UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental

PABLO PENA GANDARA E SILVA

**Contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área de proteção
marinha costeira**

São Carlos
Estado de São Paulo
2016

PABLO PENA GANDARA E SILVA

**Contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área de proteção
marinha costeira**

Dissertação apresentada à Escola de
Engenharia de São Carlos, da
Universidade de São Paulo, como
parte dos pré-requisitos para obtenção
do título de Mestre em Ciências da
Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Mendes de
Gusmão

São Carlos
Estado de São Paulo
2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Silva, Pablo Pena Gandara e

S586c Contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área
de proteção marinha costeira / Pablo Pena Gandara e
Silva; orientador Luiz Felipe Mendes de Gusmão. São
Carlos, 2016.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
e Área de Concentração em Ciências da Engenharia
Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo, 2016.

1. microplásticos. 2. pellets plásticos. 3.
poluição marinha. 4. mexilhão. 5. baía de
Santos. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **PABLO PENA GANDRA E SILVA**.

Título da dissertação: "Contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área de proteção marinha costeira".

Data da defesa: 23/08/2016.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **Luiz Felipe Mendes de Gusmão**
(Orientador)
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP)

Resultado:

Aprovado

Profa. Dra. **Maria da Graça Gama Melão**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

Dra. **Bruna Horvath Vieira**
(Pós-Doutoranda/CNPq)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Luis Fernando Costa Alberto**

AGRADECIMENTOS

Ao *Prof. Dr. Luiz Felipe Mendes de Gusmão* por sua orientação, apoio, confiança, disponibilidade e pelos ensinamentos aprendidos que contribuíram para a minha formação.

Ao *Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira* pelo apoio, pela oportunidade de aprendizado e importante contribuição para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao *Prof. Dr. Thiago Michel de Brito Farias* por possibilitar o uso do equipamento de FTIR.

À Fundação Florestal do Estado de São Paulo e ao gestor do parque estadual Xixová-Japuí por concederem o acesso ao parque e por autorizarem a coleta de microplásticos nas praias de Paranapuã e Itaquitanduva.

À *Pryscilla Resaffe* e ao *Caio Rodrigues Nobre* por seu grande auxílio e contribuição em coletas e experimentos, fundamentais para a conclusão da pesquisa.

Aos *Msc. Fábio Hermes Pusceddu* e *Msc. Fernando Sanzi Cortez* responsáveis pelo laboratório de ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília pelo apoio e por possibilitarem a utilização do laboratório para a realização dos experimentos.

À Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Campus baixada santista por disponibilizar a utilização de seus laboratórios.

Ao CNPq, pela bolsa concedida que proporcionou a realização dessa pesquisa.

RESUMO

SILVA, P.P.G. **Contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área de proteção marinha costeira**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2016.

Os plásticos têm trazido grandes benefícios aos humanos, sendo utilizados em diversas atividades como em aplicações médicas, entretenimento e na indústria de alimento. O uso crescente de plástico e seu descarte não adequado têm contribuído para o acúmulo deste detrito no meio ambiente, em especial nos oceanos onde tendem a acumular. Dentre os detritos de plástico de maior importância atualmente estão os microplásticos, que são partículas de plástico de tamanho entre 1 μm e 5mm. Os principais riscos que os microplásticos oferecem são sua grande capacidade de persistência e dispersão no ambiente marinho, sua grande afinidade por poluentes persistentes orgânicos, sua ingestão pela biota e a transferência para a teia trófica marinha. Dentre os ambientes marinhos mais impactados por microplásticos, estão as praias arenosas, onde estas partículas tendem a acumular após encalharem ao serem trazidas pelo mar. Este estudo teve como objetivo avaliar a contaminação por microplásticos em uma praia de uma área de proteção marinha costeira e avaliar a toxicidade de pellets virgens e coletados nesta praia no desenvolvimento embriolarval de mexilhão marrom *Perna perna*. Foram realizadas coletas de microplásticos entre o período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2015 na praia de Paranapuã em duas regiões do perfil da praia (linha de maré alta e supralitoral). As partículas foram analisadas individualmente em laboratório e quanto a composição de seu polímero por Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR). Os resultados sugerem que a poluição por microplásticos na praia de Paranapuã ocorre ao longo do ano inteiro, porém variando em concentração ao longo do tempo e com um padrão de distribuição espacial irregular na praia. A concentração de microplásticos está aparentemente relacionada com a direção do vento, tendendo a ser maior quando a direção do vento é a favor da praia. A concentração de microplásticos na praia de Paranapuã (4,72 microplásticos/m²) é próxima àquela encontrada em outras praias no mundo e da região. Os experimentos de toxicidade demonstraram que tanto pellets de plástico virgens como aqueles coletados na praia inibem o desenvolvimento embriolarval de mexilhão marrom. Entretanto, os pellets coletados na praia mostraram uma alta toxicidade que resultou numa porcentagem de larvas anormais ou mortas de 100%, significativamente superior aos pellets virgens

que foi de 23,5%. Acredita-se que a diferença de toxicidade entre os pellets virgens e coletados na praia pode ser causada por contaminantes adsorvidos na superfície dos pellets coletados no campo. Os resultados deste estudo sugerem que praias de áreas de proteção marinha costeira próximas a zonas urbanas e regiões portuárias apresentam risco de contaminação por plásticos. Apesar de terem acesso restrito a humanos, os microplásticos entram nestas praias através do ambiente marinho, podendo causar efeitos adversos na fauna destes ambientes. As informações deste trabalho contribuem para a melhor compreensão dos efeitos da contaminação de ambientes costeiros por microplásticos, fornecendo informações básicas para o desenvolvimento de políticas públicas voltadas para uma gestão deste tipo de poluição em áreas de proteção ambiental.

Palavras-chave: microplásticos, pellets plásticos, poluição marinha, mexilhão, baía de Santos.

ABSTRACT

SILVA, P.P.G. **Microplastics contamination and toxicity in a coastal marine protected area**. Dissertation (MSc) - School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos. 2016.

Plastics have great benefits to humans, used in various activities such as medical applications, entertainment and food industry. The increasing use of plastic and your inappropriate disposal have contributed to the accumulation of this debris in the environment, particularly in the oceans where they tend to accumulate. Among the most important plastic waste are the microplastic which are plastic particles of size between 1 μm and 5 mm. The main risks that microplastics offer are your large capacity persistence and dispersal in the marine environment, your great affinity for persistent organic pollutants and their ingestion by biota and transfer to the marine food web. Among the marine environments most impacted by microplastics are sandy beaches where these particles tend to accumulate after carried by sea. This study evaluate the contamination by microplastics on a beach of a coastal marine protected area, and assess the virgin pellets toxicity and collected on this beach in embryo-larval development of brown mussel *Perna perna*. Microplastics samples were collected in the period from February 2014 to February 2015 on the beach of Paranapuã in two regions of the beach (high tide line and supralittoral). The particles were analyzed individually in the laboratory and the composition of your polymer was identified for Fourier Transform infrared spectroscopy (FT-IR). The results suggest that pollution microplastics in Paranapuã beach is continuous in entire year, but varying in concentration over time and with a pattern irregular of spatial distribution on the beach. The microplastics concentration is apparently related to the wind direction, tends to be higher when the wind direction is downwind. The concentration of microplastics on the beach Paranapuã (4.72 microplastics / m^2) is similar to other beaches in the world. The toxicity experiments showed that both virgin plastic pellets as those collected on the beach inhibit embryo-larval development of brown mussels. However, the pellets collected at the beach showed high toxicity resulting in abnormal or percentage of dead larvae 100%, significantly higher than for virgin pellets, which was 23.5%. It is believed that the difference in toxicity between the virgin pellets and collected on the beach can be caused by high concentration of adsorbed contaminants on the surface of the pellets collected in the field. The results of this study suggest that beaches areas of

coastal marine protection near urban areas and port areas have high risk of contamination by plastics. Although this beach has access restricted to humans, microplastics enter these beaches through the marine environment, potentially causing adverse effects on the local fauna of these environments due to your high toxicity. The information from this study contribute to a better understanding of the effects of contamination of coastal environments by microplastics, providing basic information for the development of public policies for management of this type of pollution in the areas of environmental protection.

Key-words: microplastics, plastic pellets, marine pollution, mussel, Santos bay.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2: Avaliação da contaminação por microplásticos em uma área de proteção marinha costeira

Figura 1 - Localização da área de estudo (A, Brasil com destaque para o estado de São Paulo e a cidade de Santos; B, região da baía de Santos, com indicação da praia de Paranapuã e a praia de Itaquitanduva) (modificado de GoogleMaps).....	15
Figura 2 - Praia de Paranapuã.....	16
Figura 3 - Espectrofotômetro de Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).....	19
Figura 4 - Distribuição dos valores de: A, densidade de partículas por m ² ; B, peso (g) por m ² e C, volume (mm ³) por m ² durante o período de amostragem. Os pontos representam cada coleta com o traço vertical representando o erro padrão.....	22
Figura 5 - Distribuição dos valores de: A, peso (g); B, volume (mm ³) e C, densidade das partículas (g/mm ³) de microplásticos durante o período de amostragem. Os pontos representam cada coleta com o traço vertical representando o erro padrão.....	24
Figura 6 - Predomínio das características das partículas de microplásticos quanto seu tipo, coloração e condição de degradação.....	25
Figura 7 - Dados do vento para os seis dias anteriores à cada amostragem de campo e os valores da densidade de microplásticos para todo o período de coleta. Cada vetor indica uma amostragem de campo e seu ângulo indica a direção média do vento. O comprimento dos vetores indica: A, densidade de microplásticos por m ² encontrados na praia; B, peso médio das partículas; C, a velocidade média do vento nos seis dias anteriores à cada amostragem.....	27

Capítulo 3: Toxicidade de pellets de plástico para embriões de mexilhão marrom *Perna perna*

Figura 1 - Metodologia utilizando tubo de ensaio com os pellets presos no fundo por uma rede de plâncton em conjunto com um anel plástico (A, anel plástico; B, montagem do conjunto da malha com o anel plástico no tubo de ensaio; C, visão geral do experimento).....	46
Figura 2 - Visão geral do experimento (A, Tratamento utilizando tubos de ensaio; B, Tratamento utilizando béqueres).....	46
Figura 3 - Pellets utilizados no experimento (A, pellets virgens de polipropileno; B, pellets coletados na praia).....	47
Figura 4 - Procedimento de choque térmico a que os mexilhões foram expostos.....	48
Figura 5 - Liberação dos gametas pelo mexilhão (A, liberação de óvulos pelo <i>Perna perna</i> ; B, solução com óvulos de <i>Perna perna</i> ; C, solução com espermatozoides de <i>Perna perna</i>).....	49
Figura 6 - Experimento 1. Porcentagem de larvas anormais ou mortas em relação aos tratamentos (tubo de ensaio ou béquer) com diferentes concentrações de pellets (0 ml, 0,5 ml, 1 ml e 2 ml), onde a linha horizontal em negrito (interior da caixa) representa a mediana, a caixa representa quartis a 25 e 75% , as linhas verticais a partir da caixa representam a amplitude da variação, NS quando não houve diferenças significativas e * quando houve diferenças significativas entre tubos de ensaio e béqueres. As caixas em vermelho representando o tratamento utilizando béquer e em azul tratamento utilizando tubo de ensaio. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de pellets na água nos tubos de ensaio, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de pellets na água no béqueres. Todas diferenças significativas possuem nível $p < 0,05$ determinada pela análise de PERMANOVA seguida pela comparação entre os pares.....	52

Figura 7 - Experimento 2. Porcentagem de larvas anormais ou mortas em relação aos tratamentos com pellets coletados nas praias em diferentes estações do ano e o controle sem pellets e apenas com pellets virgens de polipropileno, onde a linha horizontal em negrito (interior da caixa) representa a mediana, a caixa representa quartis a 25 e 75% , as linhas verticais a partir da caixa representam a amplitude da variação, letras diferentes representam diferenças significativas enquanto que as letras iguais representam que não houve diferenças significativas. Itaq: praia de Itaquitanduva e Parana: praia de Paranapuã. Todas diferenças significativas possuem nível de $p < 0,05$ baseada no teste de Van der Waerden seguida por uma comparação entre os pares..... 53

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2: Avaliação da contaminação por microplásticos em uma área de proteção marinha costeira

Tabela 1 - Porcentagem de microplásticos analisados para cada polímero.... 26

Tabela 2 - Modelo linear generalizado (GLM) com distribuição binomial negativa da variável resposta (direção média do vento nos 6 dias anteriores à amostragem). Valores em negrito representam o nível de significância estatística..... 26

Tabela 3 - Concentrações de partículas de microplásticos por metro quadrado em praias..... 30

Capítulo 3: Toxicidade de pellets de plástico para embriões de mexilhão marrom *Perna perna*

Tabela 1 - Estudos sobre a avaliação ecotoxicológica de elutriado de diferentes polímeros plásticos com espécies aquáticas..... 55

SUMÁRIO

Resumo.....	II
Abstract.....	IV
Lista de figuras.....	VI
Lista de tabelas.....	IX
Capítulo 1: O problema da contaminação de ambientes marinhos por plásticos	
1. Introdução.....	1
2. Objetivos da pesquisa.....	6
2.1 Objetivo geral.....	6
2.2 objetivos específicos.....	6
3. Referências bibliográficas.....	6
Capítulo 2: Avaliação da contaminação por microplásticos em uma área de proteção marinha costeira	
1. Introdução.....	11
2. Objetivos.....	13
3. Material e métodos.....	14
3.1 Área de estudo.....	14
3.2 Procedimentos de amostragem.....	17
3.3 Análises dos microplásticos.....	18
3.4 Obtenção de dados ambientais complementares.....	19
3.5 Análise dos dados.....	19
4. Resultados.....	21
4.1 Concentração e distribuição de microplásticos na praia.....	21
4.2 Características dos microplásticos.....	23
4.3 Fatores relacionados com o acúmulo de microplásticos.....	26
5. Discussão.....	28
5.1 Distribuição de microplásticos na praia.....	28
5.2 Características dos microplásticos na praia de Paranapuã.....	31
5.3 Sazonalidade de microplásticos na praia de Paranapuã.....	33
6. Conclusão.....	33
7. Referências bibliográficas.....	34

Capítulo 3: Toxicidade de pellets de plástico para embriões de mexilhão marrom *Perna perna*

1. Introdução.....	40
2. Objetivos.....	43
3. Material e métodos.....	44
3.1 Área de coleta.....	44
3.2 Experimentos.....	44
3.2.1 Experimento I: Comparação de metodologias.....	45
3.2.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia.....	47
3.3 Teste de toxicidade.....	47
3.4 Análise dos dados.....	50
4. Resultados.....	51
4.1 Experimento I: Comparação de metodologias.....	51
4.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia.....	52
5. Discussão.....	54
5.1 Experimento I: Comparação de metodologias.....	54
5.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia.....	56
6. Conclusão.....	57
7. Referências bibliográficas.....	58
Capítulo 4: Considerações finais	
1. Principais conclusões e aplicações do conhecimento.....	65
2. Futuros estudos.....	66
3. Referências bibliográficas.....	67

Capítulo 1: O problema da contaminação de ambientes marinhos por plásticos

1.INTRODUÇÃO

As atividades humanas criam resíduos que, quando não são tratados e descartados adequadamente, geram poluentes podendo provocar efeitos deletérios ao meio ambiente. Poluição é a introdução de substâncias nocivas aos seres vivos e que alteram o meio ambiente, essas substâncias podem ser naturais ou artificiais em concentrações superiores às encontradas naturalmente no meio ambiente. Existem diversas categorias de poluentes que são produzidos por diferentes fontes, possuem diferentes toxicidades e podem representar diferentes riscos aos ecossistemas. Entre os principais poluentes encontrados no ambiente marinho estão os fertilizantes, agrotóxicos, óleos, metais, poluentes orgânicos persistentes (POPs), toxinas produzidas por organismos e o plástico (ISLAM & TANAKA, 2004).

Os oceanos são muitas vezes o destino final de resíduos, lixo e poluentes produzidos pela sociedade. As principais fontes de poluentes são de origem doméstica, industriais, atividades portuárias e agrícolas (ISLAM & TANAKA, 2004). As regiões costeiras apresentam grande concentrações urbanas que favorecem a presença de atividades antrópicas e consequentemente maiores descartes de poluentes para os oceanos adjacentes, no entanto a origem dos poluentes não se restringe apenas as áreas costeiras, muitas atividades poluentes são realizadas no interior do continente e também alcançam os oceanos através da drenagem das bacias hidrográficas e carregados pela atmosfera (DERRAIK, 2002; JAMBECK *et al.*, 2015). Não existe área no planeta que não seja afetada pela influência humana (HALPERN *et al.*, 2008).

