eficiência da digestão foi avaliada por dois modos, através da perda de peso e por intermédio da utilização do equipamento FTIR-ATR. O cálculo da eficiência da digestão da amostra, juntamente com o filtro incluído, foi baseado na fórmula que se encontra presente no estudo de Karami *et al.* (2016), tendo-se aplicado a equação expressa de seguida [108].

$$\text{Digestão}_{\text{amostra+filtro}}[\%] = 100 * \frac{(P_{\text{amst i}} - (P_{\text{filtro+amst f}} - P_{\text{filtro}}))}{P_{\text{amst i}}} \quad (4)$$

Além deste cálculo, foi também aplicada outra equação referente à eficiência da digestão, exclusivamente da amostra, uma vez que os resultados obtidos desta maneira são considerados mais precisos, com um menor erro a eles associado.

$$\text{Digestão}_{\text{amostra}}[\%] = 100 * \frac{(P_{\text{amst i}} - P_{\text{amst f}})}{P_{\text{amst i}}} \quad (5)$$

Onde,

$P_{\text{amst i}}$, corresponde ao peso da amostra inicial, antes da digestão;

$P_{\text{filtro+amst f}}$, corresponde ao peso do filtro mais o peso da amostra final, depois da digestão;

$P_{\text{amst f}}$, corresponde ao peso da amostra final, depois da digestão.

Na tabela 4 encontram-se resumidas as condições de operação referentes a cada um dos protocolos utilizados.

Tabela 4- Condições operativas referentes a cada um dos protocolos digestivos utilizados.

Protocolos	Solução	Concentração	Volume [ml]	Período de incubação/ Temperatura
<i>Protocolo 1</i>	H ₂ O destilada	-	1	1 h-50 °C
<i>Protocolo 2</i>	H ₂ O ₂ +Fe	30% e 15%	1	1 h-50 °C
<i>Protocolo 3</i>	KOH	10%(w/v)	0,5+0,5	1 h-50 °C
<i>Protocolo 4</i>	HNO ₃	35%	1	1 h-50 °C
<i>Protocolo 5</i>	Proteinase-k	500 µg.ml ⁻¹	0,8	1 h-50 °C
				16 h-50 °C
<i>Protocolo 6</i>	Celulase	40 mg.ml ⁻¹	0,8	1 h-50 °C
				5 dias-50 °C

No método alternativo aplicado às amostras recorreu-se à utilização de um equipamento FTIR-ATR, Perkin Elmer (USA) Spectrum BX, conhecido por possibilitar a identificação de grupos funcionais de compostos orgânicos e, portanto, dos polímeros constituintes. A degradação das amostras devido à aplicação do método de digestão, pode resultar em mudanças a nível dos espectros obtidos, tornando-se pertinente a análise dos mesmos. Desta forma, todas as amostras de fibras têxteis resultantes do processo de digestão foram analisadas por FTIR-ATR, para que os espectros obtidos pudessem ser posteriormente comparados com espectros considerados de referência. Todos os espectros foram obtidos na região de (4000-500 cm⁻¹) e para cada uma das amostras foram efetuados 30 varrimentos, segundo uma resolução de 4 cm⁻¹. Foi efetuado um novo *background* por cada quatro amostras analisadas, tendo este sido posteriormente subtraído ao espectro da amostra respetivo, através das opções *baseline correction* e *smooth correction*, ambas presentes no programa Spectra Gryph 1.2.

Os espectros de referência foram obtidos através da análise de fragmentos têxteis, oriundos do mesmo tipo de fibras utilizadas no processo de digestão, mas desta vez sem qualquer tipo de tratamento prévio.

3.2.4. Caracterização por microscopia ótica

São diversos os processos que podem ser aplicados na identificação física de fibras têxteis, sendo que a técnica adotada no estudo em questão foi a visual, por intermédio da utilização de um microscópio ótico (Olympus BX41). As fibras selecionadas foram analisadas através da utilização da objetiva 10x e da aplicação de uma luz branca lateral (SPEX Forensics, FOCUS LED), cujo intuito era facilitar essa visualização. Além disso, foram tiradas algumas fotografias ao longo do processo, com a câmara (Canon E0S, 1220D) que se encontrava devidamente acoplada ao equipamento. Este método permite a diferenciação das fibras de forma eficaz, de acordo com as características morfológicas inerentes às mesmas, enumerando-se as seções longitudinais e as transversais [109]. Deste modo, seria ótimo, tendo em conta a temática desta dissertação, a elaboração de um método visual que permitisse discernir entre cada fibra existente, na medida em que os tamanhos muito reduzidos das fibras amostradas impossibilitam essa diferenciação por meio do FTIR, técnica de análise comumente aplicada para caracterizar as fibras quimicamente.

Com esse intuito, previamente à avaliação das amostras decorrentes das amostragens realizadas, foi feita uma análise às fibras usualmente utilizadas na indústria têxtil, as mesmas usadas anteriormente na digestão, para que fosse elaborada uma descrição das características intrínsecas a cada uma delas, do modo mais metucioso possível. Posteriormente, as informações recolhidas foram aplicadas às amostras coletadas, provenientes de uma segunda amostragem realizada, estabelecendo-se um termo de comparação. As fibras foram recolhidas manualmente, a partir de fragmentos têxteis, tarefa complicada de executar, uma vez que, na maior parte dos casos, as fibras saíam em aglomerações e não em formato individual, como seria desejável. Para além desta dificuldade, muitas das fibras não conseguiram ficar inteiramente no mesmo plano dimensional, o que resultou no surgimento de “sombras” nas imagens obtidas, inviabilizando a focagem integral do comprimento total das mesmas.

Primordialmente foi fulcral conseguir discernir entre as fibras sintéticas e as naturais, e só posteriormente tentar aprofundar essa análise, reconhecendo diferentes tipos de fibras. Esta análise observacional foi realizada em conjunto com algumas características presentes na literatura, relativas às fibras em observação.

3.2.5. Microplastic Visual Analysis Tool (MP-VAT) and Scanning electron microscopy (SEM)

A última etapa do procedimento experimental executado consistiu na aplicação de dois métodos distintos. Cada uma das duas amostras obtidas na segunda amostragem realizada, assim como a amostra de branco, foram submetidas a uma subdivisão em quatro parcelas, cujo cenário posterior de utilização diferiu. Todas as porções foram primeiramente contabilizadas visualmente, em termos de teor em fibras (naturais e sintéticas) e fragmentos apresentados, pela chave de identificação elaborada (capítulo 4). De seguida, três parcelas de cada uma das amostras foram submetidas à aplicação de um procedimento, adaptado do artigo de Abbasi *et al.* (2018), composto por dois métodos, um de remoção da matéria orgânica e outro de separação de microplásticos através da densidade [90]. Inicialmente, todas as porções dos filtros foram submetidas a uma lavagem com água desionizada, sendo que o conteúdo resultante foi transferido diretamente para um total de nove copos de vidro, respetivamente. Essa lavagem foi aplicada igualmente às caixas de Petri, onde se encontravam cada uma das parcelas em estudo, uma vez que estas também continham fibras, com origem no próprio filtro ou resultantes de uma possível contaminação exterior originada durante o manuseamento das próprias amostras. De seguida, adicionou-se em cada um dos copos de vidro, que continham 15 ml de água desionizada cada, um volume de 15 ml de H₂O₂ a 30%, perfazendo uma concentração final de 15%. Todas as soluções foram deixadas a repousar durante um período de tempo de oito dias consecutivos à temperatura ambiente e devidamente protegidas com papel de alumínio, como é possível verificar na imagem apresentada de seguida.



Figura 6- Conteúdo resultante das amostras em análise, imerso numa solução de H_2O_2 a 15%.

Aliado a este procedimento, foi realizado um teste, composto por três réplicas com aplicação da solução de H_2O_2 a 15%, aos nove tipos de fibras analisadas no decorrer deste estudo, nas mesmas condições temporais e ambientais de espera das amostras anteriores (oito dias à temperatura ambiente), de modo a averiguar se alguma delas seria destruída durante a aplicação deste teste.

Após esse intervalo de tempo, todas as amostras foram submetidas ao processo de filtração por vácuo em filtros de fibra de vidro, como é possível verificar na figura 7.



Figura 7- Sistema de filtração a vácuo.

O último método empregue consistiu na adição de 10 ml de uma solução saturada de iodeto de sódio (NaI ; $1,6 \text{ g.cm}^{-3}$) a cada uma das amostras, em diferentes copos de vidro, sendo que, de seguida estes foram agitados durante cinco minutos num agitador Vortex. Posteriormente, todas as soluções foram deixadas a repousar durante cerca de 90 min, e de seguida cuidadosamente decantadas manualmente para um sistema de filtração, última etapa deste procedimento final.

Após a conclusão do procedimento anterior, todas as parcelas foram novamente contabilizadas pelo método visual e com o auxílio do software *Micoplastic Visual Analysis Tool* (MP-VAT), segundo o conteúdo de partículas e fragmentos plásticos existentes nas mesmas. De modo a que utilização deste programa fosse possível, foi necessário a aplicação prévia do corante *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$) a cada uma das amostras, para que os fragmentos plásticos existentes, apresentando fluorescência, conseguissem ser lidos corretamente pelo programa.

Entretanto, as únicas parcelas não submetidas a nenhum dos tratamentos referidos anteriormente, foram remetidas para análise por SEM/EDX (Hitachi S4100microscope; *Scanning Electron Microscopy/ Energy Dispersive X-rays Spectroscopy*), para uma avaliação do seu conteúdo com uma técnica que apresenta uma alta resolução fotográfica.

Foram ainda efetuados três testes adicionais, para que se estimassem possíveis contaminações, decorrentes da aplicação dos dois últimos métodos às amostras em análise. Com esse intuito, foram contabilizadas as fibras existentes num filtro de fibra de vidro limpo, igual aos utilizados durante todo o processo precedente, e ainda a outros dois filtros, com aplicação prévia das soluções de H_2O_2 e NaI (uma por filtro) idênticas às aplicadas no decorrer do método de digestão, em termos de concentração e volume.

4. Resultados e Discussão

4.1. Concentrações de PM_{10}

Na tabela seguinte apresenta-se um resumo do tipo de ambiente caracterizado, período de recolha, volume amostrado e respetivas concentrações de PM_{10} , referentes às duas amostragens de matéria particulada efetuadas neste estudo.

Tabela 5- Condições de amostragem das partículas PM_{10} .

Período de amostragem	Amostragem	Meio	Volume amostrado [m ³]	Concentração [µg.m ⁻³]
10/10/2018	Amostragem preliminar	Interior	7,30	33,7
		Exterior	7,24	11,1
12/03/2019	2ª Amostragem	Interior	7,19	23,8
		Exterior	7,11	17,3

É possível verificar que as concentrações de PM_{10} , registadas em meio interior e exterior durante os dois dias de amostragens efetuadas, foram inferiores aos valores limite diários especificados pelas diversas entidades referidas na revisão da literatura (capítulo 1), o que revela uma conformidade com a legislação imposta. É pertinente mencionar que as concentrações de matéria particulada foram relativamente superiores em meio interior, como seria expectável, devido à possível presença de um maior número de fontes emissoras, aliado à existência de menores mecanismos de dispersão do ar.

4.2. Seleção de um método de digestão de fibras naturais

Relativamente aos diversos protocolos de digestão empregues ao longo deste estudo, foram avaliados de dois modos distintos, através da perda de peso e por intermédio dos espetros gerados pelo equipamento FTIR-ATR.

Ao longo desta análise foi elaborado um conjunto de gráficos, de modo a que a informação fosse transmitida o mais simplificada e intuitivamente possível. Os dados representados em cada um desses gráficos correspondem à eficiência da digestão da amostra

respetiva, filtro de quartzo ou fibra têxtil, excetuando determinados casos em que não se conseguiu obter esse valor, utilizando-se, por conseguinte, a percentagem de eficiência relativa ao conjunto filtro+amostra. Contudo, este conjunto de valores acarreta obviamente uma probabilidade de erro superior, pois tem em conta um maior número de fatores a ele associado.

Adicionalmente, no anexo I apresenta-se um resumo estatístico dos valores obtidos alusivos à perda de peso, sendo que, esses valores foram obtidos a partir da aplicação das equações 4 e 5 descritas no procedimento experimental (capítulo 2). As percentagens apresentadas nas tabelas em anexo correspondem à mediana dos valores, calculadas consoante o número de réplicas empregues por cada fibra analisada e protocolo aplicado. É também possível verificar quais foram os valores mínimo e máximo obtidos no conjunto das réplicas apresentadas por cada um dos protocolos aplicados.

Como já mencionado ao longo deste estudo, estes protocolos foram aplicados preliminarmente em fragmentos de filtro de fibra de quartzo, por ser o material utilizado para a recolha das amostras de partículas em suspensão, de forma a apurar se este não seria parcialmente destruído durante o processo de digestão. Os resultados obtidos, relativamente à eficiência de digestão do filtro de fibra de quartzo encontram-se na tabela 15 (Anexo I). Na figura seguinte resumem-se os resultados, sob a forma de um gráfico de bigodes de caixa, por forma a tornar mais perceptíveis as diferenças ocorridas entre os testes.

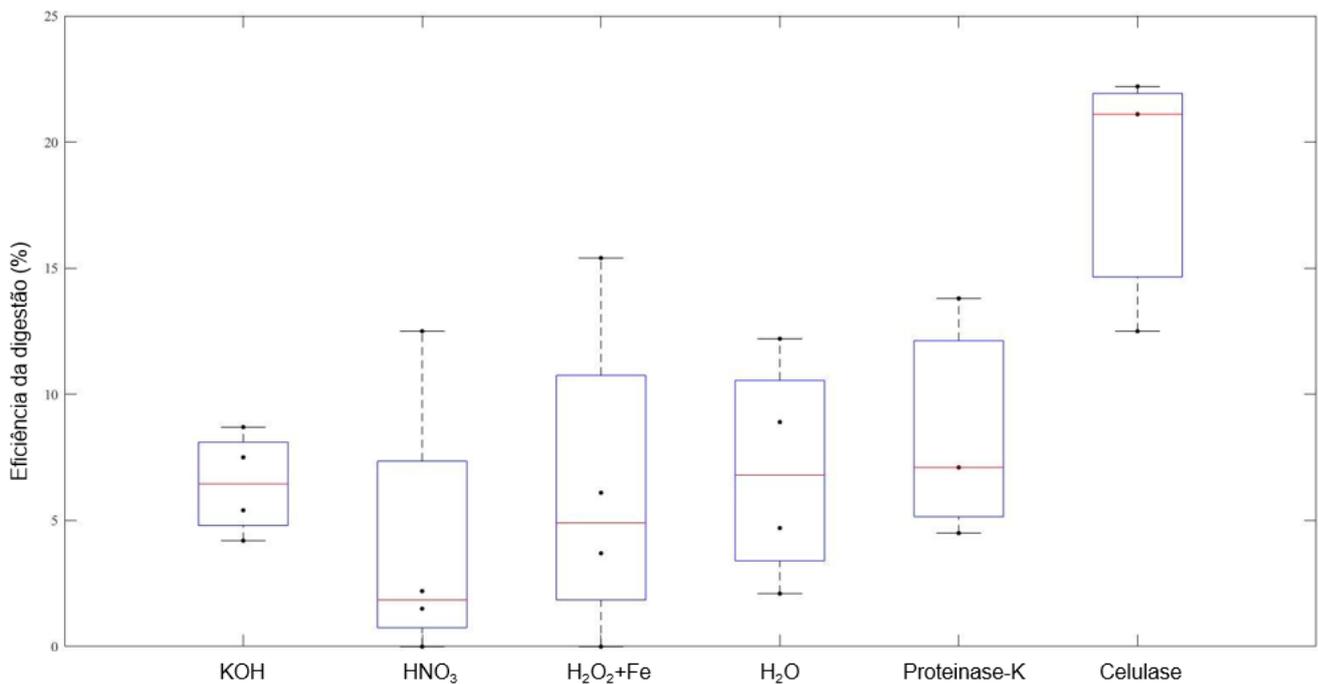


Figura 8- Eficiência da digestão (%) de amostras de filtro de quartzo expostos a um controlo (H₂O) e a cinco soluções (KOH, HNO₃, H₂O₂+Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.

Os resultados obtidos mostraram que a adoção dos protocolos com recurso às soluções de H₂O, KOH, HNO₃ e H₂O₂+Fe era adequada, na medida em que provocou unicamente a degradação de aproximadamente 6% do filtro. Quando submetidas à incubação da enzima proteinase-k, durante uma hora, os resultados foram igualmente satisfatórios, com apenas 7,1% de degradação. Todavia, como é possível verificar na tabela 17 (anexo 1), sob um período de incubação maior (16 h), os resultados obtidos foram ligeiramente superiores, atingindo os 20%, o que acabaria por poder suscitar alguns problemas. Por último, a aplicação da enzima celulase também forneceu resultados indesejáveis, com uma percentagem de digestão ligeiramente superior a 20%.

Em relação ao teste inicial, empregue com a finalidade de digerir as fibras naturais, nenhum dos protocolos aplicados apresentou resultados satisfatórios nesse sentido, como é possível verificar no gráfico seguinte e na tabela 16 (em anexo).

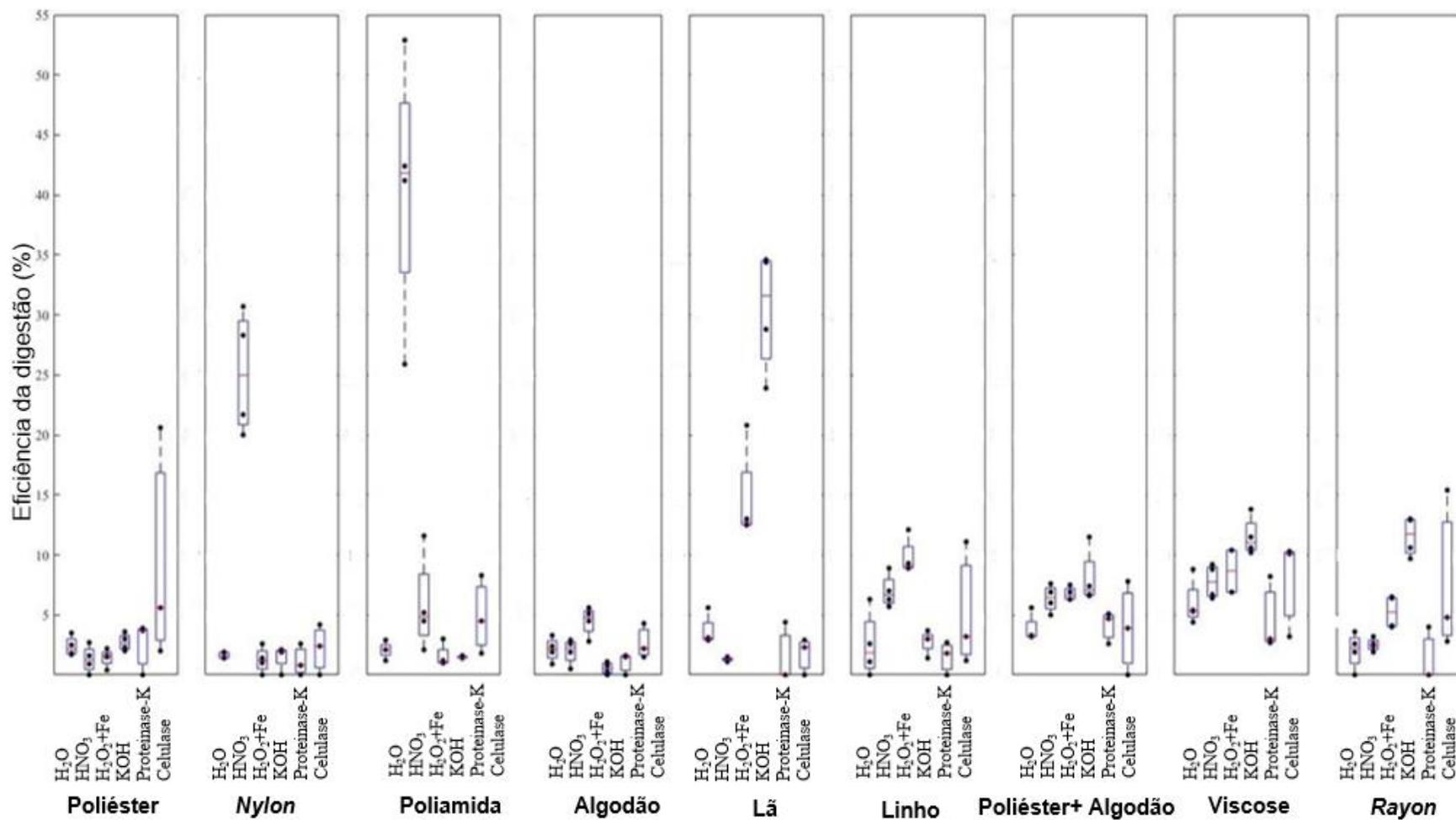


Figura 9- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, nylon, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e rayon) expostas a um controlo (H₂O) e a cinco soluções (KOH, HNO₃, H₂O₂+Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.

