



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA CAMPUS V  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS CURSO DE  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MARYANNA DE LOURDES COELHO RUFFO**

**O USO DE SAL NA TRIAGEM LABORATORIAL DE  
MICROPLÁSTICOS EM SEDIMENTOS PODE REPRESENTAR  
UM VIÉS METODOLÓGICO?**

**João Pessoa  
2024**

MARYANNA DE LOURDES COELHO RUFFO

**O USO DE SAL NA TRIAGEM LABORATORIAL DE  
MICROPLÁSTICOS EM SEDIMENTOS PODE REPRESENTAR  
UM VIÉS METODOLÓGICO?**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)  
apresentado à Coordenação do Curso Ciências  
Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba,  
como requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Ana Lúcia Vendel

**João Pessoa  
2024**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R927u Ruffo, Maryanna de Lourdes Coelho.

O uso de sal na triagem laboratorial de microplásticos em sedimentos pode representar um viés metodológico? [manuscrito] / Maryanna de Lourdes Coelho Ruffo. - 2024.  
19 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2024.

"Orientação : Profa. Dra. Ana Lúcia Vendel, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA. "

1. Impacto ambiental. 2. Filtragem de microplásticos. 3. Protocolo de triagem. 4. NaCl. I. Título

21. ed. CDD 363.738

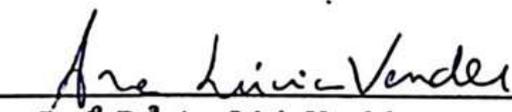
MARYANNA DE LOURDES COELHO RUFFO

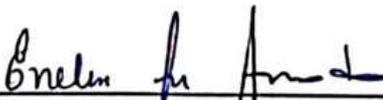
**O USO DE SAL NA TRIAGEM LABORATORIAL DE  
MICROPLÁSTICOS EM SEDIMENTOS PODE REPRESENTAR  
UM VIÉS METODOLÓGICO?**

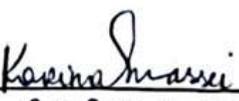
Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)  
apresentado a/ao Coordenação/Departamento  
do Curso Ciências Biológicas da Universidade  
Estadual da Paraíba, como requisito parcial à  
obtenção do título de bacharel em Ciências  
Biológicas.

Aprovada em: 25/ 04/ 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Ana Lúcia Vendel  
(Orientadora) Universidade Estadual da  
Paraíba (UEPB)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Enlise Marcelle Amado  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Karina Massei  
INPACT (Instituto de Pesquisa e Ação/PB)

Aos meus pais e irmãos, DEDICO.

“Dizem que as coisas boas que fazemos  
ecoam para sempre. Façamos, então, a  
diferença, para nos tornarmos imortais”  
Luan Santana

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema da não filtração de solução salina para controle empregado na triagem de sedimentos.....	12
Figura 2: Esquema da filtração de solução salina para controle empregado na triagem de sedimentos .....	12
Figura 3: Box-Plot da incidência de MPs encontrados em amostras sem e com pré-filtração do NaCl empregado na triagem do controle.....	14

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1</b>	<b>Amostragens</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2</b>	<b>Triagem em laboratório</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2.2</b>	<i>Triagem sem filtragem da solução salina</i> .....	<b>11</b>
<b>3.2.3</b>	<i>Triagem com filtragem da solução salina</i> .....	<b>12</b>
<b>3.3</b>	<b>Tratamento dos dados</b> .....	<b>13</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>15</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>15</b>
	<b>ANEXO 1 - Protocolo de Triagem de Sedimento em Laboratório</b> .....	<b>17</b>

## O USO DE SAL NA TRIAGEM LABORATORIAL DE MICROPLÁSTICOS EM SEDIMENTOS PODE REPRESENTAR UM VIÉS METODOLÓGICO?

<sup>1</sup>Maryanna Ruffo<sup>1</sup>  
Ana Lúcia Vendel<sup>2</sup>

### RESUMO

Os microplásticos são partículas inferiores a 5,0 mm derivados da degradação de polímeros e suas ocorrência e abundância têm sido avaliadas em diversos ambientes e compartimentos, como sedimento, coluna d'água e organismos. Um método comumente empregado para avaliação e quantificação destas partículas em sedimentos consiste na utilização de uma solução de sal marinho (NaCl) para sua decantação. Entretanto, devido à elevada incidência de plásticos nos mares, este sal apresenta alta concentração de microplásticos e deve ser filtrado para não interferir na avaliação realizada. Desta maneira, este estudo preocupou-se em comparar os resultados da triagem de sedimentos em laboratório antes e após a filtração do NaCl utilizado. Sedimento proveniente do ambiente estuarino, cujo sal utilizado na triagem de laboratório não foi filtrado, foi comparado ao sedimento coletado em reservatórios do semiárido, o qual passou pelo processo de filtração antes do uso do sal para decantação. Utilizando o teste de Mann-Whitney, buscou-se determinar a importância da filtração do sal na decantação dos sedimentos provenientes de ambos os locais. A diferença entre as medianas dos dois grupos testados foi altamente significativa ( $W = 6621$ ;  $p = 3,048e-15$ ), apontando incidência de microplásticos significativamente menor na amostra cujo sal foi filtrado. Este trabalho conclui que é necessária a filtração do NaCl usado na decantação do sedimento para evitar a contaminação prévia das amostras utilizadas na avaliação da qualidade do ambiente natural. Esta abordagem estimulou a criação de um protocolo de triagem de microplásticos em laboratório para, assim, reduzir erros metodológicos no processamento de amostras e proporcionar uma compreensão mais fiel e precisa da qualidade do ambiente quanto à incidência de impacto antrópico dos microplásticos no sedimento, independente do ambiente estudado.