O plástico tem recebido uma maior atenção nas últimas décadas com evidência de seu aumento no ambiente marinho correspondendo de 60% a 80% do lixo encontrado nestes ambientes (DERRAIK, 2002; ISLAM & TANAKA, 2004; MOORE, 2008). São compostos persistentes no ambiente, podendo levar de 3 a 10 anos para desaparecerem, entretanto, esse período pode ser superior caso aditivos sejam incorporados ao plástico podendo aumentar para 30 a 50 anos seu tempo no ambiente

(DERRAIK, 2002). A exposição à radiação UV, as propriedades hidrolíticas da água, as propriedades oxidantes e a atividade microbiana contribuem para a degradação do plástico (MOORE, 2008; WILCOX *et al.*, 2015). Existem diferentes polímeros plásticos, os mais utilizados são o polipropileno (PP) e o polietileno (PE) que junto com o policloreto de vinilo (PVC), poliestireno (PS) e polietileno tereftalato (PET) correspondem a 90% da demanda de plástico (ANDRADY & NEAL, 2009).

O plástico é um importante componente de diversos materiais e utensílios da sociedade moderna, é usado nas mais diversas aplicações, principalmente na embalagem de alimentos, sacolas plásticas, tubulações, brinquedos, mobília, indústria automotiva, vestuário, saúde pública e etc. O plástico também é utilizado para melhorar a performance de produtos e reduzir custos e sua ampla utilização deve-se as suas características de versatilidade, baixo custo, durabilidade, leveza e rigidez (ANDRADY & NEAL, 2009). As atividades pesqueiras também utilizam grandes quantidades de plástico, principalmente em linhas, redes e cordas e muitos desses materiais são descartados ou perdidos nos oceanos contribuindo como uma fonte de plásticos (PRUTER, 1987).

Os benefícios que os plásticos trazem à vida moderna têm contribuído para um aumento contínuo em seu uso, conseqüentemente gerando um maior descarte deste no ambiente, causando diversos problemas ambientais. Seu acúmulo em praias frequentadas para recreação traz prejuízos para o turismo e atividades comerciais relacionadas, além de danos nas atividades pesqueiras e navais e podem gerar riscos à saúde humana (MOORE, 2008; GREGORY, 2009). Os plásticos também representam um grande risco à biodiversidade marinha. Animais podem ficar presos ao plástico e morrer por afogamento, estrangulamento ou pela redução na eficiência na alimentação (GREGORY, 2009). A ingestão de plástico por organismos marinhos é comum pois vários organismos confundem plástico com suas presas naturais (MOORE, 2008). A ingestão de plástico pode causar diminuição da alimentação, diminuição nas taxas hormonais e reprodutivas, causar ferimentos internos que podem levar o animal a morte (DERRAIK, 2002; MOORE, 2008). Já foram reportados efeitos negativos causados por plásticos em uma grande diversidade de organismos marinhos, como peixes (POSSATTO *et al.*, 2011; ROCHMAN *et al.*, 2013), répteis (TOURINHO *et al.*, 2010), aves (WILCOX *et al.*, 2015), mamíferos (LUSCHER *et al.*, 2015) e invertebrados (VAN CAUWENBERGHE *et al.*, 2015). Os relatos de espécies

que ingerem plástico estão aumentando, e estudos sugerem que até 2050, 99% das espécies de aves marinhas estarão ingerindo plástico (WILCOX *et al.*, 2015). Além disso, detritos de plástico à deriva nos oceanos podem funcionar como substrato e vetor para a dispersão de organismos invasores (MAJER *et al.*, 2012). Ao afundar pode trazer prejuízos à fauna bentônica pois sua interação com o sedimento pode causar alterações nas trocas gasosas do sedimento e podem acumular e alterar características de ambientes sensíveis e responsáveis por serem berçários de espécies (MOORE, 2008).

Nos oceanos os plásticos acumulam principalmente em zonas de convergências e nos centros dos giros oceânicos formados pelo movimento da Terra, correntes marinhas e os ventos (LAIST, 1987; ERIKSEN *et al.*, 2013). São 5 os principais giros oceânicos: giros presentes no oceano Pacífico, no oceano Atlântico e no oceano Índico (SIGLER, 2014). A superfície dos oceanos apresenta uma quantidade elevada de plástico, mas inferior às previstas em modelos, mostrando que outros fatores de remoção atuam no destino final do plástico (ERIKSEN *et al.*, 2014). Além da degradação biológica, fotoquímica e por outros processos intempéricos, os plásticos afundam devido às propriedades do seu polímero ou por organismos ou substâncias aderidas que alteram sua densidade e quantidade nos oceanos (ERIKSEN *et al.*, 2014). Detritos de plástico são encontrados em todos os ambientes marinhos, dentre eles ambientes sensíveis de extrema importância como manguezais (MOHAMED & OBBARD, 2014), recifes de corais (HALL *et al.*, 2015) e regiões insulares com elevado endemismo (IVAR DO SUL *et al.*, 2014). No entanto, o sedimento da praia continua sendo o principal destino final do plástico depois de diversos impactos causados durante o seu ciclo de vida (ERIKSEN *et al.*, 2014).

Os plásticos encontrados no ambiente marinho podem ser divididos em categorias relacionadas ao seu tamanho, entre eles: nanoplásticos, microplásticos, mesoplásticos e macroplásticos (COSTA *et al.* 2016). No entanto, não existe um consenso entre os autores sobre essa classificação e os limites de tamanho para cada categoria, muitos trabalhos simplificam essa classificação e utilizam apenas a classificação de macroplásticos e microplásticos (BARNES *et al.*, 2009), porém estudos com nanoplásticos têm aumentado recentemente e demonstrado efeitos mais complexos (COSTA *et al.*, 2016). Os microplásticos são partículas plásticas de tamanho entre 1 μ m e 5 mm (ANDRADY, 2011; DESFORGES *et al.*, 2014) e seus

efeitos podem ser mais graves do que os observados em partículas maiores, pois além de efeitos agudos, são responsáveis por uma maior diversidade de efeitos crônicos que ainda não são completamente compreendidos e que podem levar a graves desequilíbrios ecológicos (WRIGHT *et al.*, 2013; IVAR DO SUL & COSTA, 2014). Nos últimos anos, o número de trabalhos publicados (WRIGHT *et al.*, 2013; IVAR DO SUL & COSTA, 2014; ROCHA-SANTOS & DUARTE, 2015) com microplásticos têm aumentado mostrando a grande extensão dos efeitos negativos no ambiente marinho e com o objetivo de compreender uma dinâmica complexa desse contaminante (IVAR DO SUL & COSTA, 2014). Além da fragmentação de partículas maiores de plástico, os microplásticos também podem ser formados por pellets de resina plástica (OGATA *et al.*, 2009) e microesferas de plásticos utilizadas em produtos de higiene e cosméticos (FENDALL & SEWELL, 2009).

Assim como detritos de plástico grandes, microplásticos são uma grande ameaça à biodiversidade aquática. As partículas de microplásticos podem ser ingeridos por invertebrados da base da teia trófica marinha e transferidos para níveis tróficos superiores (SETÄLÄ *et al.*, 2014). Além disso, microplásticos podem acumular poluentes persistentes orgânicos (POPs) em concentrações superiores às aquelas encontradas no ambiente aquático (MATO *et al.*, 2001). POPs são considerados uma grande ameaça ao meio ambiente e à saúde humana (THOMPSON *et al.*, 2009), tendo sido assinado em 2001 um tratado internacional (Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes) com objetivo principal de proteção da saúde humana e do meio ambiente dos efeitos nocivos oriundos dos POPs. O Brasil ratificou a Convenção em 16 de junho de 2004 e através do Decreto Executivo nº 5.472, de 20 de junho de 2005, promulgou o texto da Convenção (BRASIL, 2005).

Existe a necessidade do aumento do conhecimento de microplásticos no Atlântico Sul já que a maioria dos trabalhos publicados foram realizados no hemisfério norte (IVAR DO SUL & COSTA, 2014). A poluição por microplásticos no ambiente marinho tem aumentado nas últimas décadas (BARNES *et al.*, 2009; IVAR DO SUL & COSTA, 2014) e já foram reportados para a região costeira do Brasil (FISNER *et al.*, 2013; IVAR DO SUL *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2014; TURRA *et al.*, 2014; TANIGUCHI *et al.*, 2016). As publicações que abordam a presença de microplásticos em praias localizadas em áreas urbanas que possuem o acesso restrito são escassas, sendo uma oportunidade para a avaliação do efeito da distribuição de microplásticos já que

não existe a contribuição da entrada de microplásticos pelos frequentadores e remoção por processos de limpeza da praia realizados pela sociedade. O estudo contribuirá para o entendimento da dinâmica e efeitos dos microplásticos na região costeira brasileira e poderá contribuir para o desenvolvimento de políticas públicas para uma melhor gestão deste tipo de poluição. O presente estudo foi desenvolvido na praia de Paranapuã, inserida no Parque Estadual Xixová-Japuí (PEXJ) possuindo acesso restrito com objetivo da preservação da biodiversidade (SÃO PAULO, 2010). A praia está localizada na baía de Santos no litoral do estado de São Paulo, uma região com alta concentração urbana e com atividades industriais e portuárias (PINHEIRO *et al.*, 2008).

Nesta dissertação foi avaliado (1) a variação temporal e espacial da contaminação por microplásticos de uma praia localizada em uma área de proteção marinha costeira do estado de São Paulo, e (2) a toxicidade de pellets novos e coletados na praia para embriões de mexilhão marrom *Perna perna* (Linnaeus, 1798) (Mytiloida: Mytilidae). O entendimento do comportamento dos microplásticos na praia pode vir a colaborar para uma melhor gestão desse poluente, além da poluição marinha e costeira ser responsável pela maioria das alterações na estrutura e função das comunidades de fitoplâncton, zooplâncton, bentônica e de peixes e os resultados dessas alterações podem causar desequilíbrios ecológicos, risco a biodiversidade e prejuízos econômicos e na saúde pública (ISLAM & TANAK, 2004).

2. OBJETIVOS DA PESQUISA

2.1 Objetivo geral

Avaliar a contaminação e toxicidade de microplásticos em uma área de proteção marinha costeira.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever a distribuição e características de microplásticos em regiões diferentes do perfil da praia;
- Identificar fatores ambientais que possam contribuir com a distribuição de microplásticos na praia;
- Avaliar o efeito da toxicidade de pellets plásticos encontrados na praia no desenvolvimento embriolarval do mexilhão *Perna perna*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADY, A.L.; NEAL, M.A. Applications and societal benefits of plastics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.1977–1984. 2009.

ANDRADY, A.L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p.1596-160. 2011.

BARNES, D.K.A.; GALGANI, F.; THOMPSON, R.C.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, p.1985-1998. 2009.

BRASIL. Decreto Executivo nº 5.472, de 20 de junho de 2005. **Diário Oficial da União - Seção 1**. Brasília, DF, 21 junho de 2005. 2005.

COSTA, J.P.; SANTOS, P.S.M.; DUARTE, A.C.; ROCHA-SANTOS, T. (Nano)plastics in the environment - Sources, fates and effects. **Science of the total environment**, v.566-567, p.15-56. 2016.

DERRAIK, J.G.B. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.842-852. 2002.

DESFORGES, J.P.W.; GALBRAITH, M.; DANGERFIELD, N.; ROSS, P.S. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. **Marine Pollution Bulletin**, v.79, p.94-99. 2014.

ERIKSEN, M.; MAXIMENKO, N.; THIE, M.; CUMMINS, A.; LATTIN, G.; WILSON, S.; HAFNER, J.; ZELLERS, A.; RIFMAN, S. Plastic pollution in the South Pacific subtropical gyre. **Marine Pollution Bulletin**, v.68, n1-2, p.71-76. 2013.

ERIKSEN, M.; LEBRETON, L.C.M.; CARSON, H.S.; THIEL, M.; MOORE, C.J. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PLoS ONE**, v.9, n.12. 2014.

FENDALL, L.S.; SEWELL, M.A. Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. **Marine Pollution Bulletin**, v.58, p.1225-1228. 2009.

FISNER, M.; TANIGUCHI, S.; MOREIRA, F.; BÍCEGO, M.C.; TURRA, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plastic pellets: Variability in the concentration and composition at different sediment depths in a sandy beach. **Marine Pollution Bulletin**, v.70, p.219-226. 2013.

GREGORY, M.R. Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2013-2025. 2009.

HALL, N.M.; BERRY, K.L.E.; RINTOUL, L.; HOOGENBOOM, M.O. Microplastic ingestion by scleractinian corals. **Marine Biology**, v.162, p.725-732. 2015.

HALPERN, B.S.; WALBRIDGE, S.; SELKOE, K.A.; KAPPEL, C.V.; MICHELI, F.; D'AGROSA, C.; BRUNO, J.F.; CASEY, K.S.; EBERT, C.; FOX, H.E.; FUJITA, R.; HEINEMANN, D.; LENIHAN, H.S.; MADIN, E.M.P.; PERRY, M.T.; SELIG, E.R.; SPALDING, M.; STENECK, R.; WATSON, R. A global map of human impact on marine ecosystems. **Science**, v.319, p.948-952. 2008.

ISLAM, M.S.; TANAKA, M. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p.624-649. 2004.

IVAR DO SUL, J.A.; COSTA, M.F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, v.185, p.352-364. 2014.

IVAR DO SUL, J.A.; COSTA, M.F.; FILLMANN, G. Microplastics in the pelagic environment around oceanic islands of the Western Tropical Atlantic Ocean. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.225. 2014.

JAMBECK, J.R.; GEYER, R.; WILCOX, C.; SIEGLER, T.R.; PERRYMAN, M.; ANDRADY, A.; NARAYAN, R.; LAW, K.L. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, v.347, n.6223, p.768-771. 2015.

LAIST, D.W. Overview of the biological effects of lost and discarded plastic debris in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin** v,18, p.319-326. 1987.

LIMA, A.R.A.; COSTA, M.F.; BARLETTA, M. Distribution patterns of microplastics within the plankton of a tropical estuary. **Environmental Research**, v.132, p.146-155. 2014.

LUSCHER, A.L.; HERNANDEZ-MILIAN, G.; O'BRIEN, J.; BERROW, S.; O'CONNOR, I.; OFFICER, R. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. **Environmental Pollution**, v.199, p.185-191. 2015

MAJER, A.P.; VEDOLIN, M.C.; TURRA, A. Plastic pellets as oviposition site and means of dispersal for the ocean-skater insect *Halobates*. **Marine Pollution Bulletin**, v.64, p.1143-1147. 2012.

MATO, Y.; ISOBE, T.; TAKADA, H.; KANEHIRO, H.; OHTAKE, C.; KAMINUMA, T. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. **Environmental Science Technology**, v.35, p.318-324. 2001.

MOHAMED, N.H.; OBBARD, J.P. Microplastics in Singapore's coastal mangrove ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, v.79, p.278-283. 2014.

MOORE, C.J. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. **Environmental Research**, v.108, p.131-139. 2008.

OGATA, Y.; TAKADA, H.; MIZUKAWA, K.; HIRAI, H.; IWASA, S.; ENDO, S.; MATO, Y.; SAHA, M.; OKUDA, K.; NAKASHIMA, A.; MURAKAMI, M.; ZURCHER, N.; BOOYATUMANONDO, R.; ZAKARIA, M.P.; DUNG, L.Q.; GORDON, M.; MIGUEZ, C.;

SUZUKI, S.; MOORE, C.; KARAPANAGIOTI, H.K.; WEERTS, S., MCCLURG, T., BURREN, E., SMITH, W., VAN VELKENBURG, M., LANG, J.S., LANG, R.C., LAURSEN, D.; DANNER, B.; STEWARDSON, N.; THOMPSON, R.C. International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal Waters. 1. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs. **Marine Pollution Bulletin**, v.58, p.1437-1446. 2009.

PINHEIRO, M.A.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C.; FONTES, R.F.C. Introdução ao Panorama Ambiental da Baixada Santista. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M.A.A.; FONTES, R.F.C. **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. 1. ed. São Vicente: Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista. P. 1-5. 2008

POSSATTO, F.E.; BARLETTA, M.; COSTA, M.F.; IVAR DO SUL, J.A.; DANTAS, D.V. Plastic debris ingestion by marine catfish: An unexpected fisheries impact. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, p.1098-1102. 2011.

PRUTER, A.T. Sources, quantities and distribution of persistent plastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v.18, p.385-310. 1987.

ROCHA-SANTOS, T.; DUARTE, A.C. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v.65, p.47-53. 2015.

ROCHMAN, C.M.; HOH, E.; KUROBE, T.; TEH, S.J. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. **Scientific Reports**, v.3. 2013.

SÃO PAULO. **Plano de Manejo do Parque Estadual Xixová-Japuí**. Fundação Florestal do Estado de São Paulo. São Paulo, 572p. 2010.

SETÄLÄ, O.; FLEMING-LEHTINEN, V.; LEHTINIEMI, M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. **Environmental Pollution**, v.185, p.77-83. 2014.