É importante mencionar a ocorrência de alguns erros durante o processo de digestão, nomeadamente na primeira réplica realizada, em que se obtiveram valores negativos para o filtro+amostra, em particular para a digestão alcalina com KOH. Tal acontecimento pode estar provavelmente relacionado com a filtração de um volume insuficiente, que não permitiu dissolver por completo o composto químico presente. Outra das explicações que podem estar na origem desse erro, relaciona-se com o tempo de secagem das amostras, após a filtração das mesmas, que pode não ter sido suficiente em determinados casos, provocando deste modo um aumento do peso da amostra, devido ao teor de humidade por ela apresentada.

Analisando os resultados, é possível verificar que as percentagens de degradação obtidas foram, na generalidade, bastante reduzidas, mantendo-se inferiores a 15%, excetuando determinados casos. A poliamida e o *nylon*, ambas fibras sintéticas, apresentaram alguma degradação quando submetidas à adição de HNO₃, com valores de 41,8% e 25,0%, respetivamente, o que inviabiliza a sua aplicação em estudos deste tipo, pois, caso contrário, ocorreria a destruição de uma parte do conteúdo sintético da amostra, onde estariam incluídos os microplásticos. Relativamente aos efeitos deste método em fibras naturais, apenas o KOH demonstrou surtir algum resultado positivo, exclusivamente na lã, que apresentou uma degradação de 31,6%. É presumível que, se a solução de KOH adicionada apresentasse eventualmente uma concentração superior, ou se o tempo de incubação tivesse sido mais elevado, o resultado final teria sido mais favorável. As restantes fibras naturais apresentaram valores de degradação superiores quando estiveram em contacto com a solução de H₂O₂+Fe, sendo que para o linho se alcançou um valor de 9,1% enquanto que para o algodão se obteve um valor de 4,8%.

A aplicação de enzimas, nomeadamente a proteinase-k, também não fomentou qualquer tipo de repercussão positiva, tendo-se observado apenas um ligeiro aumento da degradação de todas as fibras, decorrente do aumento do período de incubação das mesmas, como é possível ver no gráfico exposto de seguida.

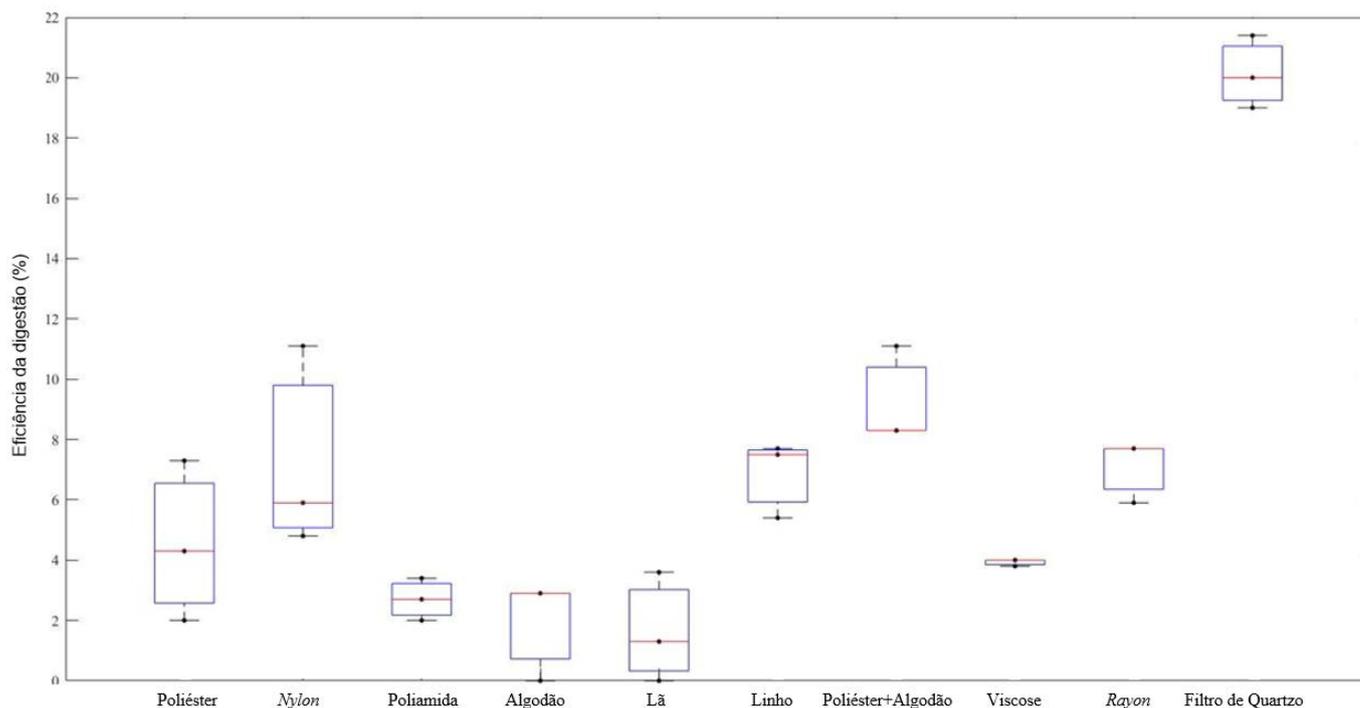


Figura 10- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e *rayon*) expostas a uma solução de proteinase-k, sob um período de incubação de 16h a 50°C.

Por último, a aplicação de celulase, sob um tempo de incubação de 1 h também não mostrou resultados satisfatórios, apresentando taxas de degradação abaixo dos 11%, sendo que a viscose foi a fibra que apresentou a taxa de degradação mais elevada, 10,1%. De igual modo, a aplicação desta enzima durante um intervalo de 5 dias, unicamente a fibras naturais, também não revelou bons resultados, como é possível verificar na tabela 6, provocando apenas um aumento insignificante das taxas de digestão referentes às respetivas amostras têxteis. Foi realizada unicamente uma réplica, uma vez que os valores alcançados foram bastante reduzidos, tornando dispensável a aplicação de um número superior de réplicas, não só devido à taxa de insucesso, mas também por razões económicas.

Tabela 6- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (algodão, lã, linho), expostas a uma solução de celulase, sob um período de incubação de 5 dias a 50°C.

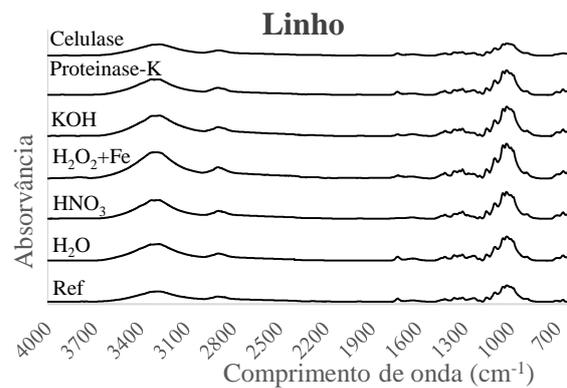
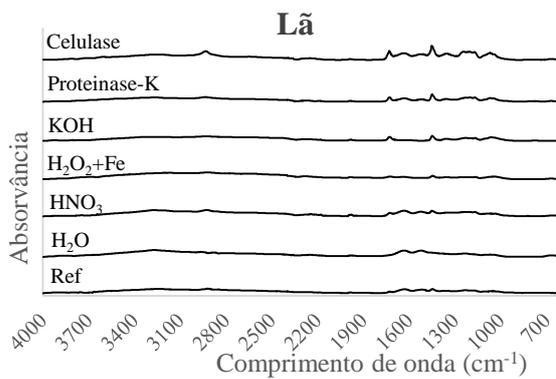
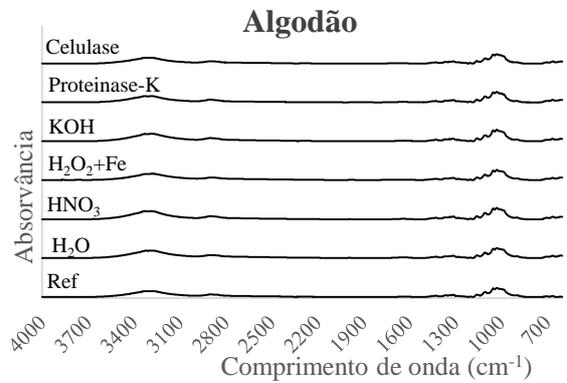
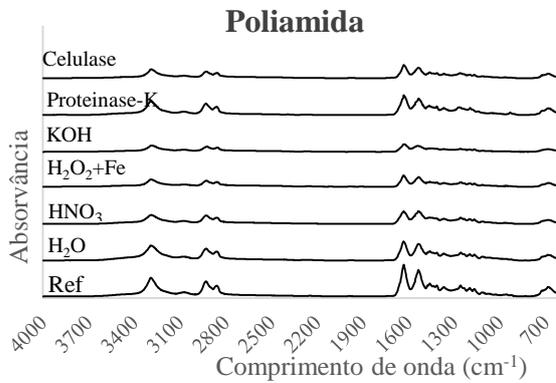
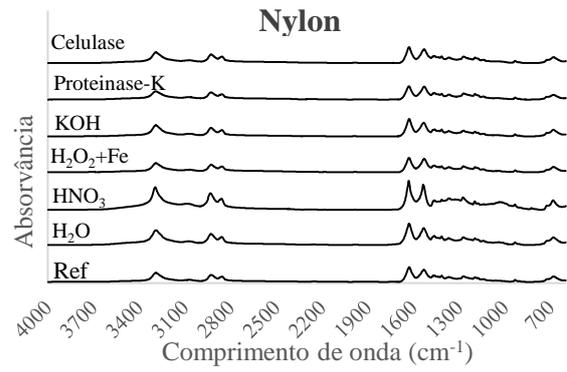
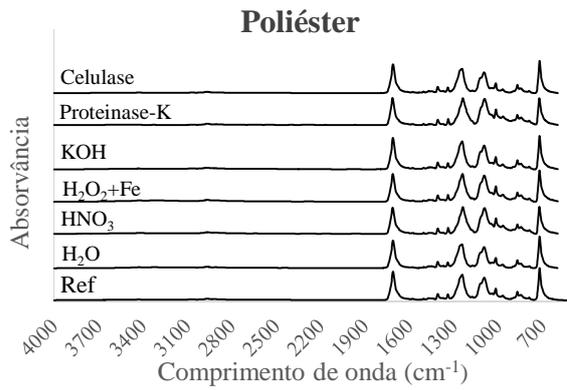
Fibras	Eficiência da digestão da amostra [%]
<i>Algodão</i>	4,2
<i>Lã</i>	5,6
<i>Linho</i>	7,3

De certo modo, os resultados vão ao encontro do que tem sido descrito na literatura, onde se refere que a solução de H_2O_2 (30%-35%) é considerada um dos agentes oxidantes mais eficazes na degradação de matéria orgânica, e com pouca influência na degradação de polímeros plásticos. Em contrapartida, a digestão ácida encontra-se normalmente associada à destruição de matéria plástica [100]. Ambos os casos foram verificados no estudo em questão, com a solução $\text{H}_2\text{O}_2+\text{Fe}$ a possuir um maior impacto na degradação de fibras naturais e a solução ácida de HNO_3 a provocar a destruição parcial de algumas fibras sintéticas, como o *nylon* e a poliamida. No entanto, esta análise comparativa não pode ser inteiramente aplicada ao caso em questão, uma vez que os fatores em observação diferem dos demais casos de estudo, normalmente relacionados com o ramo aquático.

É importante mencionar que os valores de pH das soluções contendo as enzimas, encontravam-se dentro do intervalo pretendido, sendo que a solução de proteinase-k apresentava um valor de 6,3 e a de celulase um valor de 4,6.

Como referido precedentemente, a eficiência da digestão das amostras também foi avaliada em termos de composição química por intermédio do equipamento FTIR-ATR, uma vez que a perda de peso não é o único fator a ter em conta. Os espectros obtidos foram observados e analisados através do *software* de espectroscopia ótica Spectragryph V1.2.11. Todos os valores referentes a comprimentos de onda que se situavam abaixo de 600 cm^{-1} foram removidos, uma vez que os respetivos espectros de referência utilizados nesta análise apresentavam uma gama de comprimentos de onda compreendida entre ($4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$).

De seguida, mostram-se os gráficos resultantes da aplicação deste método, estando divididos por fibra empregue e protocolo aplicado, tendo sido escolhido um único espectro por réplica realizada, devido ao grande número de espectros obtidos. No anexo II, figuras 21 e 22, é possível observar os restantes gráficos, resultantes de dois testes adicionais efetuados com proteinase-k e celulase a fragmentos têxteis.



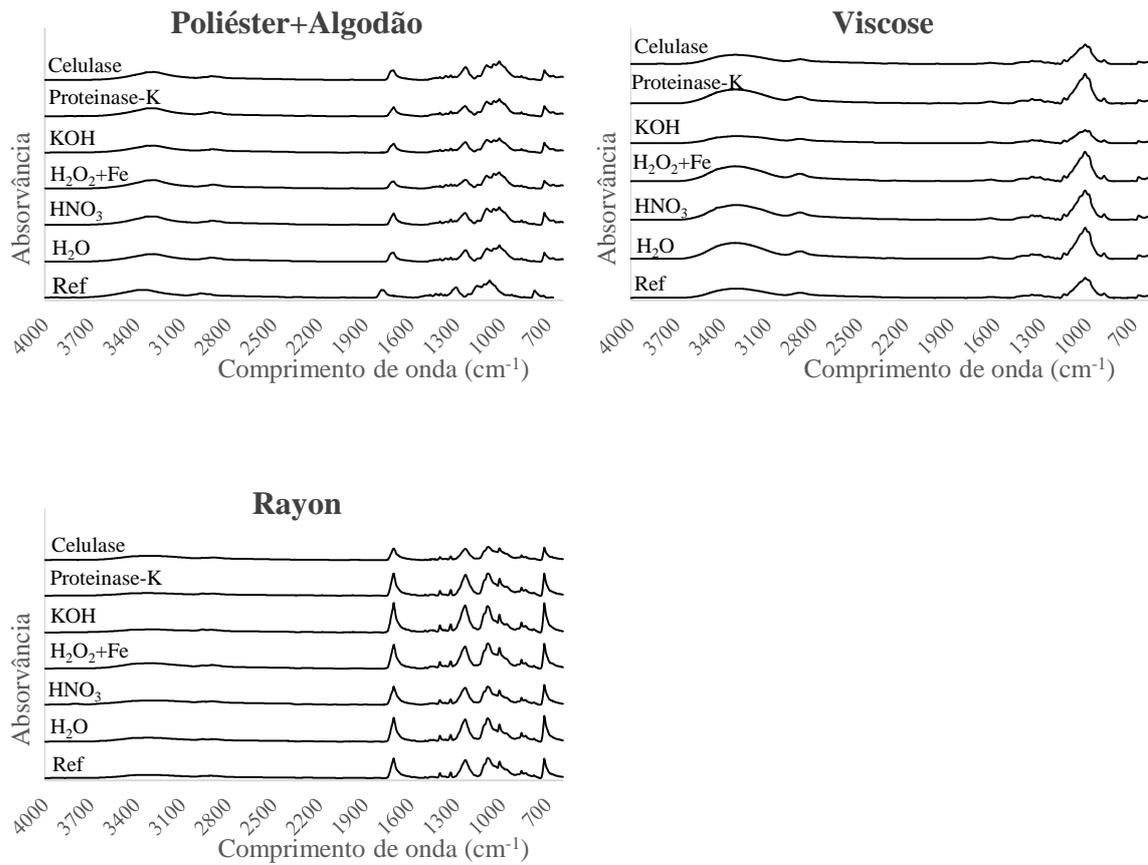


Figura 11- Espectros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de um conjunto de soluções (celulase, proteinase-k, KOH, H₂O₂+Fe, HNO₃, H₂O) a fragmentos têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, algodão+poliéster, viscose, *rayon*).

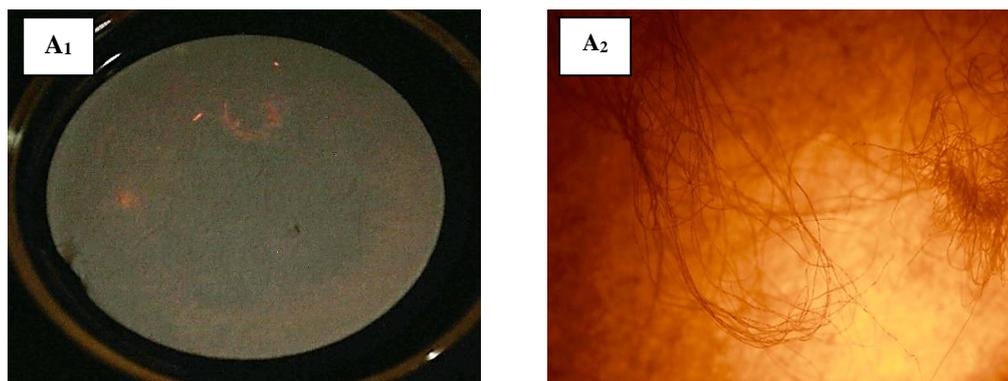
Este tipo de análise permite a identificação, de um modo simples, de polímeros e fibras. Contudo, o espectro resultante destes elementos pode ficar sujeito a modificações, devido à ocorrência de fenómenos de degradação, resultantes, por exemplo, da aplicação de certos procedimentos de digestão.

É de salientar que as alterações ocorridas nos espectros de cada uma das fibras, em função dos diversos protocolos de digestão aplicados, foram praticamente nulas, sendo os mesmos muito similares entre si, em termos dos picos existentes, variando apenas em termos de intensidade.

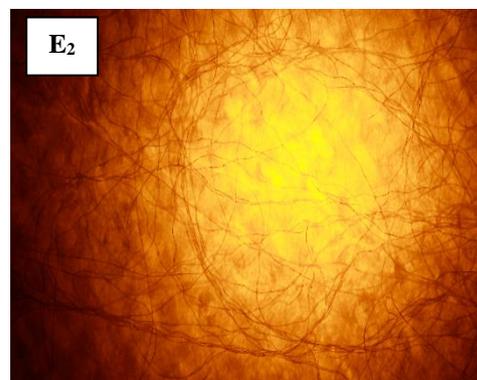
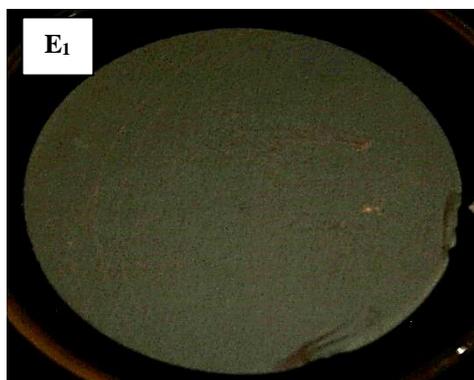
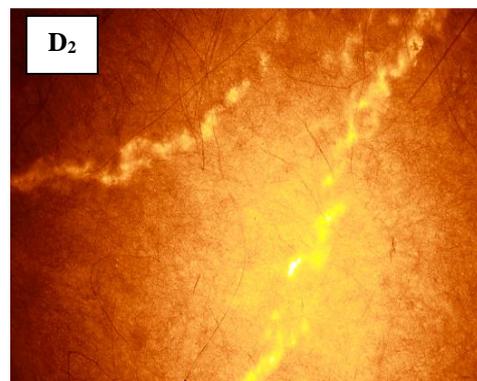
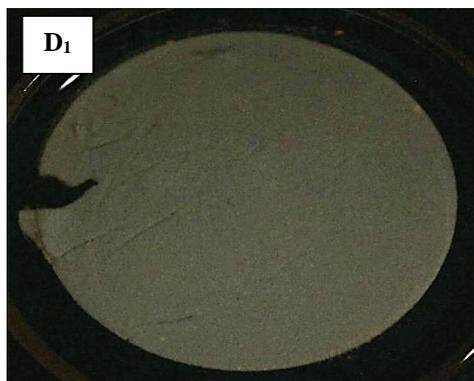
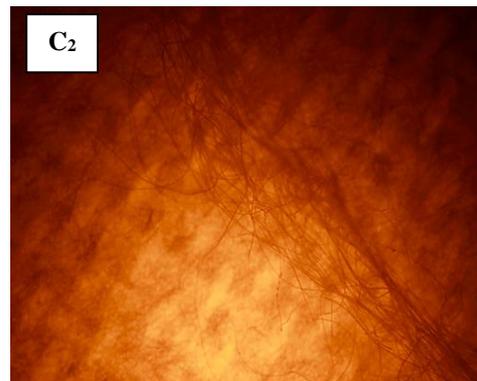
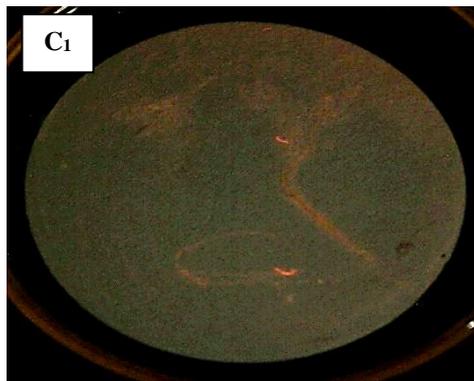
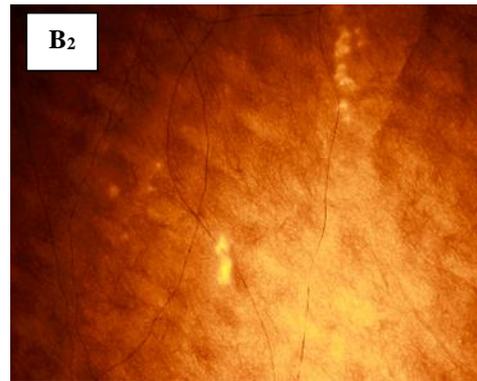
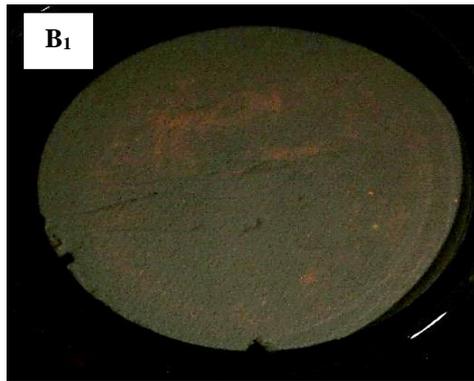
4.3. Resultados da aplicação de corantes

Inicialmente, quando as fibras foram observadas diretamente sob um comprimento de onda de 470 nm, com luz ultravioleta, algumas das amostras demonstraram apresentar fluorescência, nomeadamente o algodão após a aplicação do *Nile Red* e o *rayon* perante ambos os corantes. Contrariamente, quando examinadas no microscópio, a fluorescência apareceu associada a certas zonas do próprio filtro e não às fibras, como se havia conjecturado anteriormente. Concluiu-se assim que a aplicação do corante *Nile Red*, quando aplicado a fragmentos têxteis conseguiu provocar fluorescência, como anteriormente tinha sido observado por Prata *et al.* (2019). Contudo, quando aplicado a fibras em formato individualizado, não conseguiu provocar o mesmo efeito [98]. Deste modo, eliminou-se a hipótese de aplicação de corantes às amostras de material particulado recolhido na atmosfera, com o intuito de se detetarem fibras sintéticas, uma vez que estas não apresentam fluorescência em formato individual.