**Palavras-Chave:** impacto ambiental; filtração de microplásticos; protocolo de triagem; NaCl.

### ABSTRACT

Microplastics are particles smaller than 5.0 mm resulting from the manipulation of polymers and their occurrence and abundance were evaluated in different environments and compartments, such as sediments, water column and organisms. A commonly used method for evaluating and quantifying particles in sediments consists of using a sea salt (NaCl) solution for decantation. However, due to the high incidence of plastics in our waters, this salt has a high concentration of microplastics and must be filtered to avoid interfering with the assessment

---

<sup>1</sup> Universidade Estadual da Paraíba – Campus V, Centro de Ciências Biológicas Sociais e Aplicadas, Departamento de Biologia, Rua Horácio Trajano de Oliveira, Cristo 58020 - 540, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: maryanna.ruffo@aluno.uepb.edu.br

<sup>2</sup> Universidade Estadual da Paraíba – Campus V, Centro de Ciências Biológicas Sociais e Aplicadas, Departamento de Biologia, Rua Horácio Trajano de Oliveira, Cristo 58020 - 540, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: analuciavendel@servidor.uepb.edu.br

carried out. Therefore, this study was concerned with comparing the results of sediment screening in the laboratory before and after filtering the NaCl used. Sediment from the estuarine environment, whose salt used in laboratory screening was not filtered, was compared to sediment collected in semi-arid reservoirs, which went through the filtering process before using the salt for decantation. Using the Mann-Whitney test, we sought to determine the importance of salt filtration in the decantation of sediments from both locations. The difference between the medians of the two tested groups was highly significant ( $W = 6621$ ;  $p = 3.048e-15$ ), with a significantly lower focus on microplastics in the sample whose salt was filtered. This work concludes that it is necessary to filter the NaCl used to decant the sediment to avoid prior contamination of the samples used to assess the quality of the natural environment. This approach encouraged the creation of a microplastic tracking protocol in the laboratory to reduce methodological errors in sample processing and provide a more faithful and accurate understanding of the quality of the environment in terms of the incidence of anthropogenic impact of microplastics in the sediment, regardless of the trained environment.

**Keywords:** environmental impact; microplastic filtration; screening protocol; NaCl.

## 1 INTRODUÇÃO

Os microplásticos (MPs) são partículas que variam entre 1,0  $\mu\text{m}$  e 5,0 mm de comprimento e derivam da degradação de polímeros (PAPPIS et al., 2021), em sua maioria, sintéticos. Considerados uma ameaça ambiental desde a década de 70, boa parte da sociedade ainda não tomou conhecimento da sua abundância ou dos malefícios por eles ocasionados. Polímeros sintéticos, nomeadamente plásticos, são leves, possuem uma longa vida útil, apresentam colorações, formatos e espessuras variáveis, características aliadas a sua grande aplicabilidade, durabilidade e baixo custo (MONTAGNER et al., 2021).

Os microplásticos são classificados em primários e secundários, sendo os primários utilizados como matéria-prima para a fabricação de toda gama de itens plásticos, já os secundários são provenientes do desgaste e da fragmentação de macropolásticos erroneamente descartados (THOMPSON et al. 2004; VENDEL et al., 2017). Os plásticos, por não serem confiavelmente biodegradáveis, não se decompõem completamente e tendem a se acumular no ambiente onde foram descartados, como em águas continentais e no ambiente marinho (GEYER et al., 2017). Eles passam por um contínuo processo de fragmentação devido a fatores como exposição à luz ultravioleta, variações de temperatura e abrasão química (PAPPIS et al., 2021), resultando na oxidação da estrutura química do polímero e sua subsequente quebra e desintegração em pequenos fragmentos, que eventualmente podem degradar-se até a dimensão de nanopartículas (BROWNE et al., 2007).

Quanto à composição química, os tipos de plásticos mais abundantes no mundo são os polímeros termoplásticos, a saber, polipropileno (PP), polietileno (PE) (podendo ser PEBD - polietileno de baixa densidade ou PEAD - polietileno de alta densidade), poliestireno (PS), policloreto de vinila (PVC), politereftalato de etileno (PET), poliamida (PA) e polímero termorrígido poliuretano (PU) (AVIO et al., 2017).