SIGLER, M. The effects of plastic pollution on aquatic wildlife: current situations and future solutions. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.225. 2014.

TANIGUCHI, S.; COLABUONA, F.I.; DIAS, P.S.; OLIVEIRA, R.; FISNER, M.; TURRA, A.; IZAR, G.M.; ABESSA, D.M.S.; SAHA, M.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; TAKADA, H.; LOURENÇO, R.A.; MAGALHÃES, C.A.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE,

R.C. Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.106, p.87-94. 2016.

THOMPSON, R.C.; MOORE, C.J.; SAAL, F.S.; SWAN, S.H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2153-2166. 2009.

TOURINHO, P.S.; IVAR DO SUL, J.A.; FILMANN, G. Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? **Marine Pollution Bulletin**, v.60, p.396-401. 2010.

TURRA, A.; MANZANO, A.B.; DIAS, R.J.S.; MAHIQUES, M.M.; BARBOSA, L.; BALTHAZAR-SILVA, D.; MOREIRA, F.T. Three-dimensional distribution of plastic pellets in sandy beaches: shifting paradigms. **Scientific Reports**, v.4. 2014.

VAN CAUWENBERGHE, L.; CLAESSENS, M.; VANDEGEHUCHTE, M.B.; JANSSEN, C.R. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. **Environmental Pollution**, v.199, p.10-17. 2015.

WILCOX, C.; SEBILLE, E.V.; HARDESTY, B.D. Threat of plastic pollution to seabirds is global, pervasive, and increasing. **PNAS**, v.112, n.38, p.11899-11904. 2015.

WRIGHT, S.L.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. **Environmental Pollution**, v.178, p.483-492. 2013.

Capítulo 2: Avaliação da contaminação por microplásticos em uma área de proteção marinha costeira

1. INTRODUÇÃO

Os microplásticos são partículas de plásticos de tamanho entre 1µm e 5mm (DESFORGES *et al.*, 2014) originados de diferentes tipos de polímeros que, devido às características como tamanho pequeno, baixa densidade, composição e persistência no ambiente contribuem para sua dispersão global através das correntes marinhas (ENDO *et al.*, 2005; OGATA *et al.*, 2009; HESKETT *et al.*, 2012). As duas principais fontes de microplásticos no ambiente marinho são o descarte acidental da matéria prima para a produção de produtos de plástico (conhecidos como pellets de resina plástica) e a fragmentação de partículas maiores de plástico no ambiente (IVAR DO SUL *et al.*, 2014). Os pellets são geralmente pequenos grânulos com a forma de um cilindro ou disco com diâmetro de poucos milímetros, que são descartadas no ambiente acidentalmente tanto durante sua manufatura como pelo transporte por navios e a utilização em atividades portuárias (ANDRADY, 2011).

Como a maioria dos microplásticos encontrados são menos densos que a água do mar, permanecem sobre a coluna da água. Porém há um crescente número de relatos de microplásticos encontrados tanto no fundo do mar, como submersos na coluna da água, sendo assim transportados por correntes de fundo para outras regiões (ENGLER, 2012). Os microplásticos compostos de polímero mais denso que a água, como por exemplo PVC e PET, tendem a afundar no local próximo à sua entrada no ambiente marinho (IVAR DO SUL & COSTA, 2014).

São encontrados no ambiente marinho microplásticos de diferentes polímeros e características físicas que irão refletir no seu comportamento na coluna da água e nas suas concentrações (CHUBARENKO *et al.*, 2016). Já foram reportadas regiões de concentrações de microplásticos na coluna da água variando de 257,9 a 1215 partículas por m³ na costa da África do Sul (NEL & FRONEMAN, 2015) e 0,15 partículas por m³ nas águas do mar mediterrâneo (LUCIA *et al.*, 2014). O predomínio do tipo de microplástico também possui uma grande variação nas águas superficiais, com regiões de predomínio de fragmentos, pellets, isopor ou fibras.

As áreas de deposição, como praias arenosas, são os principais destinos finais para os microplásticos no ambiente marinho (TURRA *et al.*, 2014). Após sua deposição na areia da praia, os microplásticos podem representar riscos ecológicos, entre eles: alterações na transferência de calor, com aquecimento mais lento e temperaturas máximas do sedimento menores do que sedimentos sem microplásticos (CARSON *et al.*, 2011). Essas alterações promovem efeitos potenciais para organismos que vivem na praia, incluindo tartarugas marinhas, onde a temperatura do sedimento influencia na determinação do sexo (EWERT *et al.*, 1994); os microplásticos no sedimento podem levar hipóxia e anoxia induzida pela inibição das trocas gasosas entre a água intersticial e podem criar sedimentos artificiais de maior dureza (GREGORY, 2009); e podem ser ingeridos pela fauna que habita esse sedimento como poliquetas (BESSELING *et al.*, 2013). Tempestades e ressacas são responsáveis pelo soterramento dos microplásticos em camadas mais profundas, sendo encontrados em camadas de até 2 metros de profundidade (TURRA *et al.*, 2014).

Os microplásticos são encontrados em praias de áreas urbanizadas e em praias de áreas isoladas e protegidas (BATZAN *et al.*, 2014), tanto na região de linha de maré alta como no supralitoral. Características como a orientação da praia, direção de incidência do vento e correntes marinhas favorecem o acúmulo de microplásticos no sedimento (BROWNE *et al.*, 2010; BATZAN *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2015). Além disso, características da ocupação urbana ao redor da praia como modo de vida da população, atividades industriais e portuárias também são fatores responsáveis pelo acúmulo de microplásticos na praia e principalmente pela composição destes polímeros (BROWNE *et al.*, 2010; TURRA *et al.*, 2014).

Estudos tem demonstrado a presença de microplásticos em diversas praias no mundo em países como Bélgica (CLAESSENS *et al.*, 2011), Portugal (MARTINS & SOBRAL, 2011), Estados Unidos (VAN *et al.*, 2012), Japão (KUSUI & NODA, 2003), China (YU *et al.*, 2016), Índia (JAYASIRI *et al.*, 2013) e África do Sul (NEL & FRONEMAN, 2015). No Brasil, a distribuição de microplásticos também já foi relatada em diversas praias da costa brasileira, como em praias do litoral do estado de São Paulo (TANIGUCHI *et al.*, 2016), nas praias da baía da Guanabara no estado do Rio de Janeiro (CARVALHO & NETO, 2016), em Pernambuco (COSTA *et al.*, 2010) e também em regiões insulares do Brasil (IVAR DO SUL *et al.*, 2014). No entanto, ainda

são poucos os estudos que avaliam os microplásticos em praias não frequentadas por humanos.

Devido à baía de Santos apresentar uma alta concentração urbana, com atividades industriais e portuárias, as praias que compõem a região têm alto potencial de acumular microplásticos, motivando a escolha da região para o estudo. As praias da região também são utilizadas para o turismo e recreação, e o acúmulo de microplásticos, além de trazer problemas ecológicos, podem também representar prejuízos econômicos e de saúde pública para os frequentadores da região, além da região também apresentar áreas protegidas com acesso restrito as praias. As avaliações em praias possuem um baixo custo e são efetivas, permitindo também a representação do acúmulo da exposição e interação entre as águas costeiras e áreas superficiais costeiras (YU *et al.*, 2016).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste capítulo foi avaliar a contaminação por microplásticos em uma praia de acesso restrito em uma área de proteção marinha costeira. Para atingir o objetivo principal, este estudo teve como objetivos específicos:

- Descrever a distribuição e características de microplásticos em regiões diferentes do perfil da praia;
- Identificar fatores ambientais que possam contribuir com a distribuição de microplásticos na praia;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido na praia de Paranapuã (23°59'1,12"S e 46°22'49,10"O), localizada na baía de Santos, pertencente a Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), no litoral centro-sul do Estado de São Paulo (Figura 1). A RMBS é composta pelos municípios de Bertioga, Cubatão, Guarujá, Itanhaém, Mongaguá, Peruíbe, Praia Grande, Santos e São Vicente. Possui elevado grau de contaminação ambiental, principalmente o município de Cubatão por possuir um dos mais expressivos pólos industriais do Brasil, de grande importância na área de siderurgia e petroquímica. Essa região é conectada por rios e canais à baía de Santos, que além de receber poluentes industriais, sofre com o despejo de esgoto, resíduos sólidos e impactos das atividades portuárias do porto de Santos, que é considerado o maior da América Latina (PINHEIRO *et al.*, 2008). A região possui uma grande concentração demográfica e recebe um número expressivo de turistas em épocas de feriado e férias, além da pesca também contribuir como uma atividade de importância para a região.

A baía de Santos é um ambiente marinho delimitado a oeste pela ponta de Itaipú no município de Praia Grande, a leste pela ponta do Monduba no município de Guarujá e pela ilha de São Vicente ao norte onde estão os municípios de Santos e São Vicente (PERINOTTO *et al.*, 2011). Possui uma circulação complexa, com influência da maré, ventos e das diferenças da densidade, determinado principalmente pela salinidade (HARARI & GORDON, 2001). A região apresenta um regime de micromarés semi-diurna com amplitudes variando entre 0,3 a 1,2 metros (PINHEIRO *et al.*, 2013). Na região interna da baía de Santos e no sistema estuarino adjacente, a maré é um importante componente responsável pela circulação local, no entanto eventos meteorológicos extremos podem gerar alterações na circulação local (PERINOTTO, 2010).

Figura 1 - Localização da área de estudo (A, Brasil com destaque para o estado de São Paulo e a cidade de Santos; B, região da baía de Santos, com indicação da praia de Paranapuã e a praia de Itaquitanduva) (modificado de GoogleMaps).

Segundo a classificação de Köppen, a região possui clima do tipo Af com clima tropical úmido de temperatura média de 22°C e índice de pluviosidade média anual de 2350mm (MOURA *et al.*, 2007). A região apresenta um comportamento sazonal para os ventos, com médias de ventos menos intensos em junho e mais intensos em outubro, além da alteração da direção dos ventos nos meses de inverno (SÃO PAULO, 2010).

Na região oeste da baía de Santos, está localizado o Parque Estadual Xixová-Japuí (PEXJ) onde está inserida a praia de Paranapuã. Criado no ano de 1993, abrange 901 hectares, sendo 600 hectares terrestres e 301 hectares marinhos, nos municípios de São Vicente e Praia Grande. Possui um importante papel na preservação da biodiversidade, possuindo fragmentos de mata atlântica preservados

e áreas de descanso e alimentação de aves, entre essas, espécies migratórias e ameaçadas de extinção (SÃO PAULO, 2010). Dentre as principais atividades desenvolvidas no PEXJ estão sua proteção, o uso público para contemplação da natureza e educação ambiental através de atividades pontuais atendidas por monitores ambientais e a sua utilização para pesquisas científicas (SÃO PAULO, 2010). O PEXJ está numa área urbana, exposto a fontes externas de contaminação que podem afetar sua qualidade ambiental (ARAÚJO *et al.*, 2013).

A praia de Paranapuã (Figura 2) possui 486,1 metros de extensão, é uma praia arenosa com granulometria que varia de fina no período do verão a muito fina no período do inverno com uma baixa declividade e hidrodinamismo tendo seu acesso restrito e controlado pelo PEXJ (PERINOTTO, 2010). Devido à suas características, esta praia é sugerida como uma área prioritária de proteção em caso de acidentes com óleo na região já que as suas características favoreceriam o acúmulo e a extensão dos impactos (PERINOTTO, 2010).

Figura 2 - Praia de Paranapuã.

3.2 Procedimentos de amostragem

As coletas ocorreram na praia de Paranapuã entre o período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2015. Foram realizadas coletas em todo os meses desse período (exceto novembro de 2014) numa quantidade que variou entre 4 coletas a 1 coleta por mês. Para avaliar a distribuição dos microplásticos na praia, as coletas foram realizadas no horário de maré baixa em 2 regiões do perfil da praia caracterizadas pelo acúmulo de detritos: na linha de maré alta, onde estudos mostram que há a maior concentração de resíduos (GREGORY, 2009), e na região do supralitoral. No total foram realizadas 22 coletas no período de 1 ano, com 3 amostragens por coleta para cada perfil de praia (linha de maré alta e supralitoral) (n=6 amostras/coleta), sendo que em 2 dias, apenas o supralitoral foi amostrado (n=3) realizando em 1 desses dias uma amostragem a mais (n=4), totalizando um valor de 127 amostragens (60 amostragens na linha de maré alta e 67 amostragens no supralitoral).

Para a realização das coletas, foi utilizado um quadrado amostral de 1 m² para demarcar a área de amostragem e coleta. Para cada dia de coleta, foram selecionados aleatoriamente em toda a extensão da praia 3 locais na região de linha de maré alta e 3 locais na região de supralitoral para a montagem do quadrado amostral. Primeiramente o material orgânico presente no interior do quadrado de amostragem é retirado manualmente e após é utilizada a metodologia de flotação em água do mar para separar os microplásticos do sedimento a partir do princípio que a maioria dos polímeros plásticos tendem a flutuar na água do mar devido a sua baixa densidade específica (MANZANO, 2009; HIDALGO-RUZ *et al.*, 2012), com auxílio de uma pá, uma porção da camada superficial da areia (aproximadamente 5 cm de profundidade) do interior do quadrado de amostragem é coletada e transferida para um balde pois, segundo CARSON *et al.* (2011), a camada superficial da areia concentra mais de 95% dos detritos plásticos nesse ambiente. Água do mar é adicionada ao balde com a areia em um volume de 1,5 a 2 vezes maior do que o volume de areia do balde e então o conteúdo do balde é agitado vigorosamente com auxílio de uma pá, e em seguida deixado em repouso para a decantação do sedimento. Após a decantação do sedimento, os microplásticos presentes no sedimento flutuam na superfície da água do mar, e são coletados com o auxílio de uma pequena jarra. A água com microplásticos coletada na superfície do balde é então filtrada em um filtro de café e todo o processo é repetido novamente até que todo o sedimento superficial do

quadrado seja amostrado. Os filtros com os microplásticos coletados são identificados e transportados ao laboratório onde são abertos e secos a temperatura ambiente. Após secos os microplásticos presentes no filtro são separados manualmente de outras partículas e fragmentos orgânicos presentes no filtro e são acondicionados por coleta em frascos de vidro para posterior análise.

3.3 Análises dos microplásticos

No laboratório, os microplásticos foram examinados com auxílio de pinças e placas de petri e caracterizados quanto a sua dimensão, peso, coloração, estado de degradação e tipo de resíduo. Para isso, as três dimensões principais (maior comprimento, menor comprimento, e espessura) de cada partícula de microplástico foram medidas com um paquímetro digital e em seguida pesadas em balança de precisão com 5 casas decimais e após foi aplicado a metodologia utilizada por MANZANO (2009) para classificar o tipo do microplástico (fragmento, pellet, fibra ou isopor), o seu estado de degradação entre bom ou degradado (quando existiu desgastes provocados pelo intemperismo) e sua coloração através da comparação com uma tabela universal das 256 combinações de RGB (Red/Green/Blue). Foram considerados microplásticos que apresentaram em pelo menos 2 das suas 3 dimensões valores inferiores a 5 mm, incluindo dessa maneira fragmentos, pellets e fibras que podem apresentar um comprimento superior a 5 mm em uma de suas dimensões (BAZTAN *et al.*, 2014).

Para a identificação da composição do polímero dos microplásticos, foram selecionadas 33 partículas aleatoriamente entre todas as amostras. A análise dessas partículas foi realizada através do Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) classificando-os nos principais tipos de polímeros (THOMPSON *et al.*, 2004). A vantagem da análise no FT-IR é o fato de não ser destrutiva, possibilitando a identificação dos tipos de polímeros e a preservação da amostra para futuras análises. Foi utilizado um FT-IR da marca Thermos e modelo Nicolet IS5 com a determinação do tipo de polímero através da comparação dos espectros gerados de cada partícula com espectros de polímeros padrão armazenados na base de dados que acompanha o software do equipamento.

Figura 3 - Espectrofotômetro de Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).

3.4 Obtenção de dados ambientais complementares

Dados ambientais complementares foram utilizados para a avaliação da influência no acúmulo de microplásticos na praia de Paranapuã. Para isso dados da região da baía de Santos para o período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2015 de amplitude de maré, altura das ondas, temperatura, umidade e direção das ondas foram obtidos do centro de hidrografia da marinha a partir do Programa Nacional de Boias - Boia de Santos (PNBOIA) e os dados médios nos 6 dias anteriores a coleta de velocidade e direção dos ventos foram obtidos da estação meteorológica da base aérea de Santos (BAST).

