



NOVA
NOVA SCHOOL OF
SCIENCE & TECHNOLOGY

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS E
ENGENHARIA DO AMBIENTE

ALEXANDRA GALRITO MALHO

Licenciada em Ciências de Engenharia do Ambiente

POLUIÇÃO POR MICROPLÁSTICOS EM MEXILHÕES E NA ÁGUA DO PORTO DE SINES

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA DO AMBIENTE -
PERFIL ENGENHARIA DE SISTEMAS AMBIENTAIS

Universidade NOVA de Lisboa
Setembro, 2025



POLUIÇÃO POR MICROPLÁSTICOS EM MEXILHÕES E NA ÁGUA DO PORTO DE SINES

ALEXANDRA GALRITO MALHO

Licenciada em Ciências de Engenharia do Ambiente

Orientadora: Carla Silva,
Investigadora, MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Portugal.

Coorientadora: Marta Martins,
Professor Associada, NOVA School of Science and technology, University Nova Lisbon, Portugal.

Júri:

Presidente: Leonor Amaral,
Professora Associada, NOVA School of Science and technology,
University Nova Lisbon, Portugal

Arguentes: Joana Antunes,
Investigadora, MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente,
Portugal

Orientador: Marta Martins,
Professora Associada, NOVA School of Science and technology,
University Nova Lisbon, Portugal

Poluição Por Microplásticos Em Mexilhões E Na Água Do Porto De Sines

Copyright © Alexandra Galrito Malho, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa. A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

À minha "aldeia" e a todos os que me deram força para continuar

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer à Doutora Carla Silva pela oportunidade de participar e contribuir para o seu projeto, pela partilha de conhecimento e oportunidades. E por me ter dado a oportunidade de acompanhar as recolhas de amostras em campo, é uma experiência que guardarei com saudade na minha memória.

À Professora Doutora Marta Martins agradeço pelo acompanhamento, conhecimento transmitido e disponibilidade quer durante a dissertação como no decorrer do curso. Por ter sido o meu ponto de ligação ao MARE e ao MarLab, que me permitiu conhecer o mundo de investigação em ambiente, e em especial o meu gosto imenso pela temática de lixo marinho.

Ao MarLAB, em especial à Joana Neves por me ter introduzido ao tema dos microplásticos no estágio curricular, à Joana Antunes que desde que a conheci me ofereceu sempre simpatia, disponibilidade, compreensão e um sorriso, e por fim à Andreia Guilherme e à Marta Dias com quem partilhei muitos dias no laboratório. A todas, e cada uma à sua maneira, quero agradecer todo o conhecimento e dúvidas que me passaram e esclareceram.

Ao Núcleo de Ambiente e Sustentabilidade que me acompanhou desde o meu primeiro semestre na faculdade até ao último, agradeço pelas oportunidades e conhecimentos que me proporcionou.

Quero agradecer a todos os amigos e colegas com quem me cruzei no meu percurso da FCT, que de alguma maneira contribuíram para moldar a pessoa que sou hoje. Agradeço em especial aos amigos de curso Tiago, Bia, Dani, Vivi, Su, Inês V., José Pedro, Pipa, Mauro e Sara pela amizade e entajuda, pelas noites de estudo e a fazer trabalhos, pela companhia e por todos os momentos divertidos que partilhámos. Ao Phyiesta pelas sessões de estudo, partilha de conhecimentos e colaboração. À minha amiga Bia, obrigada por teres sempre um abraço e uma palavra amiga e de força para me dar, e por me fazeres rir mesmo quando queria chorar, desde o dia 1 da faculdade. Ao meu amigo Tiago, em particular, que é uma força presente na

minha vida desde o início curso, agradeço toda a amizade, paciência, carinho, preocupação e momentos inesquecíveis. O teu apoio é e foi essencial para chegar até aqui.

Aos meus patudos, Cacau, Concha, Sol e Klaus, por me terem acompanhado nas diversas fases da minha vida, sempre prontos para dar uma lambidela ou turrinha ao final do dia. Muitas vezes meus companheiros de estudo, tornando tudo mais leve.

À minha mãe, Tininha, que me acompanha e apoia todos os dias, por me ajudar a relativizar o peso das responsabilidades e dar-me força para continuar o meu percurso. Ao meu pai, Paulo, por ser um exemplo de força, persistência e dedicação, e por estar sempre pronto a ajudar-me. Ao meu irmão, Kiko, que é um ombro amigo, obrigada pela força, carinho e motivação. Aos meus avós, tios e primos que me moldaram, e acompanharam nas sidelines todas as minhas aventuras académicas.

Ao Filipe, meu namorado e melhor amigo, pelo apoio incondicional, especialmente quando era difícil ver a luz ao fundo do túnel. Obrigada por nunca me deixares desistir de mim, por me fazeres acreditar nas minhas capacidades e pelos "Eu Vou Conseguir" que me foste obrigando a dizer nos dias mais difíceis, sem ti este processo tinha sido bem mais tumultuoso. Obrigada por seres casa, conforto e amor. Amo-te.

"Tentar Sempre." (Rita Vian).

RESUMO

A poluição por partículas de plástico com menos de 5 mm (microplásticos), constitui uma preocupação ambiental crescente devido à sua ubiquidade nos ecossistemas aquáticos e ao seu potencial tóxico. Ambientes portuários, como o Porto de Sines, caracterizam-se por intensa atividade antropogénica e constituem áreas críticas para avaliar este tipo de contaminação. Este trabalho teve como objetivo quantificar e caracterizar microplásticos em amostras de *Mytilus galloprovincialis* e da coluna de água em três locais com diferentes perfis: uma área costeira a norte, adjacente ao porto (CPA), o porto de pesca confinado (PPC) e o Terminal Multipurpose Confinado (TMC). Os microplásticos foram analisados e caracterizados após digestão alcalina, filtração e posterior análise visual e química (FT-IR), garantindo controlos de contaminação.

Foi possível verificar a presença de partículas suspeitas de serem plástico em 100% das amostras analisadas em ambas as matrizes ambientais. Verificou-se um gradiente espacial de contaminação por micropartículas, que refletem a influência da hidrodinâmica e das fontes locais: na matriz mexilhões observou-se concentrações entre $14,55 \pm 9,84$ MPs/g (PPC), $9,15 \pm 5,95$ MPs/g (CPA) e $4,94 \pm 3,92$ MPs/g (TMC); na matriz água registaram-se concentrações entre $0,083 \pm 0,076$ MPs/L (PPC), $0,068 \pm 0,022$ MPs/L (TMC) e $0,016 \pm 0,004$ MPs/L (CPA). Morfologicamente, em ambas as matrizes, predominaram as fibras, seguidas de fragmentos e filamentos, e na matriz água, no fim, os novelos de fibras. As partículas registadas foram na sua maioria transparentes, azuis ou pretas, frequentemente associadas a efluentes domésticos, desgaste de cordoaria e equipamentos de pesca. A análise FT-IR a micropartículas predominantemente da matriz água, concluiu que 94% das partículas analisadas são plásticos, com a prevalência de polietileno (>50%) e polipropileno (~30%), polímeros amplamente usados em embalagens e materiais náuticos.

Conclui-se que *M. galloprovincialis* é um bioindicador eficaz da poluição por MPs em ambientes portuários, salientando riscos ecológicos e potenciais implicações para a saúde humana. A monitorização contínua e medidas de mitigação são essenciais para a gestão sustentável de zonas portuárias como o Porto de Sines.

Palavras-chave: microplásticos; micropartículas; *Mytilus galloprovincialis*; Porto de Sines; FT-IR; fibras; fragmentos; filamentos; bioindicador

ABSTRACT

Microplastic pollution (plastic particles smaller than 5 mm) represents a growing environmental concern due to its ubiquity in aquatic ecosystems and its toxic potential. Port environments, such as the Port of Sines, are characterised by intense anthropogenic activity and constitute critical areas for assessing this type of contamination. This study aimed to quantify and characterise microplastics in samples of *Mytilus galloprovincialis* and in the water column across three sites with distinct profiles: a coastal area north of the port (CPA), a confined fishing harbour (PPC), and the confined multipurpose terminal (TMC). Microplastics were analysed and characterised following alkaline digestion, filtration, and subsequent visual and chemical identification (FT-IR), with contamination controls implemented throughout.

Suspected plastic particles were detected in 100% of the samples analysed in both environmental matrices. A spatial gradient of microplastic contamination was observed, reflecting the influence of hydrodynamics and local sources: in mussels, concentrations varied between $14,55 \pm 9,84$ MPs/g (PPC), $9,15 \pm 5,95$ MPs/g (CPA) e $4,94 \pm 3,92$ MPs/g (TMC); in the water column, concentrations varied between $0,083 \pm 0,076$ MPs/L (PPC), $0,068 \pm 0,022$ MPs/L (TMC) e $0,016 \pm 0,004$ MPs/L (CPA). Morphologically, fibres predominated in both matrices, followed by fragments and filaments, while in the water matrix fibre bundles were the least common category. Most particles were transparent, blue or black, typically associated with domestic effluents, the degradation of ropes, and fishing equipment. FT-IR analysis, conducted predominantly on water-column particles, showed that 94% of the particles analysed were plastic, with polyethylene (>50%) and polypropylene (~30%) being the dominant polymers-materials widely used in packaging and maritime applications.

Overall, *M. galloprovincialis* is confirmed as an effective bioindicator of microplastic pollution in port environments, highlighting ecological risks and potential implications for human health. Continuous monitoring and mitigation measures are essential to ensure the sustainable management of port areas such as the Port of Sines.

Keywords: microplastics; microparticles; *Mytilus galloprovincialis*; Port of Sines; FT-IR; fibres; fragments; filaments; bioindicator

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Definição do problema.....	1
1.2	Principais fontes de microplásticos em sistemas aquáticos e zonas portuárias	3
1.3	Microplásticos em ecossistemas aquáticos	5
1.4	Dinâmica de microplásticos em sistemas aquáticos.....	6
1.5	Microplásticos nos organismos aquáticos.....	7
1.6	Políticas, Regulações e Instrumentos Legais.....	8
1.7	Microplásticos: procedimentos existentes.....	9
1.8	Objetivos.....	10
2	METODOLOGIA	12
2.1	Área de estudo	12
2.2	Amostragem.....	13
2.2.1	Mexilhões.....	15
2.2.2	Amostras recolhidas na coluna de água.....	15
2.3	Procedimento laboratorial	16
2.3.1	Mexilhões.....	17
2.3.2	Amostras recolhidas na coluna de água.....	21
2.3.3	Mexilhões e Amostras recolhidas na coluna de água	22

3	RESULTADOS.....	29
3.1	Amostras de mexilhão	29
3.1.1	Parâmetros biométricos.....	29
3.1.2	Micropartículas.....	29
3.2	Amostras da coluna de água	37
3.2.1	Micropartículas.....	37
3.3	Análise FT-IR.....	46
4	DISCUSSÃO.....	50
4.1	Síntese dos resultados principais	50
4.2	Interpretação espacial da contaminação.....	51
4.3	Tipologia e morfologia dos microplásticos	52
4.4	Composição polimérica (FT-IR)	53
4.5	Relação com parâmetros biométricos.....	54
4.6	Microplásticos na coluna de água	55
4.7	Limitações do estudo e recomendações	57
5	CONCLUSÃO	59
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 - Locais de amostragem no Porto de Sines.	14
Figura 2.2 - Fases do arrasto horizontal. a) Rede manda durante arrasto de 5 minutos; b) passagem da rede para copo de vidro para armazenamento.	16
Figura 2.3 - Medição do comprimento e largura numa amostra de mexilhão.....	18
Figura 2.4 - Amostras de mexilhão na estufa durante o processo de digestão, a 40°C.	20
Figura 2.5 - Sistema de filtração por vácuo.....	21
Figura 2.6 - Lupa estereomicroscópica Leica® S ApoE	24
Figura 2.7 - Equipamento utilizado para análise FT-IR.	25
Figura 3.1 - Fragmento branco.....	30
Figura 3.2 - Filamento azul.....	30
Figura 3.3 - Fibra azul.....	30
Figura 3.4 - Concentração média de MP por peso húmido de mexilhões recolhidos em TMC, CPA e PPC.....	31
Figura 3.5 - Percentagens de fibras, fragmentos e filamentos por local de amostragem (Matriz Mexilhão).....	34
Figura 3.6 - Comprimento médio (μm) por tipo morfológico e por local de amostragem (Matriz: Mexilhão).....	35
Figura 3.7 - Percentagens das cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no TMC (Matriz Mexilhão).....	36
Figura 3.8 - Percentagem de micropartículas por cor e tipo morfológico no TMC (Matriz: Mexilhão).....	36
Figura 3.9 - Percentagem de micropartículas por cor e tipo morfológico no PPC (Matriz Mexilhão).....	37
Figura 3.10 - Exemplo de um novelo de cor azul, encontrado nas amostras de água.....	38

Figura 3.11 - Densidade média de micropartículas por local de amostragem (amostras da coluna de água).....	39
Figura 3.12 - Percentagens de fibras, fragmentos, filamentos e novelos, para cada local de amostragem.....	42
Figura 3.13 - Comprimento médio das micropartículas por tipologia por local de amostragem (Matriz água).....	43
Figura 3.14 - Percentagens das cores identificadas por tipo de micropartícula, no TMC (Matriz água).....	44
Figura 3.15 - Percentagens das cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no CPA (Matriz água).....	45
Figura 3.16 - Percentagens de cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no PPC (Matriz água).....	46
Figura 3.17 - Percentagem para cada tipo de polímero validado por FT-IR.	47
Figura 3.18 - Espectro de transmitância de confirmação do polímero Polietileno, alta densidade.	48
Figura 3.19 - Espectro de transmitância de confirmação do polímero Polietileno, baixa densidade.....	48
Figura 3.20 - Espectro de transmitância de confirmação do polímero Polipropileno.....	48
Figura 3.21 - Espectro de transmitância de confirmação do polímero Poliestireno.....	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 - Parâmetros biométricos das amostras de <i>Mytilus Galloprovinialis</i> para cada local (número de indivíduos e Média \pm Desvio padrão).....	29
Tabela 3.2 - Micropartículas por grama de peso húmido de indivíduo e por indivíduo	32
Tabela 3.3 - Média de micropartículas por indivíduo para cada categoria de micropartícula (Matriz Mexilhão).....	33
Tabela 3.4 - Percentagem do tipo de micropartícula registada por arrasto e por local de amostragem.....	40

GLOSSÁRIO

Bioindicador	Organismo utilizado para avaliar o estado de contaminação ambiental.
Bivalve	Molusco aquático com duas conchas articuladas, como é exemplo o mexilhão.
Efluente	Descarga de águas residuais industriais ou domésticas.
Filtração a vácuo	Técnica laboratorial usada para separar partículas sólidas suspensas.
FT-IR	Técnica de espectroscopia usada para identificar polímeros.
Microplástico	Partícula de plástico com menos de 5 mm.
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Espécie de mexilhão mediterrânico utilizada como bioindicador.
Nanoplástico	Partícula de plástico com dimensão inferior a 100 nm
Pellet	Grânulo de resina plástica usado como matéria-prima industrial.

SIGLAS

APA	Agência Portuguesa do Ambiente.
ATR	Attenuated Total Reflectance.
BPA	Bisfenol A.
CPA	Cabo de Sines: Pedras Amarelas.
DQA	Diretiva-Quadro da Água.
DQEM	Diretiva-Quadro Estratégia Marinha.
ETAL	Estação de Tratamento de Águas de Lastro e Resíduos Industriais.
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.
KOH	Hidróxido de potássio.
NaOH	Hidróxido de sódio.
PE	Polietileno.
PEAD	Polietileno de Alta Densidade.
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade.
PET	Polietileno Tereftalato.
PP	Polipropileno.
PS	Poliestireno.
PVC	Policloreto de vinilo.
PUR	Poliuretano.

PPC	Porto de Pesca Confinado.
TMC	Terminal <i>Multipurpose</i> Confinado.
TMS	Terminal <i>Multipurpose</i> de Sines.
UNCTAD	Conferência das Nações Unidas sobre Comércio e Desenvolvimento.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição do problema

Os portos desempenham um papel fundamental na indústria e no transporte marítimo, sendo infraestruturas cruciais para o desenvolvimento económico. O comércio marítimo internacional tem-se expandido, impulsionado pelo crescimento populacional e pelo aumento da oferta e procura nas economias globais (UNCTAD, 2021), o que resulta em impactos ambientais, económicos e sociais significativos. Como pontos de ligação fundamentais nas cadeias de abastecimento globais, os portos são essenciais para o comércio internacional; contudo, geram externalidades significativas que afetam os ecossistemas marinhos e as comunidades locais, estimadas em aproximadamente 300 mil milhões de euros a nível global em 2002 (Diniz *et al.*, 2024; Tzannatos, 2010). Entre os principais problemas associados ao setor portuário e ao comércio marítimo destacam-se a poluição atmosférica e a poluição marinha, sendo este setor responsável por uma considerável percentagem de emissões de NOx e SO₂ (> 25%) (Toscano, 2023), bem como partículas finas (PM_{2.5}) (~3%) (Tzannatos, 2010). Não obstante, a poluição marinha por plásticos representa ainda a maior fração contributiva deste sector. Segundo Jambbeck *et al.* (2015), sem novas medidas de gestão de resíduos mais agressivas, em 2025 será esperado um total de 250 milhões de toneladas de plásticos cumulativos. Estima-se que atualmente os resíduos plásticos constituem 80% de todos os resíduos encontrados no oceano (Mehrdad *et al.*, 2021).