Inúmeras atividades domésticas e industriais fazem com que ocorra o lançamento de resíduos plásticos em locais impróprios, onde esse descarte incorreto torna-se uma grande fonte de MPs nos mais diversos ecossistemas. Em ambientes terrestres, os maiores responsáveis pela presença de microplásticos são os resíduos descartados no solo, lixões e também aterros, de onde são lixiviados para o ambiente aquático. Descartes estes que, conseqüentemente, culminam em poluição aquática em distintos ambientes, como rios, lagos, reservatórios, lagunas, estuários, chegando ao ambiente marinho, como um todo. Apenas para exemplificar, dentre os fatores que aumentam consideravelmente este impacto, tem-se: 1) processamento e

lavagem de tecidos sintéticos em máquinas industriais e domésticas; 2) produtos de higiene pessoal e cosméticos (MONTAGNER, 2021). Há ainda a contaminação aérea, onde microfibras aéreas são amplamente distribuídas em todos os ambientes sob influência da ação dos ventos (RAGUSA et al., 2021).

O Laboratório de Ictiologia, Campus V, UEPB, João Pessoa tem estudado, há pouco mais de uma década, a ingestão de microplásticos por peixes, que os ingerem de forma generalizada, independente de fatores como hábito alimentar, habitat ou grupo funcional do peixe avaliado (VENDEL et al., 2017; PAIVA et al., 2021). Mais recentemente, os estudos têm abordado a avaliação da abundância de microplásticos na água (De OLIVEIRA et al. 2022) e no sedimento (FRANÇA, 2022; PEREIRA, 2023) tanto em ambiente estuarino, um importante ambiente de transição entre o rio e o mar, como em reservatórios, locais utilizados para abastecer e dessedentar populações humanas e de animais domésticos, irrigar plantações, promover o turismo e a pesca de subsistência.

Para analisar a ocorrência de MPs em ambientes naturais, faz-se a coleta do sedimento local, em desenhos amostrais que condizem com tamanho e impacto na área, bem como recursos humanos e financeiros disponíveis. A seguir, o material amostrado segue para triagem em laboratório. Nesta etapa, as amostras são pesadas (peso úmido) e secas em estufas apropriadas pelo tempo adequado, dependendo do tipo de sedimento avaliado. As amostras são novamente pesadas (peso seco) e misturadas a uma solução de água destilada filtrada e sal de cozinha (NaCl) onde se processa a decantação do sedimento e a flutuação dos MPs.

Um protocolo de controle do impacto da contaminação aérea (ACC Protocol) em laboratório foi descrito por Paiva et al. (2022), que consiste em padronizar procedimentos em laboratório no sentido de aumentar a confiabilidade na análise das amostras no caso, eliminando por completo o impacto causado pela contaminação aérea, com brancos expostos durante a análise visual do sedimento, zerados de fibras aéreas.

No mesmo sentido, foi observada a necessidade de investigar se o uso do sal de cozinha na triagem dos MPs de amostras de sedimento poderia interferir nos resultados da quantidade de MPs encontrados nos ambientes avaliados pela equipe do laboratório. Fato reforçado em trabalhos como o de Falasco (2019) que registrou uma densidade média de  $3.443 \pm 2.696,54$  partículas insolúveis e microplásticos por kg de sal refinado. Deste modo, desde 2022 o sal comercial utilizado no laboratório passou a ser todo filtrado em malha padronizada. Sendo assim, a pesquisa aqui apresentada teve foco na comparação entre amostragens antes e depois da filtragem do NaCl utilizado na triagem do sedimento. Com isso, avaliou-se o ajuste metodológico feito no controle - procedimento de cuidado com filtragem tripla da solução de do sal de cozinha utilizada – e conseqüente aumento da confiabilidade na quantificação da abundância de MPs em sedimentos.

Assim como há fibras microplásticas no ar atmosférico em circulação e até mesmo nas vestimentas e utensílios utilizados ao longo de todo o processo de coleta e triagem, há também MPs no sal marinho comercial utilizado na decantação (FALASCO, 2019; HA, 2021; MAKHDOUMI et al., 2023) e isso compromete a confiabilidade dos dados obtidos. De forma a controlar e minimizar tais erros, é importante aperfeiçoar a metodologia, o que advém da prática laboratorial cotidiana.

## **2 OBJETIVOS**

Avaliar o efeito da pré-filtragem da solução salina utilizada em laboratório na triagem de microplásticos em sedimentos.

Desenvolver um protocolo de triagem de sedimentos em laboratório.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostragens

A primeira tomada de dados foi proveniente de amostras de sedimento em ambiente estuarino, obtida entre março de 2019 e fevereiro de 2020, totalizando 60 amostras avaliadas quanto à existência de MPs, embora nesta triagem não tenha ocorrido a filtração prévia do sal de cozinha nela utilizado.

A segunda tomada de dados a ser comparada aqui, provém de sedimentos coletados durante o ano de 2022, em oito reservatórios no semiárido paraibano, em um total de 150 amostras avaliadas, agora com filtração prévia do NaCl utilizado.

Nos dois estudos, as amostragens de sedimento em campo ocorreram de forma padronizada, com draga do tipo Van Veen lançada de uma a três vezes, até obter cerca de 0,5 kg de sedimento em cada ponto amostral, tanto no estuário, quanto nos reservatórios. Para evitar contaminação por plástico, o material foi removido da draga com espátula de inox e armazenado em potes de vidro previamente lavados com água destilada, etiquetados e conduzidos em caixa térmica ao Laboratório de Ictiologia, UEPB, onde foram devidamente processados e triados.