3.5 Análise dos dados

Os dados gerados para cada partícula de plástico e os dados ambientais foram concatenados em uma matriz de dados única que foi utilizada para o cálculo de novas variáveis e subsequente análise estatística. Para cada partícula de plástico foi calculado seu volume através da multiplicação das três dimensões medidas para cada

partícula, e sua densidade, dividindo o peso pelo volume estimado de cada partícula. Para os dados ambientais, foram calculadas as médias de velocidade de vento (km/h), direção do vento (azimute geográfico), a média dos níveis mínimo, máximo, médio e amplitude máxima diária de maré (m) para um período de seis dias contados imediatamente antes da data de amostragem. A relação entre a ocorrência de microplásticos e variáveis ambientais foi explorada por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) com a contagem de microplásticos como a variável resposta, e as seguintes variáveis como preditores: velocidade e direção do vento, níveis mínimo, máximo, médio e amplitude de maré, e seção da praia (linha de maré ou supralitoral). Um modelo inicial Poisson foi construído e superdispersão foi detectada, por isso, foi avaliado dois procedimentos para lidar com a superdispersão: correção dos erros padrão utilizando um modelo de quasi-GLM (a opção GLM "quasipoisson" em R), e a construção de um modelo GLM binomial negativo (nbGLM). A análise visual dos resíduos, tanto para o modelo "quasipoisson" e os modelos binomial negativa foi feita, e o modelo binomial negativo foi escolhido como o modelo final, uma vez que não mostrou nenhum padrão sobre os resíduos. A verificação final da adequação do modelo nbGLM sobre o modelo de Poisson foi feita por meio de um teste da razão de verossimilhança para a dispersão dos dados (procedimento `odTest` do pacote `pscl` do programa R). A seleção do modelo foi feita por meio de queda sequencial de variáveis explicativas com o comando R `drop1` e aplicando uma análise de teste de desvio comparando as diferenças para uma distribuição qui-quadrado. Todos os gráficos e análises estatísticas foram feitas em R usando os pacotes `ggplot2`, `mass` e `pscl`.

4. RESULTADOS

4.1 Concentração e distribuição de microplásticos na praia

Foram realizadas 127 coletas durante o período de monitoramento, correspondendo a 60 coletas na linha de maré alta e 67 na região do supralitoral. O valor total de microplásticos coletados durante o período de monitoramento foi de 600 microplásticos com uma concentração de 4,72 partículas por m^2 , sendo que na região da linha de maré alta foram 310 microplásticos com uma concentração de 5,16 partículas por m^2 e no supralitoral foram 290 microplásticos com uma concentração de 4,32 partículas por m^2 . O peso total dos microplásticos coletados no período de monitoramento foi de 20,693 gramas com uma concentração de 0,162 g/m^2 dos quais 8,86 gramas e uma concentração de 0,147 g/m^2 para a linha de maré e 11,82 g e uma concentração de 0,176 g/m^2 para o supralitoral. O volume total de microplástico coletado na praia durante o monitoramento foi de 51231,82 mm^3 com um volume de 403,447 mm^3/m^2 , sendo 20005,42 mm^3 e 333,423 mm^3/m^2 na linha de maré alta e 31226,4 mm^3 com um volume de 466,065 mm^3/m^2 no supralitoral.

Os resultados mostram uma tendência de distribuição de microplásticos por m^2 próxima entre a linha de maré alta e o supralitoral durante o período de monitoramento com algumas alternâncias durante o ano, no período entre maio e julho houve uma tendência de acúmulo maior na região da linha de maré e no período dos meses de verão houve uma tendência de alternância de acúmulo maior entre a linha de maré alta e o supralitoral (Figura 4). A distribuição peso e volume por m^2 durante monitoramento seguiu a mesma tendência observada das quantidades de partículas por m^2 (Figura 4).

Figura 4 - Distribuição dos valores de: A, densidade de partículas por m²; B, peso (g) por m² e C, volume (mm³) por m² durante o período de amostragem. Os pontos representam cada coleta com o traço vertical representando o erro padrão.

4.2 Características dos microplásticos

Os microplásticos apresentaram valores mínimos e máximos de peso (g), volume (mm³) e densidade (g/mm³) de 0,0001-1,88, 0,011-6551,97 e 0,007-4,414 respectivamente. Para a linha de maré, os valores mínimos e máximos de peso (g), volume (mm³) e densidade (g/mm³) foram de 0,0001-0,672, 1,220-2329,41, 0,0072 - 1,147, respectivamente e para o supralitoral os valores mínimos e máximos de peso (g), volume (mm³) e densidade (g/mm³) foram de 0,0001-1,880; 0,011-6551,97 e 0,008 -4,414, respectivamente. Não foi observada uma tendência de acúmulo de partículas com determinadas características entre as regiões amostradas durante o ano e sim uma alternância sendo encontrada em ambas as regiões partículas de diferentes características (Figura 5).

Os resultados mostram que o tamanho médio da partícula encontrado no sedimento varia durante o ano, não sendo observado um padrão de acúmulo do tamanho da partícula entre a linha de maré alta e o supralitoral. O tamanho médio das partículas encontradas na praia foi de 4,19 mm com tamanhos médios de sua maior dimensão de 6,79 mm e tamanhos médios da menor dimensão de 2,21 mm. Quando utilizamos o tamanho médio das partículas ou os valores médios mínimos das partículas, grande parte das partículas se adequam à classificação de microplásticos (<5mm), porém quando observamos apenas o valor da maior dimensão da partícula, muitas partículas não entrariam na classificação de tamanho de microplásticos, o que poderia não contabilizar fibras que podem apresentar valores superiores a 5 mm em uma de suas três dimensões.

Figura 5 - Distribuição dos valores de: A, peso (g); B, volume (mm³) e C, densidade das partículas (g/mm³) de microplásticos durante o período de amostragem. Os pontos representam cada coleta com o traço vertical representando o erro padrão.

Do total de microplásticos coletados durante o monitoramento (n=600), 69,7% foram pellets plásticos, 23,5% fragmentos plásticos, 6,6% foram fragmentos de isopor e 0,2% de fibras (Figura 6). Quanto a cor, houve um predomínio de microplásticos da cor branca (57%), seguido por pretos (11%), transparentes (8%) marrons (8%) e laranjas (7%), as demais cores corresponderam a 9% (Figura 6). A grande maioria dos microplásticos possuiu a condição degradada (88%) enquanto que 12% uma condição boa (Figura 6).

Figura 6 - Predomínio das características das partículas de microplásticos quanto ao seu tipo, coloração e condição de degradação.

Os resultados da análise do FT-IR indicaram que, do total de microplásticos analisados (n=33), a maioria foi composta de polietileno e polipropileno correspondendo a 43 % ao polímero plástico de polietileno (PE), 12 % ao polímero plástico de polipropileno (PP), 6% ao polímero plástico de poliestireno (PS) e 3% Acrilonitrila Butadieno Estireno (ABS) (Tabela 1). Um total de 12 partículas (36% do total) não conseguiram ser identificadas pelo aparelho, provavelmente devido ao estado de deterioração das mesmas, ou por estas serem compostas por misturas de polímeros ou por terem vários aditivos não identificados misturados aos polímeros.

Tabela 1 - Porcentagem de microplásticos analisados para cada polímero

Polímero	Porcentagem de Contribuição
Polietileno	43% (n= 14)
Polipropileno	12% (n= 4)
Poliestireno	6% (n= 2)
Acrilonitrila Butadieno Estireno	3% (n= 1)
Não identificado	36% (n= 12)

4.3 Fatores relacionados com o acúmulo de microplásticos

Os resultados da análise de GLM mostraram que o principal componente ambiental analisado responsável pelo acúmulo de microplásticos na praia foi a direção do vento (Tabela 2). Ventos de direção norte, nordeste e noroeste foram os responsáveis pela maior contribuição de microplásticos na praia e o peso de microplásticos por m² na praia foi observado em momento de vento nordeste (Figura 7). A intensidade da velocidade do vento no período de monitoramento teve maiores valores registrados para os ventos de Noroeste, no entanto a velocidade do vento não foi um fator que contribui significativamente para o acúmulo de microplásticos na praia (Figura 7).

Tabela 2 - Modelo linear generalizado (GLM) com distribuição binomial negativa da variável resposta (direção média do vento nos 6 dias anteriores à amostragem). Valores em negrito representam o nível de significância estatística.

Modelo	Resposta	Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	Z	p
GLM binomial negativo	Concentração de partículas	Intercepto	-0.464	0.79	-0.59	0.56
		Direção média do Vento nos 6 dias anteriores	0.013	0.005	2.52	0.01

Figura 7 - Dados do vento para os seis dias anteriores à cada amostragem de campo e os valores da densidade de microplásticos para todo o período de coleta. Cada vetor indica uma amostragem de campo e seu ângulo indica a direção média do vento. O comprimento dos vetores indica: A, densidade de microplásticos por m^2 encontrados na praia; B, peso médio das partículas; C, a velocidade média do vento nos seis dias anteriores à cada amostragem.

5. DISCUSSÃO

5.1 Distribuição de microplásticos na praia

A fonte de entrada de microplásticos na praia de Paranapuã é provavelmente através do mar, já que a praia possui acesso restrito à população, eliminando a entrada de microplásticos trazidos por seus frequentadores. Ao ser trazido pelo mar, os microplásticos se depositam primeiramente na linha de maré alta, uma região de caráter efêmero, dinâmico e sazonal (GREGORY, 2009; BATZAN *et al.*, 2014), a linha de maré alta pode ter uma curta duração sendo substituída pelo próximo ciclo de maré. No período entre os 2 picos de maré alta, os microplásticos que estão na linha de maré alta podem permanecer e uma parte pode ser transportada para o supralitoral através dos ventos. A próxima corrente marinha contribuirá trazendo mais microplásticos para a linha de maré e também poderá remover microplásticos acumulados nessa região fazendo com que eles retornem a baía de Santos. Uma vez no supralitoral, os ventos podem continuar contribuindo para o transporte dos microplásticos novamente para a linha de maré alta ou para a vegetação costeira que fica no pós-praia (GREGORY, 2009).

Os resultados mostraram que a direção do vento é o principal responsável pelo acúmulo de microplásticos na praia, sugerindo que a direção do vento também irá contribuir para o transporte de microplásticos entre regiões da praia, motivo pelo qual as concentrações de microplásticos são muito próximas na linha de maré alta (5,16 microplásticos/m²) e no supralitoral (4,32 microplásticos/m²). O vento é responsável pelo transporte de grãos de areia em praias (BAUER *et al.*, 2009) e como a densidade média das partículas de microplásticos encontrados na praia é menor do que a densidade de grãos de areia, podemos supor que o vento também irá contribuir para o transporte do microplásticos.

Os microplásticos são encontrados durante todo o ano na praia e o vento pode ser responsável pelas concentrações próximas de microplásticos na linha de maré alta e no supralitoral, com alguns períodos do ano mostrando predomínio de acúmulo em uma região que pode estar relacionada com alterações na direção do vento. Existe uma variação da direção do vento durante o ano na região da baía de Santos, com predomínio de ventos de norte e leste durante o ano e alguns períodos de ventos de sul (SÃO PAULO, 2010). Deve-se ressaltar que eventos de tempestade e ressaca do

mar também contribuem para enterrar os microplásticos para camadas mais profundas do sedimento e alterar sua distribuição na praia (TURRA *et al.*, 2014).

Existe uma grande variação da concentração de microplásticos em praias no mundo (Tabela 3). Os principais motivos para essa variação são as características de cada praia como a orientação da praia, sua exposição, sua hidrodinâmica e principalmente a direção de incidência dos ventos. Estudos mostram que praias com predomínio de ventos a favor tem maior acúmulo de microplásticos (BROWNE *et al.*, 2010; BATZAN *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2015). Por apresentarem características diferentes, as praias de Paranapuã e Itaquitanduva que são vizinhas e ambas inseridas no PEXJ apresentaram uma diferença na concentração de microplásticos por metro quadrado (4,72 /m² e 162,75 /m² respectivamente, dados de Itaquitanduva não foram publicados, mas foram coletados utilizando a mesma metodologia do que na praia de Paranapuã). As praias possuem diferenças na exposição, hidrodinâmica e na sua orientação geográfica e consequentemente na incidência de vento (PERINOTTO, 2010) que poderiam explicar as diferenças de concentrações de microplásticos.

É importante salientar que as concentrações de microplásticos estimadas em areia superficial em diferentes praias (Tabela 3) podem ser subestimadas, pelo motivo de que a maioria dos trabalhos foram realizados em praias frequentadas por humanos, o que pode influenciar na distribuição destas partículas na superfície da praia. Por exemplo, na da praia de Copacabana no Rio de Janeiro foi encontrada uma concentração de 3 microplásticos/m² (CARVALHO & NETO, 2016), porém esta praia possui um grande número de frequentadores que podem soterrar os microplásticos para camadas mais profundas, além da realização frequente de limpeza das areias que podem remover quantidades de microplásticos.

Tabela 3 - Concentrações de partículas de microplásticos por metro quadrado em praias

País	Praia	Abundância	Tamanho da partícula	Tipo predominante	Referência
Brasil	Paranapuã (SP)	4,72 /m ²	< 5 mm	Pellet	Trabalho atual
Brasil	Itaquitanduva (SP)	162,75 / m ²	< 5 mm	Pellet	Dados não publicados
Brasil	Copacabana (RJ)	3 /m ²	< 5 mm	Fragmento	CARVALHO & NETO, 2016
Brasil	Botafogo (RJ)	743 /m ²	< 5 mm	Fragmento	CARVALHO & NETO, 2016
Brasil	Galeão (RJ)	1300 /m ²	< 5 mm	Fragmento	CARVALHO & NETO, 2016
Brasil	Piedade (RJ)	28 /m ²	< 5 mm	Fragmento	CARVALHO & NETO, 2016
Brasil	Boa viagem (PE)	1000 /m ²	< 5 mm	Pellet	COSTA <i>et al.</i> , 2010
Portugal	Cova de Alfarroba	291 /m ²	< 5 mm	-	MARTINS & SOBRAL, 2011
Portugal	Bordeira	18 /m ²	<5 mm	-	MARTINS & SOBRAL, 2011
EUA	Praias com influência marinha (Alabama)	50,6 /m ²	<5 mm	Fragmento	WESSEL <i>et al.</i> , 2016
EUA	Praias com influência do estuário (Alabama)	13,2 /m ²	<5 mm	Fragmento	WESSEL <i>et al.</i> , 2016
Japão	Praias costeiras do Japão	53,7 /m ²	< 5 mm	Pellet	KUSUI & NODA, 2003
Chile	Aysén	169 /m ²	<10 mm	Fragmento e Pellet	HIDALGO-RUZ & THIEL, 2013
Chile	El Maule	4 /m ²	<10 mm	Fragmento e Pellet	HIDALGO-RUZ & THIEL, 2013
Malta	Ghajj Tuffieha	150 /m ²	1,9 a 5,6 mm	Pellet	TURNER & HOLMES, 2011
África do Sul	Sedgefield	3308 /m ²	0,06 a <5 mm	Fibras	NEL & FRONEMAN, 2015
África do Sul	Kenton	688,9 /m ²	0,06 a <5 mm	Fibras	NEL & FRONEMAN, 2015

As atividades desenvolvidas na área ao redor da praia também podem contribuir para o acúmulo e tipos de microplásticos encontrados (BROWNE *et al.*, 2010), no entanto também deve-se ser observado que os microplásticos que entram numa região podem ser exportados para áreas distantes com auxílio das correntes marinhas e o vento (BATZAN *et al.*, 2014). É conhecida a presença de microplásticos na baía de Santos, suas principais fontes locais são o descarte pela população de fragmentos de plástico, a perda accidental de pellets pelas indústrias produtoras da região e pelas atividades portuárias de exportação dessa matéria prima (MANZANO, 2009). Segundo CLAESSENS *et al.* (2011), as áreas portuárias são regiões que apresentam altas concentrações de microplásticos em relação a outras regiões litorâneas e provavelmente as características da praia de Paranapuã e principalmente sua orientação geográfica contribuíram para que ela apresentasse uma baixa concentração de microplásticos.

5.2 Características dos microplásticos na praia de Paranapuã

Os pellets foram o tipo de microplástico mais abundante na praia de Paranapuã, também sendo reportado em outros estudos nas praias de Santos (TURRA *et al.*, 2014). Segundo MANZANO (2009), a região possui 4 indústrias produtoras de pellets e somados às atividades portuárias podem promover perdas accidentais desse material para o meio ambiente, o que pode contribuir para a entrada de pellets na baía de Santos. No estudo de CARVALHO & NETO (2016) também foi relacionado a alta concentração de pellets na praia com perdas pelas atividades portuárias próximas a praia. A presença de fragmentos, isopor e fibras podem ter uma origem também do descarte pela população no ambiente e pelas atividades pesqueiras.