Desde o início da década de 1950, com o início da produção comercial de plásticos, estes tornaram-se essenciais para a sociedade moderna devido às suas características favoráveis, como leveza, estabilidade, durabilidade, versatilidade e baixos custos de produção (Provenza *et al.*, 2022). Prevê-se que a produção acumulada de plásticos atinja valores de 33 mil milhões de toneladas até 2050 (Li *et al.*, 2023). Os plásticos compreendem mais de 20 famílias de

polímeros, incluindo polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), policloreto de vinilo (PVC), poliuretano (PUR) e poliamida (PA), que representam cerca de 90% da produção global (APA, 2021). Além do polímero principal, são incorporados diversos aditivos destinados a melhorar propriedades como ductilidade, resistência e durabilidade. Estes aditivos podem ser dos mais variados tipos, tais como, plastificantes, estabilizadores, corantes e retardadores de chama (Al-Malaika *et al.*, 2017). Estes, quando formulados, recorrem a compostos conhecidos pela sua preocupação ambiental, como os alquilfenóis, ftalatos, dioxinas, bisfenol A (BPA), metais pesados e éteres difenílicos polibromados (PBDEs). São conhecidos por atuarem como desreguladores endócrinos, apresentarem toxicidade reprodutiva e neurotoxicidade, bioacumularem nos tecidos de organismos aquáticos e persistirem no ambiente, dificultando a sua remoção natural. (Campanale *et al.*, 2020; Rochman *et al.*, 2019; Kurunthachalam & Vimalkumar, 2021; Zoeller, 2010).

A elevada quantidade de resíduos plásticos descartados e encontrados no ambiente são resultado da má gestão de resíduos, seja pela indústria, produtores ou consumidores (Valavanidis, 2024; Pilapitiya & Ratnayake, 2024). Entre os principais fatores destacam-se: o descarte inadequado, a falta de sistemas de reciclagem eficientes, o uso excessivo de embalagens descartáveis, o derrame acidental de resíduos durante o transporte e a ausência de políticas eficazes de responsabilidade alargada do produtor (Jambeck *et al.*, 2015; Hopewell *et al.*, 2009; Folbert *et al.*, 2025; OECD, 2016; Geyer *et al.*, 2017).

Devido à sua durabilidade, os plásticos permanecem no ambiente por longos períodos e, sujeitos a fatores ambientais, sofrem processos de degradação que os fragmentam em partículas menores (Li *et al.*, 2023). Estes detritos de plástico podem ser classificados por tamanho consoante a escala: macrolásticos (100-20 mm); mesoplásticos (20-5 mm); microlásticos (5-0,1 mm); e nanoplásticos (<100 nm) (Provenza *et al.*, 2022). Os microlásticos definem-se como partículas de plástico, com menos de cinco milímetros, que podem assumir diferentes formas (e.g., granulados, espumas, fibras, fragmentos) e cores (e.g., transparente, azul, vermelho, preto). As suas fontes dividem-se em terrestres e marítimas, sendo as terrestres as principais (Li *et al.*, 2023). Os microlásticos podem ainda ser categorizados como primários ou secundários, sendo os primários produzidos intencionalmente para uso em cosméticos e produtos de higiene ou como matéria-prima industrial ("pellets"). Os secundários resultam da degradação física/mecânica, química e biológica de plásticos de maiores dimensões incorretamente descartados (Antunes *et al.*, 2018; APA, 2021; Provenza *et al.*, 2022). Estudos têm demonstrado que o processo de fragmentação do plástico é fortemente influenciado pela radiação UV, temperatura, salinidade, correntes, ventos e processos abrasivos (Antunes *et al.*, 2018), levando

assim a que os microplásticos secundários sejam mais recorrentes nos oceanos (69-81%) (Rellán *et al.*, 2023).

Comummente, os microplásticos possuem uma capacidade de adsorção devido à sua estrutura química e polimérica que permite adsorver poluentes orgânicos persistentes presentes no ambiente, funcionando como vetores destes compostos e aumentando a exposição dos organismos a estas substâncias tóxicas, em função do seu elevado rácio área superficial/volume (Verla *et al.*, 2019). Importa mencionar que diferentes tipos de polímeros possuem variadas capacidades de adsorção, com estudos sugerindo uma afinidade crescente na ordem: PA < PE < PVC < PS, embora essa ordem possa ser influenciada por outros fatores, como o tamanho das partículas e interações π - π (Hüffer & Hofmann, 2016). Não obstante, a toxicidade dos microplásticos está associada não apenas à libertação dos compostos químicos que podem estar adsorvidos na sua matriz polimérica, mas também ao seu tamanho e forma. Partículas menores, como os nanoplásticos, possuem maior potencial tóxico devido à sua capacidade de penetrar em tecidos biológicos e acumular-se em órgãos como fígado, guelras e trato digestivo de diversas espécies de peixes (Piskuta & Astel, 2023). Estudos demonstraram que tanto os microplásticos quanto os nanoplásticos causam stress oxidativo e disrupções no eixo hipotálamo-hipófise, podendo desencadear toxicidade reprodutiva, neurotoxicidade, citotoxicidade, anormalidades de desenvolvimento, diminuição da qualidade do esperma e imunotoxicidade (Ullah *et al.*, 2023).

1.2 Principais fontes de microplásticos em sistemas aquáticos e zonas portuárias

As principais fontes de microplásticos em ecossistemas aquáticos incluem a deposição direta por atividades antropogénicas relacionadas com zonas urbanas, industriais e agrícolas, bem como descargas de águas residuais e sistemas de drenagem urbana. Os rios representam uma das maiores vias de transporte destes contaminantes para o ambiente marinho, transportando resíduos plásticos provenientes de centros urbanos e industriais (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Lebreton *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2023). As águas pluviais, o escoamento superficial e as infraestruturas de tratamento de águas residuais constituem igualmente fontes relevantes de entrada de microplásticos em estuários e zonas costeiras (Campanale *et al.*, 2020).

As zonas portuárias são reconhecidas como hotspots de entrada e acumulação de microplásticos devido à elevada intensidade das atividades marítimas, logísticas e industriais (Preston-Whyte *et al.*, 2021; Dereszewska *et al.*, 2023). Entre as principais fontes destacam-se a fragmentação de resíduos plásticos provenientes de frotas navais, descargas acidentais de pellets, manutenção naval, fibras de cabos e equipamentos marítimos, bem como perdas associadas à manipulação de cargas (Auta *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2020). Em ambientes portuários, os níveis de microplásticos têm sido consistentemente superiores aos encontrados em zonas com menor pressão antropogénica (Alomar *et al.*, 2025; Pilapitiya & Ratnayake, 2024). Vários estudos realizados em ambientes costeiros portugueses identificaram maiores concentrações de microplásticos em áreas próximas de infraestruturas industriais e portuárias (Bessa *et al.*, 2018).

Os microplásticos são frequentemente detetados nas matrizes água, sedimentos e biota. Os sedimentos, em particular, funcionam como reservatórios estáveis devido às baixas velocidades de corrente e à deposição contínua de partículas (Pan *et al.*, 2020). Concentrações superiores a 4000 MPs/m³ foram documentadas no estuário do Yangtze (Zhao *et al.*, 2015 a), enquanto estudos europeus demonstraram valores particularmente elevados em sedimentos portuários, refletindo as pressões exercidas por atividades humanas e marítimas (Dereszewska *et al.*, 2023).

Esta tendência tem sido igualmente observada em portos portugueses. No estuário urbano de Barcelos, Rodrigues *et al.* (2023) detetaram concentrações de até $1,03 \times 10^4$ MPs/m³, atribuídas a descargas urbanas e industriais. No Porto de Leixões, Henriques *et al.* (2022) reportaram concentrações de 540 a 2500 MPs/kg em sedimentos, associadas ao tráfego marítimo e operações logísticas. No estuário do Tejo, adjacente à cidade de Lisboa, Frias *et al.* (2014) quantificaram valores médios de 0,38-2,35 MPs/L na coluna de água.

Em ambientes mediterrânicos, resultados semelhantes foram registados. No Porto de Valência (Espanha), os níveis de microplásticos ultrapassaram 3500 MPs/m³ em água e 4200 MPs/kg em sedimentos, sendo identificados predominantemente polímeros como PE, PP e PET (Compa *et al.*, 2019). No Mar Adriático, Saliu *et al.* (2021) identificaram concentrações superiores a 4900 MPs/m³ em zonas portuárias, demonstrando uma forte ligação entre a intensidade das atividades industriais e navais e os níveis de poluição. Estes exemplos evidenciam o papel dos portos como zonas de acumulação e transferência de microplásticos para o ambiente marinho.

1.3 Microplásticos em ecossistemas aquáticos

A ubiquidade dos microplásticos nos ecossistemas aquáticos é amplamente reconhecida, com a sua presença documentada em diversos ambientes, incluindo águas superficiais, sedimentos (Akdogan *et al.*, 2023) e organismos (Frias *et al.*, 2014). No entanto, as quantidades exatas de microplásticos no ambiente permanecem incertas, principalmente devido à variação nas fontes de poluição e às limitações nas técnicas de deteção e quantificação, destacando a necessidade de monitorização contínua (Randhawa, 2023). Goldstein *et al.* (2012) observou um total de 3260 microplásticos por metro cúbico (MPs/m³) num estudo realizado no norte do Oceano Pacífico, enquanto ao largo do Mar do Leste (Japão) foi encontrado menos de uma partícula por cada m³ (0,167 MPs/m³) segundo Zhao *et al.* (2014). A variação do número de partículas nos diferentes locais pode advir das correntes marítimas, assim como dos diferentes hábitos de consumo e estratégias de gestão de resíduos nos diferentes países/continentes.

Comparando ecossistemas lagunares, não foi possível verificar uma diferença substancial entre o Lago de Genebra - Suíça (48,15x10⁹ MPs/m³) e os Grandes Lagos da América do Norte (43x10⁹ MPs/m³) (Eriksen *et al.*, 2013; Faure *et al.*, 2012), contudo um estudo comparativo de 98 lagos espalhados pelo mundo observou uma grande variação na quantificação podendo variar entre 0,27 e 34 000 MPs/m³, com uma mediana de 1442 MPs/m³ (Dusaucy *et al.*, 2021). Esta variação poderá advir da típica estagnação natural do ecossistema, que permite uma deposição dos microplásticos no sedimento. Da mesma forma, a variação pode simplesmente advir do número de fontes de poluição e a respetiva intensidade. No estuário do Rio Yangtze (China) foi possível observar um total de 4137 (\pm 2461) MPs/m³ (Zhao *et al.*, 2015 b), não obstante, este valor pode ser pouco representativo destes ecossistemas dado à intensa poluição local (i.e., industrial, atmosférica) (An *et al.*, 2023). Da mesma forma, na Barragem dos Três Gargantas do Rio Yangtze (China) foi possível observar entre 3,40x10⁹ e 13,62x10⁹ MPs/m³ (Zhang *et al.*, 2015). Não obstante, uma maior quantidade de partículas é esperada nestes meios em épocas secas devido à menor diluição das mesmas (Malla-Pradhan *et al.*, 2022).

A presença de maiores concentrações de microplásticos nas estações de inverno/outono (hemisfério norte) pode dever-se à elevada precipitação que caracteriza estas estações no clima mediterrânico, e a episódios de tempestade, que podem contribuir para facilitar o arrasto de microplásticos para as águas costeiras (Antunes *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2023). As descargas em bypass e os caudais das estações de tratamento de águas residuais também podem contribuir para maiores concentrações de microplásticos encontradas nestas estações do ano,

especialmente quando não há separação da rede de águas pluviais e da rede de águas urbanas (Antunes *et al.*, 2018). Segundo o estudo realizado por Antunes *et al.* (2018) observou-se que praias localizadas próximas de áreas industriais apresentavam maiores concentrações de microplásticos e concentrações semelhantes de pellets a zonas próximas de portos de cargas. O mesmo estudo observou também maiores concentrações de microplásticos próximo de áreas industriais e/ou instalações portuárias, e em praias expostas a ventos dominantes nas estações de inverno e outono.

Alguns estudos identificaram ainda o tipo de partículas, permitindo assim perceber o tipo de polímero que é encontrado como micropartícula e a percentagem que representa (Li *et al.*, 2023). De acordo com um estudo conduzido em 2015, 49% dos microplásticos encontrados no Oceano Atlântico eram poliamida (PA) existindo em média uma abundância de 1,15 ($\pm 1,45$) MPs/m³ (Klein *et al.*, 2015). Contudo, no sistema de circulação subtropical do Atlântico Norte é o conjunto de polietileno tereftalato (PET) e polipropileno (PP) que representa uma cota-parte de 48%, sendo possível verificar-se entre 13 e 501 MPs/m³ (Peng *et al.*, 2017). Este conjunto de polímeros é também o mais observável no Golfo Pérsico (Médio oriente) e na Costa Chennai (Índia), sendo possível observar, respetivamente, 44-1460 MPs/m³ (Qiu *et al.*, 2015) e ~896 MPs/m³ (Wang *et al.*, 2017). Por outro lado, no Mar Bohai (China) o polietileno (PE) é o polímero mais recorrente (51%) tendo sido encontrado 0.33 (± 0.34) MPs/m³ (Yu *et al.*, 2016). A diferença entre os polímeros mais encontrados nas diferentes regiões poderá estar associado com o diferente consumo polimérico nas diferentes regiões costeiras assim como com a diferente persistência e durabilidade dos diferentes polímeros.

1.4 Dinâmica de microplásticos em sistemas aquáticos

A dinâmica dos microplásticos na coluna de água depende de propriedades intrínsecas do material, como a densidade do polímero, forma, tamanho e estado de degradação. Polímeros de baixa densidade, como polietileno (PE) e polipropileno (PP), tendem a permanecer à superfície ou suspensos na coluna de água, enquanto polímeros mais densos, como PET e PVC, apresentam uma maior probabilidade de deposição nos sedimentos (Li *et al.*, 2023; Hüffer & Hofmann, 2016; Wang *et al.*, 2016). Estes comportamentos podem, no entanto, ser alterados pela formação de biofilmes e pela agregação com partículas orgânicas e inorgânicas, processos que modificam a flutuabilidade e promovem a sedimentação de partículas originalmente flutuantes (Kowalski *et al.*, 2016; Michels *et al.*, 2018).

Para além das propriedades físico-químicas, os processos hidrodinâmicos, como correntes, ondas, ventos e marés, influenciam fortemente a redistribuição horizontal e vertical dos microplásticos, condicionando a sua permanência na coluna de água ou a deposição em zonas costeiras e portuárias (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Long *et al.*, 2015). A turbulência, a mistura vertical e os gradientes de salinidade e temperatura, particularmente em estuários, desempenham um papel importante na retenção ou exportação de microplásticos para o oceano aberto (Everaert *et al.*, 2020). Eventos meteorológicos extremos, descargas fluviais e episódios de precipitação intensa contribuem adicionalmente para o transporte e dispersão de microplásticos a partir de sistemas terrestres para o meio marinho (Malla-Pradhan *et al.*, 2022; van Sebille *et al.*, 2020).

O comportamento dos microplásticos na coluna de água condiciona a sua biodisponibilidade e probabilidade de ingestão por organismos filtradores, como os mexilhões, influenciando diretamente os processos de bioacumulação e transferência trófica (Bessa *et al.*, 2018; Provenza *et al.*, 2022). Estudos recentes demonstram que a permanência prolongada de microplásticos em suspensão aumenta a exposição de espécies costeiras e o risco ecológico associado (de Sá *et al.*, 2018). Assim, compreender os mecanismos físico-químicos e oceanográficos que regulam a dinâmica dos microplásticos é fundamental para interpretar os padrões espaciais de contaminação e avaliar impactos ecológicos em ecossistemas costeiros.

1.5 Microplásticos nos organismos aquáticos

A presença de microplásticos na biota aquática tem sido amplamente documentada, tendo sido detetada em diversas espécies aquáticas. Por exemplo, um estudo identificou microplásticos no músculo dorsal de 32% dos espécimes de peixe analisados na zona nordeste do Oceano Atlântico, incluindo espécies como *Dicentrarchus labrax*, *Trachurus trachurus* e *Sardina colias* (Barboza *et al.*, 2020). A presença de microplásticos em tecidos de peixe comestíveis tem sido um problema cada vez mais constante e observado, tendo sido detetado em vários países: Bangladesh (Nath *et al.*, 2023), Portugal (Barboza *et al.*, 2020), China (Huang *et al.*, 2021), Nigéria (Adeogun *et al.*, 2020), Mediterrâneo (Romeo *et al.*, 2015) e Irão (Abbasi *et al.*, 2018).

Mexilhões, em particular *Mytilus galloprovincialis*, são amplamente utilizados como bioindicadores na monitorização da poluição aquática por acumularem microplásticos devido à sua capacidade de filtração e relevância ecológica e comercial (Provenza *et al.*, 2022; Barboza *et al.*, 2020; Bessa *et al.*, 2018). As zonas portuárias apresentam geralmente maior

contaminação em mexilhões devido à elevada disponibilidade de microplásticos na coluna de água (Preston-Whyte *et al.*, 2021; Alomar *et al.*, 2025).

A bioacumulação de microplásticos nestes organismos filtradores é particularmente frequente e preocupante, uma vez que promove a transferência trófica destes contaminantes, inclusive para os seres humanos através da ingestão de moluscos (Nath *et al.*, 2023).

1.6 Políticas, Regulações e Instrumentos Legais

A problemática da poluição por microplásticos é hoje reconhecida a diferentes níveis de governação, refletindo-se em convenções internacionais, diretivas europeias e legislação nacional.

A nível internacional, existe a Convenção MARPOL (1973/78) que proíbe a descarga de plásticos no mar por navios, obrigando à sua entrega em portos. No Atlântico Nordeste, a Convenção OSPAR estabelece planos de ação regionais para reduzir o lixo marinho, incluindo metas específicas de redução de plásticos e microplásticos até 2030.

No quadro da União Europeia, destacam-se três instrumentos principais: a Diretiva-Quadro da Água (2000/60/CE) (DQA), que visa assegurar o bom estado das águas superficiais e costeiras; a Diretiva-Quadro Estratégia Marinha (2008/56/CE) (DQEM), cujo principal objetivo é alcançar ou manter o bom estado ambiental das águas marinhas europeias, e onde se define a presença de lixo marinho como um dos indicadores de estado ambiental, incluindo de microplásticos; e o regulamento REACH (1907/2006), recentemente atualizado para restringir a utilização intencional de microplásticos em produtos. Complementarmente, a Estratégia Europeia para os Plásticos e a Diretiva dos Plásticos de Uso Único (2019/904/UE) procuram reduzir a entrada de resíduos plásticos no ambiente, prevenindo a sua fragmentação em microplásticos.