No entanto, o que diferiu entre as amostragens foi o fato de que no sedimento coletado no estuário não ocorreu a filtração prévia da solução salina para uso na decantação dos MPs da amostra, medida implementada posteriormente na triagem do sedimento proveniente dos reservatórios, em 2022.

#### 3.2 Triagens em Laboratório

##### 3.2.1 *Triagem sem filtração da solução salina*

Ainda de forma padronizada, em laboratório, todas as amostras provenientes do estuário ou dos reservatórios foram pesadas em balança de precisão (Shimadzu 0,01g) e armazenadas em embalagens de alumínio, também previamente pesadas para subtrair seu peso e determinar o peso úmido do sedimento.

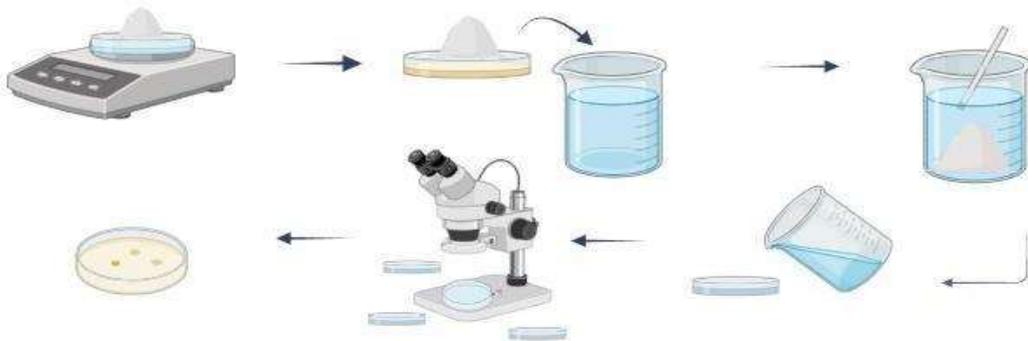
As amostras do sedimento dos estuários (100g) foram secas em estufa a 55°C por 48 horas. Após esse período, verificou-se se o material estava completamente seco, realizando-se nova pesagem para registro do peso seco final. Em seguida, ocorreu a preparação de uma solução de NaCl a 140g/L de água destilada filtrada, esta sim sempre filtrada, a qual foi homogeneizada com a amostra e auxílio de um bastão de vidro por 5 minutos. Em seguida, o béquer com a amostra foi fechado com papel alumínio e mantido inerte sob a bancada por 24 horas para permitir a completa decantação do sedimento e subsequente triagem do sobrenadante para quantificação visual dos MPs. Após 24 horas, a amostra foi submetida à filtração em uma malha de 20µm usando uma peneira de alumínio aderida à malha, para facilitar a filtração da solução. Água destilada é utilizada para lavar a área filtrada, transferindo o material para uma placa de Petri triplamente lavada com água destilada filtrada sempre na mesma malha de 20µm. Posteriormente, fez-se a análise do sobrenadante em um microscópio estereoscópico, a fim de quantificar os microplásticos flutuantes em 1L de sobrenadante por amostra.

Nas amostragens do sedimento do estuário houve o uso de controle onde uma solução de NaCl contendo 140g/L de água destilada foi filtrada e homogeneizada com um bastão de vidro por 5 minutos. Após esta etapa, o béquer foi vedado com papel alumínio e deixado em repouso por 24 horas para permitir a completa decantação, seguida pela triagem do sobrenadante para quantificação visual dos MPs.

### 3.2.2 Triagem com filtragem da solução salina

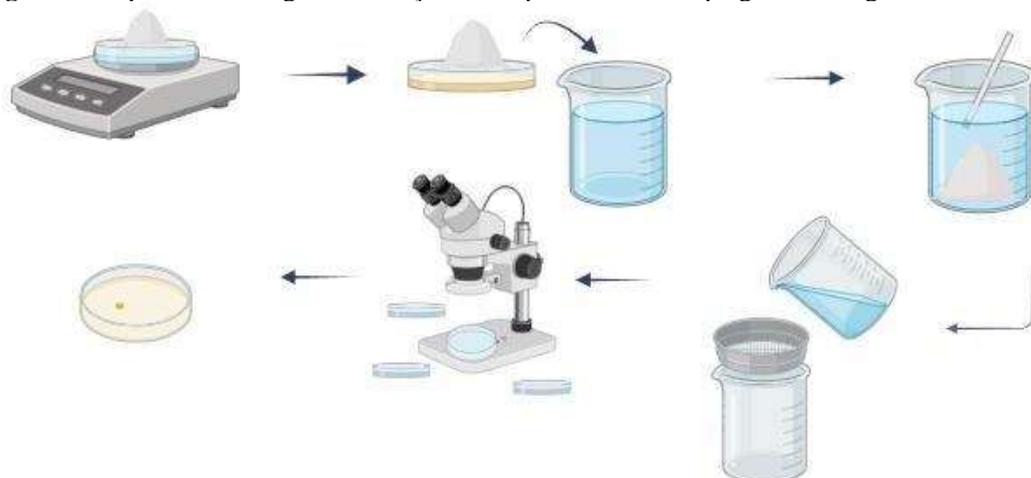
Quanto às amostras provenientes do sedimento dos reservatórios, os procedimentos foram os mesmos descritos anteriormente, com peso das embalagens de alumínio vazias, cálculo do peso úmido do sedimento a ser secado na estufa (60°C por 72 horas). Após esse período, foi verificado se o material estava completamente seco, procedendo a uma nova pesagem para registro do peso seco final. A diferença está na filtragem prévia da solução salina, também 140g/L aqui utilizada, que após filtragem foi misturada a 100g de sedimento e homogeneizada com bastão de vidro por 5 minutos. A seguir, a mistura foi vedada com papel alumínio e mantida por 4 horas, onde se notou pela coloração a decantação completa do sedimento, que a amostra deveria seguir para triagem do sobrenadante. A figura 1 ilustra os procedimentos sem e com pré-filtragem da solução salina durante a triagem do sedimento, com amostra filtrada através de uma malha de 20µm com auxílio de uma peneira de alumínio, filtrando toda a solução preparada. Com o auxílio do fluxo de água proveniente de uma pisseta, a área filtrada foi enxaguada, transferindo o material para uma placa de Petri previamente lavada três vezes com água destilada filtrada. Em seguida, o sobrenadante foi analisado em um microscópio estereoscópico para quantificar a incidência de MPs por amostra.