Especula-se que os microplásticos no sedimento da praia de Paranapuã permaneceram um tempo considerável no ambiente marinho devido ao desgaste nas partículas provocados pelo intemperismo, podendo nesse período ter adsorvido poluentes, entre eles estão os poluentes orgânicos persistentes (POPs) que somam aos outros riscos causados para os efeitos dos microplásticos acumulados no sedimento da praia (OGATA *et al.*, 2009; TANIGUCHI *et al.*, 2016). Estudos já mostraram uma correlação da coloração de pellets com concentrações de PCBs, onde pellets de coloração mais amarelada provocado pelo intemperismo devido ao maior tempo no ambiente possuíram maior concentração de PCB (ENDO *et al.*, 2005). Neste

sentido, a coloração dos microplásticos deve ser considerada, pois espécies também podem apresentar seleção por cor na ingestão de partículas. Segundo estudo de CARSON *et al.* (2013) algumas espécies de peixes costumam realizar uma mordida investigativa no plástico, sem preferências por cores. Nesse mesmo estudo não foi observado diferenças significativas na ingestão de plástico pela coloração, mas houve uma tendência na ingestão de plásticos nas cores amarelo, azul e verde ao contrário das cores pretas, cinzas e brancas que mostraram evidências de menor preferência.

A maioria dos pellets na praia e Paranapuã tiveram uma coloração branca e uma contribuição também nas cores pretas, transparentes, marrom e laranja. Resultados semelhantes também foram encontrados nas praias de Santos onde prevaleceu pellets de cores claras e transparentes sem pigmentação e os pellets coloridos foram raramente encontrados (MANZANNO, 2009). Resultados semelhantes foram encontrados nas águas do Atlântico Sul, com predomínio de microplásticos de cores brancas e transparentes (IVAR DO SUL *et al.*, 2014). Além disso, a composição do polímero plástico da maioria dos microplásticos foi semelhante a outros estudos (MANZANNO, 2009; WESSEL *et al.*, 2016). A maior porcentagem foi de polietileno (67%) e polipropileno (19%), a maior concentração desses tipos de polímeros pode ser reflexo da maior demanda pela sociedade, pois o polietileno e polipropileno são os tipos plásticos mais produzidos pelas indústrias (ANDRADY & NEAL, 2009), além de ser conhecido que pellets de PE e PP são produzidos e exportados na região e durante a manipulação de carregamento e descarregamento na área portuária podem ser perdidos para o ambiente marinho (TURRA *et al.*, 2014).

A variação no peso das partículas (0,0001-1,88 g), no seu volume (0,0118-6551,9 mm³) e na sua densidade (0,007-4,414 mm³/g) são reflexos da origem dos microplásticos, da composição do polímero e de aditivos que estejam incorporados que podem alterar essas características (EPA, 1992). Durante o ano existe uma tendência de alternância da distribuição das características das partículas entre a linha de maré e o supralitoral, sugerindo para a contribuição dos ventos em continuamente alterar a posição das partículas de microplásticos na praia de acordo com a direção de sua incidência. Infelizmente ainda existem poucos estudos que analisam individualmente as partículas pelo seu peso, volume e densidade.

5.3 Sazonalidade de microplásticos na praia de Paranapuã

Os resultados sugerem que a contaminação superficial por microplásticos na praia de Paranapuã ocorre ao longo do ano todo. Entretanto, apesar de haver variações temporais aparentes da contaminação nas diferentes regiões da praia, pode-se concluir que a contaminação é permanente neste ambiente, pois microplásticos foram observados em praticamente todas as amostragens e períodos do ano. O modelo nbGLM não sugeriu um efeito do posicionamento na região do perfil da praia sobre a contagem de plásticos. Entretanto, a análise dos gráficos de distribuição de microplásticos sugere que houve períodos em que as concentrações de microplásticos foram superiores no supralitoral em relação à linha de maré, e esta situação se inverteu em algumas outras ocasiões, e em outros períodos não houve aparentes diferenças de concentrações entre as duas regiões da praia. Esta variação pode estar relacionada ao vento, entretanto como o modelo nbGLM não identificou a região da praia como fator, provavelmente outros fatores não avaliados podem ser responsáveis por explicar esta variância temporal, como por exemplo, direção e intensidade de correntes costeiras, fluxo de saída do estuário e direção e amplitude de ondas.

6. CONCLUSÃO

Foi observado no presente estudo que a poluição por microplásticos na praia de Paranapuã é contínua ao longo do ano, apresenta uma relação aparente com a direção do vento, e que é composta por partículas de plástico diversificadas. Estes resultados sugerem que praias de áreas de proteção marinha costeira com acesso restrito à humanos, mas que se encontram próximas à zonas urbanas e regiões portuárias, também apresentam risco de contaminação por plásticos. No caso da praia de Paranapuã, a entrada mais provável de microplásticos no ambiente é através do mar, uma hipótese suportada pela relação encontrada entre a concentração de microplásticos na areia e a direção predominante do vento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADY, A.L.; NEAL, M.A. Applications and societal benefits of plastics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.1977–1984. 2009.

ANDRADY, A.L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p.1596-160. 2011.

ARAÚJO, G.S.; MOREIRA, L.B.; MORAIS, R.D.; DAVANSO, M.B.; GARCIA, T.F.; CRUZ, A.C.F.; ABESSA, D.M.S. Ecotoxicological assessment of sediments from an urban marine protected area (Xixová-Japuí State Park, SP, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v.75, p. 62-68. 2013.

BAUER, B.O.; DAVIDSON-ARNOTT, R.G.D.; HESP, P.A.; NAMIKAS, S.L.; OLLERHEAD, J.; WALKER, I.J. Aeolian sediment transport on a beach: Surface moisture, wind fetch, and mean transport. **Geomorphology**, v.105, p.106-116. 2009.

BAZTAN, J.; CARRASCO, A.; CHOUINARD, O.; CLEAUD, M.; GABALDON, J.E.; HUCK, T.; JAFFRÈS, L.; JORGENSEN, B.; MIGUELEZ, A.; PAILLARD, C.; VANDERLINDEN, J. Protected areas in the Atlantic facing the hazards of micro-plastic pollution: First diagnosis of three islands in the Canary Current. **Marine Pollution Bulletin**, v.80, p.302-311. 2014.

BESSELING, E.; WEGNER, A.; FOEKEMA, E.M.; HEUVEL-GREVE, M.J.; KOELMANS, A.A. Effects of microplastic on fitness and pcb bioaccumulation by the lugworm *Arenicola marina* (L.). **Environmental science technology**, v.47, p.593-600. 2013.

BROWNE, M.A.; GALLOWAY, T.S.; THOMPSON, R.C. Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. **Environmental science technology**, v.44, p.3404-3409. 2010.

CARSON, H.S.; COLBERT, S.L.; KAYLOR, M.J.; MCDERMID, K.J. Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, p.1708-1713. 2011.

CARSON, H.S.; LAMSON, M.R.; NAKASHIMA, D.; TOLOUMU, D.; HAFNER, J.; MAXIMENKO, N.; MCDERMID, K.J. Tracking the sources and sinks of local marine debris in Hawaii. **Marine Environmental Research**, v.84, p.76-83. 2013.

CARVALHO, D.G.; NETO, J.A.B. Microplastic pollution of the beaches of Guanabara Bay, Southeast Brazil. **Ocean & Coastal Management**, v.128, p.10-17. 2016.

CHUBARENKO, I.; BAGAEV, A.; ZOBKOV, M.; ESIUKOVA, E. On some physical and dynamical properties of microplastic particles in marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v.108, p.105-112. 2016.

CLAESSENS, M.; MEESTER, S.D.; LANDUYT, L.V.; CLERCK, K.D.; JANSSEN, C.R. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, p.2199-2204. 2011.

COSTA, M.F.; IVAR DO SUL, J.A.; SILVA-CAVALCANTI, J.S.; ARAÚJO, M.C.B.; SPENGLER, A.; TOURINHO, P.S. On the importance of size of plastic fragments and pellets on the strandline: a snapshot of a brazilian beach. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.168, p.299-304. 2010.

DESFORGES, J.P.W.; GALBRAITH, M.; DANGERFIELD, N.; ROSS, P.S. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. **Marine Pollution Bulletin**, v.79, p.94-99. 2014.

ENDO, S.; TAKIZAWA, R.; OKUDA, K.; TAKADA, H.; CHIBA, K.; KANEHIRO, H.; OGI, H.; YAMASHITA, R.; DATE, T. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences. **Marine Pollution Bulletin**, v.50, p.1103-1114. 2005.

ENGLER, R.E. The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean. **Environmental science technology**, v.46, p.12302-12315. 2012.

EPA. **Plastic pellets in the aquatic environment: Sources and recommendations**. Environmental Protection Agency: Oceans and Coastal Protection Division Final Report 842-B-92-010. Washington, DC. 1992.

EWERT, M.A.; JACKSON, D.R.; NELSON, C.E. Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. **Journal of Experimental Zoology**, v.270, n.1, p.3-15. 1994.

GREGORY, M.R. Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2013-2025. 2009.

HARARI, J.; GORDON, M. Simulações numéricas da dispersão de substâncias no porto e baía de Santos, sob ação de marés e ventos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v.6, n.4, p.115-131. 2001.

HESKETT, M.; TAKADA, H.; YAMASHITA, R.; YUYAMA, M.; ITO, M.; GEOK, Y.B.; OGATA, Y.; KWAN, C.; HECKHAUSEN, A.; TAYLOR, H.; POWELL, T.; MORISHIGE, C.; YOUNG, D.; PATTERSON, H.; ROBERTSON, B.; BAILEY, E.; MERMOZ, J. Measurement of persistent organic pollutants (POPs) in plastic resin pellets from remote islands: toward establishment of background concentrations for International Pellet Watch. **Marine Pollution Bulletin**, v.64, p.445-448. 2012.

HIDALGO-RUZ, V.; THIEL, M. Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): A study supported by a citizen science Project. **Marine Environmental Research**, v.87-88, p.12-18. 2013.

HIDALGO-RUZ, V.; GUTOW, L.; THOMPSON, R.C.; THIEL, M. Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. **Environmental Science & Technology**, v. 46, p. 3060-3075. 2012.

IVAR DO SUL, J.A.; COSTA, M.F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, v.185, p.352-364. 2014.

IVAR DO SUL, J.A.; COSTA, M.F.; FILLMANN, G. Microplastics in the pelagic environment around oceanic islands of the Western Tropical Atlantic Ocean. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.225. 2014.

JAYASIRI, H.B.; PURUSHOTHAMAN, C.S.; VENNILA, A. Plastic litter accumulation on high-water strandline of urban beaches in Mumbai, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.185, p.7709-7719. 2013.

KIM, I.; CHAE, D.; KIM, S.; CHOI, S.; WOO, S. Factors influencing the spatial variation of microplastics on high-tidal coastal beaches in Korea. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.69, n.3, p.299-309. 2015.

KUSUI, T.; NODA, M. International survey on the distribution of stranded and buried litter on beaches along the Sea of Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v.47, p.175-179. 2003.

LUCIA, G.A.; CALIANI, I.; MARRA, S.; CAMEDDA, A.; COPPA, S.; ALCARO, L.; CAMPANI, T.; GIANNETTI, M.; COPPOLA, D.; CICERO, A.M.; PANTI, C.; BAINI, M.; GUERRANTI, C.; MARSILI, L.; MASSARO, G.; FOSSI, M.C.; MATIDDI, M. Amount and distribution of neustonic micro-plastic off the western Sardinian coast (Central-Western Mediterranean Sea). **Marine Environmental Research**, v.100, p.10-16. 2014.

MANZANO, A.B. **Distribuição, taxa de entrada, composição química e identificação de fontes de grânulos plásticos na Enseada de Santos, SP, Brasil.** Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, São Paulo, 122 p. 2009.

MARTINS, J.; SOBRAL, P. Plastic marine debris on the Portuguese coastline: A matter of size? **Marine Pollution Bulletin**, v.62, p.2649-2653. 2011.

MOURA, C.; PASTORE, J.A.; FRANCO, G.A.D.C. Flora vascular do Parque Estadual Xixová-Japuí, Setor Paranapuã, São Vicente, Baixada Santista, SP. **Revista do Instituto Florestal**, v.19, n.2, p. 149-172. 2007.

NEL, H.A.; FRONEMAN, P.W. A quantitative analysis of microplastic pollution along the south-eastern coastline of South Africa. **Marine Pollution Bulletin**, v.101, p.274-279. 2015.

OGATA, Y.; TAKADA, H.; MIZUKAWA, K.; HIRAI, H.; IWASA, S.; ENDO, S.; MATO, Y.; SAHA, M.; OKUDA, K.; NAKASHIMA, A.; MURAKAMI, M.; ZURCHER, N.; BOOYATUMANONDO, R.; ZAKARIA, M.P.; DUNG, L.Q.; GORDON, M.; MIGUEZ, C.; SUZUKI, S.; MOORE, C.; KARAPANAGIOTI, H.K.; WEERTS, S.; MCCLURG, T.; BURREN, E.; SMITH, W.; VAN VELKENBURG, M.; LANG, J.S.; LANG, R.C.; LAURSEN, D.; DANNER, B.; STEWARDSON, N.; THOMPSON, R.C. International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal Waters. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs. **Marine Pollution Bulletin**, v.58, p.1437-1446. 2009.

PERINOTTO, R.R.C. **Mapeamento de sensibilidade ao derrame de óleo dos ambientes costeiros dos municípios de São Vicente, Santos e Guarujá - SP.**

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro, 208p. 2010.

PERINOTTO, R.R.C.; RIEDEL, P.S.; MILANELLI, J.C.C. Sensibilidade ambiental ao derrame de óleo da linha de costa da baía de Santos, SP-Brasil. **Revista Brasileira de Cartografia**, n.63, p. 565-576. 2011.

PINHEIRO, M.A.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C.; FONTES, R.F.C. Introdução ao Panorama Ambiental da Baixada Santista. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M.A.A.; FONTES, R.F.C. **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. 1. ed. São Vicente: Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista. P. 1-5. 2008

PINHEIRO, M.A.A.; DUARTE, L.F.A.; TOLEDO, T.R.; ADAM, M.L.; TORRES, R.A. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.185, p.8273-8285. 2013.

SÃO PAULO. **Plano de Manejo do Parque Estadual Xixová-Japuí**. Fundação Florestal do Estado de São Paulo. São Paulo, 572p. 2010.

TANIGUCHI, S.; COLABUONA, F.I.; DIAS, P.S.; OLIVEIRA, R.; FISNER, M.; TURRA, A.; IZAR, G.M.; ABESSA, D.M.S.; SAHA, M.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; TAKADA, H.; LOURENÇO, R.A.; MAGALHÃES, C.A.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE, R.C. Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.106, p.87-94. 2016.

THOMPSON, R.C.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R.P.; DAVIS, A.; ROWLAND, S.J.; JOHN, A.W.G.; MCGONIGLE, D.; RUSSELL, A.E. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? **Science**, p. 304-838. 2004.

TURNER, A.; HOLMES, L. Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta (central Mediterranean). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 377-381. 2011.

TURRA, A.; MANZANO, A.B.; DIAS, R.J.S.; MAHIQUES, M.M.; BARBOSA, L.; BALTHAZAR-SILVA, D.; MOREIRA, F.T. Three-dimensional distribution of plastic pellets in sandy beaches: shifting paradigms. **Scientific Reports**, v.4, n.4435. 2014.

VAN, A.; ROCHMAN, C.M.; FLORES, E.M.; HILL, K.L.; VARGAS, E.; VARGAS, S.A.; HOH, E. Persistent organic pollutants in plastic marine debris found on beaches. **Chemosphere**, v.86, p.258-263. 2012.

WESSEL, C.C.; LOCKRIDGE, G.R.; BATTISTE, D.; CEBRIAN, J. Abundance and characteristics of microplastics in beach sediments: Insights into microplastic accumulation in northern Gulf of Mexico estuaries. **Marine Pollution Bulletin**. 2016.

YU, X.; PENG, J.; WANG, J.; WNAG, K.; BAO, S. Occurrence of microplastics in the beach sand of the Chinese inner sea: the Bohai Sea. **Environmental Pollution**, v.214, p.722-730. 2016.

Capítulo 3: Toxicidade de pellets de plástico para embriões de mexilhão marrom *Perna perna*¹

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com os microplásticos nos oceanos tem recebido maior atenção nos últimos anos, sendo considerado um contaminante com distribuição global afetando diferentes ecossistemas (COLE *et al.*, 2011; IVAR DO SUL & COSTA, 2014; WANG *et al.*, 2016). A maioria dos microplásticos flutuam na água do mar e por serem compostos orgânicos possuem a capacidade de absorverem contaminantes hidrofóbicos que se concentram na superfície dos oceanos (RIOS *et al.*, 2007; MOORE, 2008; OGATA *et al.*, 2009). A adsorção de contaminantes pelos microplásticos está relacionada aos tipos de polímeros plásticos que possuem diferentes características como por exemplo: a morfologia e área de superfície, volume dos poros, grupos funcionais e comportamento ácido-básico que irão influenciar na adsorção de contaminantes (FOTOPOULOU & KARAPANAGIOTI, 2012). Dentre os principais tipos de contaminantes associados à partículas de plástico, estão aqueles adsorvidos na superfície das partículas, em especial os POPs (Poluentes Orgânicos Persistentes) (MATO *et al.*, 2001; BAKIR *et al.* 2012) e metais (HOLMES *et al.*, 2012; BRENNECKE *et al.*, 2016), e aqueles utilizados na produção de plásticos para fins comerciais que podem estar adsorvidos na superfície ou misturados à resina, como os aditivos plásticos (TEUTEN *et al.*, 2009).