Em Portugal, a Lei da Água transpõe a DQA e o Decreto-Lei n.º 108/2010 transpõe a DQEM, integrando a monitorização de lixo marinho. A nível estratégico, a Estratégia Nacional do Mar 2021-2030 inclui a redução da poluição plástica como prioridade, alinhada com as políticas da UE. No plano legal, o Decreto-Lei n.º 69/2021 proibiu a colocação no mercado de cosméticos e detergentes com microesferas plásticas. Mais recentemente, o Plano de Ação Nacional para o Lixo Marinho 2024-2028 definiu medidas concretas de prevenção e mitigação desta forma de poluição, em articulação com a OSPAR e a Estratégia Europeia.

Em conjunto, estes instrumentos demonstram uma evolução consistente na governação ambiental, que vai desde a prevenção na fonte até à mitigação no meio marinho. A integração de Portugal em acordos internacionais e comunitários garante um enquadramento regulatório robusto para enfrentar o desafio crescente dos microplásticos.

1.7 Microplásticos: procedimentos existentes

A extração e análise de microplásticos (MP) em amostras ambientais envolvem diversas etapas metodológicas cruciais para a compreensão da distribuição e impacto desses contaminantes. Inicialmente, a recolha de amostras de águas superficiais é realizada utilizando redes de plâncton com malhas que variam entre 100 e 500 micrómetros, permitindo a captura de partículas de diferentes tamanhos conforme os objetivos específicos do estudo (Diniz *et al.*, 2024). Para sedimentos, são utilizados dispositivos como *corers* ou dragas, que coletam amostras do fundo aquático, as quais são posteriormente peneiradas para separar as partículas consoante o tamanho pretendido (Hüffer & Hofmann, 2016).

De seguida procede-se à digestão para remover a matéria orgânica presente nas amostras, preservando os microplásticos. Este processo pode ser efetuado seguindo uma digestão alcalina ou enzimática. A digestão alcalina utiliza soluções de hidróxido de potássio (KOH) ou hidróxido de sódio (NaOH), destacando-se pela sua rapidez, por ser mais económico e por causar danos mínimos às estruturas poliméricas, mostrando-se eficaz na remoção da matéria orgânica sem degradar os microplásticos (Provenza *et al.*, 2022). Alternativamente, a digestão enzimática aplica enzimas específicas para degradar a matéria orgânica; embora este método seja mais seletivo e cause menos danos aos microplásticos, apresenta desvantagens como o alto custo e a complexidade processual, aumentando o risco de contaminação (Ullah *et al.*, 2023).

Após a digestão, a amostra é filtrada de forma a isolar os microplásticos. Para tal, recorre-se a filtros membrana com diferentes porosidades (geralmente entre 0,45 e 1,6 micrômetros) de forma a separar por dimensão as diferentes partículas, de acordo com o tamanho pretendido (Verla *et al.*, 2019).

A caracterização destas partículas pode assim ser dada por duas vias: física ou química. Na via física, os microplásticos são analisados por meio de técnicas como a microscopia ótica, que possibilita a observação e contagem das partículas, permitindo ainda obter informações sobre a sua forma e cor. Em alternativa, existe a microscopia eletrónica de varredura que

oferece imagens de alta resolução para uma análise detalhada da morfologia superficial, contudo, possui custos elevados dada a especificidade do equipamento (Barboza *et al.*, 2020).

Para a caracterização química, a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) é utilizada para identificar os tipos de polímeros presentes, fornecendo informações sobre a composição química dos microplásticos. A espectroscopia Raman, que apresenta funcionalidades semelhantes à FT-IR, é particularmente útil para ir além da detecção do polímero que compõe os microplásticos, e identificar compostos químicos adsorvidos (Piskuta & Astel, 2023). Existe ainda, tecnologias de pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (Py-GC-MS) que são utilizadas para identificar e quantificar os tipos de polímeros presentes, por meio da decomposição térmica dos microplásticos e posterior análise dos produtos resultantes via espectrometria de massa (Diniz *et al.*, 2024).

A utilização combinada das técnicas anteriormente mencionadas possibilita uma análise exaustiva da composição dos microplásticos em amostras ambientais, contribuindo significativamente para a compreensão da sua distribuição, composição e potencial impacto ambiental e na saúde pública.

1.8 Objetivos

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a presença de microplásticos (MPs) e as suas características e natureza em amostras da coluna de água e em organismos da espécie *Mytilus galloprovincialis* recolhidos em diferentes zonas do porto de Sines. Nesta dissertação procurou-se compreender a extensão da poluição por MPs em ambiente portuário, assim como identificar possíveis padrões espaciais associados às diferentes tipologias de uso das áreas de amostragem.

Pretendeu-se:

- Quantificar a abundância de microplásticos por indivíduo e por grama de tecido em mexilhões (peso húmido) recolhidos nos locais de amostragem selecionados (CPA, PPC e TMC);
- Determinar a tipologia morfológica (fibras, fragmentos e filamentos) e cromática dos microplásticos identificados;
- Analisar a presença de microplásticos em amostras da coluna de água associadas aos mesmos locais de amostragem;
- Identificar os polímeros de plástico presentes nas amostras através de FT-IR.

- Avaliar a utilização de *M. galloprovincialis* como bioindicador da poluição por microplásticos em ambientes portuários;

2 METODOLOGIA

Neste capítulo enquadra-se a área de estudo e estão explicados todos os procedimentos e metodologias desenvolvidos e aplicados no âmbito desta dissertação de mestrado.

2.1 Área de estudo

A área de estudo selecionada foi o porto de Sines, que se localiza no limite urbano da cidade de Sines, concelho e freguesia de Sines, no distrito de Setúbal, integrado na sub-região do Alentejo Litoral. Esta área é influenciada pela presença de diversas atividades antropogénicas, para além das operações portuárias, como indústrias agroalimentar, petroquímica, de carvão, uma pedreira e atividades recreativas (APS, s.d.).

O Porto de Sines foi construído em 1978 e é considerado o primeiro maior porto artificial de Portugal, com características naturais únicas na costa portuguesa que lhe permitem receber navios de grande porte. É um porto de águas profundas, com fundos rochosos, cujas características geofísicas e organizacionais o tornam no principal porto da fachada ibero-atlântica (APSINESALGARVE, s.d.; APP, s.d.). Anualmente, regista tráfego com cerca de 80 países e aproximadamente 200 portos à escala mundial (APS, s.d.).

A sua localização torna-o fundamental para o abastecimento energético nacional, sendo a principal entrada de gás natural e de petróleo e seus derivados em Portugal. É também um dos portos portugueses com maior afluência de carga geral e contentores (APP, s.d.; APS, s.d.).

Situa-se em proximidade imediata da Zona Industrial e Logística de Sines (ZILS), onde se concentram diversos setores de atividade; desde energia (e.g. petroquímica) até às indústrias agroalimentar e extrativa (pedreira). Paralelamente, esta área dispõe de uma baía balnear (praia Vasco da Gama) e de um porto de recreio que é a única infraestrutura portuária de lazer ao longo da costa entre Tróia e o Algarve, com navegação intensa durante todo o ano (APS, s.d.).

No interior do complexo portuário, existem diversos terminais distribuídos estrategicamente em função da sua finalidade (APS, s.d.):

- O Terminal de Granéis Líquidos, maior do país, localiza-se na parte norte do porto e serve de interface para produtos como crude, refinados e gases liquefeitos. Integra uma Estação de Tratamento de Águas de Lastro e Resíduos Industriais dos navios (ETAL), com descarga no Oceano Atlântico (EcoSlops, 2020).

- O Terminal Petroquímico que se encontra a sul do terminal anterior, interligado por *pipeline* dedicado ao complexo petroquímico da ZILS para o transporte de produtos como propileno, etileno, butadieno, ETBE, etanol e metanol.
- O Terminal *Multipurpose* de Sines ocupa uma berma central com cais versátil, apto a receber granéis sólidos, carga geral e navios roll-on/roll-off, com ligação a tapetes rolantes e à rede ferroviária nacional.
- Mais a oeste, o Terminal de Gás Natural, é considerado fonte principal de abastecimento do gás natural consumido em Portugal, funcionando como alternativa ao gasoduto terrestre.
- Na extremidade sul do ancoradouro principal, o Terminal de Contentores de Sines, é o local onde são processados os contentores de mercadorias, dispondo de conexões diretas às redes ferroviárias e rodoviárias nacionais.

2.2 Amostragem

As amostras foram recolhidas no âmbito do projeto MexBioSines (FCT UIDP/04292/2020), no mês de janeiro de 2023, representando da estação de inverno. As campanhas de amostragem decorreram na área do Porto de Sines e em zonas adjacentes, sob influência de diferentes graus de confinamento e de atividade antropogénica.

Foram definidos três pontos de amostragem (Figura 2.1): um ponto localizado a norte do porto, em área anterior adjacente (CPA - Cabo de Sines: Pedras Amarelas), e dois situados no interior do porto (PPC - Porto de Pesca Confinado, zona da baía; e TMC - Terminal *Multipurpose* Confinado), dispostos de norte para sul. Por uma questão de praticidade e coerência terminológica com estudos anteriores desenvolvidos no âmbito da monitorização ambiental do porto de Sines, foram adotadas, nesta dissertação, as seguintes designações para os pontos de amostragem:

- CPA - Cabo de Sines: Pedras Amarelas;
- PPC - Porto de Pesca Confinado, zona da baía;
- TMC - Terminal *Multipurpose* Confinado.

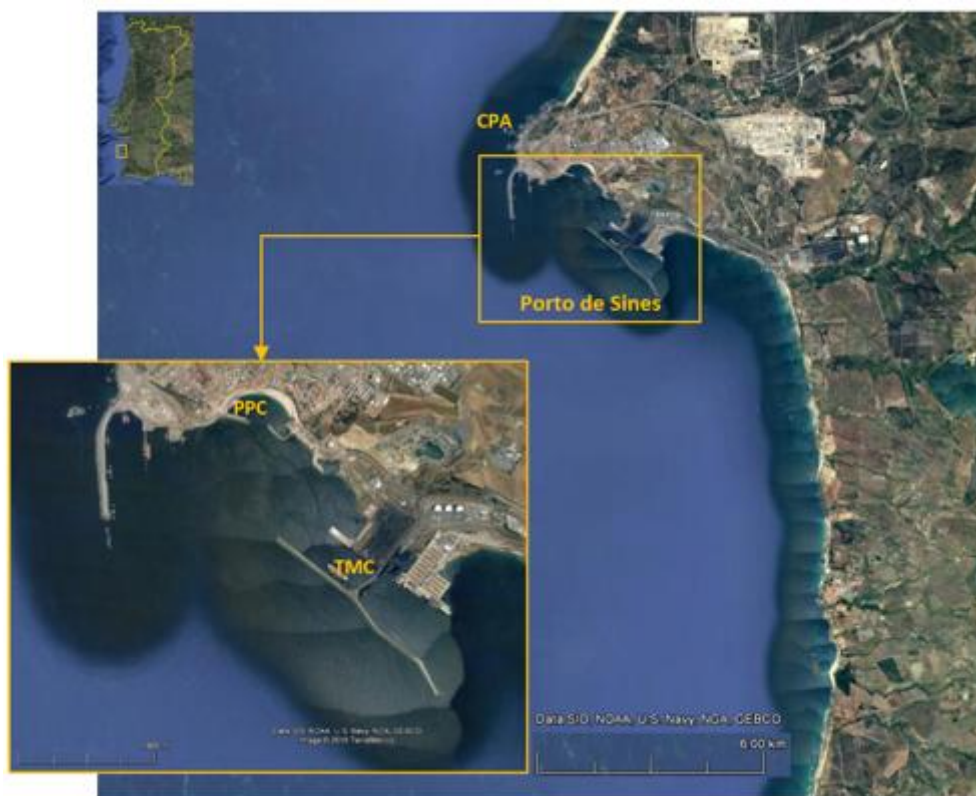


Figura 2.1 - Locais de amostragem no Porto de Sines.

Nestes três locais, recolheram-se amostras de mexilhões (*Mytilus galloprovincialis*) e amostras da coluna de água (arrastos horizontais) em todos os locais de amostragem mencionados. A seleção destes pontos teve em consideração a sua localização estratégica (dentro ou nas imediações do porto), a sua proximidade aos diferentes terminais portuários e as atividades associadas (industriais, logísticas e recreativas). Foi também tida em consideração a viabilidade logística da amostragem, assegurando acessos por via terrestre e/ou por embarcação.

A análise incide exclusivamente sobre os locais CPA (área adjacente, a norte do porto; mar aberto), PPC (zona da baía, associada ao porto de pesca confinado) e TMC (Terminal *Multipurpose* Confinado), permitindo uma abordagem comparativa entre zonas com diferentes perfis de uso e pressão antropogénica.

A recolha das amostras foi realizada com o apoio de uma embarcação disponibilizada pelo CIEMAR - Laboratório de Ciências do Mar, pertencente ao Centro de Ciências do Mar e do Ambiente (MARE - Universidade de Évora). Nos locais acessíveis por via marítima, a amostragem foi efetuada diretamente a partir da embarcação. No entanto, nos pontos CPA e PPC,

a recolha de *Mytilus galloprovincialis* foi realizada por acesso terrestre, dado não ser acessível por embarcação.

Antes da ida para o campo, todo o material a ser utilizado foi lavado com água destilada, de forma a mitigar contaminações cruzadas.

2.2.1 Mexilhões

Em cada local, foram recolhidos 22 indivíduos da espécie *Mytilus galloprovincialis* com comprimentos compreendidos entre 30 mm e 60 mm. Os mexilhões foram recolhidos manualmente com auxílio de uma espátula para facilitar a sua remoção do local onde estavam estabelecidos. Em seguida, foi utilizada um paquímetro para medir o comprimento da concha e garantir que todos os indivíduos estavam dentro do intervalo de tamanho mencionado. Os que não cumpriam os parâmetros foram imediatamente devolvidos ao seu habitat natural. Todos os indivíduos selecionados foram armazenados em sacos vedantes devidamente identificados e colocados nas caixas térmicas referidas anteriormente para transporte.

2.2.2 Amostras recolhidas na coluna de água

Em cada um dos locais de amostragem foram realizados três arrastos horizontais, com o objetivo de obter uma caracterização representativa dos microplásticos presentes. Para os arrastos horizontais foi utilizada uma rede manta com malha de 150 μm (Figura 2.2 a)), operada a partir da embarcação. Esta rede foi mantida à superfície da coluna de água durante cinco

minutos, a uma velocidade constante. Obteve-se o volume de água filtrado com recurso a um fluxómetro acoplado à abertura da rede.

Após cada amostragem, o material retido na rede coletora foi cuidadosamente resuspenso com água do mar (utilizando um esguicho) e transferido para frascos de vidro previamente limpos e devidamente identificados (Figura 2.2 b)).

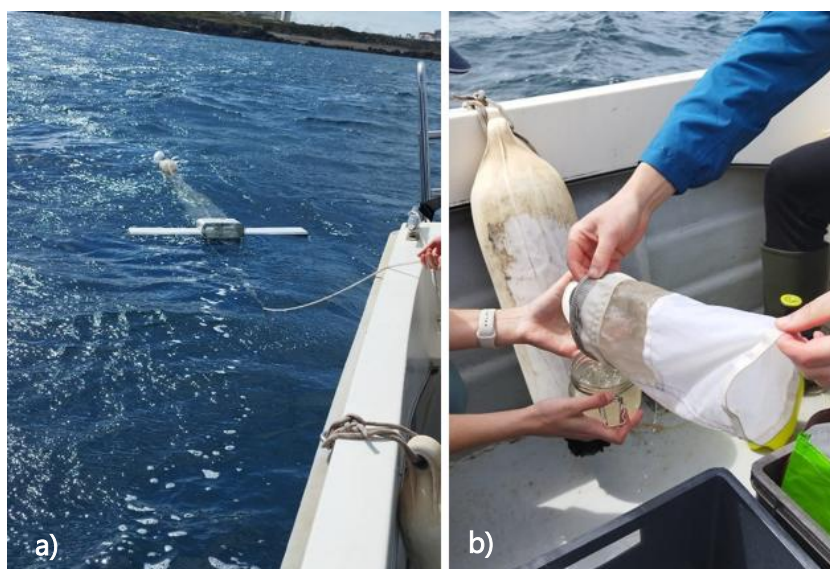


Figura 2.2 - Fases do arrasto horizontal. a) Rede manda durante arrasto de 5 minutos; b) passagem da rede para copo de vidro para armazenamento.

Após a recolha, todas as amostras foram imediatamente acondicionadas em caixas térmicas com acumuladores de gelo e transportadas para o MARLab (NOVA FCT), onde foram conservadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até posterior processamento laboratorial.

2.3 Procedimento laboratorial

Todas as amostras foram devidamente identificadas e caracterizadas quanto ao seu teor de micropartículas, seguindo um protocolo laboratorial composto por diversas etapas, descritas neste capítulo.

Durante todos os procedimentos foi assegurado o rigor necessário para evitar qualquer tipo de contaminação cruzada. Para tal, foram minimizados os potenciais fatores externos de contaminação e todo o material foi previamente lavado com água destilada e filtrada. Esta

filtração foi realizada com recurso a filtros de microfibras de vidro Whatmann® (GF/C), com poro de 1 µm de dimensão de poro e 47 mm de diâmetro.

Todas as amostras foram cuidadosamente rotuladas, incluindo o local de amostragem, número da amostra, estação do ano e a designação do projeto a que pertencem.

2.3.1 Mexilhões

As amostras foram previamente congeladas a -20 °C para preservação. O processo de descongelamento dos mexilhões, iniciou-se à temperatura ambiente, colocando os indivíduos individualmente em copos de vidro tapados e devidamente identificados. Durante o descongelamento, os mexilhões foram passados por água destilada e filtrada, de modo a acelerar o processo e a reduzir possíveis contaminações provenientes do manuseamento. Este processo foi realizado em conjuntos de seis mexilhões. Para cada conjunto de seis mexilhões foi também preparada uma amostra de controlo, composta por 3 mL de água destilada e filtrada.

2.3.1.1 Parâmetros Biométricos

Após o descongelamento das amostras, foram medidos os parâmetros biométricos dos exemplares de *Mytilus galloprovincialis*. Utilizando um paquímetro, procedeu-se à medição da largura (correspondente à distância entre o dorso e o ventre da concha) e do comprimento, definido como a distância entre a extremidade posterior e a extremidade anterior, onde se localiza o umbo (extremo pontiagudo da concha), conforme ilustrado na Figura 2.3. Adicionalmente foi registado o peso húmido total de cada indivíduo, após dissecação, para posteriormente ser utilizado para normalização dos resultados relativos à abundância de microplásticos.