Na figura 12 exibem-se algumas das fotografias retiradas às amostras, tanto a olho “nu”, como com o microscópio, sendo evidente as zonas de fluorescência existentes em determinadas amostras. As fotografias, captadas inicialmente a “olho nu”, apresentavam-se de difícil identificação, devido à tonalidade muito escura, tendo sido necessário a utilização de um programa de edição fotográfica (Fotor), com o intuito de clarear as imagens.



Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.



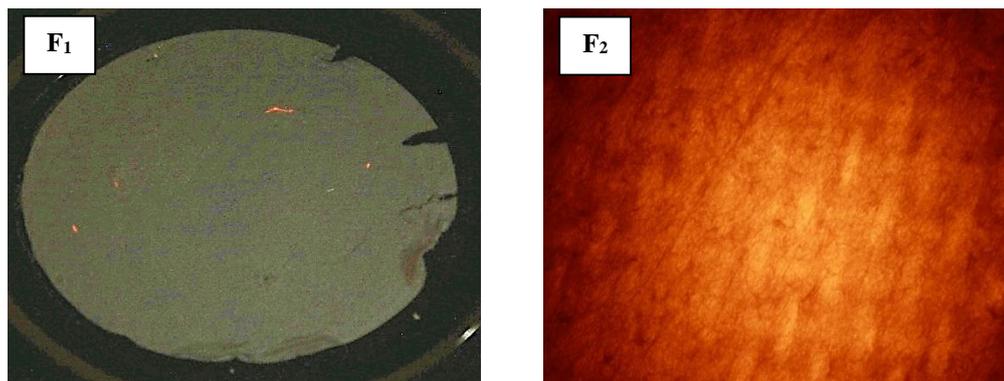


Figura 12- Aplicação de *Nile Red* (NR) e *Rose Bengal* (RB) em fibras têxteis, sendo que em ₁ são vistas a “olho nu” e ₂ com o microscópio : [A] Algodão com NR; [B] Poliéster com NR; [C] Rayon com NR; [D] Algodão com RB; [E] Poliéster com RB; [F] Rayon com RB.

Aliado a este resultado, os testes de digestão química empregues anteriormente com o objetivo de degradar as fibras naturais também não permitiram alcançar resultados satisfatórios, o que significa que a aplicação do corante *Nile Red*, sob um comprimento de onda de 470 nm acabaria por resultar na fluorescência de todas as fibras têxteis, não sendo viável a sua utilização na identificação de fibras sintéticas.

4.4. Proposta de nova metodologia para a identificação visual de fibras

Como referido no capítulo 3, foi criada uma chave de identificação visual de fibras têxteis, simples e intuitiva. Esta foi elaborada a partir da compilação das características registadas aquando da análise observacional das fibras têxteis em estudo em conjunto com informações presentes na literatura.

Iniciando esta caracterização pelas fibras naturais, a análise destas permitiu concluir que tendem a apresentar uma estrutura idêntica a um “fio de cabelo”, exibindo normalmente uma superfície externa rugosa e irregular. Por sua vez, as fibras sintéticas observadas evidenciaram uma fisionomia mais uniforme, lisa, com um menor número de irregularidades. A luminosidade foi outra das propriedades observadas, tendo a sua presença sido mais proeminente em fibras sintéticas do que nas naturais.

O algodão, fibra de origem vegetal, é considerada como sendo de fácil identificação. Na literatura o seu aspeto é descrito como sendo idêntico ao de uma fita torcida, sendo esta constituída por inúmeras fitas regulares e irregulares, que mudam de direção consoante a torção, apresentando deste modo uma estrutura análoga a um tubo em espiral [110]. A observação deste tipo de fibra permitiu verificar a rugosidade constante ao longo da sua superfície, tendo sido evidente a presença de pequenos sulcos, que se estendiam ao longo de todo o comprimento da mesma.

De acordo com a literatura, a superfície externa da lã é normalmente rugosa, sendo composta por um conjunto de estruturas protuberantes, semelhantes a “escamas”. Por sua vez, as extremidades são irregulares e desniveladas, devido à sobreposição de diversas camadas superficiais [110]. Quando a fibra de lã foi observada ao microscópio, apesar do aspeto cilíndrico apresentado, a sua superfície era ligeiramente nivelada e regular, ao contrário do esperado.

Do conjunto de fibras naturais de origem vegetal analisadas, fez também parte o linho, uma fibra com elevada resistência, cuja aparência mostrou ser lisa e nivelada, sem a presença de estrias longitudinais. O aspeto desta fibra é idêntico a uma cana, devido à presença de linhas transversais designadas nodos, que se estendem ao longo de todo o comprimento da fibra, característica que a diferencia das demais [111].

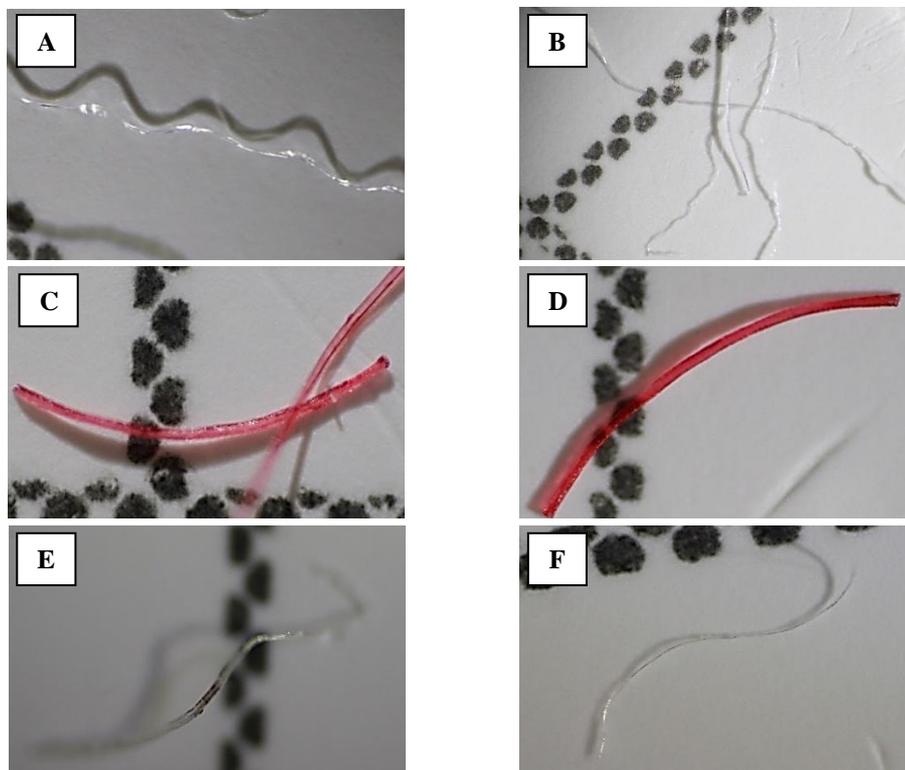
No que diz respeito às fibras sintéticas, o *nylon*, inserido no grupo das poliamidas, exibiu um formato semelhante ao de uma vareta e uma cor translúcida. A aparência brilhante e luminosa foi fortemente visível. O comprimento desta é considerado equivalente ao da fibra de algodão e de lã, sendo que a sua superfície é uniforme, regular e contém marcas escuras ao longo de todo o seu comprimento [112].

O poliéster, por sua vez, apresentou o mesmo formato de vara análoga ao *nylon*, assim como o mesmo tipo de superfície, uniforme, lisa brilhante e de aspeto translúcido, cujo diâmetro aparentou ser uniforme. Relativamente ao comprimento, este é considerado equiparável ao das fibras de lã e algodão [112].

No que concerne às fibras semi-sintéticas, o *rayon* e a viscose apresentaram ambos uma aparência lisa e arredondada, semelhante ao formato de uma vara, com numerosas estrias longitudinais paralelas ao longo de todo o comprimento das fibras analisadas. Foi verificada ainda uma intensa luminosidade e um diâmetro uniforme.

Por último, a fibra constituída por poliéster e algodão, incluiu obviamente uma mistura das características já mencionadas anteriormente alusivas a estes dois tipos de fibras.

De seguida, mostram-se algumas das fotografias obtidas neste estudo, relativas a cada uma das fibras têxteis em análise.



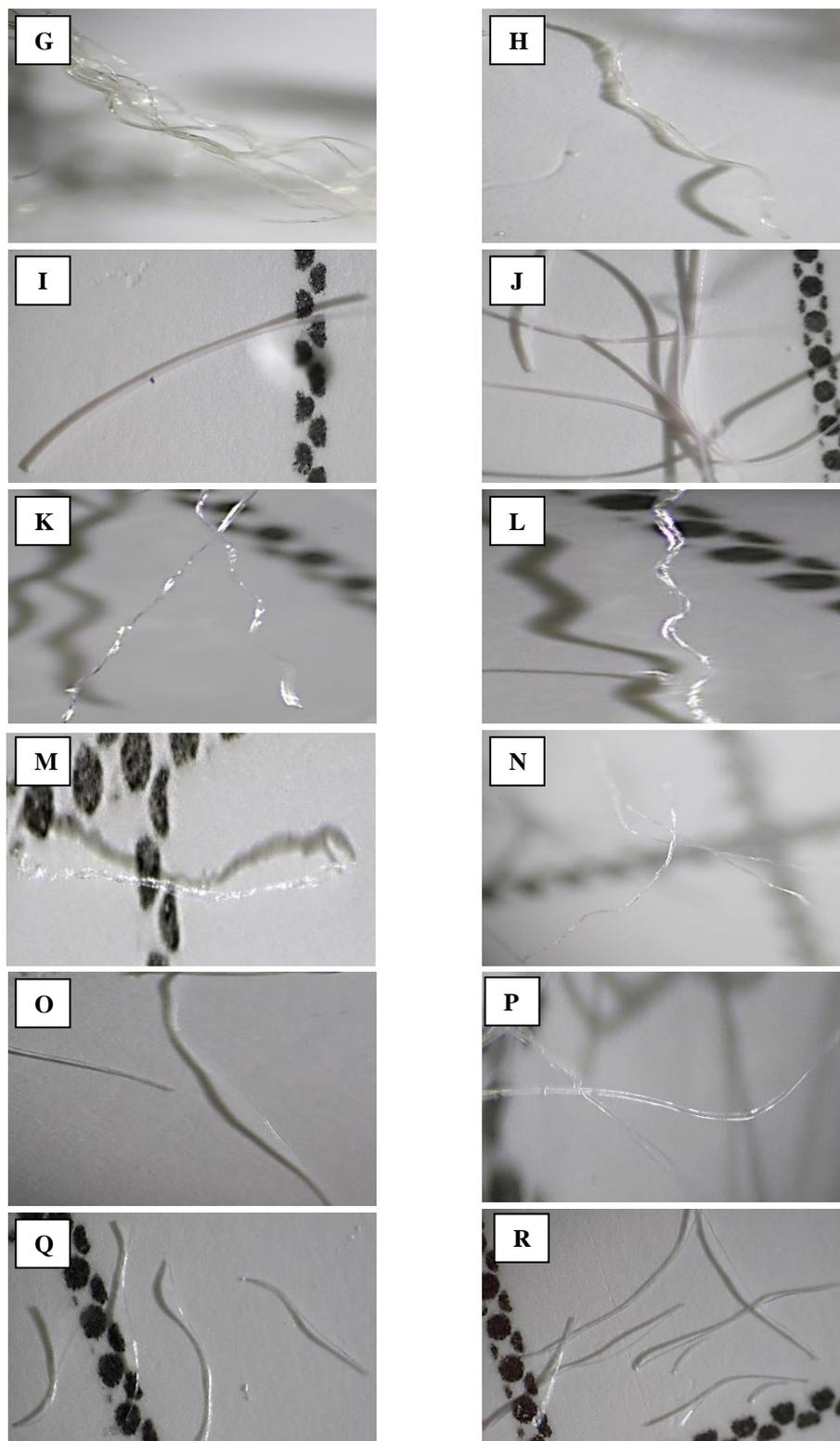


Figura 13- Secções longitudinais das fibras de [A]-[B]Algodão; [C]-[D] Lã; [E]-[F]Linho; [G]-[H] *Nylon*; [I]-[J] Poliamida [K]-[L] Poliéster [M]-[N] Poliéster+Algodão [O]-[P] *Rayon* [Q]-[R] Viscose.

Na tabela seguinte apresenta-se uma síntese das características mais relevantes de cada um dos tipos de fibra analisados neste estudo. É de salientar a complexidade acrescida decorrente da tentativa de distinção das fibras sintéticas e semi-sintéticas entre si, pois as características apresentadas pelas mesmas são muito semelhantes.

Tabela 7- Quadro-síntese com as principais características longitudinais de cada tipo de fibra analisada.

Fibras	Características
<i>Algodão</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aspeto de “fita torcida”; ✓ Superfície rugosa; ✓ Extremidades irregulares/pontiagudas.
<i>Lã</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aspeto cilíndrico; ✓ Superfície rugosa; ✓ Sobreposição de diversas camadas superficiais, “escamas”; ✓ Extremidades irregulares/desniveladas.
<i>Linho</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aspeto de “cana”; ✓ Aparência lisa/nivelada; ✓ Presença de linhas transversais; ✓ Extremidades pontiagudas.
<i>Nylon/Poliamida/Poliéster</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Formato “vareta”; ✓ Superfície uniforme/regular; ✓ Presença de manchas escuras; ✓ Cor translúcida; ✓ Aparência luminosa.
<i>Rayon/viscose</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aparência lisa/ arredondada; ✓ Formato “vara” ✓ Presença estrias longitudinais paralelas; ✓ Diâmetro uniforme; ✓ Intenso brilho.

Na figura 14 encontra-se representado um fluxograma que permite a identificação visual das fibras de uma maneira mais eficiente e simplificada. A aplicação deste em amostras de fibras provenientes do ar atmosférico seria ótima, contudo, a sua aplicabilidade na íntegra seria uma tarefa complicada de executar, devido ao fato de estar em causa um conjunto de fibras cujas características são muito semelhantes entre si, o que pode levar à má interpretação das mesmas.

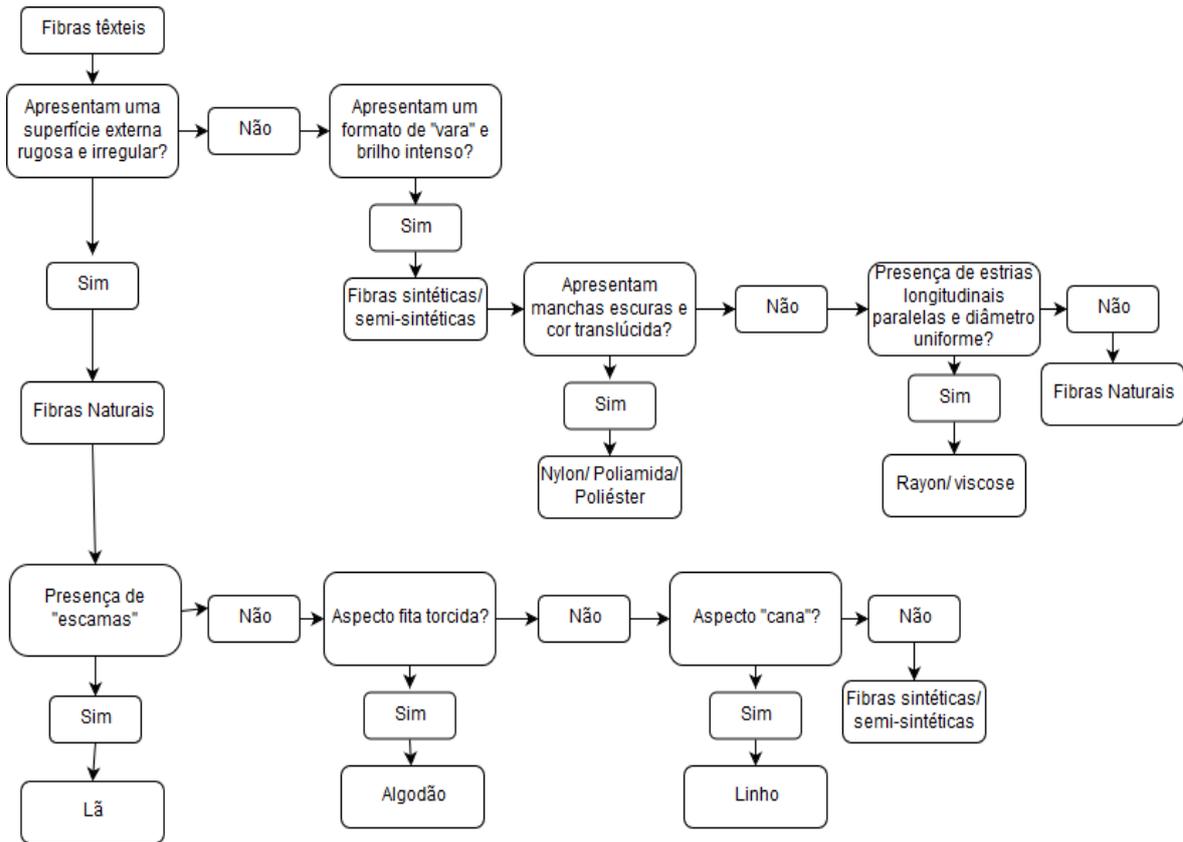


Figura 14- Fluxograma das principais características longitudinais de diferentes tipos de fibras têxteis.

4.5.Determinação de microplásticos e microfibras em amostras reais de PM₁₀

A observação visual de partículas plásticas, feita de um modo direto e com o auxílio de algum tipo de equipamento, é um método comumente utilizado na identificação e subsequente quantificação das mesmas. Contudo, como referido anteriormente, este método apresenta uma série de desvantagens, nomeadamente, pela sua subjetividade, pois os resultados podem variar consoante o operador em questão, e pelo facto de se tratar de um processo exaustivo e demorado. Aliado a estes problemas globais, o facto de neste estudo estarem a ser avaliadas amostras coletadas no compartimento atmosférico, que conseguem apenas ser observadas e analisadas por microscopia, devido às dimensões muito reduzidas das partículas em suspensão na atmosfera, torna este processo ainda mais complexo e difícil de executar. Ao longo deste estudo, foram feitas tentativas de eliminação de material sintético. Contudo, os resultados provenientes destas experiências não foram suficientemente satisfatórios para permitirem a posterior aplicação dos mesmos, tornando unicamente exequível a tentativa de distinção entre o material sintético e não sintético presente em cada uma das amostras.