Os POPs possuem a capacidade de acumular e biomagnificar na teia trófica e promovem alterações negativas no sistema reprodutor, imunitário, endócrino e são carcinogênicos (JONES & VOOGT, 1999). A hidrofobicidade facilita a concentração de POPs em microplásticos com um nível de várias ordens de magnitude superior do que encontrado na água do mar (ANDRADY, 2011) e a variação na concentração de POPs em microplásticos de uma área pode refletir o tempo de exposição dos microplásticos no ambiente aquático (ENDO *et al.*, 2005; KARAPANAGIOTI *et al.*, 2010). Os pellets plásticos também podem contribuir como um vetor de transporte de contaminantes incorporados a eles nos processos industriais de formação.

¹ Submetido para publicação como "Plastic pellet leachate impairs larval development in brown mussels". Water Research.

Conhecidos como pellets virgens, essa resina plástica possui diversos grupos de aditivos adsorvidos, que já mostraram toxicidade no desenvolvimento embrionário de *Lytechinus variegatus*, similar à toxicidade de pellets encontrados no meio ambiente que estão expostos a outras classes de contaminantes (NOBRE *et al.*, 2015).

Existe uma demanda por diferentes polímeros plásticos que são sintetizados do petróleo ou derivados do gás natural aos quais são incorporados aditivos de acordo com a aplicação e o interesse do produto final desejado. Os aditivos alteram características do polímero como as propriedades estéticas (ex. cor), as propriedades físicas (ex. resistência ao calor e durabilidade) e a habilidade de ser processado futuramente (ex. porosidade) (EPA, 1992). Existem dois métodos de incorporação do aditivo ao polímero que podem afetar sua liberação para o meio ambiente. Os aditivos podem reagir quimicamente criando uma ligação com o polímero ou podem ser misturados fisicamente ao polímero aumentando as chances de serem liberados para o meio ambiente pois não está quimicamente ligado (EPA, 1992). Além dessa característica, o tamanho do poro no polímero e o tamanho da molécula do aditivo são importantes fatores que contribuem para a liberação ao meio ambiente (TEUTEN *et al.*, 2009). Entre os aditivos estão os corantes, estabilizadores, retardantes de chamas e plastificantes. Os plastificantes são o maior grupo de aditivos encontrados nos polímeros, dentre esse grupo o ftalato é o mais comum, outros aditivos encontrados são compostos organoestânicos utilizados como estabilizantes, os alquilfenóis que podem ser utilizados tanto como plastificantes ou como estabilizadores e o Bisfenol A que é principalmente usado para criação de plásticos policarbonatos (TEUTEN *et al.*, 2009). Os aditivos podem causar danos em animais e humanos e serem altamente tóxicos podendo gerar problemas no sistema imune e endócrino (TALSNESS *et al.*, 2009).

Animais com diferentes estratégias de alimentação são capazes de ingerirem microplásticos encontrados nos oceanos, entre eles zooplâncton (COLE *et al.*, 2015), poliquetas (VAN CAUWENBERGHE *et al.*, 2015), mexilhões (MOOS *et al.*, 2012), caranguejos (WATTS *et al.*, 2014), peixes (SÁ *et al.*, 2015) e cetáceos (FOSSI *et al.*, 2014; LUSCHER *et al.*, 2015). Os organismos ingerem os microplásticos e podem acumular os microplásticos em seus tecidos, além de transferir os contaminantes presentes, demonstrando a elevada biodisponibilidade de contaminantes após a ingestão com efeitos celulares tais como alterações de respostas imunológicas, no

sistema antioxidante, efeitos neurotóxicos e genotoxicidade (AVIO *et al.*, 2015). O zooplâncton desempenha um papel vital nas teias tróficas marinhas e diferentes taxa são capazes de absorver microesferas de plástico com o potencial acumulação e transferência de microplásticos e seus contaminantes para níveis tróficos superiores (SETÄLÄ *et al.*, 2014).

As análises ecotoxicológicas são importantes ferramentas que podem ser utilizadas para prevenir impactos e mensurar riscos ao meio ambiente. Muitas vezes os organismos estão sujeitos a concentrações de contaminantes no ambiente que geram efeitos subletais levando a distúrbios fisiológicos e comportamentais (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008). Para a avaliação desses efeitos subletais, os testes crônicos de curta duração podem ser empregados, avaliando estágios de vida mais sensíveis e críticos de uma espécie, verificando a fertilização e o desenvolvimento larval de um organismo que geralmente são fases sensíveis em detectar poluentes no ambiente e mais críticas para o desenvolvimento normal do organismo (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008). Entre os efeitos observados estão, o retardamento no desenvolvimento embriolarval e ocorrência de anomalias nos organismos expostos.

A utilização de ensaios crônicos de curta duração com o mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1798) (Mytiloida: Mytilidae) foi adaptada do protocolo da ASTM (1992) elaborado com espécies de bivalves nativos de região temperada (ZARONI *et al.*, 2005; DEL CIELO *et al.*, 2013). É um teste sensível, rápido e de baixo custo para a avaliação da toxicidade, sendo importante o desenvolvimento e adaptações de protocolos para espécies nativas brasileiras (ZARONI *et al.*, 2005). Testes embriolarval com o mexilhão *Perna perna* são aplicados com sucesso em diversos estudos (ABESSA *et al.*, 2005; ZARONI *et al.*, 2005; CORTEZ *et al.*, 2012) e fornecem dados para entender o modo de ação de poluentes.

O mexilhão *Perna perna* é um molusco bivalve encontrado no litoral brasileiro, ocorrendo também na Argentina, Uruguai, Venezuela e no continente africano (RIOS, 1984; LASIAK & DYE, 1989). Ocupam costões rochosos em regiões de alto hidrodinamismo do entre marés ao infralitoral formando densas colônias naturais. São animais filtradores, alimentando-se principalmente de fitoplâncton e matéria orgânica particulada em suspensão possuindo um comportamento sésil. Apresentam fecundação externa com liberação de gametas devido ao estresse ambiental,

principalmente por alterações na temperatura, no final da primavera, verão e outono e também no final dos períodos de engorda dos organismos (DEL CIELO *et al.*, 2013). É uma espécie de importância econômica e fonte de alimento para humanos (LASIAK & DYE, 1989), utilizada também como indicadora da qualidade da água (SAÉNZ *et al.*, 2010). Os principais cultivos no Brasil ocorrem no estado de Santa Catarina devido a suas características oceanográficas (MARENZI & BRANCO, 2005). As características do mexilhão *Perna perna* favorecem a absorção e acúmulo de contaminantes, entre eles os poluentes orgânicos persistentes (FRANCIONI *et al.*, 2007), metais (FRANCIONI *et al.*, 2004) e fármacos (CORTEZ *et al.*, 2012), além de absorverem micropartículas de plásticos, já observado na região da baía de Santos, gerando consequências em alterações fisiológicas do organismo (ASCER, 2015).

Os pellets plásticos podem causar toxicidade à fauna e possuem uma dispersão global, podendo ser encontrado tanto em praias urbanizadas como em praias de áreas remotas (BATZAN *et al.*, 2014). Neste sentido, o presente estudo busca avaliar os riscos da contaminação por pellets plásticos encontrados em praia que está inserida em área de proteção ambiental e têm por finalidade a preservação da biodiversidade.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste capítulo foi avaliar a toxicidade de pellets de plástico para embriões de mexilhão *Perna perna*. Para atingir o objetivo principal, este estudo tem como objetivos específicos:

- Testar diferentes metodologias para avaliar o efeito de diferentes concentrações de pellets plásticos no desenvolvimento embriolarval do mexilhão *Perna perna*;
- Avaliar a diferença na toxicidade de pellets virgens e pellets coletados nas praias em diferentes estações do ano.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de coleta

Os pellets utilizados nos experimentos coletados em campo são provenientes da praia de Paranapuã (23°59'1,12"S e 46°22'49,10"O) e Itaquitanduva (23°59'50"S e 46°23'27"O) ambas localizadas no Parque Estadual Xixová-Japuí (PEXJ) no município de São Vicente, litoral centro-sul do estado de São Paulo (Figura da região mostrada no capítulo 2 da dissertação na página 15). As características da região bem como as características da praia de Paranapuã e os procedimentos de coleta dos pellets em campo já foram descritos anteriormente no material e métodos no capítulo 2.

A praia de Itaquitanduva é a praia de maior declividade do município de São Vicente, possui uma condição exposta sujeita à maior ação hidrodinâmica das ondas, uma granulometria composta por areia média e uma extensão de 261 metros (PERINOTTO, 2010). É uma praia de acesso difícil e liberado realizado por trilhas com um número maior de frequentadores nos meses de verão.

Na praia de Paranapuã foram realizadas coletas entre os meses de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2015, enquanto que as amostras coletadas na praia de Itaquitanduva foram realizadas apenas no mês de fevereiro de 2014. Nos experimentos foram utilizados apenas pellets coletados na superfície do sedimento no supralitoral e na linha de maré alta em ambas as praias.

3.2 Experimentos

Foi utilizada a metodologia de interface pellet-água proposta por NOBRE *et al.* (2015) para poder avaliar os efeitos da toxicidade de pellets plásticos através da liberação na água de poluentes adsorvidos e aditivos incorporados, essa metodologia foi desenvolvida a partir de procedimentos de testes ecotoxicológicos com sedimento. A partir da metodologia de interface pellet-água proposta por NOBRE *et al.* (2015) desenvolvemos uma nova metodologia alterando o compartimento utilizado nos testes e o modo como os pellets ficam expostos à água. Foram realizados 2 experimentos para avaliar a toxicidade de pellets plásticos no desenvolvimento embriolarval do mexilhão *Perna perna*. No primeiro experimento foram comparadas duas metodologias (Metodologia proposta por NOBRE *et al.* (2015) e a nova metodologia

proposta nesse trabalho) e avaliado qual metodologia é a mais apropriada para a utilização da análise da toxicidade de pellets nos embriões do mexilhão e no segundo experimento foi aplicada a metodologia mais adequada para avaliar a variação da toxicidade de pellets encontrados na praia de Paranapuã e Itaquitanduva em diferentes estações do ano. Os experimentos foram montados 24 horas antes do início do teste de toxicidade para que ocorresse a liberação para água dos poluentes presentes nos pellets e em todos os experimentos só foram utilizados pellets plásticos.

3.2.1 Experimento I: Comparação de metodologias

No primeiro experimento, foi comparada a utilização de tubos de ensaio com pellets presos no fundo (NOBRE *et al.*, 2015) com a utilização de béqueres de vidro de 20 ml com os pellets soltos na superfície, além de avaliar o efeito de diferentes concentrações de pellets no desenvolvimento embriolarval do mexilhão. Os pellets permaneceram no fundo do tubo de ensaio por uma rede de plâncton de 20 µm de abertura de malha presa a um anel plástico (Figura 1). Essa abertura de malha permite que os embriões e larvas do mexilhão não ultrapassem e entrem em contato direto com o pellet, no entanto permite a circulação da água e a troca de contaminantes entre as duas fases. Nesse experimento, foram utilizados somente pellets virgens de polipropileno, pellets virgens já mostraram toxicidade em trabalhos anteriores (NOBRE *et al.*, 2015). Nas metodologias, foram utilizadas um volume total de 10 ml com salinidade de 35 para a água do mar e tratamentos com concentrações de 2 ml de pellets, 1ml de pellets e 0,5 ml de pellets. Foram realizadas 4 réplicas para cada tratamento (Figura 2), sendo o controle sem pellet, concentração de 2 ml de pellets, concentração de 1 ml de pellets, concentração de 0,5 ml de pellets e no caso do tubo de ensaio também foi realizado um controle de rede apenas com a água do mar e o conjunto de rede com o anel montados para avaliar se a rede pode contribuir com a toxicidade e os efeitos no desenvolvimento embriolarval do mexilhão.

Figura 1- Metodologia utilizando tubo de ensaio com os pellets presos no fundo por uma rede de plâncton em conjunto com um anel plástico (A, anel plástico, B, montagem do conjunto da malha com o anel plástico no tubo de ensaio; C, visão geral do experimento).

Figura 2 - Visão geral do experimento (A, Tratamento utilizando tubos de ensaio; B, Tratamento utilizando béqueres).

3.2.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia

No segundo experimento, foi avaliada a variação da toxicidade de pellets coletados na praia de Paranapuã entre as estações do ano e no verão na praia de Itaquitanduva utilizando a metodologia com béqueres. Foram realizados tratamento de controle sem pellets, pellets virgens, verão Itaquitanduva, verão Paranapuã, outono Paranapuã, inverno Paranapuã e primavera Paranapuã todos com concentração de 2 ml de pellets. Para cada tratamento, o número de réplicas variou de 4 para nenhuma réplica, pois não houve um número suficiente de pellets na praia de Paranapuã para a realização de 4 réplicas. Os pellets virgens e os coletados na praia diferem na suas formas, cores, tamanho e poluentes adsorvidos (Figura 3).

Figura 3 - Pellets utilizados no experimento (A, pellets virgens de polipropileno; B, pellets coletados na praia).

3.3 Teste de toxicidade

Organismos adultos do mexilhão *Perna perna* foram coletados no município de Caraguatatuba no litoral norte do estado de São Paulo, Brasil. No laboratório, os organismos passaram por um procedimento de choque térmico para liberação dos gametas (ZARONI *et al.*, 2005). Após um período de exposição de 30 minutos a temperatura de 15°C em água do mar os mexilhões foram colocados em bandejas com água do mar filtrada por uma membrana de 0,20 µm com salinidade de 35 e

mantida a uma temperatura entre 24°C e 26°C por uma aquecedor de água elétrico (Figura 4).

Figura 4 - Procedimento de choque térmico a que os mexilhões foram expostos.

Após o início da liberação dos gametas, os mexilhões foram colocados em placas de Petri individualmente com água do mar filtrada para recolher os espermatozoides e óvulos. Os óvulos foram transferidos em béqueres com água do mar e os espermatozoides foram transferidos para béqueres e refrigerados com gelo (Figura 5).

Foram adicionados 2 ml da solução com espermatozoides na solução concentrada de óvulos com água do mar que foi mantida sob agitação por 40 minutos para a realização da fecundação em temperatura ambiente. Após esse período, uma amostra foi analisada por microscopia em uma lâmina de Sedgwick-Rafter para a verificação da densidade de embriões. Uma solução de aproximadamente 500 embriões foi adicionada em cada tratamento.

Figura 5 - Liberação dos gametas pelo mexilhão (A, liberação de óvulos pelo *Perna perna*; B, solução com óvulos de *Perna perna*; C, solução com espermatozoides de *Perna perna*).

O teste foi finalizado após 48 horas de incubação a 25°C, tempo necessário para o desenvolvimento embrionário de ovos até o estágio de larva-D (DEL CIELO *et al.*, 2013). O conteúdo de cada tratamento foi transferido para frascos plásticos e

fixados com 0,5 ml de formaldeído 4% para posterior análise. Foi determinado o estágio de desenvolvimento através da análise de 100 larvas das réplicas de cada tratamento por microscopia com um aumento de 100 vezes. O mínimo aceitável de desenvolvimento normal para o controle é de 70% de larva-D (ZARONI *et al.*, 2005). Foram contabilizadas larvas mortas e foram consideradas células anormais quando houve atraso no desenvolvimento larval ou anomalias no desenvolvimento.

3.4 Análise dos dados

No primeiro experimento, foi utilizado PERMANOVA para analisar diferenças na metodologia utilizando tubos de ensaio ou béqueres de vidro e a concentração de pellets como um fator. Foi realizada a análise da matriz de distância euclidiana calculada da raiz quadrada transformada da proporção de larvas anormais ou mortas. Para avaliar o efeito do conjunto de rede na toxicidade foi realizado o teste não paramétrico de Van der Waerden (VdW) analisando o desenvolvimento embrionário no tubo de ensaio apenas com a água do mar e no tubo de ensaio apenas com água do mar e o conjunto de rede.

No segundo experimento, foi utilizado o teste não paramétrico Van der Waerden (VdW) para determinar a diferença na fração de larvas anormais ou mortas entre o controle, pellets virgens e pellets coletados nas 2 praias nas diferentes estações do ano. O teste de Van der Waerden foi seguido por uma comparação entre pares com correções de Bonferroni.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa R com auxílio dos pacotes Vegan e PMCMR e tiveram nível de significância mínimo de 0,05.