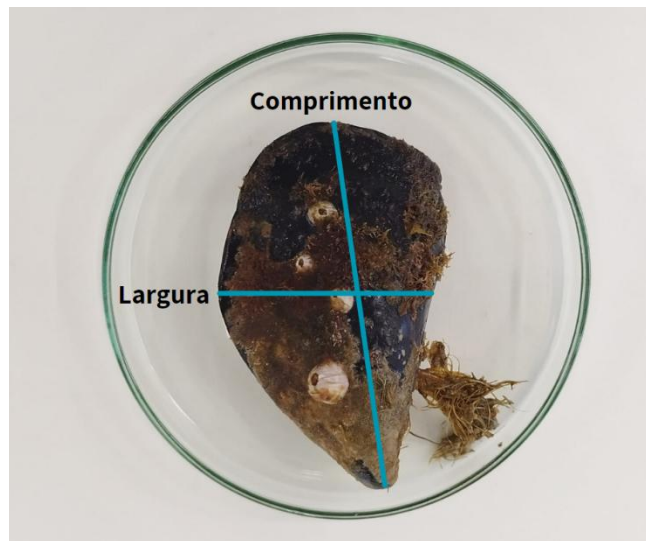


Figura 2.3 - Medição do comprimento e largura numa amostra de mexilhão.

2.3.1.2 Dissecação

Uma vez descongelados e registados os parâmetros biométricos, iniciou-se o processo de dissecação dos mexilhões. A abertura das conchas foi facilitada pela própria anatomia bivalve dos organismos, permitindo o acesso ao seu interior sem necessidade de corte forçado. Com o auxílio de uma pinça, o bisso foi cuidadosamente removido, procedendo-se de seguida à raspagem de todo o tecido mole, incluindo o músculo adutor, com recurso a um bisturi. O conteúdo orgânico foi transferido diretamente para frascos de vidro previamente limpos. Cada amostra foi depois pesada numa balança digital Kern (modelo KB 1200-2N), registando-se o peso húmido total. Após a pesagem, os frascos foram imediatamente fechados, de modo a minimizar o risco de contaminação por partículas em suspensão no ar.

Durante todo o procedimento laboratorial foi mantida, no mesmo local de trabalho, uma amostra de controlo ambiental. Esta amostra foi preparada segundo os critérios definidos no Capítulo 2.3.1, e esteve permanentemente exposta durante as operações de dissecação. O seu objetivo foi permitir a avaliação de possíveis contaminações aéreas por micropartículas presentes no ambiente laboratorial. A amostra de controlo acompanhou todo o conjunto de mexilhões ao longo das diferentes fases do processamento (desde a dissecação até à visualização dos dados) assegurando uma monitorização contínua e representativa de potenciais fontes externas de contaminação.

2.3.1.3 Digestão

A digestão das amostras seguiu o protocolo harmonizado descrito por Bessa *et al.* (2019), desenvolvido no âmbito do projeto BASEMAN (Deliverable 4.3) e conforme descrito por Dehaut *et al.* (2016). A digestão da matéria orgânica presente nos tecidos dos organismos foi realizada com solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% (v/v), numa proporção de 3:1 em relação ao peso húmido do tecido. Esta metodologia é amplamente reconhecida por permitir a degradação eficiente do material biológico sem comprometer a integridade das partículas de microplásticos presentes, sendo particularmente eficaz para tecidos de organismos marinhos e de fácil aplicação laboratorial.

A solução foi preparada dissolvendo hidróxido de potássio sólido em água destilada filtrada, até atingir uma concentração final de 10% (v/v). A solução foi preparada em condições controladas e homogeneizada completamente antes da utilização.

Após o registo do peso húmido de cada indivíduo, foi adicionado o volume correspondente de KOH (10%) a cada frasco, de acordo com a proporção definida. Os copos foram selados com folha de alumínio perfurada, permitindo a libertação de gases resultantes da reação sem comprometer a esterilidade e minimizando a contaminação externa.

A amostra de controlo ambiental foi a última a ser submetida à digestão, seguindo os mesmos procedimentos. Por ter um volume estimado de 3 mL (simulado), foi-lhe adicionado 9 mL de KOH (10%).

Todos os copos foram colocados numa estufa Heraeus (modelo H 420), onde permaneceram a 40 °C durante 72 horas, tempo necessário para garantir digestão completa da matéria orgânica (Figura 2.4). Esta abordagem permitiu manter a integridade dos microplásticos e assegurou a comparabilidade dos resultados entre amostras (Pfeiffer & Fischer, 2020).



Figura 2.4 - Amostras de mexilhão na estufa durante o processo de digestão, a 40°C.

2.3.1.4 Filtração

Após concluída a digestão, as amostras foram submetidas a um processo de filtração utilizando um sistema de filtração por vácuo (Figura 2.5), que permite acelerar e uniformizar a passagem do conteúdo líquido através do filtro, otimizando a retenção de partículas sólidas, como os microplásticos. Este sistema é constituído por uma bomba de vácuo Millipore de 230 V (modelo n.º WP6122050), conectada a uma unidade de filtração em vidro. A pressão negativa gerada pela bomba facilita a passagem da solução digerida através de filtros de membrana de nylon (CHMLAB Group), com 10 µm de porosidade e 47 mm de diâmetro.

Após a filtração de cada amostra, o filtro foi cuidadosamente retirado com uma pinça metálica esterilizada e colocado numa placa de Petri de vidro, devidamente identificada com o código da amostra, local de recolha, número de indivíduo e data de processamento. As placas foram deixadas a secar à temperatura ambiente, em ambiente limpo e protegido de contaminações externas.

Entre cada filtração, o copo de filtração foi lavado com água destilada previamente filtrada, garantindo a eliminação de quaisquer resíduos ou partículas remanescentes da amostra anterior, de modo a evitar qualquer forma de contaminação cruzada entre amostras.

A amostra de controlo ambiental permaneceu aberta até à conclusão da filtração de todas as amostras do respetivo conjunto, sendo sempre a última a ser filtrada. Este procedimento assegura que a amostra de controlo reflita a exposição potencial a micropartículas durante todo o processo laboratorial.

O líquido resultante da filtração foi descartado em recipientes apropriados, sendo posteriormente recolhido e tratado por entidades externas licenciadas para a gestão de resíduos laboratoriais.



Figura 2.5 - Sistema de filtração por vácuo.

2.3.2 Amostras recolhidas na coluna de água

2.3.2.1 Digestão

Após garantir que as amostras da coluna de água se encontravam totalmente descongeladas, estas foram agitadas manualmente para homogeneização e vertidas para gobelés de 1 L devidamente identificados. O frasco de armazenamento original foi lavado com água destilada filtrada, assegurando a total transferência de massa. Cada amostra, com um volume aproximado de 500 mL, foi dividida em duas subamostras com recurso a uma proveta graduada, identificadas com numeração romana (e.g., I, II), facilitando o manuseamento durante a digestão.

Tal como descrito anteriormente para as amostras de mexilhão, foi utilizada uma solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% (v/v), preparada previamente, e adicionada numa proporção equivalente a três vezes o volume de cada subamostra. As soluções foram transferidas

para gobelés de 2 L e, uma vez preparadas, tapadas e mantidas à temperatura ambiente durante 72 horas, com agitação manual ocasional, até à digestão completa da matéria orgânica.

O controlo ambiental foi assegurado através da exposição de um filtro de nylon ao ar, renovado diariamente, que acompanhou todo o processamento do respetivo conjunto de amostras, desde a digestão até à análise final, conforme também adotado nas amostras de mexilhão.

2.3.2.2 Filtração

A fase de filtração seguiu igualmente os procedimentos previamente descritos no capítulo referente aos mexilhões. Após digestão, as amostras foram homogeneizadas com uma vareta de vidro e crivadas com um crivo de 63 μm , transferindo-se a solução para um novo gobelé. O líquido descartado foi encaminhado para contentores apropriados, destinados ao tratamento por entidades especializadas.

O material retido no crivo foi lavado com água destilada filtrada e transferido para o sistema de filtração a vácuo, composto por bomba Millipore e filtros de membrana de nylon com porosidade de 10 μm . Os filtros foram colocados em placas de Petri de vidro, devidamente identificadas, e deixados a secar à temperatura ambiente. A amostra de controlo associada foi a última a ser filtrada, permanecendo exposta ao ambiente durante todo o processo.

2.3.3 Mexilhões e Amostras recolhidas na coluna de água

2.3.3.1 Deteção, caracterização e quantificação

Para a caracterização dos microplásticos presentes nas amostras, os filtros resultantes do processo de filtração foram analisados com recurso a uma lupa estereomicroscópica Leica® S ApoE (Leica Microsystems, Alemanha), equipada com uma câmara Flexacam, conforme ilustrado na Figura 2.6. Esta configuração permitiu a observação em detalhe e a documentação visual de todas as partículas suspeitas de microplásticos presentes nos filtros.

Em cada filtro, todas as partículas detetadas foram contabilizadas, classificadas, medidas e caracterizadas. Para cada micropartícula observada, foram registados o tipo morfológico (fibra, fragmento ou filamento), a cor e o comprimento.

As fibras definem-se como partículas finas, alongadas e tipicamente flexíveis, com comprimento muito superior à largura, frequentemente associadas a têxteis e cordoaria;

constituem uma das morfologias mais reportadas no meio marinho (Suaria *et al.*, 2020; Barrows *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020). Os filamentos embora também alongados, apresentam-se como peças cilíndricas contínuas e mais rígidas, com espessura relativamente uniforme. É um termo usado por vários autores para distinguir formas “tipo fio” de fibras têxteis mais flexíveis (Tirkey & Upadhyay, 2021). Os fragmentos correspondem a partículas irregulares e rígidas, com arestas ou contornos angulosos, resultantes da fratura e degradação de plásticos maiores (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2020). Os novelos correspondem a emaranhados ou “*bundles*” de microfibras, apresentam-se como múltiplas fibras entrelaçadas que não podem ser facilmente separadas nem contabilizadas individualmente, estando mencionados em literatura como “*fiber bundles*” (Rochman *et al.*, 2019).

A ampla variação de comprimento, diâmetro e cor, reflete a diversidade de fontes (p.e., têxteis, embalagens, artes de pesca) e de processos de degradação (abrasão, fotodegradação), em todas as categorias morfológicas. Por este motivo, revisões metodológicas recomendam que a morfologia seja acompanhada de identificação química sempre que possível (μ FT-IR/Raman) para evitar sobrestimações (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2022).

Foram realizados registos fotográficos de cada partícula, utilizando o software LAS X (Leica), que permitiu a medição precisa das dimensões e a gestão dos dados obtidos de forma informatizada. Para o manuseamento das partículas durante a observação, foram utilizadas agulhas metálicas finas e pinças esterilizadas, assegurando a integridade do material analisado. Todo o material utilizado foi limpo previamente com etanol a 70% (v/v), reduzindo o risco de contaminação externa.

Em paralelo com as amostras, foram utilizados os filtros de controlo ambiental já referidos anteriormente. Estes filtros foram abertos e mantidos ao lado da amostra no momento da análise ao microscópio, com o objetivo de detetar eventuais contaminações aéreas ocorridas durante a visualização. Assim, os controlos acompanharam todo o processo, desde a dissecação até à análise microscópica, assegurando a representatividade dos dados obtidos.



Figura 2.6 - Lupa estereomicroscópica Leica® S ApoE

2.3.3.2 Análise química por FT-IR

Após a análise visual, foram selecionadas para análise química por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) as partículas com características visuais compatíveis com microplásticos. Esta técnica permite identificar a composição química da micropartícula com elevada precisão, sendo amplamente utilizada na caracterização de polímeros presentes em matrizes ambientais.

As análises por FT-IR foram realizadas utilizando um espectrofotômetro PerkinElmer UATR Two FT-IR Spectrometer, equipado com um acessório de reflectância total atenuada (ATR - Attenuated Total Reflectance), conforme apresentado na Figura 2.7.



Figura 2.7 - Equipamento utilizado para análise FT-IR.

O modo ATR permite a análise direta de partículas sólidas, como fibras ou fragmentos de plástico, sem necessidade de preparação química ou física adicional. Este método é especialmente vantajoso em amostras ambientais devido à sua rapidez, não destrutividade e capacidade de analisar partículas com formatos e tamanhos irregulares (Käppler *et al.*, 2015; Rocha-Santos & Duarte, 2015).

Durante a análise, cada partícula foi colocada em contacto direto com o cristal do acessório ATR. Um feixe de radiação infravermelha é projetado sobre o cristal, penetrando superficialmente na amostra ($\sim 1-2 \mu\text{m}$). A radiação refletida é detetada e transformada num espectro de absorção, que revela os grupos funcionais presentes no material analisado. Este espectro é posteriormente comparado com bases de dados de referência para identificar o tipo de polímero presente (por exemplo, PE, PP, PET, PS), assegurando assim a confirmação da natureza plástica da partícula. A análise foi conduzida com o software PerkinElmer Spectrum IR (*version* 10.7.2), que permite a aquisição, visualização e interpretação dos dados espectrais de forma eficaz.

2.3.3.3 Controlo e avaliação da contaminação

Considerando a elevada probabilidade de contaminação aérea durante o processamento laboratorial, foi implementado um conjunto de medidas rigorosas de controlo e mitigação ao longo de todas as etapas. Conforme referido anteriormente, todo o material utilizado foi

previamente enxaguado com água destilada filtrada, aplicada com recurso a um esguicho, e as amostras foram mantidas cobertas sempre que possível, minimizando a exposição ao ambiente.

As soluções utilizadas - nomeadamente a água destilada e a solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% (v/v) - foram igualmente filtradas antes da sua utilização, assegurando a remoção de partículas contaminantes. Sempre que possível, os procedimentos foram realizados sob hotte de exaustão, reduzindo ainda mais o risco de deposição de micropartículas transportadas pelo ar. Todos os processos foram executados com celeridade, sem comprometer o rigor técnico, e acompanhados sistematicamente por amostras de controlo ambiental, que permitiram monitorizar a presença de contaminações externas ao longo de todo o fluxo de trabalho.

A limpeza cuidadosa de todo o equipamento utilizado constituiu um fator crítico para a fiabilidade dos resultados obtidos. Pinças, varetas, frascos, copos de filtração e demais utensílios foram limpos antes e entre cada utilização com água destilada previamente filtrada, e, quando apropriado, desinfetados com etanol a 70% (v/v). Esta prática garantiu que não ocorresse contaminação cruzada entre amostras e evitou a introdução de partículas artificiais nos sistemas de análise, assegurando a integridade dos dados e a reprodutibilidade do ensaio. A atenção ao detalhe na higienização do material é, portanto, essencial quando se trabalha com partículas em escala micrométrica, como é o caso dos microplásticos.

2.3.3.4 Tratamento estatístico

O tratamento estatístico dos dados teve como finalidade avaliar diferenças significativas na abundância de micropartículas entre os diferentes locais de amostragem (CPA, PPC e TMC), bem como entre os tipos morfológicos identificados (fibras, fragmentos, filamentos e novelos). Para tal, os dados foram previamente organizados com base na matriz analisada (mexilhões e água), no número total de MPs por indivíduo e por grama de peso húmido, e nas características associadas a cada partícula (tipo, cor e comprimento). Foram geradas estatísticas descritivas (média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos) e representações gráficas (histogramas e gráficos de barras) para ilustrar as tendências observadas nos dados.

Para avaliar as diferenças na abundância de micropartículas entre os três locais de amostragem (PPC, CPA e TMC), foi adotada uma abordagem estatística baseada na verificação dos pressupostos e na seleção do teste adequado.

Inicialmente, procedeu-se à análise da normalidade dos dados através do teste de Shapiro-Wilk, aplicado individualmente a cada grupo, que é amplamente utilizado para verificar se os dados seguem uma distribuição normal, sendo particularmente eficaz para amostras pequenas e médias (Shapiro & Wilk, 1965). Caso o valor de p seja inferior a 0,05, rejeita-se a hipótese de normalidade. Em seguida, foi realizado o teste de homogeneidade de variâncias de Levene, que avalia se as variâncias dos grupos são homogêneas, requisito fundamental para a aplicação de testes paramétricos como a ANOVA. Caso o valor de p seja inferior a 0,05, as variâncias não são homogêneas, não sendo então possível aplicar a ANOVA (Levene, 1960). Isto acontece uma vez que a ANOVA paramétrica não pode ser utilizada em dados normalmente distribuídos nem em casos onde existem variâncias homogêneas entre os grupos (Barros & Reis, 2003). Para contornar estas limitações, opta-se por um teste não paramétrico, o Kruskal-Wallis, adequado para comparar três ou mais grupos independentes sem assumir normalidade. Este teste avalia se existem diferenças significativas entre as medianas dos grupos (Kruskal & Wallis, 1952). Contudo, o teste de Kruskal-Wallis não identifica quais grupos diferem entre si, sendo necessário realizar testes post-hoc. Para isso, foram aplicados testes de Mann-Whitney U (também conhecidos como Wilcoxon rank-sum), que comparam dois grupos independentes e são apropriados para dados não paramétricos (Mann & Whitney, 1947).

As comparações foram realizadas entre todos os pares possíveis (PPC vs CPA, PPC vs TMC e CPA vs TMC). Para controlar o risco de erro tipo I associado a múltiplas comparações, foi utilizada a correção de Bonferroni, ajustando o nível de significância pela fórmula $\alpha_{\text{corrigido}} = \alpha/k$, onde k representa o número de comparações. Com três grupos, existem três pares, resultando num nível de significância corrigido de aproximadamente 0,0167. Assim, apenas valores de p inferiores a este limiar foram considerados estatisticamente significativos (Dunn, 1961; Bonferroni, 1936).

Além das comparações entre locais, foram também analisadas separadamente as amostras de água e de mexilhões, de modo a avaliar a consistência dos padrões de abundância de MPs entre compartimentos ambientais e biológicos.