Todas as amostras de matéria particulada recolhidas foram analisadas e posteriormente quantificadas em termos de conteúdo em fragmentos plásticos e fibras, sob um microscópio com uma ampliação de 10x. Cada uma das amostras foi previamente subdividida em quatro parcelas, de modo a simplificar o processo de identificação subsequente. Essa análise envolveu a observação de certas características, tais como a cor, a luminosidade e o formato apresentados pelos elementos encontrados, por forma a classificar as fibras, em sintéticas ou naturais, com base no método de identificação elaborado previamente.

Foram tiradas algumas fotografias ao longo do processo de contabilização das fibras e fragmentos, apresentando-se as que se consideram mais representativas no anexo III.

É importante referir que, sendo a análise quantitativa destas amostras um processo bastante moroso, caracterizado por elevados períodos de exposição ao ar ambiente, o risco de contaminação inerente a cada uma das amostras aumenta consideravelmente.

De seguida, apresenta-se uma tabela resumo relativa à contagem das fibras antes e após a aplicação combinada de dois métodos distintos a cada uma das parcelas referentes ao meio

interior, exterior e ao branco: um protocolo de digestão da matéria orgânica, e outro de separação dos microplásticos através do fator densidade.

Tabela 8- Contagem de fibras e fragmentos antes^[1] e após^[2] a aplicação de dois protocolos, um de digestão da matéria orgânica e outro de separação de microplásticos através da densidade.

<i>Meio</i>	<i>Parcela</i>	Contagem ^[1]			Contagem ^[2]		
		<i>FS*</i>	<i>FN**</i>	<i>F***</i>	<i>FS*</i>	<i>FN**</i>	<i>F***</i>
<i>Exterior</i>	1	7	0	0	-	-	-
	2	3	2	4	9	0	8
	3	2	2	1	6	0	8
	4	4	0	0	10	1	5
	Média ($\pm\sigma$)	4(\pm2)	1(\pm1)	1(\pm2)	8(\pm2)	0(\pm1)	7(\pm2)
<i>Interior</i>	1	11	2	1	-	-	-
	2	6	4	0	5	0	1
	3	4	3	0	4	0	8
	4	3	3	0	6	0	3
	Média ($\pm\sigma$)	6(\pm4)	3(\pm1)	0(\pm1)	5(\pm1)	0(\pm0)	4(\pm4)
<i>Branco</i>	1	4	1	0	-	-	-
	2	2	0	0	6	0	5
	3	2	0	0	5	0	4
	4	2	1	0	4	0	4
	Média ($\pm\sigma$)	3(\pm1)	1(\pm1)	0(\pm0)	5(\pm1)	0(\pm0)	4(\pm1)

*FS-Fibras sintéticas; **FN-Fibras naturais; ***F-Fragmentos.

A primeira contagem permitiu inferir que a generalidade de fibras encontradas tinha carácter sintético, segundo a chave de identificação criada precedentemente. Cerca de 80% das fibras totais encontradas em meio exterior foi catalogada como sendo sintética, enquanto que no meio interior esse contributo limitou-se a 67% do total.

No que concerne às cores observadas durante a análise das amostras, observou-se apenas uma ligeira variação entre as cores ostentadas pelas fibras e pelos fragmentos plásticos visualizados. As fibras encontradas apresentavam maioritariamente cor vermelha, azul, incolor ou um aspeto “esbranquiçado”. Contrariamente, os fragmentos, estimados como sendo microplásticos, encontraram-se na sua maioria restringidos à cor amarela, azul e castanha. Na figura 15 é possível observar alguns exemplos das fibras mais vulgarmente encontradas e que foram contabilizadas como sendo sintéticas.



Figura 15- Fotografias obtidas por microscopia ótica, com uma lente de ampliação 10x.

Relativamente às características estruturais mais proeminentes encontradas nesta análise, enumeram-se o formato regular, o aspeto “tubo”, a superfície nivelada e o diâmetro uniforme, associadas normalmente à presença de fibras sintéticas, como pode ser observado na figura 16.



Figura 16- Fotografia obtida por microscopia ótica, com uma lente de ampliação 10x a uma fibra sintética.

As fibras naturais estavam presentes em menor número, apresentando geralmente uma superfície mais irregular e torcida. É importante mencionar que, durante uma primeira inspeção às amostras coletadas, pressupôs-se a visualização de algumas fibras, as quais após uma segunda avaliação mais atenta, foram rejeitadas. Considerou-se que estas seriam parte integrante de fibras com origem no próprio filtro, ou seja, não provenientes do compartimento atmosférico.

Relativamente à segunda quantificação realizada, os resultados obtidos revelaram que a totalidade de fibras encontradas possuía praticamente carácter exclusivamente sintético, cerca de 100% em ambiente interior e 96% em ambiente exterior. As tonalidades de coloração variaram entre preto, vermelho, azul e transparente. Em relação ao formato e aspeto, a maioria mostrou-se uniforme e regular. É de mencionar que ocorreu a descoloração

de algumas fibras outrora coloridas, devido, possivelmente, às soluções utilizadas durante a execução dos últimos dois métodos.

Ao contrário do esperado, a amostra de branco indicou a presença de níveis elevados de fibras e fragmentos, o que pode revelar a existência de fontes de contaminação externas. Esta contaminação poderia ter sido estimada durante o processo de contagem, através da exposição de filtros brancos às mesmas condições atmosféricas de trabalho. Outra das hipóteses cinge-se à repartição dos filtros em quatro parcelas, que pode ter estado na origem da libertação de fibras do próprio filtro de quartzo, contaminado desta maneira a amostra.

Apresentam-se na tabela 9 as concentrações de fibras naturais, de fibras sintéticas e de fragmentos microplásticos encontrados na sequência das duas análises quantitativas. Estes valores foram calculados através do quociente entre a quantidade de fibras totais encontradas em cada um dos meios em análise e o respetivo volume de ar amostrado, valores presentes na tabela 5 deste capítulo. Os dados referentes à primeira parcela do meio interior e exterior não foram contabilizados para efeitos de concentração, uma vez que, na segunda contagem efetuada estas parcelas haviam sido remetidas para análise SEM.

Tabela 9- Concentrações de fibras naturais, sintéticas e de fragmentos microplásticos presentes em meio exterior e interior antes ^(1º) e após ^(2º) a aplicação do protocolo de digestão orgânica e de separação de microplásticos por densidade.

Concentração [m ³]	Exterior		Interior	
	1º	2º	1º	2º
<i>Fibras Naturais</i>	0,56	0,14	1,39	0,00
<i>Fibras Sintéticas</i>	1,27	3,52	1,81	2,09
<i>Microplásticos</i>	0,70	2,95	0,00	1,67

Pela observação da tabela, é possível verificar a existência de concentrações mais elevadas de fibras em meio interior, na primeira contagem efetuada, resultado que vai ao encontro do esperado, uma vez que, à partida, é o meio que possui um maior número de fontes associadas à propagação de elementos com origem plástica. Contrariamente, após a aplicação dos procedimentos de digestão e separação dos microplásticos, a concentração de fibras em meio exterior, tanto naturais como sintéticas, aumentou significativamente em

relação ao meio interior. A presença de fragmentos microplásticos também se revelou superior em meio exterior em ambas as contagens efetuadas.

Os resultados obtidos na segunda contagem evidenciaram ainda que a quantidade de fibras naturais foi muito inferior à quantificada na primeira contagem, sendo que, em meio interior, deixaram mesmo de ser detetadas. Este resultado pode estar relacionado com a degradação das fibras naturais após a aplicação do método de digestão oxidativo com a solução de H₂O₂ (15%). Para avaliar esta possibilidade, foi realizado um teste, em condições idênticas às usadas para as amostras, para que os efeitos de degradação pudessem ser estudados individualmente, quando aplicados às fibras. Contudo, de acordo com os resultados apresentados na figura 17 e na tabela 18 dos anexos, em termos de percentagem de perda de peso das amostras, é notável a irrelevância das percentagens de degradação alcançadas relativamente a todas as fibras analisadas.

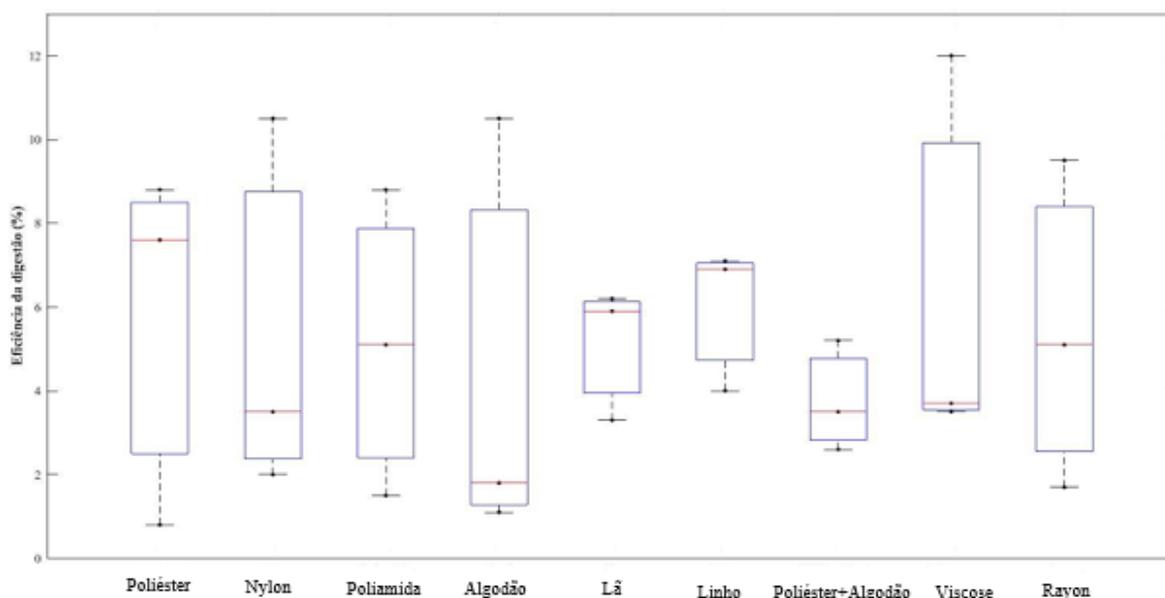


Figura 17- Eficiência da digestão (%) de fibras têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e *rayon*) expostas a uma solução de H₂O₂ (15%) à temperatura ambiente durante 8 dias.

É possível constatar que o valor de mediana permaneceu inferior a 8%, o que revela ser um método de aplicação adequado no que se refere à não destruição indesejada de fibras sintéticas, mas, ainda assim, não causou a eliminação de qualquer fibra natural, como seria desejável. No anexo II, figura 23, é possível ainda averiguar as alterações ocorridas segundo a composição química, quando se procedeu à análise por FTIR-ATR, e que apontou para a não ocorrência de alterações significativas.

Além do fator referido precedentemente, outra explicação provável podia estar relacionada com a própria densidade dos elementos. A densidade pode ser enumerada como um parâmetro que contribui positivamente para a separação de matéria plástica, que se encontra agregada a sedimentos, sendo vulgarmente utilizadas com esse intuito soluções salgadas saturadas, tais como, cloreto de sódio (NaCl), cloreto de zinco (ZnCl₂) e iodeto de sódio (NaI) [113]. Neste estudo, foi aplicada uma solução de NaI (1,6 g.cm⁻³), após o processo de digestão a todas as amostras, de modo a que a matéria plástica, cujos valores de densidade fossem inferiores aos da solução, conseguisse ficar em suspensão na amostra, submetendo-se então o sobrenadante ao processo de filtração. Na tabela 10 encontra-se uma lista com alguns tipos de polímeros, fibras naturais, sintéticas e semi-sintéticas mais comuns e a respetiva densidade.

Tabela 10- Valores de densidade associados a um conjunto de polímeros, fibras naturais, sintéticas e semi-sintéticas.

		Densidade (g/cm ³)
Polímeros	Polietileno Tereftalato (PET)	1,34-1,39
	Polietileno de Alta Densidade (PEAD)	0,94-0,97
	Polietileno de Baixa Densidade (PEBD)	0,91-0,93
	Policloreto de vinilo (PVC)	1,38
	Polipropileno (PP)	0,85-0,94
	Poliestireno (PS)	0,96-1,05
	Policarbonatos	1,20
Fibras naturais	Linho	1,5
	Algodão	1,5-1,6
	Seda	1,3
	Lã	1,3
Fibras sintéticas/semi-sintéticas	Viscose	1,49
	Poliéster	1,39
	Poliamida	1,12-1,14

Fonte: elaborado com base em Branciforti *et al.* (2009) e, Lambert *et al.* (2018) [115,116].

A inexistência de fibras naturais nas amostras pode ser explicada com base neste motivo, uma vez que a densidade das fibras naturais pode ser superior à densidade da solução utilizada, provocando a conseqüente sedimentação das mesmas. De acordo com os dados apresentados na tabela anterior, é possível confirmar que a densidade de algumas das fibras naturais mais vulgarmente encontradas se encontra muito próxima de 1,6 g.cm⁻³, o que pode ter levado à sedimentação das mesmas na solução, caso estivessem presentes.

Além dos microplásticos em suspensão, é possível que uma parte do restante material presente na amostra possa ter ficado de igual modo em suspensão na solução final, ocorrência que poderia ser evitada caso a densidade da solução utilizada fosse menor. Porém, caso essa diminuição fosse imposta, a quantidade de material plástico em suspensão acabaria inadvertidamente por ser menor, devido ao risco de que alguns microplásticos mais densos acabarem igualmente por sedimentar.

Relativamente à última etapa deste procedimento, que consistiu na aplicação do corante *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$) às amostras do ar exterior, interior e ao branco, a contagem das partículas e dos fragmentos encontrados foi efetuada inicialmente de forma manual e posteriormente mediante a utilização do programa MP-VAT. Esta análise, como já mencionado previamente, foi executada sob um feixe de radiação UV (470 nm), com o auxílio de um filtro laranja, de modo a que a fluorescência, quando presente, pudesse ser visivelmente detetada, caracterizando-se por exibir uma tonalidade amarelada-avermelhada.

De seguida é possível observar algumas das fotografias tiradas com a câmara fotográfica (Canon, 550D EFS18-55), de acordo com o ambiente e a parcela em análise, sendo que as restantes se apresentam no anexo IV.

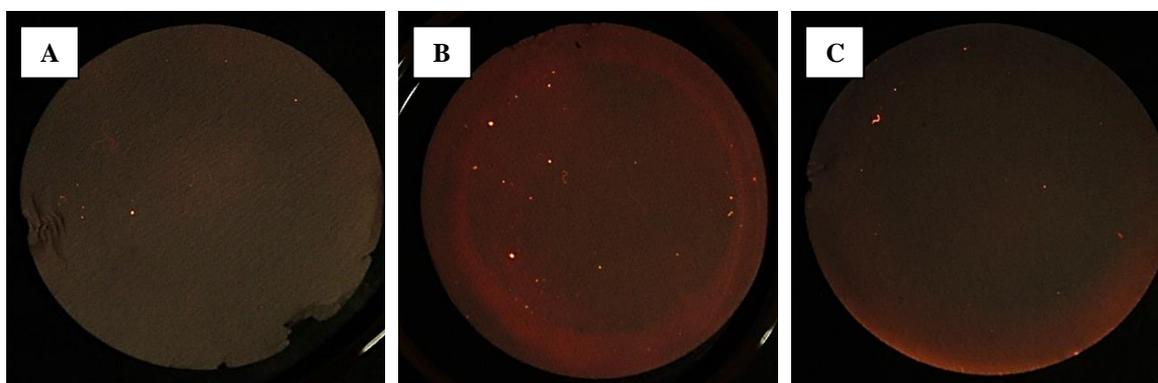


Figura 18- Amostras com Nile Red ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 3; [B] Interior, parcela 3; [C] Branco, parcela 2.

O programa MP-VAT encontra-se apto a fazer a diferenciação entre partículas e fragmentos encontrados, de acordo com o formato do elemento, sendo que as partículas se caracterizam por apresentar um aspeto mais circular, em oposição aos fragmentos, que são mais assimétricos [98]. Porém, manualmente essa tarefa torna-se mais complexa, não tendo sido exequível realizar essa distinção durante o processo de contabilização, sendo que os

resultados finais restringem-se à soma destes dois componentes, como é possível observar na tabela 11.

Tabela 11- Contagem manual e através do programa MP-VAT, de fragmentos e partículas após a aplicação do corante *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (470 nm).

Meio	Parcela	Contagem manual	Contagem com MP-VAT
<i>Exterior</i>	2	15	5
	3	12	7
	4	11	9
	Média ($\pm\sigma$)	12 (± 2)	7 (± 2)
<i>Interior</i>	2	1	3
	3	25	17
	4	6	7
	Média ($\pm\sigma$)	11 (± 13)	9 (± 7)
<i>Branco</i>	2	11	11
	3	9	12
	4	8	4
	Média ($\pm\sigma$)	9 (± 2)	9 (± 4)

A utilização de corantes neste tipo de estudos, apesar de ser considerada um método economicamente viável, facilitando a identificação visual, possui também algumas limitações. Entre estas, destaca-se a possibilidade dos corantes serem adsorvidos facilmente por polímeros e fibras plásticas, mas também por material biológico, pelo que é necessária a aplicação prévia de um método de digestão [116]. Deste modo, os resultados obtidos pela análise anterior não podem ser catalogados exclusivamente como pertencendo à parte sintética da amostra, tendo em conta que podem estar também a contabilizar matéria orgânica não degradada previamente com a solução de H_2O_2 .

Além disso, os resultados adquiridos permitem inferir que a contagem manual viabilizou a quantificação total de um número de elementos superior em relação ao programa, o que não seria de esperar, uma vez que, à partida, o MP-VAT consegue identificar objetos de dimensões até $60 \mu\text{m}$, aproximadamente, enquanto que o olho humano apenas deteta dimensões mais elevadas, até aos $100 \mu\text{m}$. A obtenção de tais resultados pode dever-se ao fato do programa ainda se encontrar numa fase preliminar de otimização, não possibilitando a deteção de partículas e fragmentos cuja intensidade de fluorescência seja muito ténue.

Avaliando os valores obtidos em relação ao meio em que estão inseridos, é relevante referir que o MP-VAT contabilizou o mesmo número de elementos na amostra de branco e

na de ar interior, acontecimento não expectável, o que evidencia um nível de contaminação considerável. O ambiente exterior apresenta dados similares aos restantes ambientes em análise, contudo, quando a análise é efetuada manualmente, é o meio que apresenta valores mais elevados.

Além da análise das amostras sob um comprimento de onda de 470 nm, foi ainda realizada a observação das mesmas a 254 nm. A observação sob este comprimento de onda, possibilita uma identificação mais correta de microplásticos, na medida em que não provoca a fluorescência de matéria orgânica. Está comprovada a observação de diversos polímeros sob este comprimento de onda, tais como o PEBD, PET, PP e PSE (poliestireno expandido). Contudo, certos polímeros como o PEAD, PS, PCV e o PE degradado estão associados a uma coloração de intensidade fraca ou mesmo nula [116]. Podem também ser identificadas fibras ou fragmentos de cor branca-azulada, que apresentam esta tonalidade devido ao corante do próprio tecido, que em contacto com radiação UV, neste comprimento de onda, apresenta fluorescência [116]. Estas fibras ou fragmentos podem desta forma ser material plástico, ou não. Além disso, estes elementos podem provir de fontes de contaminação externas. Na figura 19 encontram-se algumas fotografias exemplo desta análise, sendo possível observar a presença de material de tonalidade branca, azul e vermelha, respetivamente. No anexo IV, encontram-se as restantes fotografias tiradas, alusivas às restantes parcelas examinadas.