**Figura 1:** Esquema sem filtragem de solução salina para controle empregado na triagem de sedimentos.



Fonte: Autoria própria (2024).

**Figura 2:** Esquema da filtragem de solução salina para controle empregado na triagem de sedimentos



Fonte: Autoria própria (2024).

Em tempo, faz-se necessário salientar que durante todo este estudo, foi aplicado o Protocolo de Controle de Contaminação Aérea (Paiva et al. 2022) com destaque aos seguintes cuidados: todas as etapas em laboratório ocorrem com o ar-condicionado desligado e a pessoa responsável utiliza jaleco 100% algodão, máscara, cabelo preso e luvas. A bancada era limpa com álcool 70% e papel toalha a fim de eliminar toda impureza do balcão, assim como a lupa, após isso é feita a tripla lavagem das placas de Petri com água destilada filtrada e pinças, foram colocada as placas de Petri lavadas no balcão com água destilada filtrada para o controle da contaminação aérea e/ou contaminação cruzada, após isso lava-se a malha de filtragem, ligas e peneira, filtra a água sobrenadante da amostra e do controle com rede de 20 $\mu$ m (previamente lavada com água destilada filtrada) para separar os microplásticos flutuantes, lava a rede com água destilada dentro da placa de Petri, a fim de coletar os microplásticos que tenham ficado na rede e analisa em lupa todo o produto da filtragem.

### 3.3 Tratamento dos dados

Análises estatísticas foram aplicadas aos dois grupos de dados, amostra do estuário e reservatórios, que visavam a quantificação da abundância de MPs triadas sem e com filtragem solução de NaCl filtrada em malha de 20 $\mu$ m para decantação do sedimento e filtragem do sobrenadante e, assim, aferir quanto de MPs há nos sedimentos avaliados. Para testar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk, ao nível de 5% de significância, cujo resultado apontou para a não normalidade dos grupos confrontados. De modo que foi aplicado o teste de Mann-Whitney para testar os grupos de dados, também com nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram processadas no software R 4.3.3.

Salienta-se que as duas amostras de sedimentos foram consideradas independentes, provenientes de períodos e localidades distintas - estuário do rio Paraíba e reservatórios do semiárido - ambas foram coletadas da mesma maneira e o processamento em laboratório ocorreu de forma semelhante e pela mesma equipe, sendo, portanto adequadas para o teste de metodologia aqui proposto.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

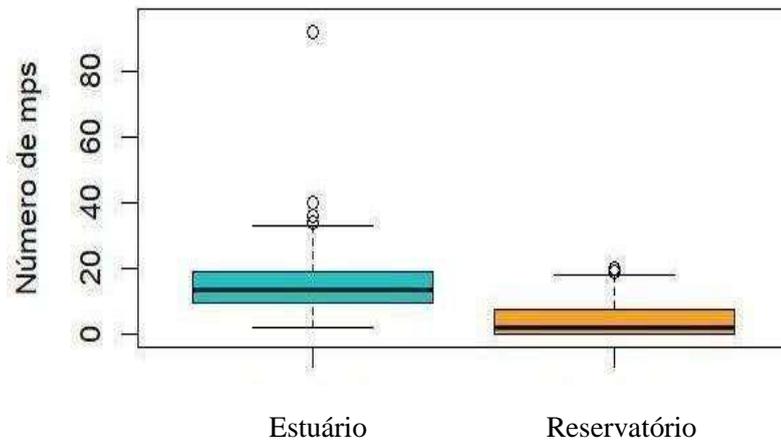
O teste de Shapiro-Wilk revelou a não normalidade dos dados das amostras sem ( $W = 0,67869$ ;  $p = 2,172e^{-9}$ ) e com filtragem prévia da solução de NaCl ( $W = 0,82457$ ;  $p = 5,557e^{-12}$ ). Desse modo, para uma análise mais aprofundada, foi empregado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, revelando uma diferença altamente significativa entre os grupos ( $W = 6621$ ;  $p = 3,048e^{-15}$ ), confirmando a disparidade na quantidade de MPs entre as amostras, com um nível de significância de 5%. A figura 2 evidencia os resultados significativamente distintos pelos valores de  $W$  e  $p$  obtidos, visto que sua análise visual reforça a distinção entre as amostras, demonstrando que, sob uma malha de filtragem de 20  $\mu$ m, a presença de microplásticos foi consideravelmente reduzida, corroborando com a necessidade de filtragem controlada em toda amostra de sedimento que faça uso de NaCl para triagens em laboratório.