Não obstante, de forma a determinar a existência de uma relação entre os parâmetros biométricos dos mexilhões (comprimento da concha, largura e peso húmido) e a carga de micropartículas acumulada por indivíduo, foram realizadas análises de correlação. A normalidade das variáveis foi previamente avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. Caso as amostras sejam normais pode aplicar-se a correlação de Pearson, em caso contrário, a correlação de Spearman é a adequada para dados não paramétricos e relações potencialmente monotónicas.

As correlações foram calculadas tanto para o conjunto total de indivíduos como separadamente para cada local de amostragem (PPC, CPA e TMC). Para cada análise foram determinados o coeficiente de correlação (ρ) e o respectivo valor de p , permitindo avaliar de forma robusta a existência de associações entre a biometria dos organismos e o número de micropartículas registado.

Todas as análises foram realizadas com recurso ao software RStudio (versão v4.4.1, R Core Team, 2024), que oferece um ambiente robusto e reproduzível para análises estatísticas (Shimizu & Ferreira, 2023). Utilizaram-se funções específicas para cada teste, nomeadamente as funções `shapiro.test()`, `leveneTest()`, `kruskal.test()`, `wilcox.test()` e `p.adjust(method = "bonferroni")`. Esta abordagem assegurou a execução rigorosa dos testes e a reprodutibilidade dos resultados.

3 RESULTADOS

3.1 Amostras de mexilhão

3.1.1 Parâmetros biométricos

Registaram-se os parâmetros biométricos de 22 indivíduos para cada local de amostragem (Tabela 3.1). TMC foi o local onde se observaram os mexilhões com maiores dimensões, com comprimento médio da concha de $5,13 \pm 0,66$ cm, largura média da concha de $3,00 \pm 0,39$ cm e peso húmido médio de $3,32 \pm 1,55$ g. No CPA, observaram-se os organismos com as menores dimensões, exibindo comprimento médio da concha de $4,65 \pm 0,31$ cm, largura média da concha de $2,40 \pm 0,21$ cm e peso húmido de $2,22 \pm 0,60$ g. No PPC, observaram-se mexilhões com dimensões médias entre esses extremos, registando-se comprimento médio da concha de $4,83 \pm 0,48$ cm, largura média da concha de $2,80 \pm 0,25$ cm e peso húmido de $2,92 \pm 0,80$ g. Essas variações biométricas são fundamentais para compreender diferenças na capacidade de filtração e acumulação de micropartículas, uma vez que indivíduos maiores e mais pesados tendem a filtrar volumes de água mais elevados.

Tabela 3.1 - Parâmetros biométricos das amostras de *Mytilus Galloprovinialis* para cada local (número de indivíduos e Média \pm Desvio padrão).

Local de amostragem	n ^a	Comprimento da concha (cm)	Largura da concha (cm)	Peso húmido (g)
TMC	22	$5,13 \pm 0,66$	$3,00 \pm 0,39$	$3,32 \pm 1,55$
CPA	22	$4,65 \pm 0,31$	$2,4 \pm 0,21$	$2,22 \pm 0,60$
PPC	22	$4,83 \pm 0,48$	$2,8 \pm 0,25$	$2,92 \pm 0,80$

^a Número de Indivíduos; ^b Média \pm Desvio Padrão

3.1.2 Micropartículas

As micropartículas detetadas foram categorizadas em três grupos morfológicos: fibras, filamentos e fragmento. As figuras 3.1, 3.2 e 3.3 corresponde a exemplos representativos de cada tipo de micropartícula.



Figura 3.1 - Fragmento branco.

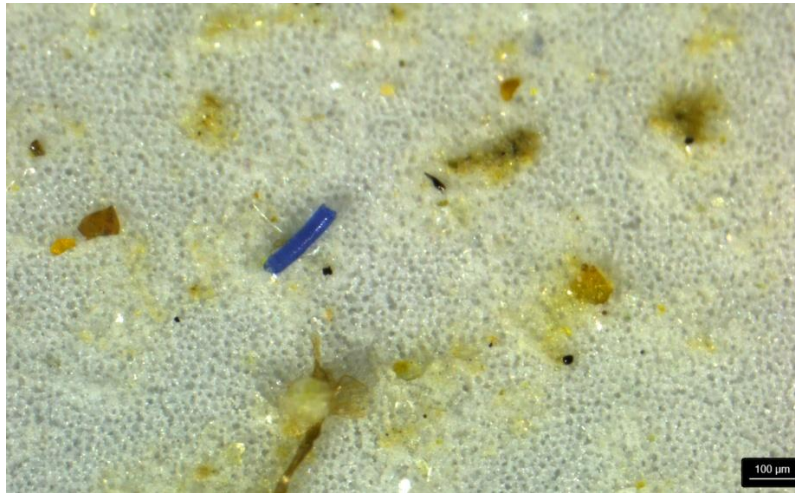


Figura 3.2 - Filamento azul.



Figura 3.3 - Fibra azul.

3.1.2.1 Abundância de Micropartículas

Após análise da totalidade das amostras de *Mytilus galloprovincialis*, verificou-se a presença de micropartículas em 100% dos indivíduos analisados. Para estimar a abundância média de micropartículas por grama de peso húmido (MPs/g), contabilizou-se o número de micropartículas registado em cada indivíduo e dividiu-se pelo peso húmido.

Com base nestes valores, calculou-se a média por local de amostragem. Para estimar a abundância média de micropartículas por indivíduo somou-se a totalidade de micropartículas registadas por local de amostragem e dividiu-se pelo número de indivíduos (n=22).

Esta análise revelou diferenças entre os três locais estudados. Pela figura 3.4 e Tabela 3.2, no TMC registou-se $4,94 \pm 3,92$ MPs/g, correspondendo ao local com abundâncias inferiores, seguido do CPA onde se observou $9,15 \pm 5,95$ MPs/g. O local com maiores valores registados foi o PPC, com $14,55 \pm 9,84$ MPs/g. Este padrão crescente, do TMC ao PPC, indica não só um acréscimo na média de micropartículas acumuladas por grama de indivíduo, como também um aumento na variabilidade entre indivíduos, observado especialmente em PPC.

Para as amostras de controlo, registou-se uma média de $4,73 \pm 1,95$ MPs/g e $13,8 \pm 5,9$ MPs/filtro.

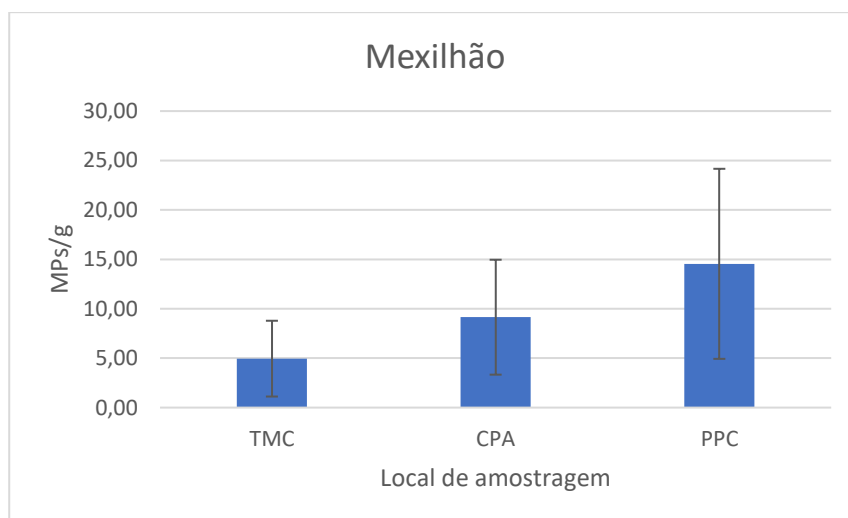


Figura 3.4 - Concentração média de MP por peso húmido de mexilhões recolhidos em TMC, CPA e PPC.

Aquando da análise da média de micropartículas por indivíduo (Tabela 3.2), é possível observar também o mesmo padrão. No TMC registaram-se valores de $12,59 \pm 5,75$ MPs/ind (n = 22), no CPA de $18,09 \pm 8,48$ MPs/ind (n = 22) e no PPC de $37,86 \pm 20,06$ MPs/ind (n = 22).

Tabela 3.2 - Micropartículas por grama de peso húmido de indivíduo e por indivíduo

Local de amostragem	n	MPs/g	MPs/ind
TMC	22	4,95 ± 3,92	12,59 ± 5,75
CPA	22	9,15 ± 5,95	18,09 ± 8,48
PPC	22	14,55 ± 9,84	37,86 ± 20,06

Para avaliar diferenças espaciais na abundância de micropartículas entre os locais de amostragem (TMC, CPA e PPC), procedeu-se à análise estatística das concentrações de MPs/g registadas nos mexilhões. Como os dados não cumpriam os pressupostos de normalidade nem de homogeneidade de variâncias (Shapiro-Wilk, $\rho < 0,05$; Levene, $\rho < 0,05$), recorreu-se ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, que evidenciou diferenças significativas entre os três locais ($H = 22,58$; $\rho < 0,001$). As comparações pós-hoc (Mann-Whitney U com correção de Bonferroni) revelaram diferenças significativas entre PPC e TMC ($\rho < 0,001$) e entre TMC e CPA ($\rho = 0,0036$), enquanto a diferença entre PPC e CPA apresentou significância marginal ($\rho = 0,063$).

De forma a avaliar se as características biométricas dos mexilhões influenciavam a quantidade de micropartículas acumulada por indivíduo, foi realizada uma análise de correlação entre o comprimento, a largura, o peso húmido e o número total de micropartículas registadas em cada organismo. Como as variáveis não apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk, $\rho < 0,05$), aplicou-se o coeficiente de correlação de Spearman. Os resultados não evidenciaram qualquer correlação significativa, quer na análise global dos dados (ρ entre -0,08 e -0,02; $\rho > 0,50$), quer quando os locais de amostragem foram analisados separadamente ($\rho > 0,29$ em todos os casos). Assim, não foi detetada associação entre as variáveis biométricas avaliadas e o número de micropartículas acumuladas nos mexilhões.

Em seguida, para estimar a abundância média de micropartículas de cada categoria por amostra de indivíduo (Tabela 3.3), somou-se o total de partículas de cada categoria em cada local de amostragem e dividiu-se pelo número de mexilhões ($n = 22$). No TMC, cada indivíduo continha em média 10,55 fibras, 1,36 fragmentos e 0,73 filamentos. No CPA, as médias foram de 16,45 fibras, 0,55 fragmentos e 1,09 filamentos por indivíduo. E no PPC, foi onde se observou a maior carga de MPs, com 23,18 fibras, 11,00 fragmentos e 3,68 filamentos por indivíduo. Estes valores evidenciam que, embora as fibras sejam sempre a categoria predominante, há um aumento progressivo na média de todas as categorias de MPs desde o TMC até ao PPC.

Nota-se uma exceção para a categoria de fragmentos onde a ordem de crescimento registrado é CPA < TMC < PPC.

Tabela 3.3 - Média de micropartículas por indivíduo para cada categoria de micropartícula (Matriz Mexilhão).

Local de amostragem	n	Fibra/ind	Fragmento/ind	Filamento/ind
TMC	22	10,55	1,36	0,73
CPA	22	16,45	0,55	1,09
PPC	22	23,18	11,00	3,68

3.1.2.2 Abundância de Micropartículas: forma, tamanho e cor

Em todas as amostras analisadas para cada local, foram identificadas as três categorias de micropartículas (fibra, fragmento ou filamento). A Figura 3.5 ilustra a distribuição percentual de cada categoria nos três pontos de amostragem (TMC, CPA e PPC). No TMC, as fibras corresponderam a ~ 84 % do total de micropartículas registradas, seguidas pelos fragmentos (~11 %) e pelos filamentos (~5 %). Em CPA, as fibras foram ainda mais dominantes (91 %), sendo que fragmentos e filamentos representaram apenas 3 % e 6 %, respectivamente. Já no PPC, observou-se 61 % de fibras, 29 % de fragmentos e 10 % de filamentos, evidenciando uma maior proporção das categorias de fragmentos e filamentos neste local.

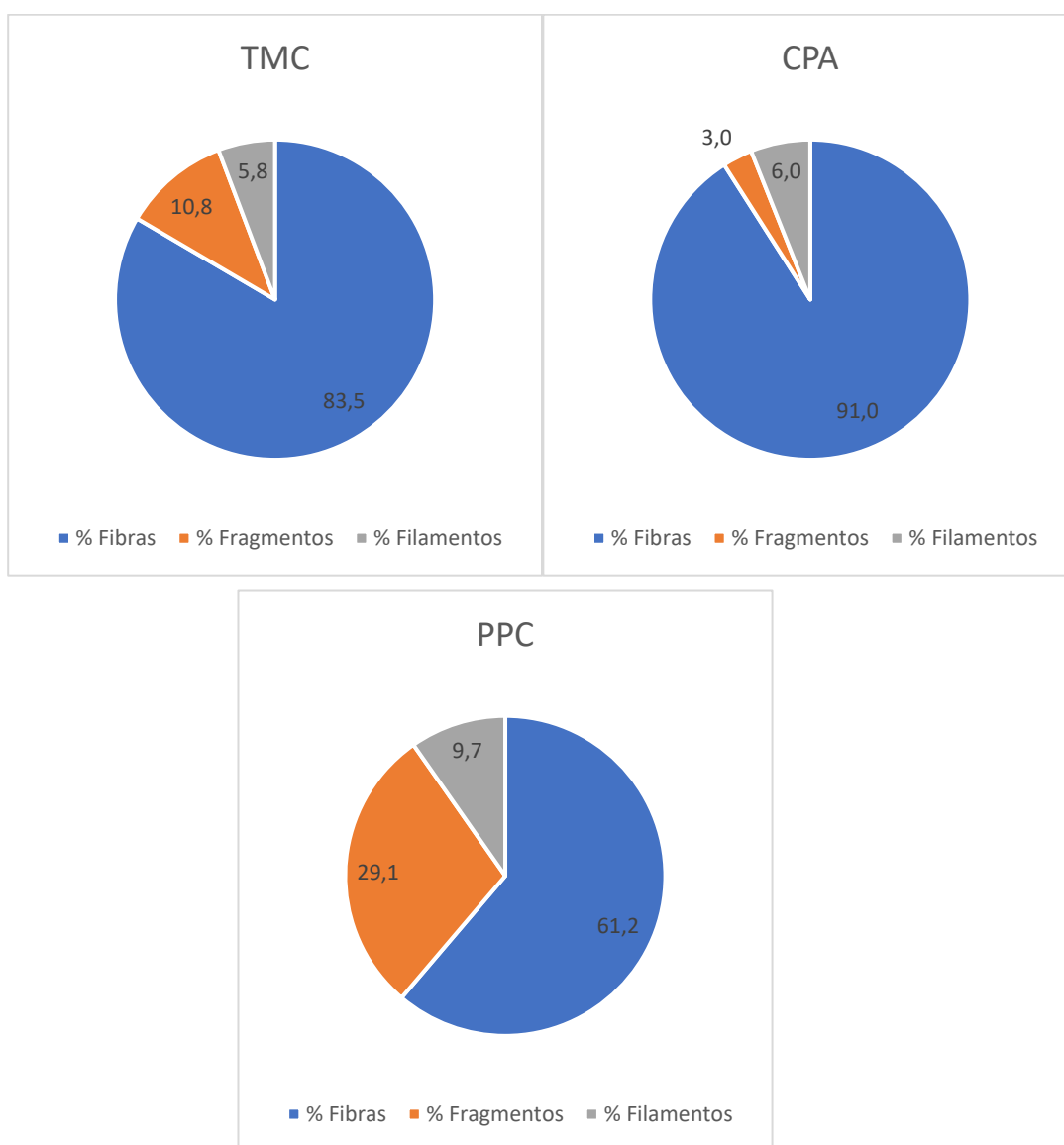


Figura 3.5 - Percentagens de fibras, fragmentos e filamentos por local de amostragem (Matriz Mexilhão).

Na matriz mexilhões, de forma geral, registaram-se micropartículas desde os 22,97 μm até aos 5000 μm . No gráfico da Figura 3.6 é possível observar os comprimentos médios e respetivos desvios-padrão registados por categoria de micropartícula, para cada local de amostragem. As fibras apresentaram sistematicamente os maiores comprimentos médios, com $1029,3 \pm 702,4 \mu\text{m}$ no TMC, $1004,5 \pm 724,0 \mu\text{m}$ no CPA e $1031,8 \pm 728,7 \mu\text{m}$ no PPC. Os filamentos exibiram valores intermédios, de $821,3 \pm 432,8 \mu\text{m}$ (TMC), $1002,2 \pm 651,3 \mu\text{m}$ (CPA) e $537,6 \pm 674,9 \mu\text{m}$ (PPC). Já os fragmentos corresponderam às micropartículas de menor dimensão, com $157,8 \pm 87,0 \mu\text{m}$ (TMC), $148,5 \pm 114,5 \mu\text{m}$ (CPA) e $165,1 \pm 201,1 \mu\text{m}$ (PPC).

Os resultados demonstram uma tendência consistente para fibras mais longas e fragmentos mais curtos, enquanto os filamentos apresentam maior variabilidade entre locais. Destaca-se o PPC, onde os filamentos registraram o menor comprimento médio (537,6 μm) e elevada dispersão (DP=674,9 μm).