4. RESULTADOS

4.1 Experimento I: Comparação de metodologias

Os resultados indicaram que a presença da rede para prender os pellets no fundo do tubo de ensaio contribui aumentar a toxicidade nos experimentos. A porcentagem de células anormais ou mortas foi de 14,8% no controle com rede e 4,8% no controle sem rede, com uma diferença significativa entre eles (VdW, $Z=2,15$, $p<0,05$).

Ambos os tratamentos (tubo de ensaio e béquer) bem como todas as concentrações de pellets utilizadas afetaram o desenvolvimento larval do mexilhão. O teste PERMANOVA indicou que existiram diferenças significativas entre a proporção de larvas normais e anormais entre tubo de ensaio e o béquer (pseudo- $F=33,628$, $P<0,0001$), para a concentração de pellets (pseudo- $F= 38,856$, $P<0,0001$) e para a interação entre esses 2 fatores (pseudo- $F= 11,813$, $P<0,0001$) (Figura 6). A análise de comparação de pares indicou que, para o tratamento com béquer, a porcentagem de larvas anormais ou mortas foi maior que o controle em todas as concentrações (média de 28% para 2 ml, $p<0,005$; 23,9% para 1 ml, $p<0,05$; 20,5% para 0,5 ml, $p<0,05$). Porém, não houve diferenças significativas entre as concentrações de 2 ml e 1 ml, $p=0,52$; 2 ml e 0,5 ml, $p=0,21$ e entre 1 ml e 0,5 ml, $p=0,77$ neste mesmo tratamento. Para o tratamento com tubos de ensaio, a proporção de larvas anormais ou mortas foi maior que no controle em todas as concentrações (média de 77% para 2 ml, $p<0,001$; 37,5% para 1 ml, $p<0,01$; 62,5% para 0,5 ml, $p<0,001$) e entre as concentrações de 2 ml e 1 ml ($p<0,05$), 2 ml e 0,5 ml ($p<0,05$) e entre 1 ml e 0,5 ml ($p<0,05$). A proporção de larvas anormais ou mortas foi significativamente maior nos tubos do que nos béqueres nos tratamentos de 2 ml (77% e 28%, $p<0,001$) e 0,5 ml (62,5% e 20,5%, $p<0,001$) mas foram similares para os controles (4,8% e 9,6%, $p=0,09$) e para o tratamento de 1 ml (37,5% e 23,9%, $p=0,3$).

Figura 6 - Experimento 1. Porcentagem de larvas anormais ou mortas em relação aos tratamentos (tubo de ensaio ou béquer) com diferentes concentrações de pellets (0 ml, 0,5 ml, 1 ml e 2 ml), onde a linha horizontal em negrito (interior da caixa) representa a mediana, a caixa representa quartis a 25 e 75%, as linhas verticais a partir da caixa representam a amplitude da variação, NS quando não houve diferenças significativas e * quando houve diferenças significativas entre tubos de ensaio e béqueres. As caixas em vermelho representando o tratamento utilizando béquer e em azul tratamento utilizando tubo de ensaio. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de pellets na água nos tubos de ensaio, diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de pellets na água no béqueres. Todas diferenças significativas possuem nível $p < 0,05$ determinada pela análise de PERMANOVA seguida pela comparação entre os pares.

4.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia

O teste de Van der Waerden indicou uma diferença significativa entre o controle, controle com pellets virgens e os tratamentos com os pellets coletados nas praias (VdW, $\chi^2 = 19,53$, $p < 0,005$) (Figura 7). A porcentagem de larvas anormais ou mortas foi significativamente maior para o controle com pellets virgens em comparação ao controle sem pellets (23,5% e 10%, VdW, $p < 0,05$) e a porcentagem de larvas anormais ou mortas para os tratamentos com os pellets

coletados nas praias foi de 100% e não houve diferenças significativas nos tratamentos entre as estações do ano na praia de Paranapuã e o verão na praia de Itaquitanduva (VdW comparação entre os pares, todos $p=1$) (Figura 7).

Figura 7 - Experimento 2. Porcentagem de larvas anormais ou mortas em relação aos tratamentos com pellets coletados nas praias em diferentes estações do ano e o controle sem pellets e apenas com pellets virgens de polipropileno, onde a linha horizontal em negrito (interior da caixa) representa a mediana, a caixa representa quartis a 25 e 75% , as linhas verticais a partir da caixa representam a amplitude da variação, letras diferentes representam diferenças significativas enquanto que as letras iguais representam que não houve diferenças significativas. Itaq: praia de Itaquitanduva e Parana: praia de Paranapuã. Todas diferenças significativas possuem nível de $p<0,05$ baseada no teste de Van der Waerden seguida por uma comparação entre os pares.

A porcentagem de larvas anormais ou mortas foi significativamente maior nos tratamentos com os pellets coletados nas praias em relação ao tratamento com pellet virgem (100% e 23,5%, VdW comparação entre os pares, todos $p<0,001$) e em relação ao controle (VdW comparação entre os pares, valores de p de 0,01 até $<0,0001$) (Figura 7).

5. DISCUSSÃO

5.1 Experimento I: Comparação de Metodologias

Os resultados mostraram que houve diferenças significativas no efeito do desenvolvimento embriolarval do mexilhão devido a utilização da rede. A malha utilizada na rede tem em sua composição um polímero plástico denominado poliamida, conhecido comercialmente como nylon além do anel utilizado para a fixação da malha também possuir na sua composição o polímero plástico polietileno de alta densidade (PEAD). Esse conjunto de rede e anel podem contribuir com efeitos físicos nas larvas do mexilhão e também pode haver aditivos incorporados à esses plásticos que podem vir a somar com a toxicidade causada pelos pellets plásticos expostos.

A utilização do tubo de ensaio com o conjunto de rede pode ter contribuído com o efeito tóxico maior na maioria dos tratamentos que utilizaram o tubo de ensaio quando comparado com o tratamento com o béquer, além das 2 metodologias apresentarem uma forma de exposição dos pellets a água diferentes o que pode ter contribuído com as diferenças das porcentagens de larvas anormais ou mortas. Na metodologia que utiliza o tubo de ensaio, o pellet plástico fica submerso no fundo do tubo e completamente envolvido pela água aumentando a sua área superficial de troca de contaminantes em relação ao béquer que apresenta os pellets plásticos flutuando na superfície com menor superfície de contato com a água.

A maioria dos pellets encontrados no ambiente são de polipropileno e polietileno pois são os polímeros que possuem maior demanda pela sociedade (ANDRADY & NEAL, 2009). O polipropileno é menos denso que a água do mar e no ambiente marinho tende a flutuar na superfície (ENGLER, 2012). A metodologia utilizando béquer se aproxima mais das condições encontradas no meio ambiente com os pellets flutuando na superfície.

Os resultados mostraram que em todas as concentrações os pellets virgens apresentaram toxicidade no desenvolvimento embriolarval. De acordo com estudos prévios era esperada uma toxicidade nos pellets virgens devido aos aditivos nele incorporados no seu processo de fabricação (NOBRE *et al.*, 2015; EPA, 1992). Outros

estudos já avaliaram que a presença de macroplásticos de diferentes polímeros pode causar mortalidade ao organismo exposto (Tabela 1).

Tabela 1 - Estudos sobre a avaliação ecotoxicológica de elutriado de diferentes polímeros plásticos com espécies aquáticas.

Espécies	Polímero plástico	Origem do plástico	Efeito	Referência
<i>Perna perna</i> (Mollusca)	PP; desconhecido	Virgens e pellets da praia	Alterações no desenvolvimento embrionário	Trabalho atual
<i>Lytechinus variegatus</i> (Echinodermata)	PE; desconhecido	Virgens e pellets da praia	Alterações no desenvolvimento embrionário	NOBRE <i>et al.</i> , 2015
<i>Daphnia magna</i> (Crustacea)	Desconhecido	Fibras plásticas têxteis novas	Mortalidade	DAVE & ASPEGREN 2010
<i>Daphnia magna</i> (Crustacea)	PP; PEAD; PVC; ABS; Epoxy	Produtos plásticos novos	Mortalidade	LITHNER <i>et al.</i> , 2012
<i>Daphnia magna</i> (Crustacea)	PP; PEAD; PEBD; PEMD; PVC; ABS; PC; PE; PET; PU; PS; PTFE; PMMA; Polyester	Produtos plásticos novos	Mortalidade	LITHNER <i>et al.</i> , 2009
<i>Nitocra spinipes</i> (Crustacea)	PP; PS; PEBD; PEAD; PVC; PET; PU; ABS	Produtos plásticos novos	Mortalidade	BEJGARN <i>et al.</i> , 2015
<i>Amphibalanus amphitrite</i> (Crustacea)	PET; PEAD; PEBD; PVC; PP; PS; PC	Produtos plásticos novos	Mortalidade	LI <i>et al.</i> , 2016

PE: Polietileno, PEAD: Polietileno de alta densidade; PEBD: Polietileno de baixa densidade; PEMD: Polietileno de média densidade; PP: Polipropileno; PVC: Policloreto de vinil; ABS: Acrilonitrila butadieno estireno; PC: Policarbonato; PU: Poliuretano; PS: Poliestireno; PMMA: Polimetil metacrilato; PET: Polietileno tereftalato; PTFE: Politetrafluoretileno.

Por refletir melhor as condições em que o pellet plástico é encontrado no ambiente marinho, os testes utilizando béqueres com pellets soltos é o mais indicado, sendo que não houve diferenças significativas no efeito em relação a concentração de pellet, as concentrações de 2 ml, 1 ml e 0,5 ml irão causar efeito no desenvolvimento embriolarval do mexilhão. Futuros estudos utilizando concentrações menores de pellets poderiam contribuir para a avaliação ambiental de efeitos negativos de pellets plásticos em ambientes que apresentam diferentes concentrações dos mesmos.

5.2 Experimento II: Exposição de larvas de mexilhão a pellets plásticos coletados na praia

Os pellets plásticos encontrados nas 2 praias do estudo apresentaram uma toxicidade elevada, sendo observado efeito em 100% dos organismos expostos. Esse efeito foi superior ao contabilizado para os pellets virgens que foi de 23,5%, indicando que a toxicidade dos pellets nas praias é superior à dos pellets virgens.

Ao alcançar o ambiente marinho os pellets podem absorver contaminantes, entre eles os POPs como os Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAH), Bifenilos Policlorados (PCB), Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) e seus metabólitos DDD e DDE, Hexaclorociclohexano (HCH) e metais que podem apresentar uma elevada toxicidade aos seres vivos (OGATA *et al.*, 2009; HOLMES *et al.*, 2012). Esses contaminantes estão dispersos nas mais diversas regiões no ambiente marinho. A região da baía de Santos possui concentrações altas de contaminantes, principalmente pela atividade industrial realizada em Cubatão, as atividades do porto de Santos e pelo despejo de efluentes domésticos da alta concentração urbana nos municípios da região (ABESSA, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2008). Segundo ARAÚJO *et al.* (2013), o PEXJ sofre influência de múltiplas fontes de contaminantes, entre os principais estão os metais e esgoto, sugerindo que a área costeira do PEXJ está degradada representando um risco para a biota. No estudo de TANIGUCHI *et al.*, (2016) foram encontradas concentrações altas de PCB, PAH, DDT e HCH nos pellets plásticos da baía de Santos.

Os pellets plásticos no ambiente marinho possuem uma grande dispersão impulsionada principalmente pelos ventos e correntes marinhas (ERIKSEN *et al.*, 2014). Dessa forma, o pellet plástico pode funcionar como um vetor transportador de poluente para outras regiões (MATO *et al.*, 2001; ENDO *et al.*, 2005; RIOS *et al.*, 2007; BAKIR *et al.* 2012; TANIGUCHI *et al.*, 2016). Os resultados do presente estudo sugerem que os pellets que encalham nas praias do PEXJ apresentam concentrações de contaminantes adsorvidos no ambiente que podem estar refletindo em um efeito em 100% nos embriões do mexilhão expostos. Os pellets coletados nas praias do PEXJ podem ter adsorvido poluentes no tempo em que estiveram expostos na baía de Santos ou podem ter uma origem distante e adsorvido poluentes de outras regiões e exportado para a baía de Santos.

O mexilhão *Perna perna* é uma espécie encontrada nos costões rochosos do PEXJ (SÃO PAULO, 2010) e efeitos no desenvolvimento embriolarval dessa espécie colocam em risco não apenas a sua população, mas também toda a teia trófica de um ecossistema com efeito nos predadores de topo de cadeia, pois as larvas do mexilhão compõem a comunidade de zooplâncton que são responsáveis de transferir a energia dos produtores primários (fitoplâncton) para os níveis tróficos superiores (COLE *et al.*, 2013; COLE *et al.*, 2015; SETÄLÄ *et al.*, 2014).

Não houve diferença significativa na toxicidade entre as estações do ano, pois a dinâmica dos pellets na praia pode permitir que esses estejam acumulados na praia há muito tempo ou tenham uma permanência recente na praia devido a influência do vento e marés (GREGORY, 2009; CARSON *et al.*, 2013). Assim a coleta de pellet numa estação não reflete que todos os pellets coletados chegaram na praia na mesma estação do ano. O estudo sugere que em todas as estações do ano serão encontrados pellets com alto potencial tóxico nas praias do estudo.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo foi observado que a aplicação da metodologia proposta com a utilização de béqueres e pellets plásticos soltos em todas as concentrações de pellets testadas mostrou-se eficaz e mais adequada para ensaios ecotoxicológicos com o mexilhão *Perna perna* representando a forma em que os pellets são encontrados no meio ambiente. Os pellets coletados nas praias não apresentaram variação da toxicidade durante o ano, demonstrando possuir uma elevada toxicidade. Já os pellets virgens também apresentaram toxicidade, no entanto inferior ao dos pellets coletados nas praias. Os resultados sugerem que tanto os pellets podem apresentar contaminantes adsorvidos enquanto estiveram no ambiente marinho como também aditivos incorporados em seu processo de fabricação que são responsáveis pelas frequências de células anormais ou mortas no desenvolvimento embriolarval do mexilhão. Os efeitos no desenvolvimento embriolarval do mexilhão colocam em risco não apenas a sua população, mas também toda a teia trófica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D.M.S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarin de Santos, SP, Brasil**. Tese (doutorado) - Instituto oceanográfico da universidade de São Paulo, 340p. 2002.
- ABESSA, D.M.S.; ZARONI, L.P.; SOUSA, E.C.P.M.; GASPARRO, M.R.; PEREIRA, C.D.S.; RACHID, B.R.F.; DEPLEDGE, M.; KING, R.S. Physiological and cellular responses in two populations of the mussel *Perna perna* collected at different sites from the coast of São Paulo, Brazil. **Brazilian archives of biology and technology**, v.48, n.2, p. 217-225. 2005.
- ANDRADY, A.L.; NEAL, M.A. Applications and societal benefits of plastics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.1977–1984. 2009.
- ANDRADY, A.L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p.1596-160. 2011.
- ARAGÃO, M.A.; ARAÚJO, R.P.A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática - princípios e aplicações**. São Carlos, RiMa, 486 p. 2008.
- ARAÚJO, G.S.; MOREIRA, L.B.; MORAIS, R.D.; DAVANSO, M.B.; GARCIA, T.F.; CRUZ, A.C.F.; ABESSA, D.M.S. Ecotoxicological assessment of sediments from na urban marine protected area (Xixová-Japuí State Park, SP, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v.75, p. 62-68. 2013.
- ASCER, L.G. **Efeitos de microplásticos na fisiologia do mexilhão *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae)**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de biociências da universidade de São Paulo, departamento de fisiologia geral, 88p. 2015.
- ASTM. Standard guide for conducting static toxicity tests starting with embryos of four species of saltwater bivalve mollusks. In: ASTM. **Annual Book of ASTM Standards: Water and Environmental Technology**. Philadelphia, v. 11, p. 377-394. 1992.
- AVIO, C.G.; GORBI, S.; MILAN, M.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; D'ERRICO, G.; PAULETTO, M.; BARGELLONI, L.; REGOLI, F. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. **Environmental Pollution**, v.198, p.211-222. 2015.

BAZTAN, J.; CARRASCO, A.; CHOUINARD, O.; CLEAUD, M.; GABALDON, J.E.; HUCK, T.; JAFFRÈS, L.; JORGENSEN, B.; MIGUELEZ, A.; PAILLARD, C.; VANDERLINDEN, J. Protected areas in the Atlantic facing the hazards of micro-plastic pollution: First diagnosis of three islands in the Canary Current. **Marine Pollution Bulletin**, v.80, p.302-311. 2014.

BAKIR, A.; ROWLAND, S.J.; THOMPSON, R.C. Competitive sorption of persistent organic pollutants onto microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v.64, p.2782-2789. 2012.