Mesmo com menor número de pseudoréplicas amostradas no estuário (60) que nos reservatórios (150), a incidência de MPs foi significativamente maior neste primeiro ambiente, o que denota a importância de filtragem do sal usado na traigem, embora, para o estuário, não tenhamos valores posteriores à implementação do Protocolo de Triagem de Sedimentos. Na verdade, faz-se necessário considerar a elevada frequência de MPs no sal utilizado, sem isso, não é possível mensurar o real impacto dos fragmentos de polímeros nos ambientes avaliados, que continuam em estudo agora com a aplicação do protocolo ajustado (PEREIRA, 2023).

Este achado demonstra claramente a eficácia na filtragem e consequente retirada dos

microplásticos provenientes do NaCl que devem ser eliminados para que não contaminem amostras que avaliam a qualidade do ambiente natural através da abundância de MPs no sedimento. Esta abordagem comparativa permitiu evidenciar claramente a importância das técnicas de análise e filtragem do NaCl empregado no processo, para uma compreensão mais fiel, precisa e completa de dados que visam avaliar a incidência de impacto antrópico em sedimentos, independente do ambiente avaliado.

**Figura 2:** Box-Plot da incidência de MPs encontrados em amostras sem (Estuário) e com (Reservatório) pré-filtragem do NaCl empregado na triagem do controle.



Fonte: Autoria própria (2024).

De fato, como comprovado por Falasco (2019), o sal extraído do mar é a principal fonte do sal consumido no Brasil, em seu estudo, a média de material insolúvel encontrada nos sais refinados aqui comercializados foi de  $0,32 \pm 0,57$  g/kg com densidade média  $3443 \pm 2696,54$  partículas/kg. Os tipos de plásticos encontrados no sal de cozinha refinado foram polietileno (PE), politereftalato de etileno (PET), polipropileno (PP) e poliestireno (PS) (FALASCO, 2019), enquanto Koelmans et al. (2022) avaliaram o risco de partículas plásticas no ambiente e afirmam que os polímeros mais abundantes nos MPs avaliados foram polietileno (PE), tereftalato de polietileno (PET), poliamida (PA), polipropileno (PP), poliestireno (PS), álcool polivinílico (PVA) e cloreto de polivinila (PVC) - grifos da autora - resta saber o quanto disso provém do ruído presente na metodologia empregada na análise. Na proposta de aumentar a confiabilidade das análises de impacto ambiental por MPs evidenciou-se aqui a importância em uma simples padronização de filtragem prévia do sal comercial utilizado na decantação do sedimento. Portanto, torna-se obrigatório que qualquer pessoa que empregue NaCl de origem marinha em triagens laboratoriais na decantação de sedimentos ou após a queima da matéria orgânica por  $H_2O_2$ , assuma a responsabilidade de filtrá-lo antes do uso, já que é o material mais utilizado para este fim, devido ao baixo custo e facilidade de aquisição.

Um indício do efeito da não filtragem da solução salina foi a presença de até 37 filamentos de MPs no controle utilizado durante a triagem em laboratório do sedimento aqui proposto, pois, após a filtragem da solução salina empregada, o controle passou a ser zero na etapa dos sedimentos dos reservatórios (PEREIRA, 2023). Há ainda diversos estudos que investigaram e quantificaram MPs em sal de consumo doméstico demonstram a grande incidência de polímeros (YANG et al., 2015; HA, 2021), em especial fibras e filamentos (MAKHDOUMI et al., 2023), sendo este o material mais empregado nas etapas intermediárias para facilitar a decantação dos MPs em triagens laboratoriais. De maneira que as pesquisas sobre impacto por MPs nos mais distintos ambientes, seja no sedimento, seja na água ou mesmo

em tecidos de organismos que os ingerem façam uso de soluções salinas desde que atendem ao processo de filtragem empregado na metodologia (ROCHMAN et al., 2015; SILVA-BATISTA & AMADO, 2023). Como defendido por Alves & Figueiredo (2019) há muitas recomendações metodológicas na literatura, mas ainda é necessário desenvolver e assumir um protocolo padronizado do uso de solução salina, em especial quando empregado sal de origem marinha, para garantir estimativas mais acuradas da abundância de MPs nas avaliações de impacto antrópico em distintos ambientes.