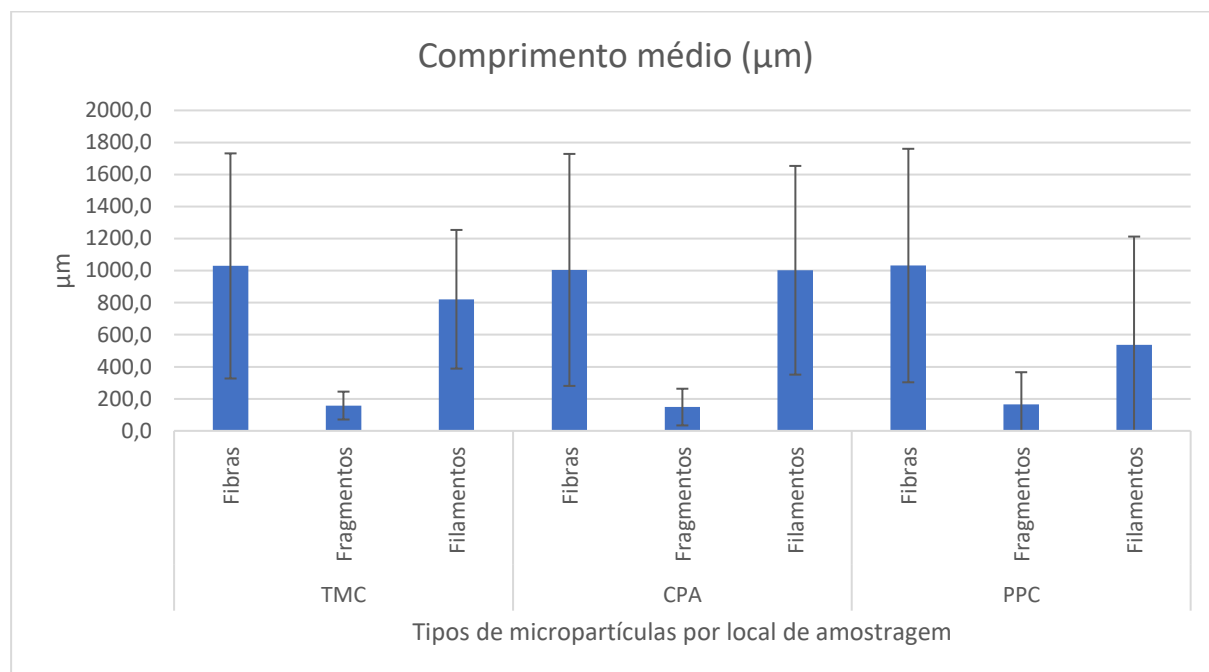


Figura 3.6 - Comprimento médio (μm) por tipo morfológico e por local de amostragem (Matriz: Mexilhão).

Pela Figura 3.7, no TMC, as fibras eram na sua maioria transparentes (~75%), com cerca de ~14% de azuis e pequenas proporções de pretas (~3%), vermelhas (~3%), brancas, castanhas e verdes (1-3 % cada). Já os fragmentos em TMC foram dominados por micropartículas pretas (~63%), seguidos pelas azuis (~17%), vermelhas (~10%) e menores percentagens de verdes, rosas e cinzentos (~3 % cada). Quanto aos filamentos, aproximadamente 75% eram transparentes, ~13% pretos, e os restantes vermelho e azul, representaram ~6% cada.

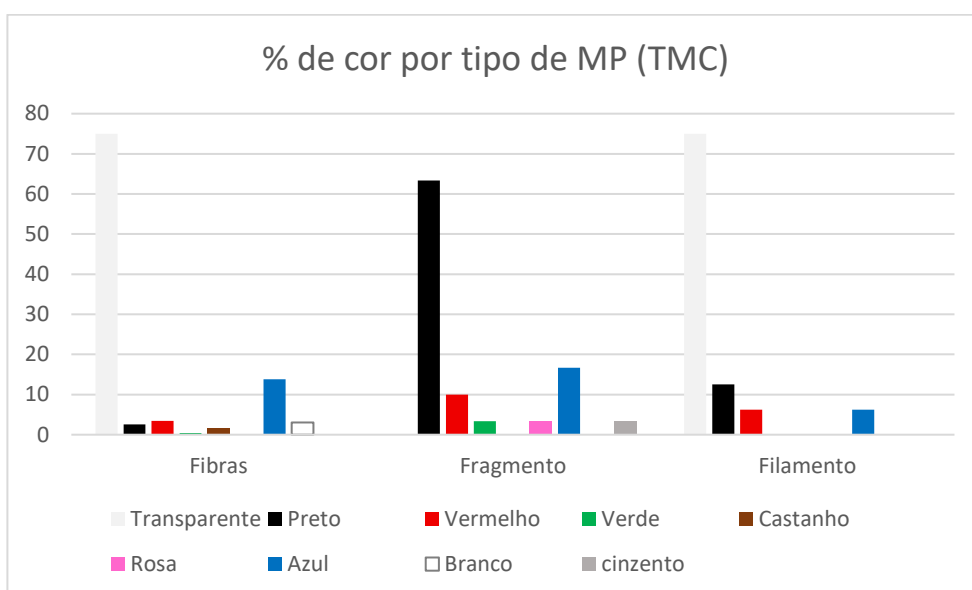


Figura 3.7 - Percentagens das cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no TMC (Matriz Mexilhão).

Na Figura 3.8, observa-se que em CPA, as fibras também foram maioritariamente transparentes (~86 %), com apenas ~6 % de azuis e ~4% preto, apresentando baixas percentagens de vermelhas, amarelas, verdes, castanhos, rosas e roxas (~1 %). Nos fragmentos, 42% eram pretos, 25 % verdes, 17 % vermelhos e 17 % azuis. Por fim, entre os filamentos em CPA, cerca de 54 % eram transparentes, 21 % pretos, 17 % azuis e 8 % vermelhos.

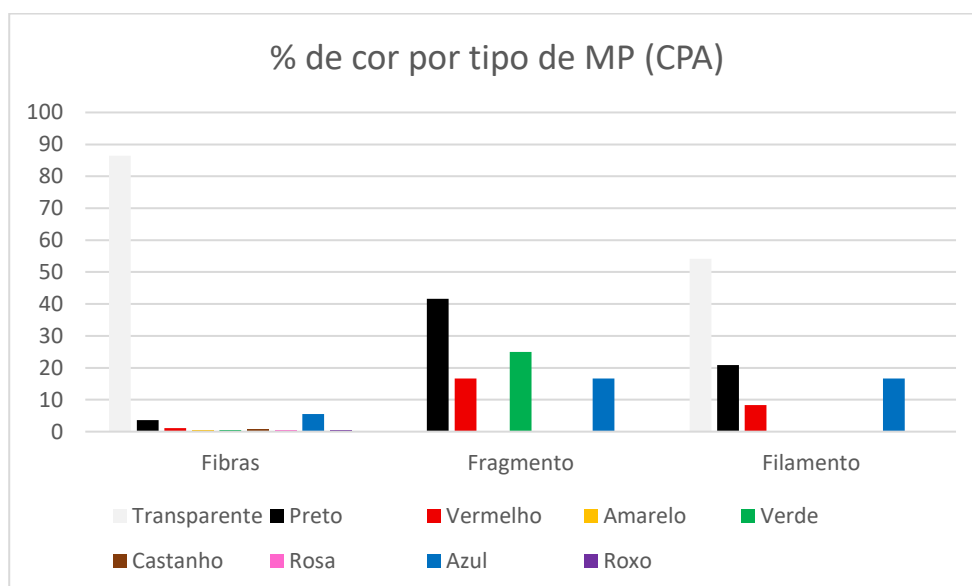


Figura 3.8 - Percentagem de micropartículas por cor e tipo morfológico no TMC (Matriz: Mexilhão).

Para o PPC (Figura 3.9), as fibras mantiveram-se, novamente, maioritariamente transparentes (~77 %), seguidas por azuis (~14 %), pretas (~ 5 %), vermelhas (~ 2 %) e castanhas (~ 1 %). Os fragmentos em PPC foram quase exclusivamente pretos (~82 %), com quantidades

menores de azuis (~10 %), verdes (~7 %) e vermelhos e transparentes (< 1 % cada). Entre os filamentos, 26 % eram transparentes e 56 % azuis, com 6 % pretos, 5 % vermelhos, 4 % verdes e amarelos, rosas e roxos (~ 1 % cada).

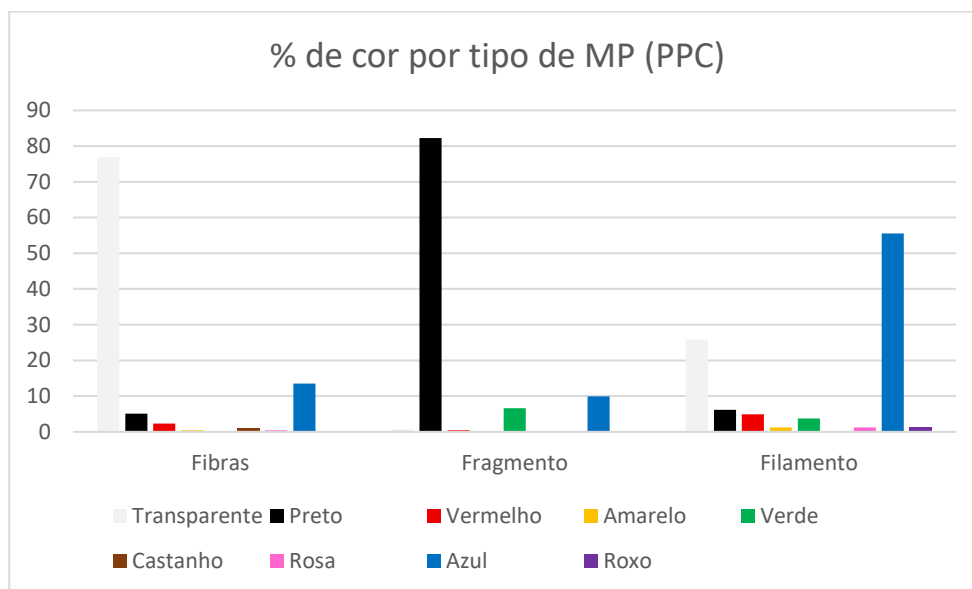


Figura 3.9 - Percentagem de micropartículas por cor e tipo morfológico no PPC (Matriz Mexilhão).

3.2 Amostras da coluna de água

3.2.1 Micropartículas

Novamente, agora para as amostras de arrastos horizontais da coluna de água, caracterizaram-se as micropartículas, desta vez, em quatro grupos morfológicos distintos (fibras, fragmentos, filamentos e novelos). A Figura 3.10 corresponde a um exemplo representativo dos "novelos".

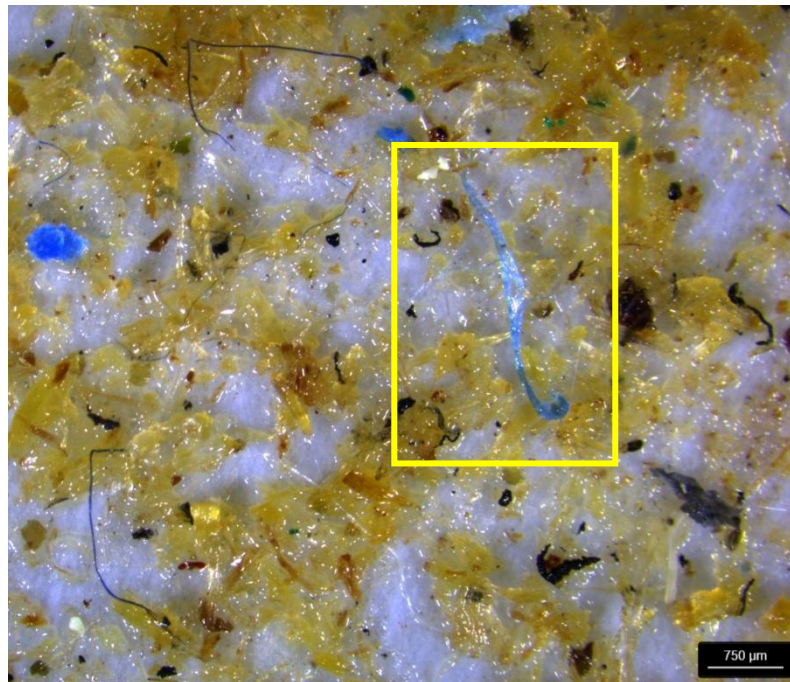


Figura 3.10 - Exemplo de um novelo de cor azul, encontrado nas amostras de água.

3.2.1.1 Abundância de micropartículas: forma, tamanho e cor

Após analisar a totalidade dos filtros das amostras dos arrastos horizontais, notou-se a presença de micropartícula, novamente, em 100% dos arrastos realizados e conseqüentemente em todos os filtros visualizados. Para estimar a abundância média de micropartículas por litro de água do mar filtrada por arrasto horizontal, foi necessário calcular o volume filtrado em cada arrasto utilizando as rotações do fluxómetro, a área percorrida no arrasto e a área da rede. Na visualização dos filtros em laboratório, devido à elevada densidade de partículas em cada filtro dividiu-se cada filtro em quadrantes e contabilizou-se o número de partículas presentes em apenas um dos quadrantes. Em seguida, para obter o valor total de micropartículas (estimado) em cada filtro, multiplicou-se o valor contabilizado por quatro. Por fim, calculou-se a média e desvio padrão por local de amostragem. Assim, foi possível obter valores médios de micropartículas por litro de água do mar filtrada em arrasto horizontal, bem como os seus desvios padrão.

Nas amostras de controlo para a matriz água, registou-se uma média de $3,8 \pm 0,8$ MPs/filtro.

Na Figura 3.11, observam-se, para cada local de amostragem, as concentrações médias de micropartículas por litro de água do mar filtrada (MPs/L) nos arrastos horizontais.

Registaram-se variações significativas entre os três locais analisados observando-se valores de $0,068 \pm 0,022$ MPs/L em TMC, de $0,016 \pm 0,004$ MPs/L em CPA e de $0,083 \pm 0,076$ MPs/L em PPC. Estes valores demonstram que, apesar de se registar a presença de micropartículas em todos os locais de amostragem, existem diferenças expressivas na sua abundância média, refletindo provavelmente a influência de fatores locais, nomeadamente o tipo de atividade portuária e o grau de confinamento hidrodinâmico.

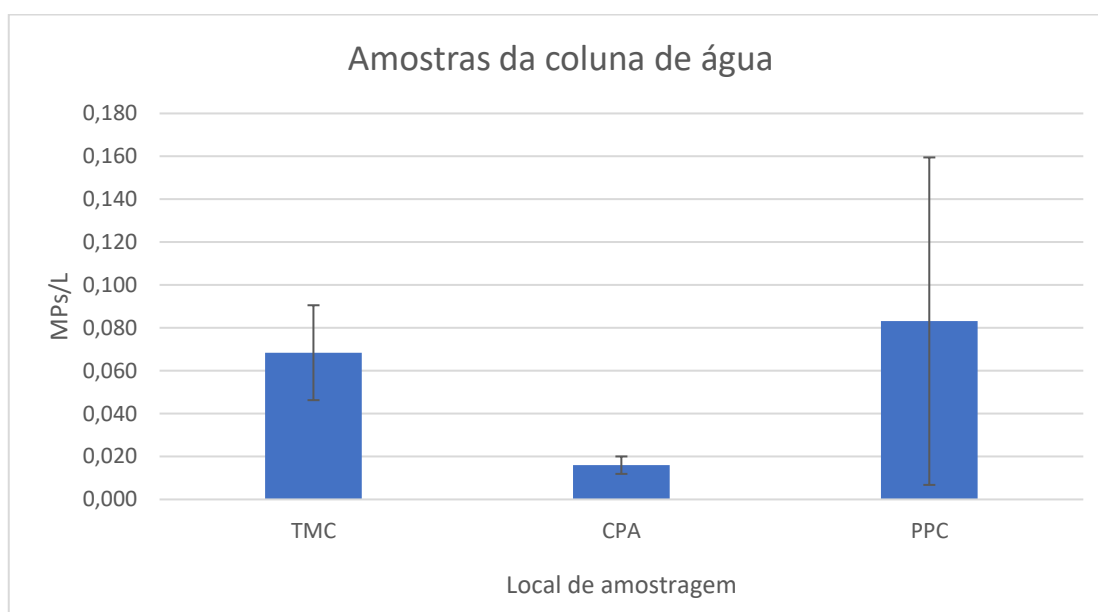


Figura 3.11 - Densidade média de micropartículas por local de amostragem (amostras da coluna de água).

O valor mais elevado foi registado no PPC, com uma média de $0,083$ MPs/L, mas também com o maior desvio padrão ($\pm 0,076$), o que indica uma alta variabilidade entre as amostras recolhidas neste local. O TMC apresentou a segunda maior média ($0,068 \pm 0,022$ MPs/L), com menor dispersão dos dados, sugerindo uma contaminação relativamente consistente ao longo das amostras recolhidas neste local. Já o CPA, considerado uma zona adjacente ao porto e com menor influência direta de atividade industrial ou comercial intensa, apresentou a menor concentração média de micropartículas ($0,016 \pm 0,004$ MPs/L).

Para avaliar possíveis diferenças espaciais na abundância de micropartículas entre os três locais de amostragem na matriz água (MPs/L), aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, uma vez que as distribuições não cumpriam o pressuposto de normalidade e o tamanho amostral por local era reduzido ($n = 3$). O teste revelou diferenças globais significativas entre os locais ($H = 6,20$; $p = 0,045$). No entanto, os testes pós-hoc de Mann-Whitney U, com

correção de Bonferroni, não mostraram diferenças significativas entre pares de locais ($\rho > 0,0167$ em todas as comparações), sugerindo que, embora exista uma tendência espacial na abundância de MPs/L, o número reduzido de réplicas limita a capacidade de discriminar diferenças estatísticas robustas entre locais.

Para cada local de amostragem, avaliou-se ainda a existência de diferenças entre as concentrações de microplásticos presentes no ambiente (matriz água) e aquelas acumuladas nos organismos (matriz mexilhão). Em todos os casos, as distribuições não apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk, $\rho < 0,05$), pelo que se aplicou o teste de Mann-Whitney U. As comparações PPC_MEX vs PPC_AGU, CPA_MEX vs CPA_AGU e TMC_MEX vs TMC_AGU revelaram diferenças estatisticamente significativas entre as matrizes ($U = 66,0$; $\rho < 0,001$ para todos os locais), demonstrando que os mexilhões apresentaram concentrações de microplásticos significativamente superiores aos microplásticos detetados na água dos respectivos locais. Este padrão, consistente nos três pontos de amostragem, reforça o papel de *Mytilus galloprovincialis* como integrador da contaminação local, acumulando ao longo do tempo os microplásticos disponíveis na coluna de água.

3.2.1.2 Características das Micropartículas

Registaram-se micropartículas das categorias fibras, fragmentos e filamentos em todas as amostras analisadas para cada local. Já os novelos, apesar de presentes, representaram percentagens muito inferiores às restantes.

Pela Tabela 3.4, a análise da percentagem de cada tipo de micropartícula por arrasto horizontal revelou padrões distintos entre os diferentes locais de amostragem.