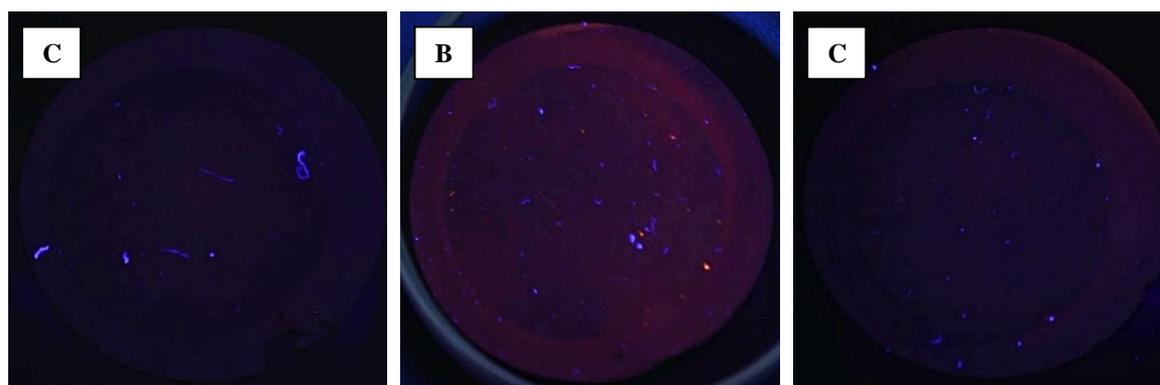


Figura 19- Amostras com *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$), sob radiação UV (254 nm): [A] Exterior, parcela 3; [B] Interior, parcela 2; [C] Branco, parcela 3.

Na tabela 12 encontram-se os valores obtidos a partir da contabilização manual das partículas e fragmentos de tonalidade unicamente vermelha, uma vez que os restantes elementos, presentes em grandes quantidades, eram de difícil determinação.

Tabela 12- Contagem manual de fragmentos e partículas após a aplicação do corante *Nile Red* (0,01 mg.ml⁻¹) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (254 nm).

Meio	Parcela	Contagem manual
<i>Exterior</i>	2	5
	3	6
	4	2
	Média ($\pm\sigma$)	4 (± 2)
<i>Interior</i>	2	0
	3	17
	4	6
	Média ($\pm\sigma$)	8 (± 9)
<i>Branco</i>	2	2
	3	3
	4	0
	Média ($\pm\sigma$)	2 (± 1)

Os resultados desta análise diferiram ligeiramente da análise anterior, sob um comprimento de onda diferente, na medida em que se quantificou um número inferior de elementos em cada um dos meios.

Apesar do programa MP-VAT reconhecer exclusivamente a presença de fragmentos e/ou partículas plásticas em amostras, também foram observadas, e consequentemente quantificadas manualmente algumas fibras que se encontravam igualmente presentes nas amostras em análise, como é possível averiguar na tabela 13.

Tabela 13- Contagem manual de fibras após a aplicação do corante *Nile Red* (0,01 mg.ml⁻¹) às amostras do ar exterior, interior e branco, sob radiação UV (470 e 254 nm).

		Comprimento de onda (nm)	
Meio	Parcela	470	254
<i>Exterior</i>	2	1	0
	3	1	1
	4	0	0
	Média ($\pm\sigma$)	1(\pm1)	0(\pm1)
<i>Interior</i>	2	0	0
	3	1	0
	4	3	3
	Média ($\pm\sigma$)	1(\pm2)	1(\pm2)
<i>Branco</i>	2	1	1
	3	0	1
	4	0	0
	Média ($\pm\sigma$)	0(\pm1)	1(\pm1)

A maior parte das fibras observadas sob os dois comprimentos de onda em análise, encontravam-se presentes em meio interior, sendo possível verificar que a amostra de branco possui uma porção de fibras idêntica aos restantes meios, evidenciando uma vez mais os elevados níveis de contaminação associados.

Com o intuito de se averiguar a ocorrência de possíveis situações de contaminação no decorrer dos dois últimos protocolos realizados, foram executados três testes adicionais. Os valores resultantes destes testes encontram-se devidamente expostos na tabela 14, em termos quantitativos, de fragmentos, partículas e fibras encontradas.

Tabela 14- Teor de fragmentos, partículas e fibras encontradas nos três testes de identificação de possíveis contaminações.

Teste	Fragmentos e partículas	Fibras
<i>Filtro limpo</i>	0	0
<i>Filtro com H₂O₂(15%)</i>	1	3
<i>Filtro com NaI (1,6g/cm³)</i>	1	7

O nível de contaminação presente no filtro de fibra de vidro limpo utilizado foi nulo, enquanto que no filtro sujeito à adição da solução de H₂O₂(15%) foi relativamente baixo, com a presença de apenas um fragmento e de três fibras, ambas consideradas sintéticas,

devido à sua aparência nivelada e regular. Por último, o teste com NaI revelou a presença de um número de elementos contaminantes superior, um fragmento e sete fibras, também sintéticas. As cores apresentadas por estes elementos variaram entre azul, transparente e maioritariamente preto.

Para que estas contaminações pudessem ser evitadas, seria necessário proceder à filtração prévia de todas as soluções utilizadas no decorrer do processo garantindo-se assim que estas se encontrassem “limpas” de impurezas.

Como mencionado previamente, uma parcela de cada uma das três amostras em estudo foi remetida para análise por *scanning electron microscopy* (SEM), com a intenção de obter imagens de alta resolução que permitissem fornecer informações mais detalhadas sobre as características superficiais dos elementos encontrados. Esta análise pode ser decisiva no processo de identificação de uma partícula ou fibra, isto é, se esta acaba por ser considerada matéria plástica ou não.

O uso combinado da microscopia ótica com a técnica analítica *scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy* (SEM/EDX), possibilita a identificação de um número superior de fragmentos de material plástico que esteja presente em amostras, diminuindo o potencial de erro associado a uma interpretação incorreta dos dados. Esta última análise permite restringir ainda mais a grandeza da amostra selecionada como sendo matéria plástica, para posterior observação em equipamentos tais como o FTIR ou o Raman, técnicas que proporcionam a identificação definitiva [117].

Algumas das fotografias obtidas por meio desta análise encontram-se na figura 20.

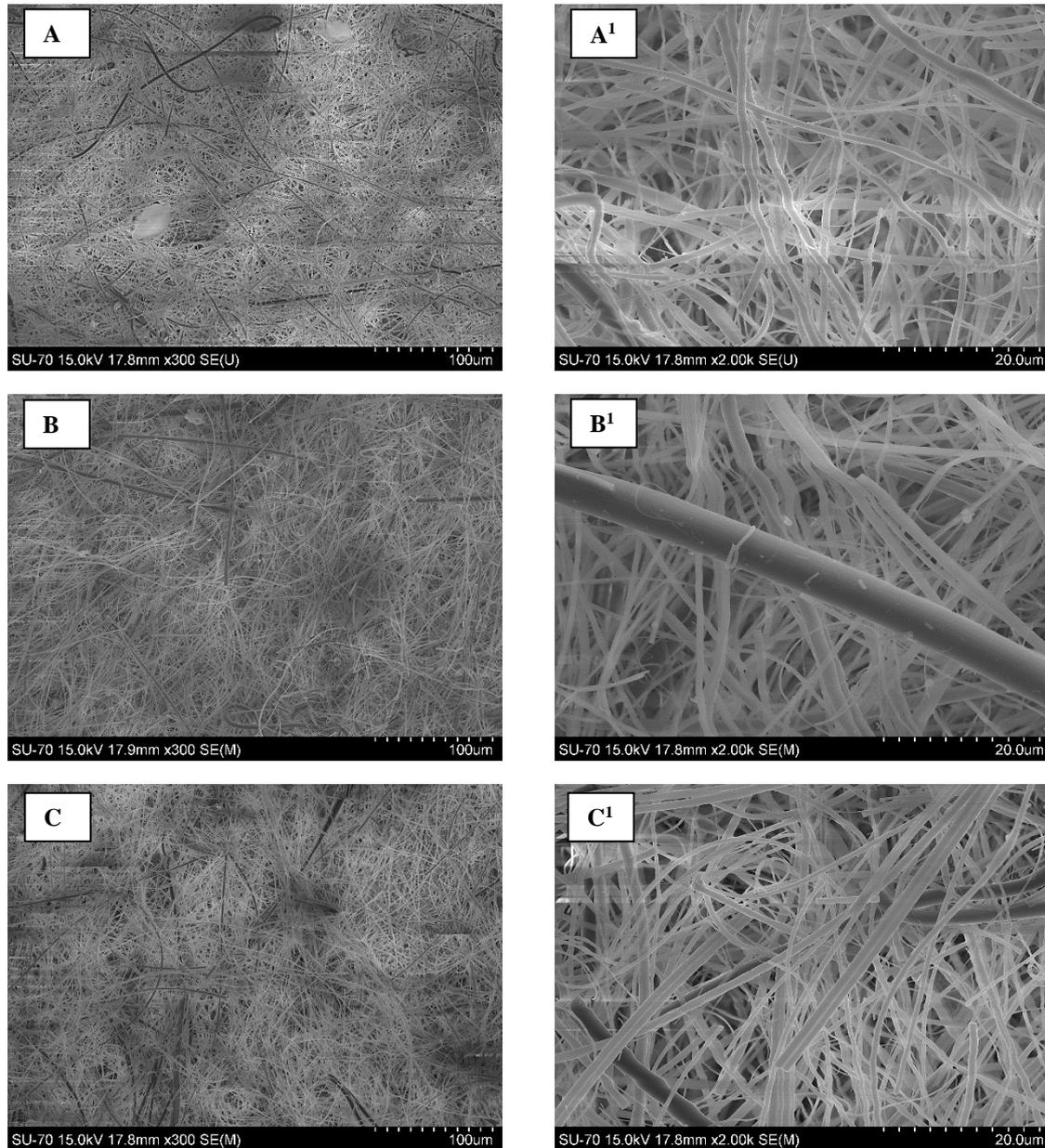


Figura 20- Imagens da amostra: [A-A₁] ar interior, [B-B₁] ar exterior e [C-C₁] branco obtidas por intermédio da técnica analítica SEM. ^[1] Ampliação superior (20 µm).

É possível verificar nas imagens dispostas do lado esquerdo, relativas a cada um dos meios em análise e ao branco, cuja resolução é inferior às apresentadas do lado direito, a presença de algumas fibras, particularmente na amostra de branco. O conteúdo observado na imagem A₁ é relativo às próprias fibras constituintes do filtro utilizado. Pelo contrário, na imagem B₁ é facilmente perceptível a existência de uma fibra com origem distinta das restantes fibras provenientes do filtro em uso, possivelmente sintética, devido à superfície nivelada, sem rugosidades e ao formato regular e em “tubo”.

É visível em quase todas as fotografias, principalmente nas de maior ampliação, a presença de elementos “esbranquiçados”, presumivelmente constituintes diversos da matéria particulada.

Esta análise não foi muito conclusiva, devido à ausência dos dados referentes à composição química elementar obtidos por *energy dispersive X-ray spectroscopy* (EDX), os quais poderiam acabar por revelar mais informações acerca da origem precisa das fibras encontradas.

Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.

5. Conclusões

A presente dissertação teve como objetivo quantificar a porção de microplásticos presentes na matéria particulada em suspensão na atmosfera (PM₁₀), a partir de amostras recolhidas simultaneamente em ambiente interior e exterior de uma residência. Como são muito escassos os estudos neste âmbito, considera-se que o presente trabalho serve como referência à realização de estudos de monitorização futuros que abordem o mesmo vetor de poluição aqui em análise.

Vários métodos analíticos foram testados com o intuito de facilitar o processo de deteção e quantificação de microplásticos. Numa fase preliminar, recorreu-se a um microscópio ótico com o objetivo de efetuar uma primeira análise observacional às amostras recolhidas, procedimento que revelou diversas limitações. Em primeiro lugar, salienta-se o facto de ser uma técnica fatigante e que implica um longo período de tempo para a executar, o que acaba por condicionar o número de amostras a analisar. Acresce que se trata de um procedimento subjetivo, em que os resultados finais podem variar consoante o operador em questão. Foram ainda identificadas inúmeras partículas de tonalidade escura nas amostras, presumivelmente matéria orgânica não plástica constituinte da própria matéria particulada, que não puderam ser contabilizadas devido às dimensões muito reduzidas.

Com o intuito de eliminar o material não sintético presente nas amostras, procedeu-se à adaptação e aplicação de um conjunto de protocolos de digestão química, envolvendo a adição de soluções ácidas (HNO₃), oxidantes (H₂O₂+Fe), alcalinas (KOH) e enzimáticas (proteínase-K e celulase) a um grupo de fragmentos têxteis naturais (lã, linho, algodão), sintéticos (poliéster, *nylon*, poliamida) e semi-sintéticos (poliéster+algodão, viscose, *rayon*). De acordo com a perda de peso da amostra, o tratamento com H₂O₂ + Fe demonstrou ser o mais eficaz na degradação da fibra de linho (9,1%) e de algodão (4,8%) e, em oposição, o tratamento com KOH mostrou uma eficiência de digestão superior quando aplicado à lã (31,6%). Relativamente às fibras sintéticas, a aplicação de HNO₃ provocou uma ligeira degradação da poliamida (41,8%) e do *nylon* (25%), inviabilizando a sua aplicação em estudos deste género. Os filtros de quartzo, igualmente testados, revelaram resistência à aplicação de todos os protocolos.

Uma vez que os tratamentos químicos aplicados não suscitaram os efeitos pretendidos, foi elaborada uma chave que permitisse a identificação simplificada de um conjunto de fibras, as mesmas em análise durante o processo de digestão, com base nas características longitudinais inerentes às mesmas. Essa chave foi aplicada posteriormente às amostras de PM₁₀ recolhidas, possibilitando a distinção entre fibras sintéticas e naturais. Não foi possível fazer uma diferenciação mais aprofundada dentro de cada um destes grupos, como inicialmente pretendido, uma vez que a maior parte das fibras encontradas apresentava superfícies muito similares entre si.

Cada uma das amostras foi analisada quantitativamente, por intermédio de microscopia ótica, em termos de fibras e fragmentos existentes, antes e após a aplicação de um protocolo de digestão de matéria orgânica (H₂O₂;15%) em combinação com um método de separação de microplásticos por meio de densidade (NaI;1,6 g.cm⁻³). A primeira contagem realizada permitiu a observação de um elevado número de fibras, maioritariamente sintéticas em meio interior. As características mais comuns verificadas foram o aspeto regular e nivelado, e uma tonalidade vermelha, azul e incolor. Contudo, o branco apresentou grandes quantidades de fibras e de fragmentos, o que revelou, à partida, um elevado índice de contaminação laboratorial. Tal resultado pode ainda advir da possibilidade da existência de fibras provenientes do próprio filtro de quartzo, libertadas aquando da repartição das amostras em parcelas. A segunda contagem indicou um aumento do número de fibras sintéticas e fragmentos presentes e a ausência das fibras naturais. Este aumento pode estar associado à fragmentação de fibras de maiores dimensões em outras de tamanhos mais reduzidos, durante a aplicação dos protocolos. A eliminação de fibras naturais poderia estar relacionada com o processo de digestão empregue anteriormente, tendo sido realizado um teste adicional com peróxido de hidrogénio, sob condições idênticas ao mesmo conjunto de fibras em análise durante todo este estudo, de modo a que os efeitos de degradação fossem avaliados segundo a perda de peso da amostra. Os resultados obtidos foram similares para todas as fibras, sendo que o valor da mediana foi inferior a 8%. Excluída esta hipótese, ponderou-se a sedimentação das mesmas durante o processo de separação por densidade. Alguns valores presentes na literatura mostraram que fibras como a lã ou linho apresentavam densidades muito próximas, entre 1,5-1,6 g.cm⁻³ às da solução utilizada, tornando verossímil esta suposição.

A última etapa deste estudo consistiu na aplicação do corante *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$) a cada uma das amostras, de modo a que os fragmentos e partículas presentes, sob radiação UV (470 e 254 nm), pudessem ser detetados. Esta contagem foi feita inicialmente de forma manual e de seguida através do programa informático MP-VAT.

A observação das amostras sob um comprimento de onda de 470 nm possui algumas limitações, uma vez que o corante, além de ser adsorvido por matéria plástica também pode ser adsorvido por material biológico que esteja presente na amostra e que não tenha sido completamente degradado durante o processo de digestão. Deste modo, o material contabilizado pode não ter origem inteiramente sintética. Foram contabilizadas, em média, 12 partículas por parcela em meio exterior, 11 em interior e 9 no branco. Contrariamente, sob um comprimento de 254 nm, todo o material que apresente uma tonalidade amarelada-avermelhada pode ser considerado microplástico, apesar de poder ocorrer a não adsorção do corante por certos tipos de microplásticos que estejam igualmente presentes na amostra. A observação de elementos, fibras e fragmentos de tonalidade azul e branca sob este comprimento de onda não foi quantificada, devido à origem incerta das mesmas. Estas poderiam provir de contaminações exteriores, além de que esta coloração é característica da própria adição de corantes durante o processo de produção, e que sob esta radiação acaba por apresentar fluorescência. Os resultados obtidos permitiram contabilizar um valor médio inferior de fragmentos, 8 em meio interior, 4 no exterior e 2 no branco.

A contagem manual permitiu quantificar um número superior de elementos em comparação com o programa, o que pode estar relacionado com o facto de o MP-VAT estar ainda numa fase de otimização e não conseguir fazer a leitura com eficácia de fragmentos que apresentem uma fluorescência muito ténue.

Adicionalmente, foi realizada a contagem manual de fibras, tendo sido verificado em média uma fibra por parcela e por meio analisado. Todavia, de acordo com um teste preliminar feito durante este estudo, com a aplicação do corante *Nile Red* a diversas fibras em formato individualizado, verificou-se a não fluorescência destas. Desta maneira, as poucas fibras que apresentaram fluorescência neste último teste podem não ser realmente fibras, mas um outro material com formato similar.

Por fim, é essencial mencionar os testes realizados com o intuito de averiguar possíveis contaminações no decorrer dos últimos dois protocolos aplicados. Estes permitiram inferir que os filtros de vidro utilizados estariam em princípio livres de impurezas. Contrariamente,

o teste empregue com o peróxido de hidrogénio resultou na observação de algumas fibras contaminantes, presumivelmente de origem sintética, enquanto que o último teste efetuado com a solução de iodeto de sódio evidenciou igualmente a presença de material contaminado, mas desta vez em quantidades superiores. Em estudos futuros, tais soluções deveriam ser filtradas precedentemente ao seu uso, de modo a que contaminações com origem neste tipo de fontes pudessem ser evitadas.

Deveria ainda ter sido efetuado outro teste no decorrer da divisão em quatro parcelas de cada um dos filtros contendo as partículas amostradas e durante o processo de contagem. Este processo deveria ter sido acompanhado da presença de um filtro em branco, exposto ao ar laboratorial, por forma a estimar a concentração de fibras depositadas durante estes procedimentos.

Após este estudo estar concluído, torna-se pertinente sugerir sugestões a adotar em potenciais estudos futuros, que facultem um maior entendimento e exploração da temática em questão. Seria imprescindível desenvolver uma metodologia “standard” global que permitisse a identificação facilitada de microplásticos que se encontrassem inseridos na matéria particulada.

A realização desta investigação teve algumas dificuldades e limitações associadas, que como já referido anteriormente, se encontram maioritariamente relacionadas com a falta de conhecimento existente na área em questão.

6. Referências Bibliográficas

- [1] WHO, “What is air pollution?,” pp. 1-2, 2018.
- [2] WHO, “Air pollution,” 2019. [Online]. Available: <https://www.who.int/airpollution/en/>. [Accessed: 20-Feb-2019].
- [3] J. C. Prata, “Airborne microplastics: Consequences to human health?,” *Environmental Pollution*, vol. 234, no. February, Elsevier Ltd, pp. 115–126, 2018.
- [4] S. L. Wright and F. J. Kelly, “Plastic and Human Health: A Micro Issue?,” *Environmental Science & Technology*, vol. 51, no. 12, pp. 6634–6647, 2017.
- [5] A. Wiliamson, “The effects of microplastics on marine biota: Biomagnification on a global scale,” *Environmental Science BIOL* 2213, pp. 1–10, 2015.
- [6] L. G. A. Barboza, A. Dick Vethaak, B. R. B. O. Lavorante, A.-K. Lundebye, and L. Guilhermino, “Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 133, Elsevier, pp. 336–348, 2018.
- [7] L. C. de Sá, M. Oliveira, F. Ribeiro, T. L. Rocha, and M. N. Futter, “Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future?,” *Science of the Total Environment*, vol. 645, The Authors, pp. 1029–1039, 2018.
- [8] R. Dris, C. Mandin, J. Gasperi, and M. Guerrouache, “A first overview of textile fibers , including microplastics , in indoor and outdoor environments,” *Environmental Pollution*, vol. 221, pp. 453–458, 2017.
- [9] P. Sundt, P.-E. Schultze, and F. Syversen, “Sources of microplastic- pollution to the marine environment Project report,” 2014.
- [10] S. Dehghani, F. Moore, and R. Akhbarizadeh, “Microplastic pollution in deposited urban dust, Tehran metropolis, Iran,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 25, pp. 20360–20371, 2017.