Tendo em vista o exposto anteriormente, propõe-se um protocolo de procedimento que prioriza a filtragem adequada do sal empregado na decantação do sedimento para contagem de MPs, independente do tipo de sal utilizado. O Protocolo de Triagem de Sedimento em Laboratório é apresentado no Anexo 1 e foi amplamente aplicado e ajustado às necessidades desta pesquisa, de modo que em estudos desta natureza, que busquem avaliar impacto antrópico em solos e sedimentos, o apliquem de maneira adequada ao seu objetivo, mas com o entendimento de que o NaCl utilizado precisa ser escolhido com propriedade e filtrado com precisão. Em se tratando de triagem de MPs em laboratório, o primeiro cuidado deve ser o preparo do local e do pesquisador que o aplica.

Diante do exposto e do significativo número de microplásticos na amostra com menor número de pseudoréplicas, fica comprovada a necessidade de filtragem das soluções salinas utilizadas na triagem do sedimento para quantificar abundância de MPs, segundo o Protocolo de Triagem de Sedimentos aqui proposto e assim assegurar que os microplásticos encontrados na amostra sejam exclusivamente provenientes dela, e não do sal utilizado.

## 5 CONCLUSÃO

Este estudo confirma ser essencial a pré-filtragem da solução salina utilizada no processo de triagem de MPs em amostras de sedimento em laboratório para, com isso, aumentar a confiabilidade da avaliação do ambiente em estudo, reduzindo um dos erros metodológicos mais comuns no processamento das amostras. Deste modo, criou-se um Protocolo de Triagem de Sedimentos em Laboratório para que a abundância de MPs registrada nos sedimentos avaliados seja fidedigna a sua ocorrência no ambiente e não proveniente da metodologia aplicada no processo de triagem, afinal a solução salina é essencial para o processo físico de decantação dos MPs, é de fácil aquisição, de amplo uso e baixo custo

## REFERÊNCIAS

- ALVES, Vivianne EN; FIGUEIREDO, Gisela M. Microplastic in the sediments of a highly eutrophic tropical estuary. **Marine pollution bulletin**, v. 146, p. 326-335, 2019.
- AVIO, Carlo Giacomo; GORBI, Stefania; REGOLI, Francesco. Plastics and microplastics in the oceans: from emerging pollutants to emerged threat. **Marine environmental research**, v. 128, p. 2-11, 2017.
- BROWNE, Mark A.; GALLOWAY, Tamara; THOMPSON, Richard. Microplastic--an emerging contaminant of potential concern?. **Integrated Environmental Assessment & Management**, v. 3, n. 4, 2007.
- FALASCO, Carina Francisco. **Avaliação da presença de partículas insolúveis e microplásticos em sais de origem marinha do Brasil**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- DA SILVA BATISTA, Kamila Amanda; AMADO, Enelise Marcelle. Impactos da poluição marinha por microplásticos em anêmonas do mar: estado da arte e perspectivas futuras. **Editora Licuri**, p. 104-117, 2023.

- DE OLIVEIRA, Ana Karolyna Maia et al. Abiotic factors associated with microplastic pollution in surface water of a tropical estuary. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, 2022.
- FRANÇA, Summeiya. **Ocorrência de microplásticos no sedimento à Jusante do estuário do rio paraíba, pb**. Orientadora: Ana Lúcia Vendel. 2022. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Graduanda, UEPB, 2022.
- GEYER, Roland; JAMBECK, Jenna R.; LAW, Kara Lavender. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, v. 3, n. 7, p. e1700782, 2017
- HA, Dang Thi. Microplastic contamination in commercial sea salt of Vietnam. **Vietnam Journal of Science and Lechnology**. v. 59, n. 3. p. 333-344, 2021.
- KOELMANS, Albert A. et al. Risk assessment of microplastic particles. **Nature**. *Reviews Materials*, v. 7, n. 2, p. 138-152, 2022.
- MONTAGNER, Cassiana C. et al. Microplásticos: Ocorrência Ambiental e Desafios Analíticos. **Química Nova**, v. 44, p. 1328-1352, 2021.
- MAKHDOUMI, Pouran et al. Microplastic pollution in table salt and sugar: Occurrence, qualification and quantification and risk assessment. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 119, p. 105261, 2023.
- PEREIRA, Clécio. **Impacto por microplásticos no sedimento em sistemas aquáticos da Paraíba**. Orientadora: Ana Lúcia Vendel. 2022. 6fls. Relatório PIBIC (Graduação), UEPB, 2023.
- PAIVA, Bianca Oliveira et al. Elevada ingestão de microplásticos pela corvina: um indicativo da necessidade de redução do impacto antrópico costeiro. **Gaia Scientia**. v. 15, n. 4, p. 83-96. 2021.
- PAIVA, Bianca Oliveira et al. How to control the airborne contamination in laboratory analyses of microplastics?. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65. 2022.
- PAPPIS, Thatiane; KAPUSTA, Simone Caterina; OJEDA, Telmo. Metodologia de extração de microplásticos associados a sedimentos de ambientes de água doce. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 26, p. 749-756, 2021.
- RAGUSA, Antonio et al. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. **Environment international**, v. 146, p. 06274, 2021.
- ROCHMAN, Chelsea M. et al. Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2015.
- THOMPSON, Richard C. et al. Lost at sea: where is all the plastic?. **Science**, v. 304, n. 5672, p. 838-838, 2004.
- VENDEL, A. L. et al. Widespread microplastic ingestion by fish assemblages in tropical estuaries subjected to anthropogenic pressures. **Marine Pollution Bulletin**, v. 117, n. 1-2, p. 448-455, 2017.
- YANG, Dongqi et al. Microplastic pollution in table salts from China. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 22, p. 13622-13627, 2015.