Tabela 3.4 - Percentagem do tipo de micropartícula registada por arrasto e por local de amostragem

Amostras		% Tipo de micropartículas por local de amostragem									
		% Fibras		% Filamentos		% Fragmentos		% Novelos		% Total	
TMC	H1	18,71	16,42	14,84	9,11	66,45	73,83	0,00	0,64	100	100
	H2	12,62		8,83		78,23		0,32		100	
	H3	17,98		3,79		76,66		1,58		100	
CPA	H1	92,59	79,14	0,00	1,23	5,56	18,40	1,85	1,23	100	100
	H2	76,39		2,78		20,83		0,00		100	
	H3	64,86		0,00		32,43		2,70		100	
PPC	H1	37,50	45,54	11,88	19,69	50,63	34,65	0,00	0,11	100	100
	H2	44,81		23,39		31,63		0,16		100	
	H3	57,75		12,68		29,58		0,00		100	

No TMC, observou-se uma clara predominância de fragmentos em todos os arrastos realizados, com percentagens que variaram entre 66% e 78% do total de micropartículas registadas. As fibras surgiram como o segundo tipo mais comum, variando entre 12% e 18%, seguidas pelos filamentos, com valores entre 4% e 15%. Os novelos, por sua vez, estiveram praticamente ausentes neste local, com ocorrência pontual apenas em dois arrastos.

No local CPA, as fibras destacaram-se de forma evidente como o tipo dominante, representando entre 65% e 93% do total de micropartículas nos três arrastos. Os fragmentos, em segundo lugar, demonstram maior expressão no arrasto H3, onde atingiram cerca de 32% das micropartículas registadas. Os filamentos foram praticamente inexistentes, tendo sido registados apenas em um dos arrastos (< 3%), e os novelos observaram-se unicamente nos arrastos H1 e H3, em percentagens muito reduzidas.

Já no PPC, a distribuição entre os diferentes tipos de micropartículas revelou-se mais equilibrada. As fibras mantiveram-se como o tipo mais frequente, variando entre ~ 38 % e ~ 58 %. Os fragmentos também apresentaram uma presença significativa, com percentagens de ~24 % a ~51 %. Os filamentos revelaram-se com alguma importância relativa neste local, especialmente no arrasto H2, onde representaram cerca de 23% do total. Quanto aos novelos, apenas foram identificados em um dos arrastos, com ocorrência mínima.

Relativamente à percentagem total por local de amostragem (gráficos da Figura 3.12), o TMC evidenciou uma dominância muito clara de fragmentos, que representaram cerca de 74% do total de micropartículas, sendo seguidos por fibras (16%) e filamentos (9%), enquanto os novelos não atingiram 1% de ocorrência. No CPA, a situação foi inversa, com as fibras a constituírem aproximadamente 79% do total de micropartículas, seguidas pelos fragmentos com cerca de 18%. Os filamentos e novelos foram residuais. O PPC destacou-se por apresentar uma distribuição mais heterogénea, com fibras a representarem cerca de 46% das micropartículas, fragmentos cerca de 35%, e filamentos cerca de 20%. Os novelos, tal como nos outros locais, representaram uma fração muito pequena do total identificado.

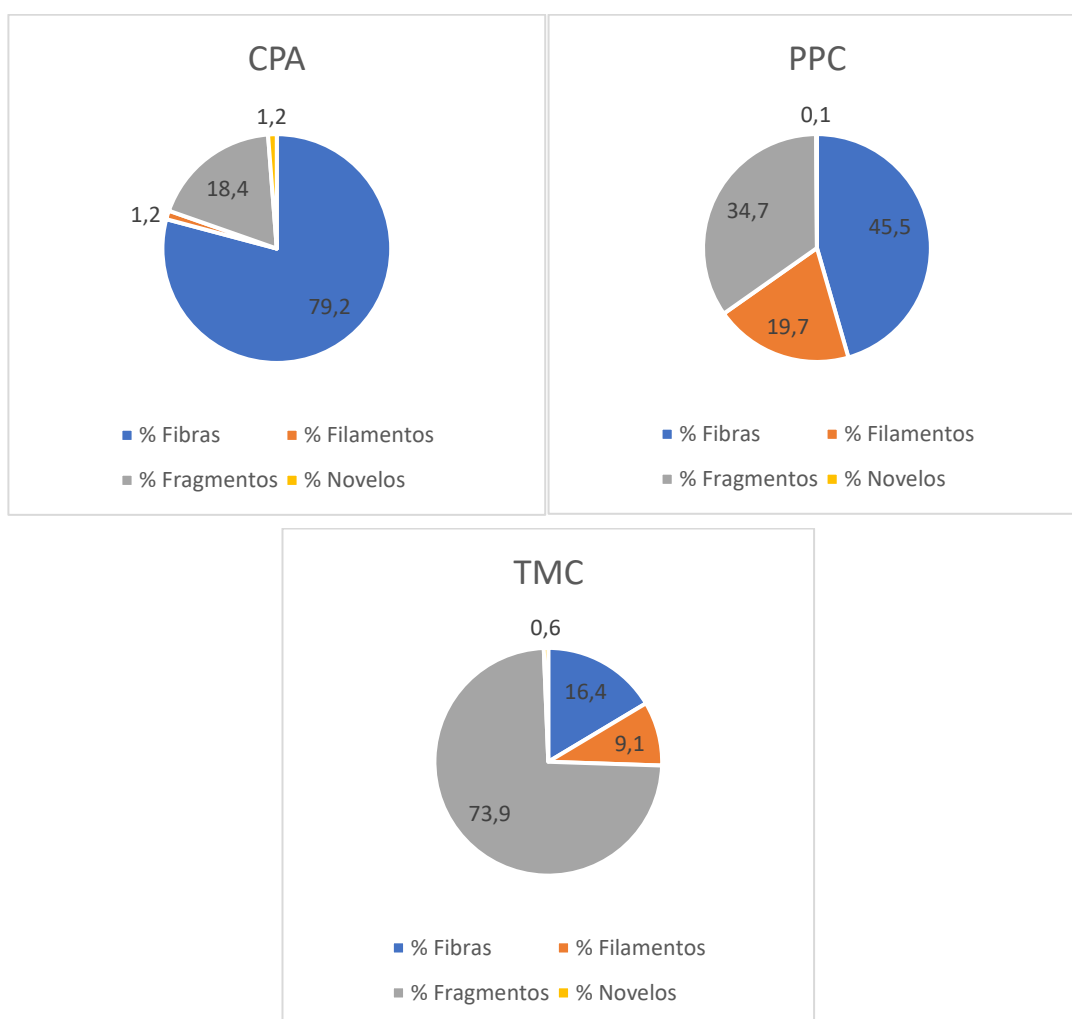


Figura 3.12 - Percentagens de fibras, fragmentos, filamentos e novelos, para cada local de amostragem

Na matriz água, de forma geral, registaram-se micropartículas com comprimentos desde os 52,49 μm até aos 5000 μm . No gráfico da Figura 3.13 é possível observar os comprimentos médios e respetivos desvios padrão registados por categoria de micropartícula (fibras, fragmentos, filamentos e novelos), para cada local de amostragem (TMC, CPA e PPC). As fibras apresentaram sistematicamente os maiores comprimentos médios, com $2095,5 \pm 388,24 \mu\text{m}$ no TMC, $1931,8 \pm 1018,41 \mu\text{m}$ no CPA e $1518,6 \pm 1514,02 \mu\text{m}$ no PPC. Os filamentos exibiram valores intermédios, de $728,2 \pm 893,86 \mu\text{m}$ (TMC), $784,2 \pm 1506,35 \mu\text{m}$ (CPA) e $1793,6 \pm 1256,67 \mu\text{m}$ (PPC), mas com elevada variação entre locais. Já os fragmentos corresponderam às micropartículas de menor dimensão, com $433,5 \pm 1293,34 \mu\text{m}$ no TMC, $694,2 \pm 1496,93 \mu\text{m}$ no CPA e $652,3 \pm 1546,42 \mu\text{m}$ no PPC. Por sua vez, os novelos registaram valores médios de $1178,3 \pm 859,34 \mu\text{m}$ no TMC, $483,5 \pm 1504,81 \mu\text{m}$ no CPA e $761,2 \pm 1447,14 \mu\text{m}$ no PPC.

Nesta matriz, mantém-se o padrão de fibras mais longas e fragmentos mais curtos, embora os novelos apresentem comprimentos próximos dos filamentos, refletindo a

complexidade desta morfologia, sugerindo maior heterogeneidade das fontes e processos de degradação. Nota-se uma elevada variabilidade em quase todas as categorias, com desvios padrão frequentemente próximos ou superiores às médias, indicando distribuições assimétricas e a presença de valores extremos.

Os fragmentos foram uma categoria particularmente instável, com desvios padrão muito superiores às médias em todos os pontos de amostragem, o que indica forte heterogeneidade nesta categoria. Nos novelos, destacou-se o CPA, apresentando o menor comprimento médio (483,5 μm) mas um dos maiores desvios padrão (1504,81 μm), sugerindo elevada dispersão de tamanhos nesta morfologia. Já nos filamentos, observou-se no PPC o maior comprimento médio (1793,6 μm) e uma dispersão igualmente acentuada ($DP=1256,67 \mu\text{m}$), contrastando com os valores mais baixos registados no TMC e CPA. Esta variabilidade transversal demonstra que, para além das tendências gerais, cada local apresenta características próprias de fontes e processos de degradação, refletindo a complexidade da dinâmica de micropartículas no porto de Sines.

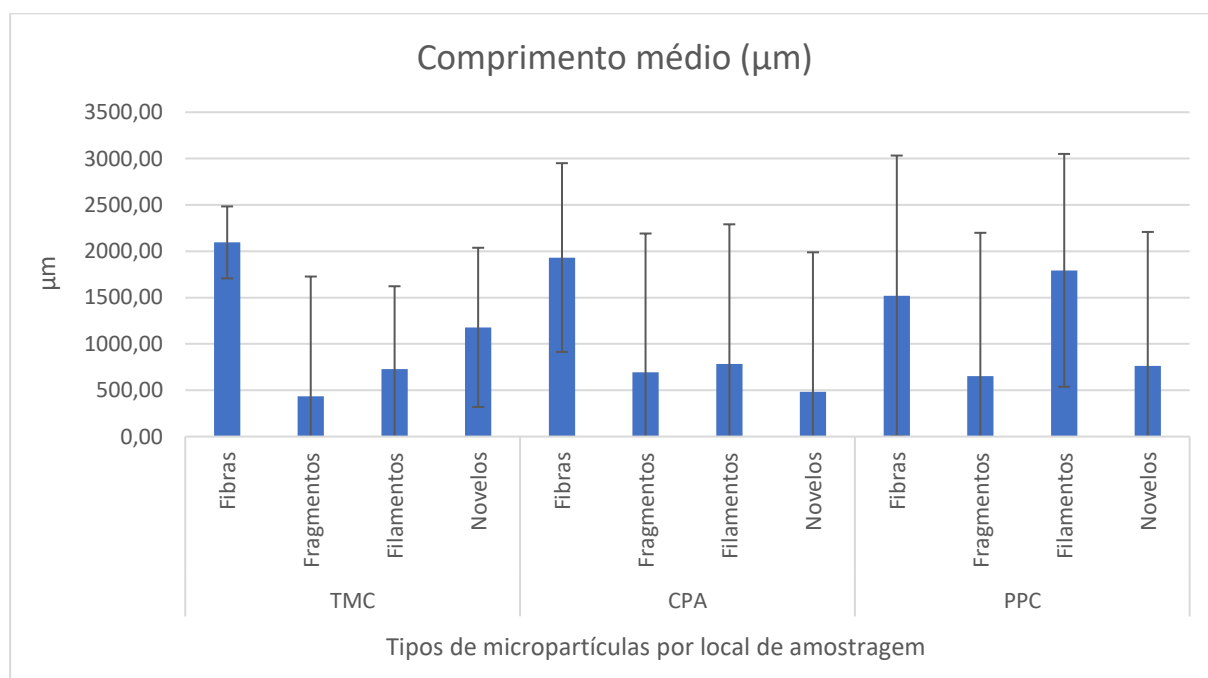


Figura 3.13 - Comprimento médio das micropartículas por tipologia por local de amostragem (Matriz água)

Em TMC (Figura 3.14), a análise da coloração das micropartículas revela que a cor preta tem uma predominância clara em todas as categorias morfológicas, com especial destaque nos fragmentos (72%) e novelos (aproximadamente 60%). Também os filamentos apresentam

uma forte representação de micropartículas pretas, representando mais de metade das observações nessa categoria.

As fibras foram a única categoria onde a cor preta não se destacou com grande discrepância das restantes cores, tendo a cor azul praticamente a mesma percentagem que a preta (~32%). A cor transparente também demonstrou expressão relevante entre as fibras, atingindo cerca de 18%. As cores menos representadas nas diferentes categorias incluem o vermelho, verde, castanho, roxo, rosa, laranja e amarelo, que surgem em percentagens muito reduzidas e dispersas.

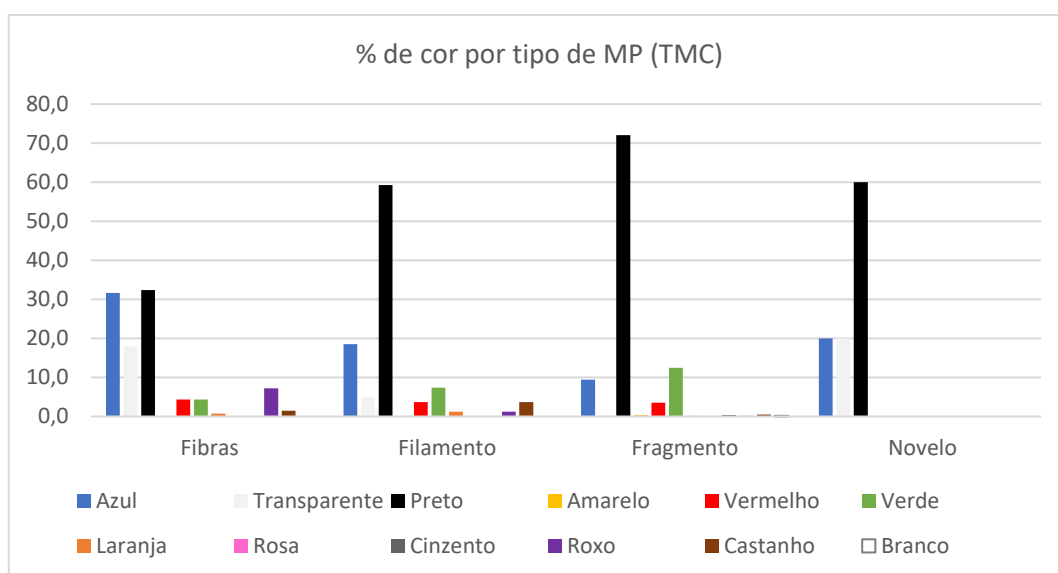


Figura 3.14 - Percentagens das cores identificadas por tipo de micropartícula, no TMC (Matriz água).

Em CPA, pela Figura 3.15, as fibras foram dominadas pelas cores azul (cerca de 42%) e preta (~28%), seguidas pela cor vermelha (~10%). Cores como verde, castanho, roxo, rosa e branco também foram identificadas, mas em proporções muito reduzidas (todas inferiores a 5%). Nos filamentos, registaram-se apenas duas cores: azul e vermelho, ambas com 50%. Já os fragmentos apresentaram uma distribuição de cores mais equilibrada, com percentagens significativas de azul e preto (~33% cada) e verde (~17%). Registaram-se ainda 6,7% de fragmentos transparentes, e 3,3% cada, de branco, rosa e castanho. No caso dos novelos, registaram-se apenas azul e preto, com igual frequência.

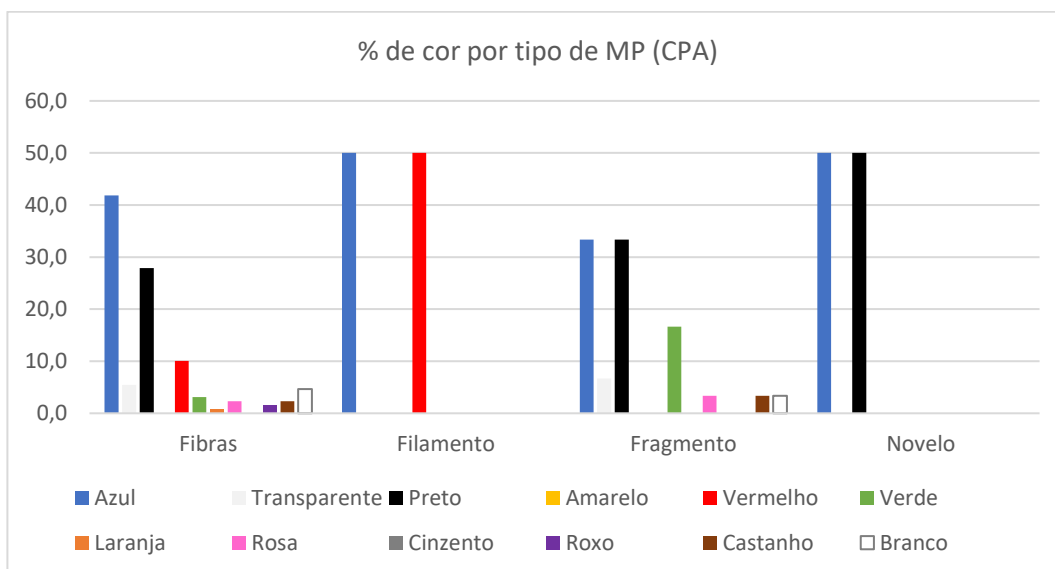


Figura 3.15 - Percentagens das cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no CPA (Matriz água).

No ponto de amostragem PPC, a análise cromática das micropartículas revelou uma diversidade considerável de cores, com padrões distintos entre os diferentes tipos morfológicos (Figura 3.16). Nas fibras destacaram-se com predominância as cores azul (cerca de 48%) e transparente (~27%), seguidas a alguma distância pela cor preta (~10%), vermelha (~6%) e branco, verde, castanho, laranja e roxo (< 3% cada). Nos filamentos, a notou-se uma distribuição mais equilibrada entre o azul (~36%) e o transparente (~42%), com pequenas representações de outras cores como preto (~7%), vermelho (4,5%), verde (~3%), laranja (~3%), roxo e branco (< 3% cada). Os fragmentos apresentaram uma forte incidência da cor preta, representando mais de metade do total desta categoria (~51%). As restantes cores representam percentagens inferiores distribuídas por: cerca de 13% azul; 7,6% amarelo; 7% branco; 6,7% vermelho; 6,7% verde; e 4,5% transparente. Nos novelos, verificou-se uma exclusividade cromática marcada: 100% das micropartículas apresentaram coloração preta.