BEJGARN, S.; MACLEOD, M.; BOGDAL, C.; BREITHOLTZ, M. Toxicity of leachate from weathering plastics: An exploratory screening study with *Nitocra spinipes*. **Chemosphere**, v.132, p.114-119. 2015

BRENNECKE, D.; DUARTE, B.; PAIVA, F.; CAÇADOR, I.; CANNING-CLODE, J. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** p.1-7. 2016.

CARSON, H.S.; LAMSON, M.R.; NAKASHIMA, D.; TOLOUMU, D.; HAFNER, J.; MAXIMENKO, N.; MCDERMID, K.J. Tracking the sources and sinks of local marine debris in Hawaii. **Marine Environmental Research**, v.84, p.76-83. 2013.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T.S. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p.2588-2597. 2011.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; GALLOWAY, T.S. Microplastic Ingestion by Zooplankton. **Environmental science technology**, v.47, p.6646-6655. 2013.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T.S. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. **Environmental Science and Technology**, v.49, p.1130-1137. 2015.

CORTEZ, F.S.; PEREIRA, C.D.S.; SANTOS, A.R.; CESAR, A.; CHOUERI, R.B.; MARTINI, G.A.; BOHRER-MOREL, M.B. Biological effects of environmentally relevant

concentrations of the pharmaceutical Triclosan in the marine mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758). **Environmental Pollution**, v.168, p. 145-150. 2012.

DAVE, G.; ASPEGREN, P. Comparative toxicity of leachates from 52 textiles to *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.73, p.1629-1632. 2010.

DEL CIELO, C.C.; MALGARIN, J.; RESGALLA JR, C. Revisão dos ensaios crônicos de curta duração com embriões do mexilhão *Perna perna* (L.). **Ecotoxicology and environmental contamination**, v.8, n.2, p.37-43.2013.

ENDO, S.; TAKIZAWA, R.; OKUDA, K.; TAKADA, H.; CHIBA, K.; KANEHIRO, H.; OGI, H.; YAMASHITA, R.; DATE, T. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences. **Marine Pollution Bulletin**, v.50, p.1103-1114. 2005.

ENGLER, R.E. The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean. **Environmental science technology**, v.46, p.12302-12315. 2012.

EPA. **Plastic pellets in the aquatic environment: Sources and recommendations**. Environmental Protection Agency: Oceans and Coastal Protection Division Final Report 842-B-92-010. Washington, DC. 1992.

ERIKSEN, M.; LEBRETON, L.C.M.; CARSON, H.S.; THIEL, M.; MOORE, C.J. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PLoS ONE**, v.9, n.12. 2014.

FOSSI, M.C.; COPPOLA, D.; BAINI, M.; GIANNETTI, M.; GUERRANTI, C.; MARSILI, L.; PANTI, C.; SABATA, E.; CLÒ, S. Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: The case studies of the Mediterranean basking shark (*Cetorhinus maximus*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). **Marine Environmental Research**, v.100, p.17-24. 2014.

FOTOPOULOU, K.N.; KARAPANAGIOTI, H.K. Surface properties of beached plastic pellets. **Marine Environmental Research**, v.81, p.70-77. 2012.

FRANCIONI, E.; WAGENER, A.L.R.; CALIXTO, R.C.; BASTOS G.C. Evaluation of *Perna perna* (Linné, 1758) as a tool to monitoring trace metals contamination in

estuarine and coastal waters of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n.1, p.103-110. 2004.

FRANCIONI, E.; WAGENER, A.L.R.; SCOFIELD, A.L.; SETTE, C.B.; CARVALHOSA, L.; LOZINSKY, C.; MARIATH, R. Polycyclic aromatic hydrocarbon in inter-tidal mussel *Perna perna*: Space–time observations, source investigation and genotoxicity. **Science of the Total Environment**, v.372, p.515-531. 2007.

GREGORY, M.R. Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2013-2025. 2009.

HOLMES, L.A.; TURNER, A.; THOMPSON, R.C. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. **Environmental Pollution**, v.160, p.42-48. 2012.

IVAR DO SUL, J.A.; COSTA, M.F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, v.185, p.352-364. 2014.

JONES, K.C.; VOOGT, P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. **Environmental Pollution**, v.100, p.209-221. 1999.

KARAPANAGIOTI, H.K.; OGATA Y.; TAKADA H. Eroded plastic pellets as monitoring tools for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH): laboratory and field studies. **Global NEST Journal**, v.12, n.3, p.327-334. 2010.

LASIAK, T.; DYE, A. The ecology of the brown mussel *Perna perna* in Transkei, southern Africa: Implications for the management of a traditional food resource. **Biological Conservation**, v.47, p.245-257. 1989.

LI, H.-X.; GETZINGER, G.J.; FERGUSON, P.L.; ORIHUELA, B.; ZHU, M.; RITTSCHOF, D. Effects of toxic leachate from commercial plastics on larval survival and settlement of the barnacle *Amphibalanus amphitrite*. **Environmental Science Technology**, v.50, p.924-931. 2016.

LITHNER, D.; DAMBERG, J.; DAVE, G.; LARSSON, A. Leachates from plastic consumer products - screening for toxicity with *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v.74, p. 1195-1200. 2009.

LITHNER, D.; NORDENSVAN, I.; DAVE, G. Comparative acute toxicity of leachates from plastic products made of polypropylene, polyethylene, PVC, acrylonitrile-butadiene-styrene and epoxy to *Daphnia magna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v.19, p.1763-1772. 2012.

LUSCHER, A.L.; HERNANDEZ-MILIAN, G.; O'BRIEN, J.; BERROW, S.; O'CONNOR, I.; OFFICER, R. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. **Environmental Pollution**, v.199, p.185-191. 2015.

MARENZI, A.W.C.; BRANCO, J.O. O mexilhão *Perna perna* (Linnaeus) (Bivalvia, Mytilidae) em cultivo na Armação do Itapocory, Santa Catarina, Brasil. **Revista brasileira de zoologia**, v.22, n.2, p.394-399. 2005.

MATO, Y.; ISOBE, T.; TAKADA, H.; KANEHIRO, H.; OHTAKE, C.; KAMINUMA, T. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. **Environmental Science Technology**, v.35, p.318-324. 2001.

MOORE, C.J. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. **Environmental Research**, v.108, p.131-139. 2008.

MOOS, N.V.; BURKHARDT-HOLM, P.; KÖHLER, A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. **Environmental Science and Technology**, v.46, p.11327-11335. 2012.

NOBRE, C.R.; SANTANA, M.F.M.; MALUF, A.; CORTEZ, F.S.; CESAR, A.; PEREIRA, C.D.S.; TURRA, A. Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). **Marine Pollution Bulletin**, v.92, p.99-104. 2015.

OGATA, Y.; TAKADA, H.; MIZUKAWA, K.; HIRAI, H.; IWASA, S.; ENDO, S.; MATO, Y.; SAHA, M.; OKUDA, K.; NAKASHIMA, A.; MURAKAMI, M.; ZURCHER, N.; BOOYATUMANONDO, R.; ZAKARIA, M.P.; DUNG, L.Q.; GORDON, M.; MIGUEZ, C.; SUZUKI, S.; MOORE, C.; KARAPANAGIOTI, H.K.; WEERTS, S.; MCCLURG, T.; BURREN, E.; SMITH, W.; VAN VELKENBURG, M.; LANG, J.S.; LANG, R.C.; LAURSEN, D.; DANNER, B.; STEWARDSON, N.; THOMPSON, R.C. International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal

Waters. 1. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs. **Marine Pollution Bulletin**, v.58, p.1437-1446. 2009.

PERINOTTO, R.R.C. **Mapeamento de sensibilidade ao derrame de óleo dos ambientes costeiros dos municípios de São Vicente, Santos e Guarujá - SP**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro, 208p. 2010.

PINHEIRO, M.A.A; OLIVEIRA, A.J.F.C.; FONTES, R.F.C. Introdução ao Panorama Ambiental da Baixada Santista. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M.A.A.; FONTES, R.F.C. **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. 1. ed. São Vicente: Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista. P. 1-5. 2008

RIOS, E. **Sea shells of Brazil**. Rio Grande, editora da FURG, 368 p. 1984.

RIOS, L.M.; MOORE, C.; JONES, P.R. Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p.1230-1237. 2007.

SÁ, L.C.; LUÍS, L.G.; GUILHERMINO, L. Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): Confusion with prey, reduction of the predatory performance and efficiency, and possible influence of developmental conditions. **Environmental Pollution**, v.196, p.359-362. 2015.

SAÉNZ, L.A.; SEIBERT, E.L.; ZANETTE, J.; FIEDLER, H.D.; CURTIUS, A.J.; FERREIRA, J.F.; ALMEIDA, E.A.; MARQUES, M.R.F.; BAINY, A.C.D. Biochemical biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.73, p.796-804. 2010.

SÃO PAULO. **Plano de Manejo do Parque Estadual Xixová-Japuí**. Fundação Florestal do Estado de São Paulo. São Paulo, 572p. 2010.

SETÄLÄ, O.; FLEMING-LEHTINEN, V.; LEHTINIEMI, M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. **Environmental Pollution**, v.185, p.77-83. 2014.

TALSNESS, C.E.; ANDRADE, A.J.M.; KURIYAMA, S.N.; TAYLOR, J.A.; VOM SAAL, F.S.; Components of plastic: experimental studies in animals and relevance for human

health. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2079-2096. 2009.

TANIGUCHI, S.; COLABUONA, F.I.; DIAS, P.S.; OLIVEIRA, R.; FISNER, M.; TURRA, A.; IZAR, G.M.; ABESSA, D.M.S.; SAHA, M.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; TAKADA, H.; LOURENÇO, R.A.; MAGALHÃES, C.A.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE, R.C. Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.106, p.87-94. 2016.

TEUTEN, E.L.; SAQUING, J.M.; KNAPPE, D.R.U.; BARLAZ, M.A.; JONSSON, S.; BJÖRN, A.; ROWLAND, S.J.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S.; YAMASHITA, R.; OCHI, D.; WATANUKI, Y.; MOORE, C.; VIET, P.H.; TANA, T.S.; PRUDENTE, M.; BOONYATUMANOND, R.; ZAKARIA, M.P.; AKKHAVONG, K.; OGATA, Y.; HIRAI, H.; IWASA, S.; MIZUKAWA, K.; HAGINO, Y.; IMAMURA, A.; SAHA, M.; TAKADA, H. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p.2027-2045. 2009.

VAN CAUWENBERGHE, L.; CLAESSENS, M.; VANDEGEHUCHTE, M.B.; JANSSEN, C.R. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. **Environmental Pollution**, v.199, p.10-17. 2015.

WANG, J.; TAN, Z.; PENG, J.; QIU, Q.; LI, M. The behaviors of microplastics in the marine environment. **Marine Environmental Research**, v.113, p.7-17. 2016.

WATTS, A.J.R.; LEWIS, C.; GOODHEAD, R.M.; BECKETT, S.J.; MOGER, J.; TYLER, C.R.; GALLOWAY, T.S. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science and Technology**, v.48, p.8823-8830. 2014.

ZARONI, L.P.; ABESSA, D.M.S.; LOTUFO, G.R.; SOUSA, E.C.P.M.; PINTO, Y.A. Toxicity testing with embryos of marine mussels: protocol standardization for *Perna perna* (Linnaeus, 1758). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 74, p.793-800. 2005.

Capítulo 4: Considerações Finais

1. PRINCIPAIS CONCLUSÕES E APLICAÇÕES DO CONHECIMENTO

O estudo sugere que as características da praia serão o fator determinante para a acumulação de microplásticos no seu sedimento, já que praias vizinhas como Paranapuã e Itaquitanduva ambas pertencentes ao PEXJ e localizadas na baía de Santos apresentam concentrações diferentes de microplásticos e características da praia diferentes como: hidrodinamismo, exposição, granulometria, declividade e principalmente a orientação geográfica sendo esse o responsável pela frequência da incidência de vento favorecendo o acúmulo de microplásticos. Os resultados do presente estudo indicaram que a direção do vento foi o responsável pelo acúmulo de microplásticos na praia, desse modo o estudo sugere que praias mais expostas e com grande incidência de ventos a favor durante o ano podem apresentar maior acúmulo de microplásticos.

Ensaio ecotoxicológicos de curta duração são uma importante ferramenta para analisar riscos dos microplásticos no meio ambiente e a metodologia mais adequada para avaliação da toxicidade de pellets no desenvolvimento embriolarval do mexilhão *Perna perna* é a utilização de béqueres com os pellets soltos simulando de forma mais próxima a condição em que os microplásticos são encontrados no meio ambiente. Os pellets virgens apresentam uma toxicidade provavelmente relacionada a algum aditivo que possa ter sido incorporado nos processos industriais (EPA, 1992; NOBRE *et al.*, 2015) e especula-se que os pellets encontrados nas praias do PEXJ possam ter adsorvido contaminantes enquanto estiveram na baía de Santos, no entanto não podemos descartar que esses pellets podem ter uma origem distante e terem sido transportados para a praia através dos ventos e correntes marinhas e durante esse tempo podem ter adsorvido contaminantes em outras regiões (TANIGUCHI *et al.*, 2016).

Os microplásticos apresentam um risco ao meio ambiente, inclusive aos seres humanos. Os efeitos completos desse contaminante ainda estão sendo descobertos tornando-se necessário estudos e pesquisas principalmente no hemisfério sul que apresenta um menor volume de dados. Entre as possíveis medidas que poderiam solucionar esse problema é a implantação de um controle rigoroso para que o plástico seja descartado em locais adequados e não entre nas bacias hidrográficas e no

ambiente marinho, pois uma vez que alcance o ambiente marinho possui uma grande dispersão e persistência colocando em risco toda a teia trófica. Além da melhoria do controle de descarte, melhorias no transporte de pellets poderiam evitar que essa matéria prima se perdesse acidentalmente e somados com programas de educação ambiental viriam a diminuir as taxas de entrada dos microplásticos no ambiente marinho (MOORE, 2008).

2. FUTUROS ESTUDOS

Diversos estudos sugerem que a reciclagem de plásticos poderia contribuir para a diminuição de microplásticos, além disso a utilização de plásticos biodegradáveis viria a diminuir sua persistência no ambiente e consequentemente poderiam diminuir os riscos causados. No entanto são necessários investimentos em pesquisas para conhecimento profundo do comportamento de microplásticos de compostos biodegradáveis e seus efeitos tóxicos para que não ocorra o erro de substituir um contaminante por outro que possa ser mais tóxico. Ainda são raros os estudos com microplásticos biodegradáveis podendo ser esse um importante tema para estudos futuros. Desse modo a utilização do teste ecotoxicológico aplicado no capítulo 3 com mexilhão *Perna perna* utilizando pellets de polímeros biodegradáveis viriam a contribuir para o conhecimento. Sugere-se que próximos estudos utilizem essa metodologia e também apliquem concentrações de microplásticos inferiores de maneira a observar possíveis efeitos de microplásticos em ambientes que apresentam diferentes concentrações.

Ainda são necessários maiores estudos na baía de Santos com o objetivo de compreender a distribuição e dinâmica dos microplásticos nesse ambiente, nesse sentido a análise da concentração de microplásticos na coluna da água na baía de Santos ajudariam a compreender a sua distribuição nas praias dessa região. Além da necessidade de avaliar praias na costa leste da baía de Santos, onde os trabalhos são escassos, dessa maneira contribuindo para um melhor entendimento desse contaminante e seus riscos para o ambiente da baía de Santos. Estudos sobre microplásticos têm aumentado nos últimos anos, no entanto ainda é necessária uma padronização dos conceitos e metodologias de coletas, uma vez que a classificação de microplásticos pode variar entre os autores (COSTA *et al.*, 2016).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, J.P.; SANTOS, P.S.M.; DUARTE, A.C.; ROCHA-SANTOS, T. (Nano)plastics in the environment - Sources, fates and effects. **Science of the total environment**, v.566-567, p.15-56. 2016.

EPA. **Plastic pellets in the aquatic environment: Sources and recommendations**. Environmental Protection Agency: Oceans and Coastal Protection Division Final Report 842-B-92-010. Washington, DC. 1992.

MOORE, C.J. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. **Environmental Research**, v.108, p.131-139. 2008.

NOBRE, C.R.; SANTANA, M.F.M.; MALUF, A.; CORTEZ, F.S.; CESAR, A.; PEREIRA, C.D.S.; TURRA, A. Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). **Marine Pollution Bulletin**, v.92, p.99-104. 2015.

TANIGUCHI, S.; COLABUONA, F.I.; DIAS, P.S.; OLIVEIRA, R.; FISNER, M.; TURRA, A.; IZAR, G.M.; ABESSA, D.M.S.; SAHA, M.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; TAKADA, H.; LOURENÇO, R.A.; MAGALHÃES, C.A.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE, R.C. Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.106, p.87-94. 2016.