- [11] J. R. Jambeck *et al.*, “Plastic waste inputs from land into the ocean,” *Science*, vol. 347, no. 6233, pp. 768–771, 2015.
- [12] R. Dris, J. Gasperi, M. Saad, C. Mirande, and B. Tassin, “Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment?,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 104, no. 1–2, pp. 290–293, 2016.
- [13] WHO, “Health effects of particulate matter,” pp. 1-15, 2013.
- [14] C. Alves, “Aerossóis Atmosféricos: Perspectiva Histórica, Fontes, Processos Químicos de Formação e Composição Orgânica,” *Quimica Nova Nova*, vol. 28, no. 5, pp. 859–870, 2005.
- [15] K. Adams, D. S. Greenbaum, R. Shaikh, A. van Erp, and A. G. Russell, “Particulate matter components, sources, and health: Systematic approaches to testing effects,” *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 65, no. 5, pp. 544–558, 2015.
- [16] F. S. Marin and T. P. Lourenço, “Desenvolvimento de equipamentos de baixo custo para a coleta de aerossóis com partículas de 2,5 μm de diâmetro aerodinâmico equivalente,” 2011.
- [17] W. Bloss, “Atmospheric particulate matter,” *R. Soc. Chem.*, vol. 10, no. 4, pp. 1–2, 2014.
- [18] EPA, “Particulate Matter Emissions,” pp. 1-9, 2011.
- [19] I. Araújo, D. Costa, and R. Moraes, “Identification and Characterization of Particulate Matter Concentrations at Construction Jobsites,” *Sustainability*, vol. 6, pp. 7666–7688, 2014.
- [20] EPA, “Integrated Science Assessment for Particulate Matter,” 2018.
- [21] K. Kim, E. Kabir, and S. Kabir, “A review on the human health impact of airborne particulate matter,” *Environment International*, vol. 74, Elsevier Ltd, pp. 136–143, 2015.
- [22] A. Mukherjee and M. Agrawal, “World air particulate matter : sources, distribution and health effects,” *Environ. Chem. Lett.*, vol. 15, no. 2, pp. 283–309, 2017.

- [23] L. Han, W. Zhou, and W. Li, “Increasing impact of urban fine particles (PM_{2,5}) on areas surrounding Chinese cities,” *Nature*, Nature Publishing Group, pp. 11–16, 2011.
- [24] EEA, “Particulate matter from natural sources and related under the EU Air Quality Directive in 2008 and 2009,” 2012.
- [25] S. Friedlander, “Chapter 10: Gas-to-Particle Conversion,” in *Smoke, Dust, and Haze: Fundamentals of Aerosol Dynamics*, 2000, pp. 275–305.
- [26] G. P. Brasseur, J. J. Orlando, and G. S. Tyndall, *Atmospheric Chemistry and Global Change*. Oxford University Press, Nova York, 1999.
- [27] Y. Zhang and W. Jiang, “Pollution characteristics and influencing factors of atmospheric particulate matter (PM_{2,5}) in Chang-Zhu-Tan area,” *Earth Environ. Sci.*, vol. 108, pp. 1–6, 2018.
- [28] J. Schwartz, “Particulate air pollution and chronic respiratory disease,” *Environmental Research*, vol. 62, no. 1, pp. 7–13, 1993.
- [29] A. Carteni, F. Campana, and S. Campana, “Underground and ground-level particulate matter concentrations in an Italian metro system,” *Atmospheric Environment*, vol. 101, pp. 328–337, 2015.
- [30] U. Poschl, “Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health effects,” *Atmos. Chem.*, vol. 44, pp. 7520–7540, 2005.
- [31] AQEG, “Particulate Matter in the United Kingdom,” pp. 1-28, 2005.
- [32] EPA, “Air quality in Europe-2016 report,” 2016.
- [33] “Diretiva 2008/50/CE do Parlamento e do Conselho de 21 de Maio de 2008,” *J. Of. da União Eur.*, vol. 44, 2008.
- [34] WHO, “WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide,” 2006.
- [35] I. Division, “Particulate Matter (PM_{2,5}): Implementation of the 1997 National

- Ambient Air Quality Standards (NAAQS),” 2007.
- [36] R. Esworthy, “The National Ambient Air Quality Standards (NAAQS) for Particulate Matter (PM): EPA ’ s 2006 Revisions and Associated Issues,” 2013.
- [37] EPA, “NAAQS Table,” 2016. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/criteria-air-pollutants/naaqs-table>. [Accessed: 05-Jan-2019].
- [38] CCME, “Canadian Ambient Air Quality Standards (CAAQS) for fine particulate matter (PM_{2,5}) and ozone,” 2012.
- [39] CCME, “Canada’s Air,” 2017. [Online]. Available: <http://airquality-qualitedelair.ccme.ca/en/>. [Accessed: 05-Jan-2019].
- [40] A. B. Silva, A. S. Bastos, C. I. L. Justino, J. P. da Costa, A. C. Duarte, and T. A. P. Rocha-Santos, “Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 1017, pp. 1–19, 2018.
- [41] PlasticsEurope, “Plastics - the facts 2011: An analysis of European plastics production, demand and recovery for 2010,” 2011.
- [42] PlasticsEurope, “Plastics – the Facts 2017,” 2017.
- [43] M. Browne *et al.*, “Classify plastic waste as hazardous,” *Nature*, vol. 494, pp. 169–171, 2013.
- [44] A. Andrady, “The plastic in microplastics: A review,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 119, no. 1, pp. 12–22, 2017.
- [45] Pordata, “Resíduos urbanos: total e por tipo de operação de destino,” 2019. [Online]. Available: <https://www.pordata.pt/Municipios/Resíduos+urbanos+total+e+por+tipo+de+operação+de+destino-67>.
- [46] J. Derraik, “The pollution of the marine environment by plastic debris: a review,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 44, pp. 842–852, 2002.
- [47] D. M. Llc, “The Thermoset difference : thermoset vs . thermoplastic,” 2014.

- [48] N. LLC, “Plastic Coding Guidelines in the United States.”
- [49] PlasticsEurope, “Plastics – the Facts 2018,” 2018.
- [50] T. Banerjee and R. K. Srivastava, “Plastics waste management in India: An integrated solid waste management approach,” in *Handbook of Environmental and Waste Management*, 2012, pp. 1–32.
- [51] R. C. Thompson, C. J. Moore, F. S. V. Saal, and S. H. Swan, “Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends,” *The Royal Society*, vol. 364, no. 1526, pp. 2153–2166, 2009.
- [52] A. Konieczna, A. Rutkowska, and D. Rachoń, “Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA),” *Konieczna, Aleksandra Rutkowska, Aleksandra Rachoń, Dominik*, vol. 66, no. 1, pp. 5–11, 2015.
- [53] A. L. Andrady, “Microplastics in the marine environment,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, no. 8, pp. 1596–1605, 2011.
- [54] W. J. oo. Shim and R. C. Thomposon, “Microplastics in the Ocean,” *Archives of environmental contamination and toxicology*, vol. 69, no. 3, pp. 265–268, 2015.
- [55] PlasticsEurope, “Plastics – the Facts 2015,” 2015.
- [56] Z. L. R. Botterell, N. Beaumont, T. Dorrington, M. Steinke, R. C. Thompson, and P. K. Lindeque, “Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review,” *Environmental Pollution*, vol. 245, Elsevier Ltd, pp. 98–110, 2018.
- [57] GESAMP, “Sources, fate and effects of MP in the marine environment,” 2015.
- [58] J. B. Buchanan, “Pollution by synthetic fibres,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 2, no. 2, pp. 17–32, 1971.
- [59] E. J. Carpenter and K. L. Smith, “Plastics on the Sargasso Sea Surface,” *Science*, vol. 175, no. 4027, pp. 1240–1241, 1972.
- [60] P. G. Ryan, C. J. Moore, J. A. Van Franeker, and C. L. Moloney, “Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment,” *R. Soc.*, vol. 364, no. 1526,

pp. 1999–2012, 2009.

- [61] R. C. Thompson *et al.*, “Lost at Sea: Where Is All the Plastic?,” *Science*, vol. 304, no. 5672, p. 838, 2004.
- [62] V. Hidalgo-Ruz, L. Gutow, R. Thompson, and M. Thiel, “Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods used for identification and quantification,” *Environmental Science & Technology*, vol. 46, pp. 3060–3075, 2012.
- [63] A. Courtney, J. Baker, and H. Bamford, “Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, no. 8, pp. 5–17, 2009.
- [64] K. Duis and A. Coors, “Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects,” *Environmental Sciences Europe*, vol. 28, no. 1, Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–25, 2016.
- [65] N. Kalogerakis *et al.*, “Microplastics Generation: Onset of Fragmentation of Polyethylene Films in Marine Environment Mesocosms,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 4, pp. 1–15, 2017.
- [66] S. J. Klaine *et al.*, “Paradigms to assess the environmental impact of manufactured nanomaterials,” *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 31, no. 1, pp. 3–14, 2012.
- [67] M. R. Gregory, “Plastic ‘scrubbers’ in hand cleansers: A further (and minor) source for marine pollution identified,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 32, no. 12, pp. 867–871, 1996.
- [68] C. Lassen *et al.*, *Microplastics: Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*. 2015.
- [69] Y. Ogata *et al.*, “International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPS) in coastal waters. 1. initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 58, no. 10, pp. 1437–1446, 2009.

- [70] J. Boucher and D. Friot, “Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources,” 2017.
- [71] D. Habib, D. C. Locke, and L. J. Cannone, “Synthetic fibers as indicators of municipal sewage sludge, sludge products, and sewage treatment plant effluents,” *water, Air and Soil Pollution*, vol. 103, pp. 1–8, 1996.
- [72] M. A. Browne *et al.*, “Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks,” *Environmental Science & Technology*, pp. 1–17, 2011.
- [73] SAPEA, “A Scientific perspective on microplastics in nature and society,” 2019.
- [74] Y. Song *et al.*, “A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 93, no. 1–2, pp. 202–209, 2015.
- [75] B. Henry, K. Laitala, and I. G. Klepp, “Microfibres from apparel and home textiles: Prospects for including microplastics in environmental sustainability assessment,” *Science of the Total Environment*, vol. 652, The Authors, pp. 483–494, 2019.
- [76] F. Cesa, A. Turra, and J. Baruque-ramos, “Synthetic fibers as microplastics in the marine environment : A review from textile perspective with a focus on domestic washings,” *Science of the Total Environment*, vol. 598, Elsevier B.V., pp. 1116–1129, 2017.
- [77] “Man-Made Fibers continue to Grow.” pp. 1–5, 2015.
- [78] I. C. E.V.(IVC), “Fibers production since 1975.” [Online]. Available: https://www.ivc-ev.de/live/index.php?page_id=87. [Accessed: 15-Jan-2019].
- [79] R. Esse, L. Engel, M. Carus, and R. Ahrens, “Sources of microplastics relevant to marine protection in Germany,” 2015.
- [80] D. K. A. Barnes, F. Galgani, R. C. Thompson, and M. Barlaz, “Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments,” *R. Soc.*, vol. 364, no. 1526, pp. 1985–1998, 2009.
- [81] R. Mizraji *et al.*, “Is the feeding type related with the content of microplastics in

- intertidal fish gut?,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 116, no. 1–2, pp. 498–500, 2017.
- [82] F. Norén, “Small plastic particles in Coastal Swedish waters,” 2007.
- [83] M. Löder and G. Gerdt, “Methodology used for the detection and identification of microplastics- A critical appraisal,” in *Marine Anthropogenic Litter*, 2015, pp. 201–227.
- [84] ThermoFisher, “Guide to the identification of microplastics by FTIR and Raman spectroscopy,” *Thermoscientific*, 2018.
- [85] P. Aimar *et al.*, “Basic Aspects of Membrane Science and Engineering,” in *Comprehensive Membrane Science and Engineering*, 2010, pp. 115–465.
- [86] L. Parker, “In a first, microplastics found in human poop,” *National Geographic*, 2018.
- [87] J. L. Pauly *et al.*, “Inhaled cellulosic and plastic fibers found in human lung tissue,” *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 7, no. 5, pp. 419–428, 1998.
- [88] A. I. Catarino, V. Macchia, W. G. Sanderson, R. C. Thompson, and T. B. Henry, “Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal,” *Environmental Pollution*, vol. 237, Elsevier Ltd, pp. 675–684, 2018.
- [89] J. C. Pimentel, R. Avila, and A. G. Lourenco, “Respiratory disease caused by synthetic fibres: a new occupational disease,” *Thorax*, vol. 30, no. 2, pp. 204–219, 1975.
- [90] S. Abbasi *et al.*, “Distribution and potential health impacts of microplastics and microrubbers in air and street dusts from Asaluyeh County , Iran,” *Environmental Pollution*, vol. 244, Elsevier Ltd, pp. 153–164, 2019.
- [91] L. Lu, T. Luo, C. Cai, Z. Fu, and Y. Jin, “Interaction between microplastics and microorganism as well as gut microbiota: A consideration on environmental animal and human health,” *Science of the Total Environment*, pp. 94–100, 2019.
- [92] F. Collard *et al.*, “Microplastics in air: Are we breathing it in?,” *Curr. Opin.*

- Environ. Sci. Heal.*, vol. 1, pp. 1–5, 2018.
- [93] YouGov, “The effects of modern indoor living on health, wellbeing and productivity.,” 2018.
- [94] EPA, “Indoor Air Quality- What are the trends in indoor air quality and their effects on human health?,” 2018. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/report-environment/indoor-air-quality>.
- [95] AirMetrics, “MiniVol TAS- Operation Manual.” pp. 1–28, 2012.
- [96] T. Maes, R. Jessop, N. Wellner, K. Haupt, and A. G. Mayes, “A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red,” *Scientific Reports*, vol. 7, Nature Publishing Group, pp. 1–10, 2017.
- [97] E. Fischer, “Nile Red Staining as a Subsidiary Method for Microplastic Quantification: A Comparison of Three Solvents and Factors Influencing Application Reliability,” *J. Earth Sci. Environ. Stud.*, vol. 2, no. 2, pp. 165–172, 2017.
- [98] J. C. Prata, V. Reis, J. T. V. Matos, J. P. da Costa, A. C. Duarte, and T. Rocha-Santos, “A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT),” *Science of The Total Environment*, Elsevier B.V, 2019.
- [99] A. Dehaut *et al.*, “Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization,” *Environmental Pollution*, vol. 215, pp. 223–233, 2016.
- [100] A. L. Lusher, N. A. Welden, P. Sobral, and M. Cole, “Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates,” *R. Soc. Chem.*, vol. 9, pp. 1346–1360, 2017.
- [101] M. Claessens, L. Van Cauwenberghe, M. B. Vandegehuchte, and C. R. Janssen, “New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 70, no. 1–2, pp. 227–233, 2013.
- [102] E. M. Foekema, C. De Gruijter, M. T. Mergia, J. A. Van Franeker, A. J. Murk, and A. A. Koelmans, “Plastic in North Sea Fish,” *Environmental Science & Technology*,

pp. 8818–8824, 2013.

- [103] M. Nuelle, J. H. Dekiff, D. Remy, and E. Fries, “A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments,” *Environmental Pollution*, vol. 184, Elsevier Ltd, pp. 161–169, 2014.
- [104] M. Cole, H. Webb, P. K. Lindeque, E. S. Fileman, C. Halsband, and T. S. Galloway, “Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms,” *Scientific Reports*, pp. 1–8, 2014.
- [105] J. Masura, J. Baker, G. Foster, C. Arthur, and C. Herring, “Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments,” 2015.
- [106] A. I. Catarino, R. Thompson, W. Sanderson, and T. B. Henry, “Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues,” *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 36, no. 4, pp. 947–951, 2017.
- [107] S. M. Mintenig, I. Int-Veen, M. G. J. Löder, S. Primpke, and G. Gerdt, “Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging,” *Water Res.*, vol. 108, pp. 365–372, 2017.
- [108] A. Karami, A. Golieskardi, C. Keong, N. Romano, Y. Bin, and B. Salamatinia, “A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish,” *Science of the Total Environment*, Elsevier B.V., p. 10, 2016.
- [109] A. N. Khan, N. Abir, M. A. N. Rakib, E. . S. Bhuiyan, and M. R. Howlader, “A Review Paper on Textile Fiber Identification,” *IOSR J. Polym. Text. Eng.*, vol. 4, no. 2, pp. 14–20, 2017.
- [110] CCI, “The identification of natural fibers,” 2010.
- [111] “Identification of fibers by microscopy,” in *Comprehensive didactic development in the practice of textile technology*, .

- [112] NPTEL, “Textile fibers,” 2014. [Online]. Available: <https://nptel.ac.in/courses/116102026/33>.
- [113] P. Costa, A. C. Duarte, T. Rocha-santos, and J. C. Prata, “Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment : A critical review,” *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 110, pp. 150–159, 2019.
- [114] M. C. Branciforti, A. L. Marinelli, M. Kobayashi, J. D. Ambrosio, M. R. Monteiro, and A. D. Nobre, “Wood polymer composites technology supporting the recovery and protection of tropical forests: The amazonian phoenix project,” *Sustainability*, vol. 1, no. 4, pp. 1431–1443, 2009.
- [115] S. Lambert and M. Wagner, “Microplastics are contaminants of emerging concern in freshwater environments: An overview,” in *Freshwater Microplastics*, vol. 58, 2018, pp. 1–23.
- [116] J. C. Prata, J. P. da Costa, A. V. Girão, I. Lopes, A. C. Duarte, and T. Rocha-Santos, “Identifying a quick and efficient method of removing organic matter without damaging microplastic samples,” *Science of The Total Environment*, Elsevier B.V, 2019.
- [117] J. Ding *et al.*, “Detection of microplastics in local marine organisms using a multi-technology system,” *R. Soc. Chem.*, vol. 11, pp. 78–87, 2019.

Anexos

Anexo I- Resultados eficiência da digestão- Perda de peso [%]Testes principais**Tabela 15-** Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de amostras de filtro de quartzo expostas a um controlo (H_2O) e a cinco soluções (KOH , HNO_3 , H_2O_2+Fe , *proteínase-k* e *celulase*), sob um período de incubação de 1h a 50°C.

Soluções	Eficiência da digestão da amostra [%] Réplicas (n=4)
<i>H₂O</i>	6,8 (2,1-12,2)
<i>KOH</i>	6,4 (4,2-8,7)
<i>HNO₃</i>	1,9 (0,0-12,5)
<i>H₂O₂+Fe</i>	4,9 (0,0-15,4)
<i>Proteínase-k</i> *	7,1 (4,5-13,8)
<i>Celulase</i> *	22,2 (12,5-42,1)

*Foram realizadas apenas 3 réplicas

Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.

Tabela 16- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e *rayon*) expostas a um controlo (H₂O) e a cinco soluções (KOH, HNO₃, H₂O₂+Fe, proteinase-k e celulase), sob um período de incubação de 1h a 50°C.

Fibras \ Soluções	H ₂ O	HNO ₃	H ₂ O ₂ + Fe	KOH	Proteinase-k*	Celulase*
<i>Algodão</i>	2,2 (0,9-3,3)	2,2 (0,5-2,9)	4,8 (2,8-5,6)	0,5 (0,0-1,1)	1,5 (0,0-1,6)	2,2 (1,5-4,3)
<i>Lã</i>	3,1 (2,9-5,6)	1,3 (1,1-1,5)	12,7 (12,5-20,8)	31,6 (23,9-34,6)	0,0 (0,0-4,4)	2,3 (0,0-2,9)
<i>Linho</i>	1,8 (0,0-6,3)	6,7 (5,7-8,9)	9,1 (8,9-12,1)	2,2 ^[a] (3,0-3,7)	1,8 (0,0-2,7)	3,2 (1,2-11,1)
<i>Poliéster</i>	2,1 (1,7-3,5)	1,2 (0,0-2,7)	1,5 (0,4-2,2)	2,7 (2,0-3,6)	3,8 (0,0-3,8)	5,6 (2,0-20,6)
<i>Nylon</i>	1,6 (1,4-1,9)	25 ^[a] (20,0-30,7)	1,2 (0,0-2,6)	2,0 (0,0-2,1)	0,8 (0,0-2,6)	2,4 (0,0-4,2)
<i>Poliamida</i>	2,1 (1,2-2,9)	41,8 ^[a] (25,9-52,9)	4,8 (2,1-11,6)	1,1 (1,0-3,0)	1,4 (1,4-1,6)	4,5 (1,8-8,3)
<i>Poliéster+Algodão</i>	3,3 (3,2-5,6)	6,4 (5,0-7,6)	6,6 (6,3-7,5)	7,0 (6,6-11,5)	4,7 (2,6-5,1)	3,9 (0,0-7,8)
<i>Viscose</i>	5,4 (4,4-8,8)	7,8 (6,4-9,2)	8,6 (6,9-10,4)	11,1 (10,2-13,8)	3,0 (2,7-8,2)	10,1 (3,2-10,3)
<i>Rayon</i>	2,3 (0,0-3,6)	2,5 (1,9-3,2)	5,2 (4,0-6,5)	11,8 (9,7-13,0)	0,0 (0,0-4,0)	4,8 (2,8-15,4)

*Foram realizadas apenas 3 réplicas.