## ANEXO 1 - Protocolo de Triagem de Sedimento em Laboratório

### A. Preparo para estufa

- Pesar embalagens de alumínio vazias (capacidade de 250mL) com tampa e anotar o valor na planilha.
- Adicionar o sedimento úmido na embalagem e anotar o peso úmido (g).
- Levar as quentinhas com sedimento para a estufa a 60°C por 48h (aumentar este tempo, se o sedimento não estiver totalmente seco).
- Pesar novamente as quentinhas com sedimento seco e anotar o peso seco (g).

### B. Material para preparo das amostras

Beckers de vidro (1L); Bastões de vidro; Água destilada filtrada e pissetas com água destilada filtrada; malha de 20 µm; papel toalha; Placas de Petri para pesar sal e sedimento; colher de inox; sal marinho; peneira de alumínio e ligas de borracha.

### C. Primeiro passo (Preparo)

- Pesar 140g de sal em balança analítica (0,01g) e colocar em dois beckers de 1L.
- Encher os beckers com água destilada filtrada e misturar a solução por 5 min com bastão de vidro.
- Lavar dois beckers vazios e a malha de 20µm com água destilada, prender a malha no becker com a liga de borracha, tudo previamente lavado com água destilada filtrada.
- Filtrar a solução salina e tampar os beckers com papel alumínio: 1º becker **CONTROLE**, 2º becker **SEDIMENTO**.
- Separar 100g de sedimento seco e transferir para o becker do sedimento, mexer por 5 min e tampá-lo com papel alumínio.
- Aguardar 4h para a decantação do sedimento e filtrar todo o líquido sobrenadante bem lentamente.

### D. Segundo passo (Limpeza) - Após 4h de espera e/ou completa decantação (sobrenadante límpido)

- Limpar bancada e microscópio: todo local da triagem com papel toalha branco e álcool 70% filtrado.
- Dispor três placas de Petri triplamente lavadas com água destilada e com o fundo preenchido com água destilada filtrada em torno da lupa.

### E. Terceiro passo (Triagem)

- Lavar a malha de filtragem (20µm).
- Filtrar o controle por 10 min de análise em microscópio estereoscópico.
- Filtrar o sobrenadante do sedimento por 20 min de análise em microscópio estereoscópico.
- Classificar os MPs encontrados: anotar detalhadamente tipo, cor predominante e tamanho em planilhas.
- Armazenar os MPs em eppendorf com álcool 70%, devidamente etiquetados.

### IMPORTANTE:

- ✓ Conferir a quantidade necessária de água destilada filtrada antes de iniciar os procedimentos.
- ✓ Sempre filtrar água com antecedência e reabastecer as pissetas.
- ✓ Observar se a balança analítica está calibrada.

- ✓ Conferir a disponibilidade do material necessário: papel alumínio, álcool, água destilada, etc.
- ✓ Forrar a bancada, as cadeiras e o local de filtragem e triagem com tecido 100% algodão para evitar contaminação aérea das amostras.

## **AGRADECIMENTOS**

A Jesus e a Nossa Senhora agradeço pela saúde, força e por me permitir traçar essa jornada. Agradeço aos meus pais por estarem comigo segurando a minha mão durante toda a graduação e aos meus irmãos e primo por todo apoio e cuidado. Essa conquista foi difícil, mas conseguimos juntos.

Aos meus animais, gratidão por não saírem do meu lado.

A minha excelente orientadora Ana Lúcia Vendel, por toda confiança, otimismo e risadas. Agradeço por nunca ter me deixado só e sempre me abrir portas.

Aos meus amigos da universidade e do laboratório, pela amizade e todo vínculo construído ao longo da graduação e da convivência no LabIctio. Neidinha, Patrícia, Roberta, Wesley, Clécio e Annanda: vocês foram essenciais.

Ao meu melhor amigo, Thiago Carvalho, agradeço por todo apoio e cuidado.

As minhas amigas, Bianca, Giovana, Maynara e Elysa, agradeço por sempre me arrancarem um sorriso e me motivarem.

Agradeço às professoras Nyedja e Célia por toda contribuição em minha trajetória.

Agradeço ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciências Moleculares (INCT-CiMol), Projeto CNPq 406804/2022-2 pela bolsa concedida.

Agradeço ao apoio do PELD-RIPA - Rio Paraíba Integrado, Chamada FAPESQ/PELD nº 21/2020, termo de outorga nº 403/2021 por disponibilizar imagens e dados dos reservatórios do semiárido paraibano.

Agradeço a banca examinadora por aceitar meu convite, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Enelise Marcelle Amado e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karina Massei.

Obrigada a todos que colaboraram com esse sonho e essa longa jornada.