^[a] Valores relativos à eficiência da digestão do conjunto filtro+amostra.

Teste adicional com Proteinase-K**Tabela 17-** Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, nylon, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e rayon) expostas a uma solução de proteinase-k, sob um período de incubação de 16h a 50°C.

		Eficiência da digestão da amostra [%]	
<i>Fibras</i>	<i>Soluções</i>	Proteinase-k	Filtro de Quartzo
	<i>Algodão</i>	2,9 (0,0-2,9)	20 (19,0-21,4)
	<i>Lã</i>	1,3 (0,3-3,6)	
	<i>Linho</i>	7,5 (5,4-7,7)	
	<i>Poliéster</i>	4,3 ^[a] (2,0-7,3)	
	<i>Nylon</i>	5,9 (4,8-11,1)	
	<i>Poliamida</i>	2,7 (2,0-3,4)	
	<i>Poliéster+Algodão</i>	8,3 (8,3-11,1)	
	<i>Viscose</i>	4,0 (3,8-4,0)	
	<i>Rayon</i>	7,7 (5,9-7,7)	

^[a] Valor relativo à eficiência da digestão do conjunto filtro+amostra.

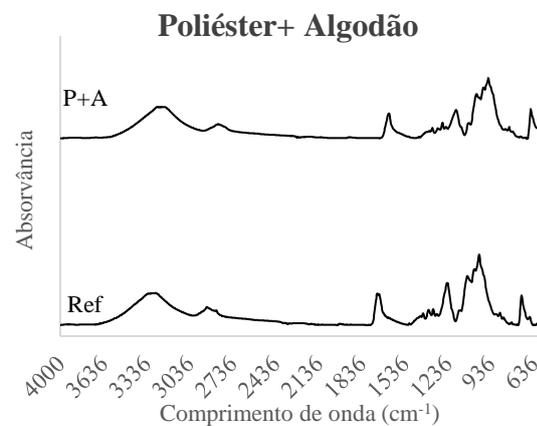
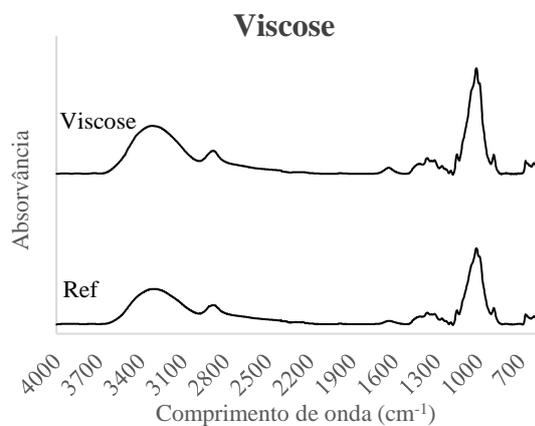
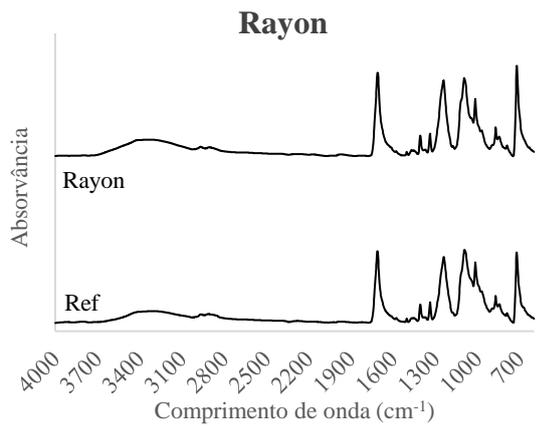
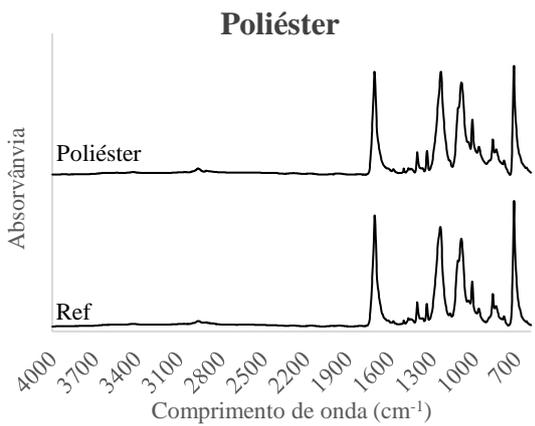
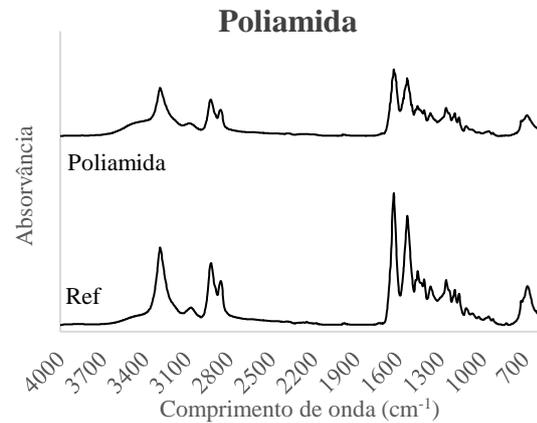
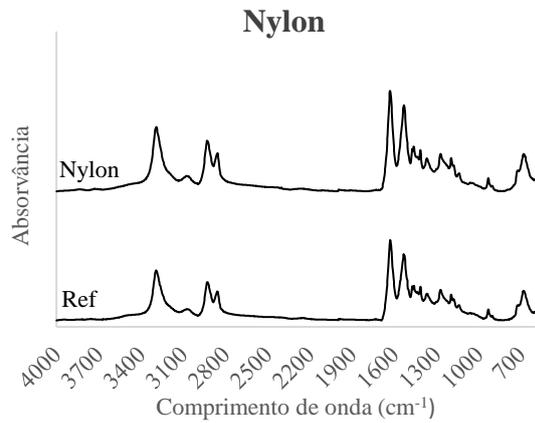
Teste com H₂O₂ (15%)

Tabela 18- Percentagens relativas à mediana, valor mínimo e máximo alusivas à eficiência da digestão de fibras têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+Algodão, viscose e *rayon*) expostas a uma solução de H₂O₂ (15%), durante um período de tempo de oito dias ao ar ambiente.

<i>Fibras</i>	<i>Solução</i>	Eficiência da digestão da amostra [%]
		Réplicas (n=3)
		H ₂ O ₂ (15%)
<i>Algodão</i>		1,8 (1,1-10,5)
<i>Lã</i>		5,9 (3,3-6,2)
<i>Linho</i>		6,9 (4,0-7,1)
<i>Poliéster</i>		7,6 (0,8-8,8)
<i>Nylon</i>		3,5 (2,0-10,5)
<i>Poliamida</i>		5,1 (1,5-8,8)
<i>Poliéster+ Algodão</i>		3,5 (2,6-5,2)
<i>Viscose</i>		3,7 (3,5-12,0)
<i>Rayon</i>		5,1 (1,7-9,5)

Anexo II- Resultados eficiência da digestão- *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*

Proteinase-k (16h)



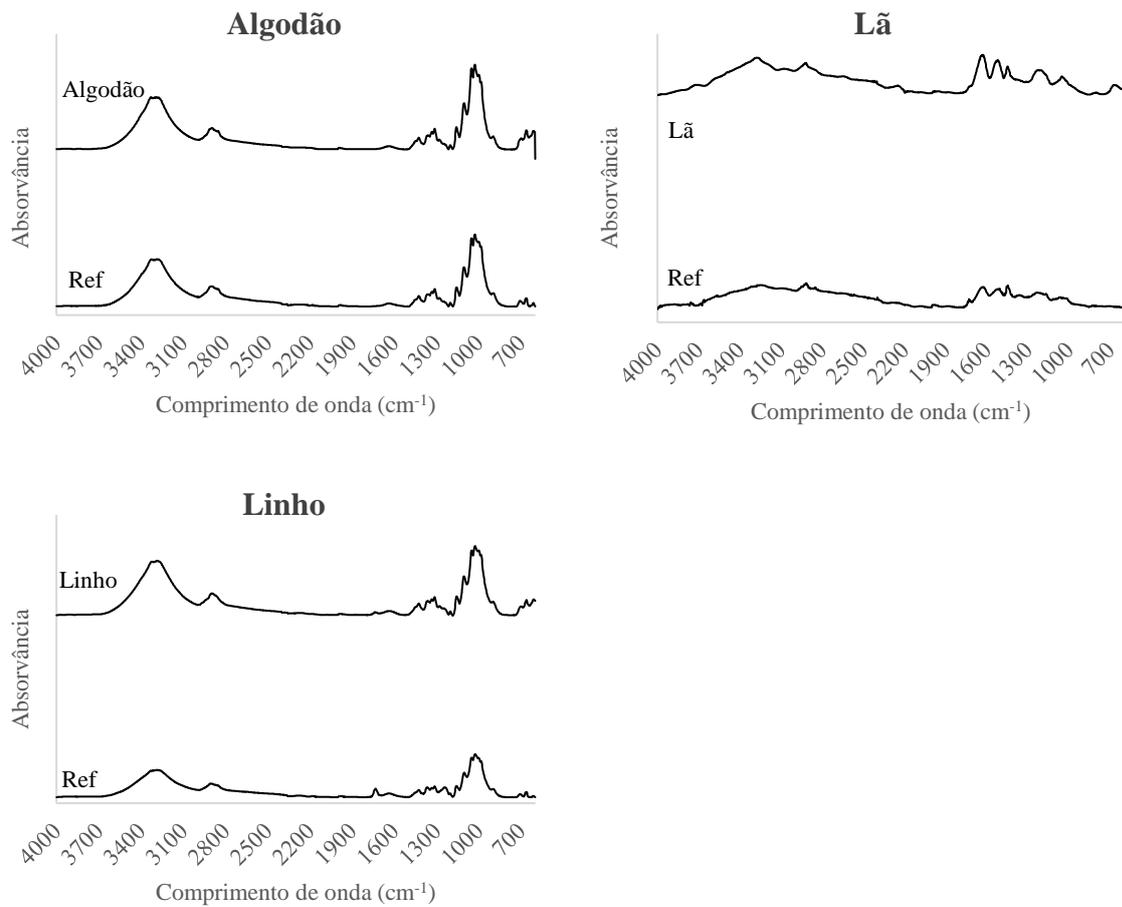


Figura 21- Espectros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de proteinase-K a fibras têxteis (poliéster, nylon, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e rayon), durante um período de incubação de 16h a 50°C.

Celulase (5 dias)

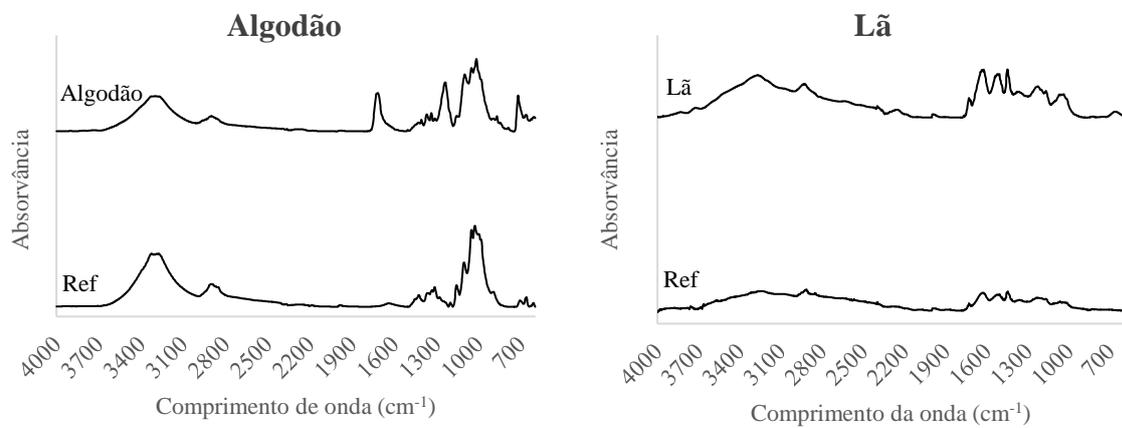
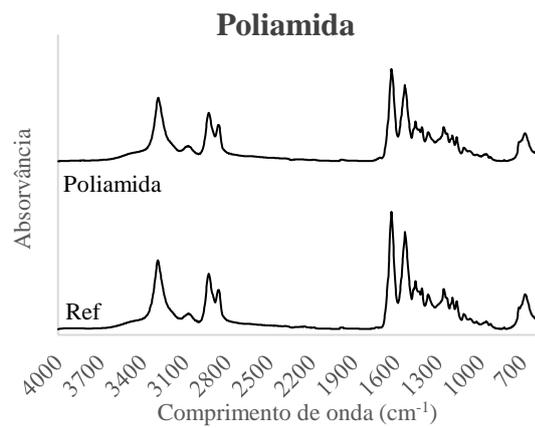
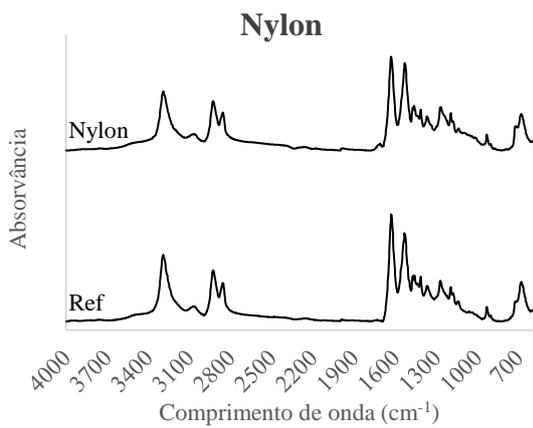


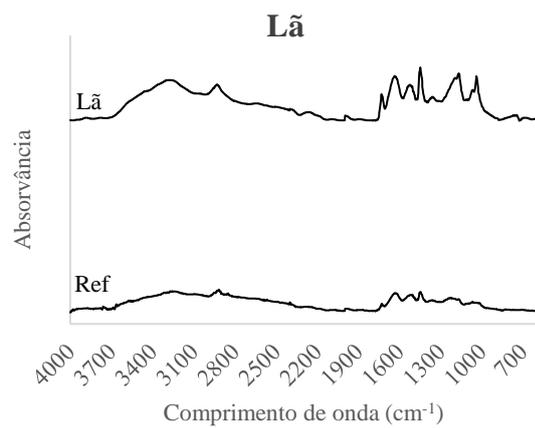
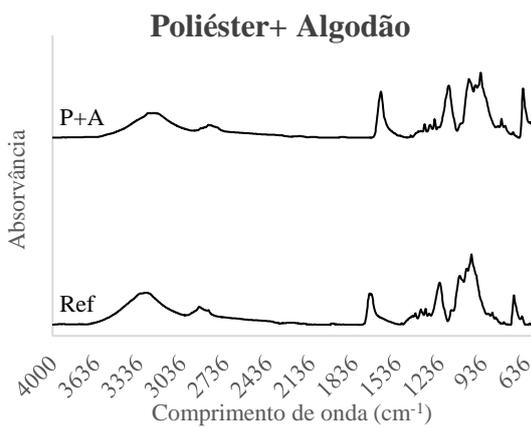
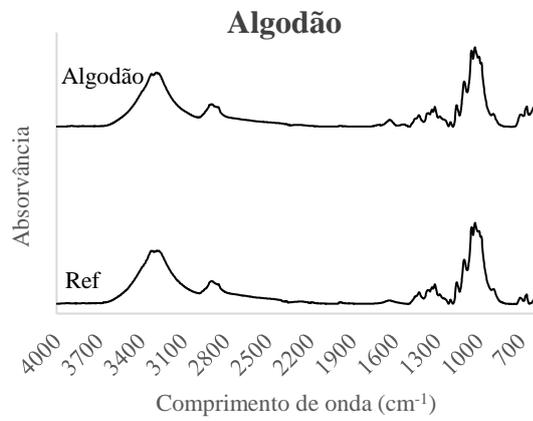
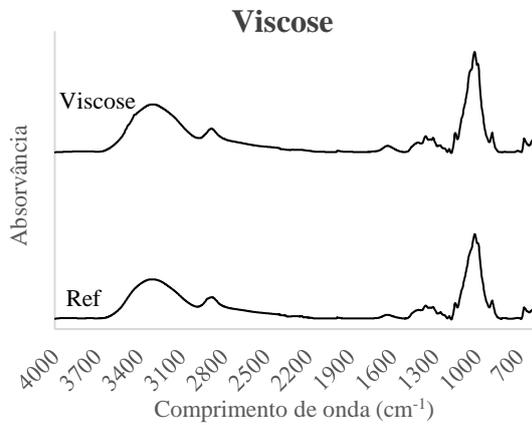
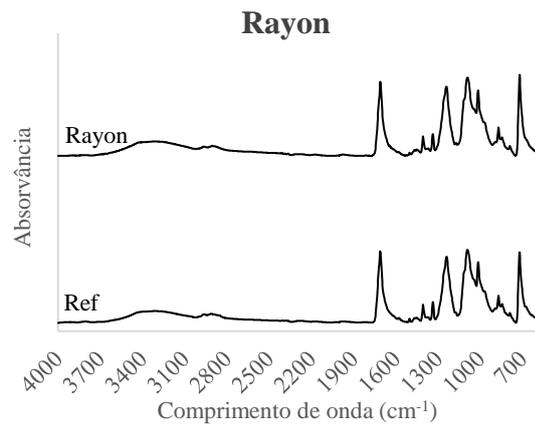
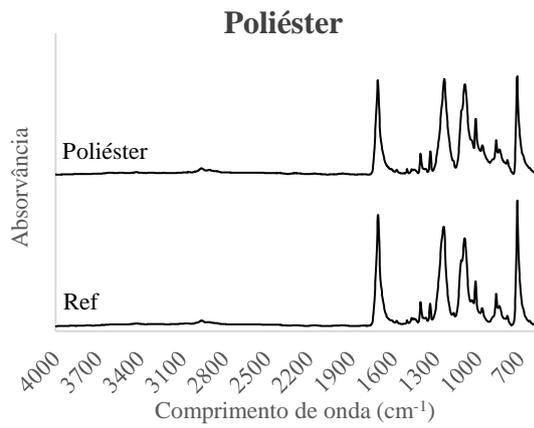


Figura 22- Espectros obtidos por FTIR-ATR resultantes da aplicação de celulase a fibras têxteis (poliéster, nylon, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e rayon), durante um período de incubação de 5 dias a 50°C.

H₂O₂ (8 dias)



Exposição humana a microplásticos por inalação de ar ambiente.



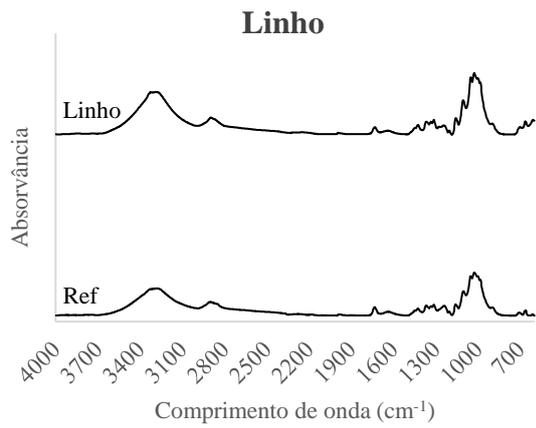
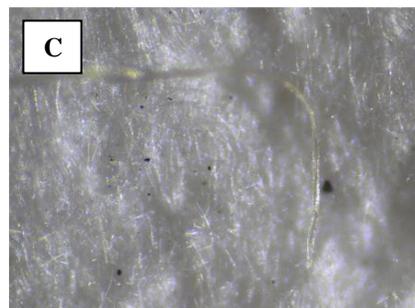
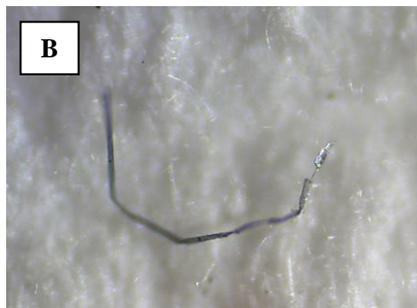
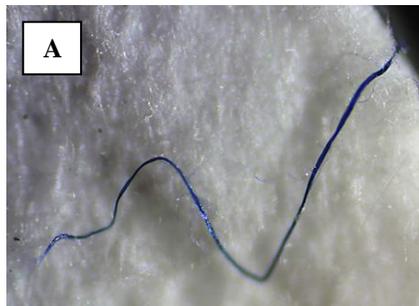


Figura 23- Espetros obtidos por ATR-FTIR resultantes da aplicação de H₂O₂ (15%) a fibras têxteis (poliéster, *nylon*, poliamida, algodão, lã, linho, poliéster+algodão, viscose e *rayon*), durante 8 dias ao ar ambiente.

Anexo III- Resultados da 2ª amostragem

Antes da aplicação do protocolo de digestão orgânica e de separação de microplásticos por intermédio da densidade



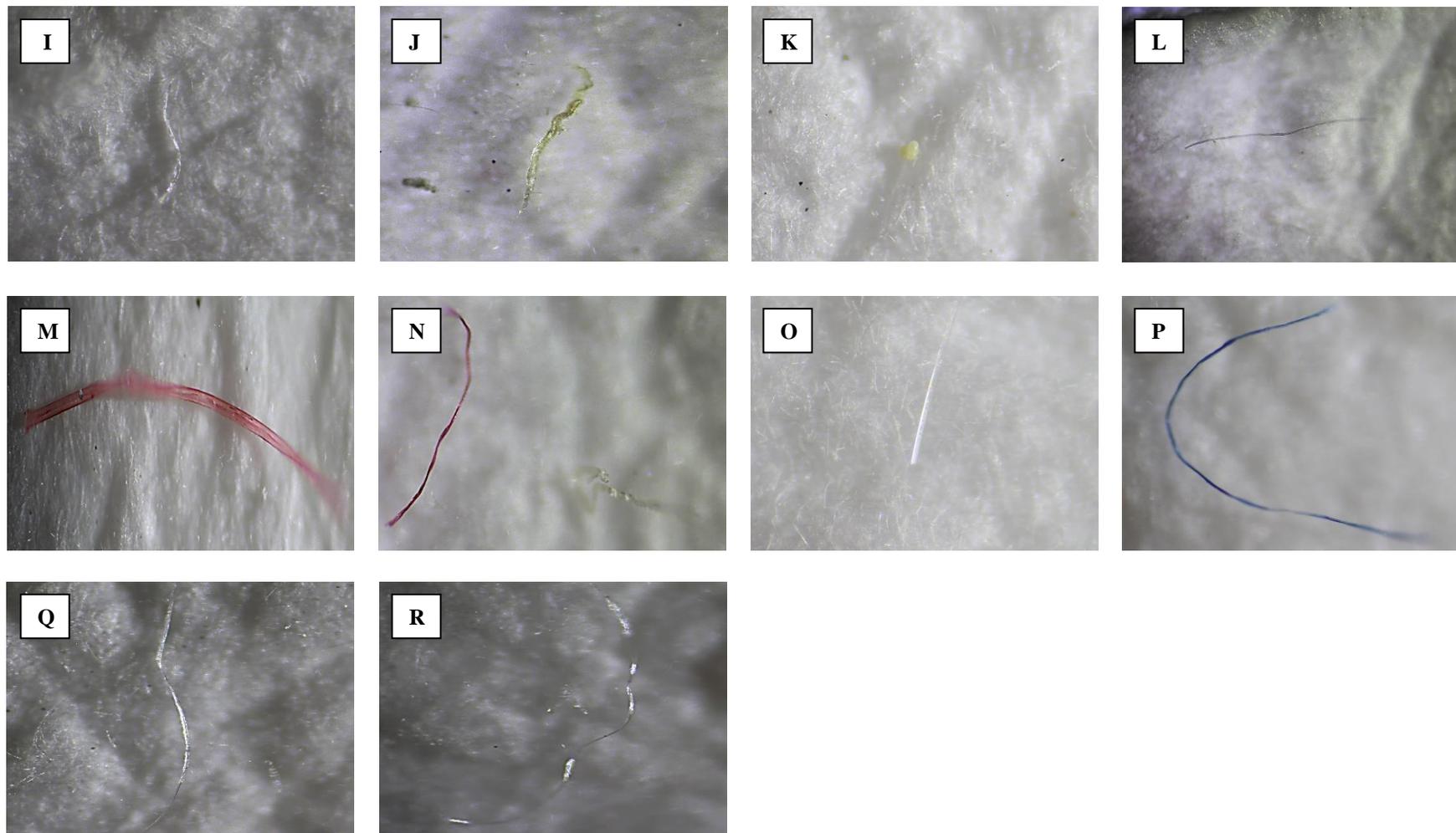
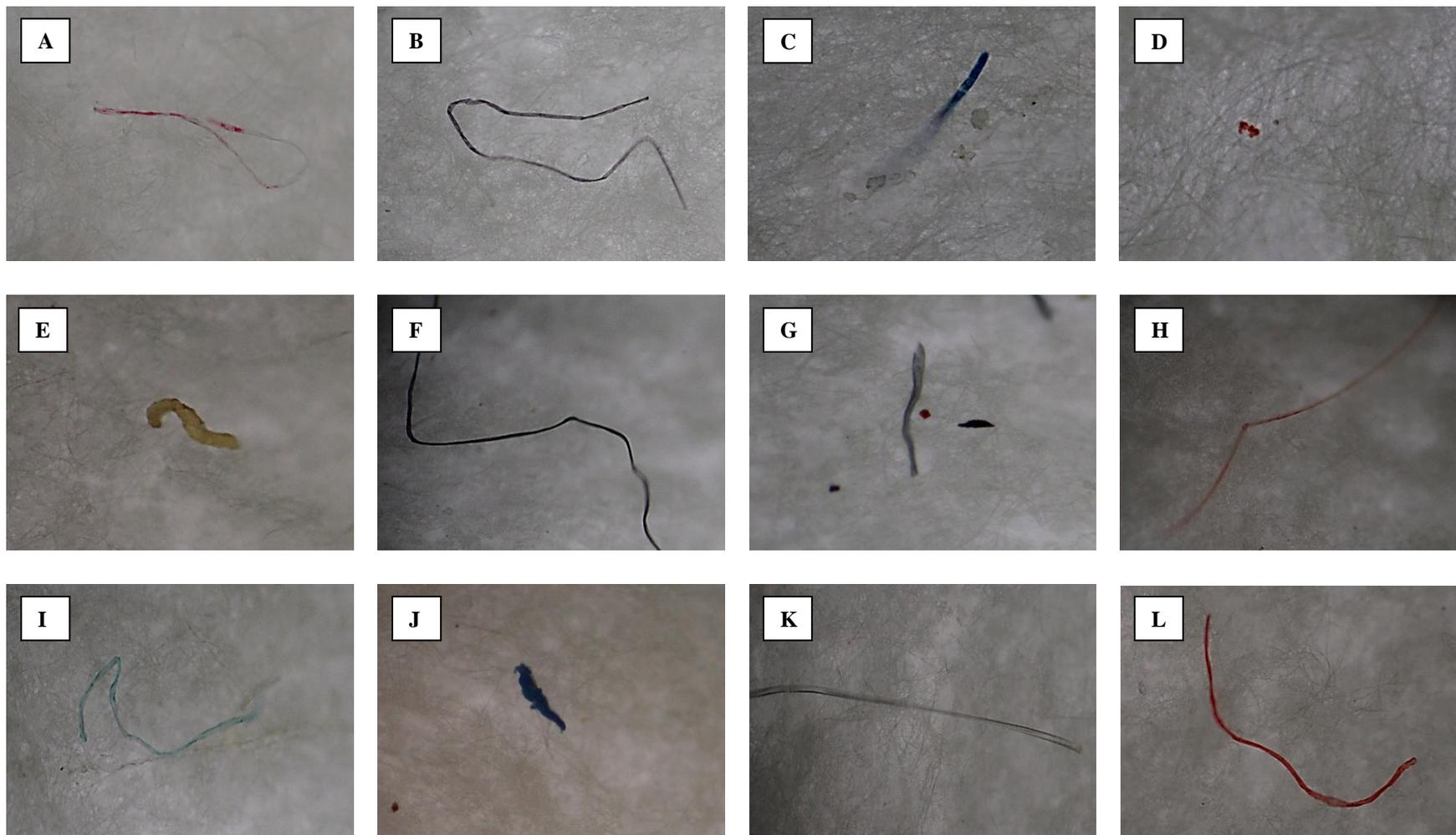


Figura 24- Fibras/Fragmentos: [A-D] Amostra Exterior, parcela 1; [E-H] Amostra Exterior, parcela 2; [G-N] Amostra Exterior, parcela 3; [O] Amostra Branco, parcela 1; [P] Amostra Branco, parcela 2; [Q] Amostra Interior, parcela 1; [R] Amostra Interior, parcela 2

Após a aplicação do protocolo de digestão de matéria orgânica e de separação de microplásticos por intermédio da densidade



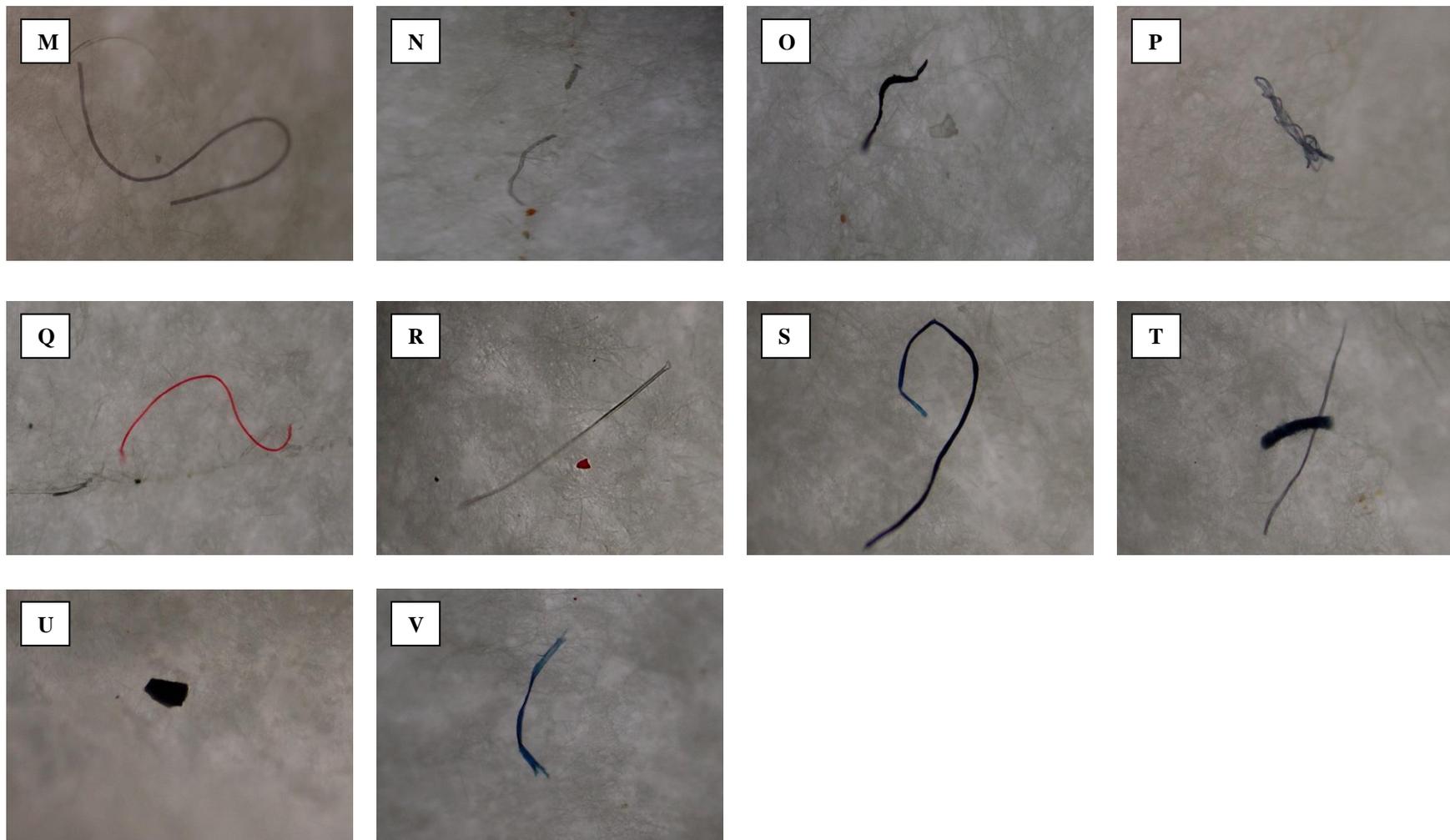


Figura 25- Fibras/Fragmentos: [A-C] Amostra Interior, parcela 2; [D] Amostra Interior, parcela 3; [E] Amostra Interior, parcela 4; [F-J] Amostra Exterior, parcela 2; [K] Amostra Exterior, parcela 3; [L-M] Amostra Exterior, parcela 3; [N-P] Amostra Exterior, parcela 4; [Q] Amostra Branco, parcela 2; [R-T] Amostra Branco, parcela 3; [U-V] Amostra Branco, parcela 4.

Anexo IV- Aplicação do corante *Nile Red*

Comprimento de onda (470 nm)

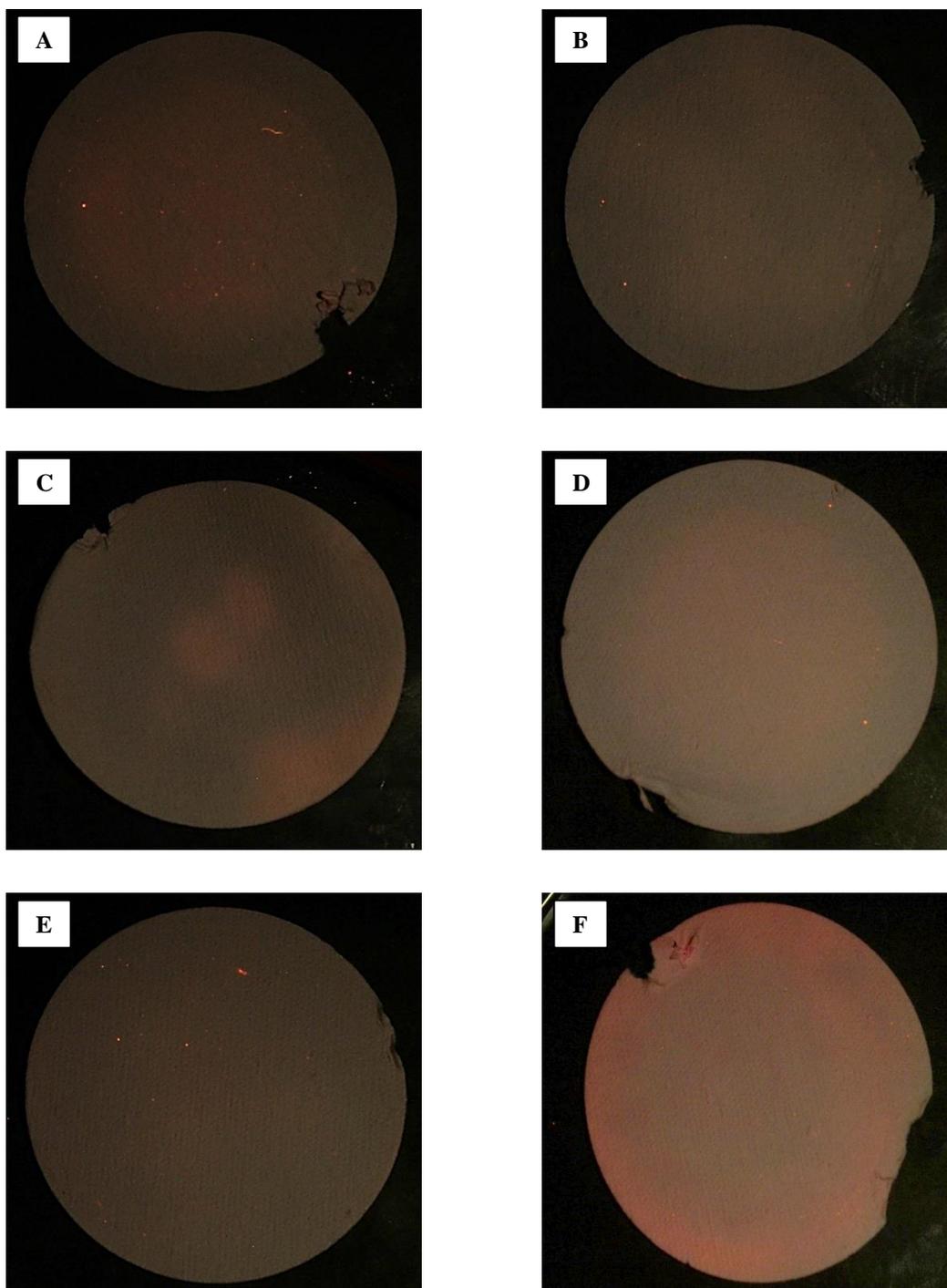


Figura 26- Amostras com *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 2; [B] Exterior, parcela 4; [C] Interior, parcela 2; [D] Interior, parcela 4; [E] Branco, parcela 3; [F] Branco, parcela 4.

Comprimento de onda (254 nm)

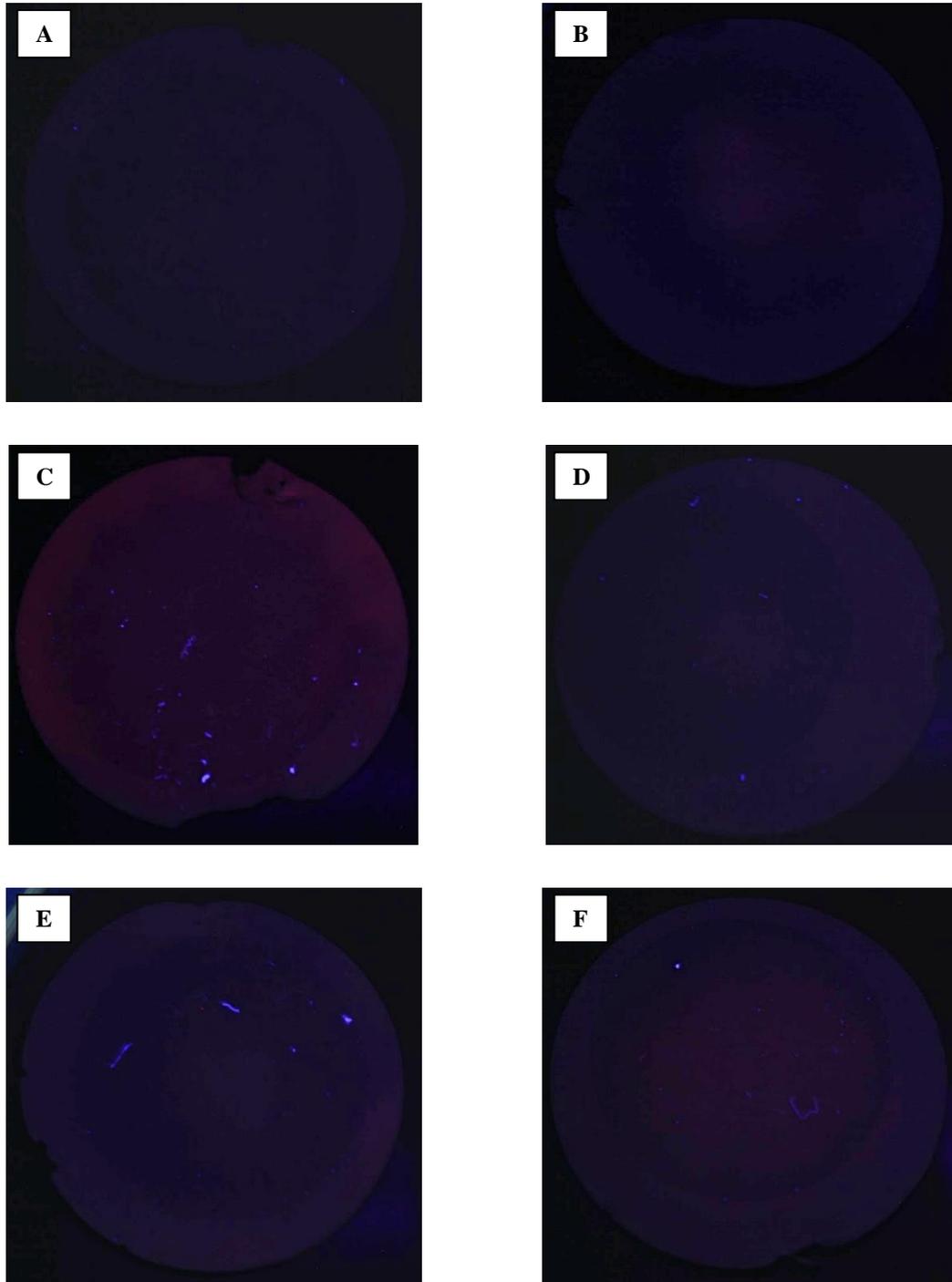


Figura 27- Amostras com *Nile Red* ($0,01 \text{ mg.ml}^{-1}$), sob radiação UV (470 nm): [A] Exterior, parcela 2; [B] Exterior, parcela 4; [C] Interior, parcela 3; [D] Interior, parcela 4; [E] Branco, parcela 2; [F] Branco, parcela 4.