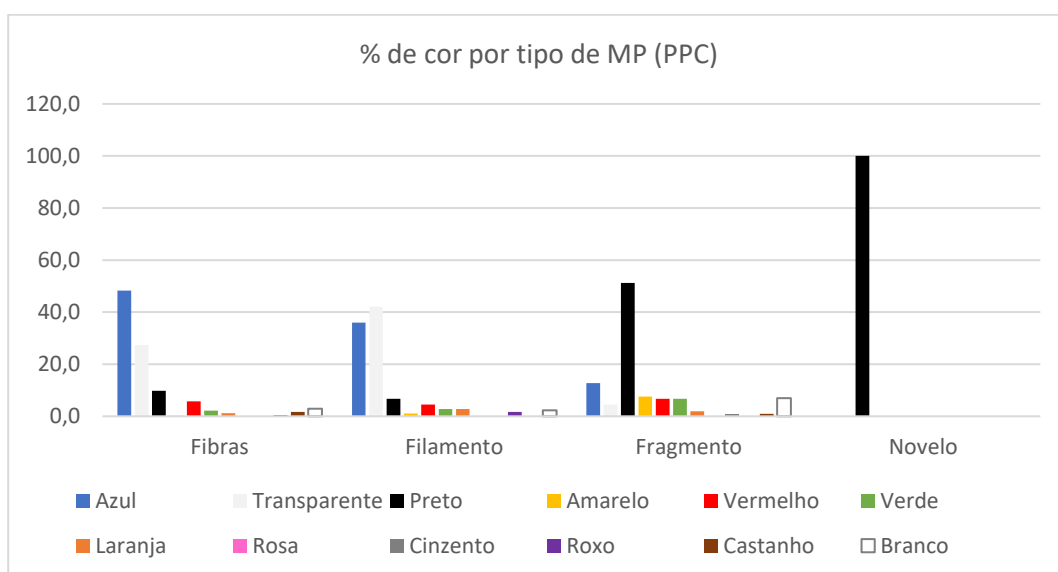


Figura 3.16 - Percentagens de cores identificadas para cada tipo de micropartícula, no PPC (Matriz água).

3.3 Análise FT-IR

A caracterização das partículas isoladas por espectroscopia de FT-IR permitiu confirmar a presença de diferentes tipos de polímeros nas amostras recolhidas no Porto de Sines. Nem todas as amostras isoladas para análise FT-IR foram possíveis de testar uma vez que apresentavam tamanhos reduzidos, mais indicados para análise de μ FT-IR, equipamento ao qual não se teve acesso para efeitos desta dissertação. Por este motivo, todas as micropartículas analisadas pertenciam a amostras da matriz água, à exceção de quatro micropartículas pertencentes a amostras de mexilhão.

A análise qualitativa e quantitativa dos espectros obtidos encontra-se representada na Figura 3.17, onde se apresenta a distribuição percentual dos polímeros identificados.

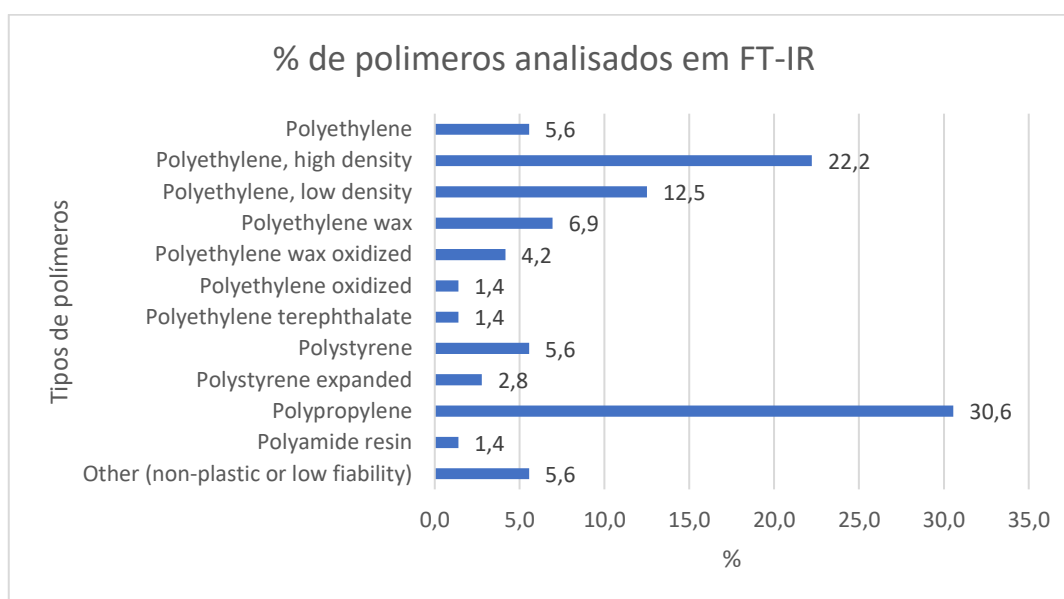


Figura 3.17 - Percentagem para cada tipo de polímero validado por FT-IR.

Verificou-se que o polipropileno (PP) foi o polímero mais abundante, representando 30,6% das micropartículas analisadas. O polietileno de alta densidade (PEAD) constituiu o segundo grupo mais representativo (22,2%), seguido pelo polietileno de baixa densidade (PEBD), com 12,5%. A soma das diferentes formas de polietileno (PEAD, PEBD, PE não especificado, cera de polietileno e derivados oxidados) representa mais de cerca de 50% do total, o que confirma a predominância deste polímero em ecossistemas costeiros. O poliestireno surgiu em 5,6% dos casos, enquanto a variante expandida (EPS) representou 2,8%. O tereftalato de polietileno (PET) e a resina de poliamida surgiram em proporções residuais (1,4% cada).

É de salientar ainda que 5,6% das micropartículas isoladas e analisadas foram classificadas como não serem de plástico, incluindo materiais de origem natural (e.g., quitina ou fibras de viscose) ou classificaram-se com baixa fiabilidade de atribuição espectral, o que evidencia as limitações inerentes à análise de micropartículas muito pequenas ou degradadas.

Abaixo está uma amostra dos espectros de transmitância obtidos na análise FT-IR (Figuras 3.18, 3.19, 3.20 e 3.21).

4 DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos resultados principais

Este estudo confirmou a presença generalizada de microplásticos no Porto de Sines, com detecção de partículas suspeitas de serem plástico em 100% dos indivíduos de *Mytilus galloprovincialis* e em todas as amostras de água da coluna superficial. A abundância média de MPs/g nos mexilhões mostrou diferenças espaciais claras e estatisticamente significativas entre os três locais (Kruskal-Wallis, $H=22,58$; $p < 0,001$). O PPC apresentou os maiores valores ($\sim 14,55$ MPs/g), seguido do CPA ($\sim 9,15$ MPs/g) e do TMC ($\sim 4,94$ MPs/g), padrão também visível na abundância por indivíduo. Os testes post hoc revelaram diferenças significativas entre PPC-TMC e CPA-TMC, e uma diferença marginal entre PPC-CPA, confirmando o gradiente espacial observado.

Na coluna de água, verificaram-se igualmente diferenças espaciais, com valores médios mais elevados no PPC ($0,083 \pm 0,076$ MPs/L), valores intermédios no TMC ($0,068 \pm 0,022$ MPs/L) e valores mais baixos no CPA ($0,016 \pm 0,004$ MPs/L). O teste global de Kruskal-Wallis indicou diferenças entre locais ($H=6,20$; $p = 0,045$), embora as comparações par-a-par não tenham alcançado significância após correção de Bonferroni, devido ao reduzido número de réplicas ($n = 3$). Assim, estes padrões devem ser interpretados sobretudo como tendências descritivas.

A comparação entre matrizes (mexilhão vs água) demonstrou diferenças significativas em todos os locais (Mann-Whitney $U = 66,0$; $p < 0,001$), evidenciando que *M. galloprovincialis* acumula MPs em níveis muito superiores àqueles registados na coluna de água, comportamento típico de organismos filtradores.

Estes padrões espaciais estão em sintonia com estudos prévios que associam a abundância de MPs à intensidade das atividades antropogénicas portuárias e industriais (por exemplo: Alomar *et al.*, 2025; Pequeno *et al.*, 2021 e Preston-Whyte *et al.*, 2021). Em suma, locais com maior pressão humana apresentaram cargas de MPs nitidamente superiores (Barboza *et al.*, 2020; Provenza *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023), confirmando tendências gerais reportadas na literatura.

4.2 Interpretação espacial da contaminação

A distribuição espacial dos microplásticos reflete a conjugação entre uso antropogénico, hidrodinâmica e características geomorfológicas. O PPC, localizado numa baía confinada com intensa atividade piscatória, apresentou sistematicamente as maiores concentrações tanto na matriz mexilhões como na matriz água. A maior variabilidade entre amostras de água observada neste local (DP = 0,076 MPs/L) sugere a presença de múltiplas fontes de contaminação atuando em simultâneo, desde equipamentos de pesca (e.g., fragmentos de redes, cabos e linhas) até resíduos urbanos e industriais associados à proximidade da cidade e instalações portuárias, compatíveis com a literatura sobre zonas de elevada utilização portuária (Preston-Whyte *et al.*, 2021; Dereszewska *et al.*, 2023). Adicionalmente, o formato de "baía" do PPC favorece a acumulação local de micropartículas, uma vez que a circulação de água é limitada, dificultando a dispersão dos contaminantes.

Em contraste, o TMC, onde ocorre movimentação de granéis sólidos e líquidos, por ser um local mais exposto e com forte renovação hídrica apresentou níveis mais baixos e homogêneos. Isto sugere que a maior circulação de água dilui a concentração de micropartículas, fenómeno documentado noutros ambientes portuários abertos (Gatidou *et al.*, 2019).

O CPA, apesar de mais distante da zona portuária intensa e de se situar em mar aberto, não está isenta de contaminação proveniente do Porto através da deriva litoral dominante (norte → sul), uma vez que exibiu valores intermédios, consistentes com a sua posição relativa e possível influência difusa da ETAL, alinhando com padrões descritos em estudos de áreas costeiras adjacentes a descargas urbanas ou industriais (Faure *et al.*, 2012; Eriksen *et al.*, 2013).

Tratamentos de água, mesmo que eficientes, podem não reter completamente micropartículas, pelo que efluentes industriais ou de lastro tratados podem constituir fontes difusas de poluição de microplásticos (Talvitie *et al.*, 2017; Lusher *et al.*, 2017). Esta observação está de acordo com estudos que identificam efluentes urbanos e industriais, bem como descargas de lastro de navios, como fontes relevantes de MPs em zonas portuárias. Estudos europeus reportaram concentrações significativamente elevadas de MPs próximo de emissários de estações de tratamento de águas residuais e junto a terminais portuários com atividade intensa (Gatidou *et al.*, 2019; Bayo *et al.*, 2022; Constant *et al.*, 2020; Galgani *et al.*, 2018). Em Portugal, Antunes *et al.* (2018) e Sobral (2014) documentaram cargas elevadas de plásticos em praias nas imediações de zonas industriais e portuárias, corroborando que a influência de descargas antropogénicas se reflete na poluição por microplásticos local. Assim, a distribuição espacial de MPs em Sines evidenciou-se fortemente condicionada pelo grau de confinamento

hidrodinâmico e pela proximidade de fontes de poluição: áreas confinadas ou próximas de descargas apresentaram contaminação acrescida, ao passo que áreas mais abertas e afastadas de fontes diretas mostraram menor acumulação de micropartículas.

Assim, os resultados demonstram que a contaminação por microplásticos em Sines é espacialmente heterogênea e amplamente determinada pelas pressões antropogênicas e hidrodinâmicas locais, coerente com o observado noutras zonas portuárias (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012; Galgani *et al.*, 2018).

4.3 Tipologia e morfologia dos microplásticos

Os padrões morfológicos observados nos mexilhões foram consistentes com os resultados de abundância e com as atividades desenvolvidas em cada local. As fibras foram o tipo dominante em PPC, TMC e CPA (61,2%, 83,8% e 91%, respetivamente), indicando fontes urbanas e difusas, como fibras têxteis de origem doméstica e industrial (provenientes de efluentes urbanos, nomeadamente de descargas de águas residuais com fibras de roupas) e fios sintéticos resultantes do desgaste de cordas e redes náuticas. Esta tendência é amplamente documentada na literatura (Browne *et al.*, 2011; Suaria *et al.*, 2020; Barrows *et al.*, 2018).

No PPC, contudo, observou-se uma redução relativa das fibras (61%) e um aumento expressivo de fragmentos (29,1%) e filamentos (9,7%). Esta diferença está em total concordância com as características do PPC, onde existem atividades piscatórias que geram filamentos através do desgaste de linhas, cabos e redes, e atividades portuárias/industriais que promovem a libertação de fragmentos resultantes da fragmentação de plásticos rígidos. Este padrão é coerente com estudos que descrevem aumento de filamentos e fragmentos em portos e marinas com forte atividade náutica e piscatória (Nath *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2021).

Assim, o PPC mostra uma assinatura morfológica complexa que sugere contribuições simultâneas de fontes marítimas (filamentos) e fontes industriais/urbanas (fragmentos), enquanto TMC e CPA refletem predominantemente fontes difusas (fibras).

A caracterização cromática das micropartículas reforçou a diversidade de origens das partículas encontradas. Observou-se que as fibras, eram predominantemente transparentes ou azuladas, enquanto os fragmentos se registaram sobretudo na cor preta ou verde e os filamentos apresentaram uma variedade de tons. Este padrão cromático é consistente com fontes distintas: as fibras transparentes e azuis apontam para fibras têxteis sintéticas (por exemplo, fibras de poliéster presentes em vestuário ou fragmentos de cabos e cordas náuticas

frequentemente fabricados em azul), enquanto os fragmentos pretos e verdes sugerem a fragmentação de plásticos pigmentados, como componentes industriais ou agrícolas (e.g., pedaços de embalagens, filmes de plástico ou aparas de materiais de construção e tubagens) e possivelmente também resíduos de pintura ou borracha (as micropartículas pretas podem advir de tintas navais ou desgaste de pneus em áreas portuárias). Os filamentos multicoloridos encontrados poderão estar associados a filamentos de redes de pesca (que incluem fios de diversas cores) e a revestimentos poliméricos que se destacam em tiras finas. Importa salientar que padrões semelhantes de distribuição de cores e tipos de MPs foram descritos em outros portos e marinas, tanto no Mediterrâneo como no Atlântico. Bayo *et al.* (2022), Lewandowska-Czarnecka *et al.* (2023) e Provenza *et al.* (2021) reportaram, em contextos portuários distintos, a predominância de fibras azuis/translúcidas e de fragmentos escuros, muito em linha com o verificado em Sines. Desta forma, a composição morfológica e cromática dos microplásticos em Sines é coerente com a literatura, apontando para uma combinação de fontes urbanas (fibras têxteis) e fontes marítimas/industriais (fragmentos de plásticos degradados, aparas de equipamentos e resíduos de pesca) a influenciar o espectro de partículas presentes em cada local.

4.4 Composição polimérica (FT-IR)

A caracterização dos MPs através de espectroscopia FT-IR permitiu identificar os polímeros constituintes das partículas recolhidas, fornecendo informação qualitativa e quantitativa sobre a composição dos MPs. Esta análise espectroscópica obtida pelo FT-IR indica que os polímeros predominantes foram os poliolefinicos de baixa densidade. O polipropileno (PP) foi o polímero individual mais abundante (~30,6%), seguido pelo polietileno encontrado em diferentes formas (PE de alta e baixa densidade, cera de PE e fragmentos oxidativos), ultrapassando 50% do total de MPs confirmados. Considerando PP e PE em conjunto, estes representaram cerca de 80% dos MPs analisados em FT-IR evidenciando a forte presença de materiais associados a embalagens descartáveis, produtos de cordoaria (cabos, redes) e artefactos de pesca, itens de uso massivo que frequentemente acabam fragmentados no ambiente marinho. Em menor proporção surgiram polímeros como o poliestireno (PS, incluindo esferovite) com ~8,4%, e vestígios de poli(tereftalato de etileno) (PET), poliamidas e poliuretano, cada um contribuindo com menos de 2%.

Estudos realizados em ambientes portuários no Mediterrâneo e no Atlântico relataram uma presença dominante de PE e PP nos microplásticos ambientais, confirmando assim, o

mesmo perfil polimérico aqui registado (Klein *et al.*, 2015; Peng *et al.*, 2017; Provenza *et al.*, 2021). Peng *et al.* (2017) verificou no Atlântico Norte subtropical uma grande representação de PE e PP entre as várias micropartículas. Provenza *et al.* (2021) reportou tendências similares em portos mediterrânicos e atribui a presença destes materiais ao largo uso desses polímeros em bens de consumo e atividades marítimas. Os dois polímeros, PE e PP, são os mais produzidos globalmente e encontram-se em produtos plásticos de vida curta, tais como sacos, embalagens e cordas, representando materiais menos densos que a água do mar, que tendem a flutuar ou permanecer em suspensão, o que os torna disponíveis para incorporação por organismos filtradores como os mexilhões.

Nem todas as partículas isoladas e analisadas foram classificadas como plásticas. Cerca de 5,6% das partículas encontradas foram identificadas como não sendo polímeros sintéticos, incluindo provavelmente fibras de origem natural como celulose de tecidos de algodão ou fibras de viscose, ou partículas cuja perfil espectral não permitiu atribuição fiável a um polímero de plástico. Estes resultados sublinham a importância da validação química (FT-IR) após a triagem visual, reduzindo sobrestimativas de contaminação por evitar que se contabilizem fibras naturais (que podem ter origem atmosférica ou em *biofouling*) como se fossem microplásticos. Em trabalhos anteriores também foi observado que uma fração das partículas recolhidas pode ser orgânica ou mineral (Frias *et al.*, 2014), reforçando que a utilização de técnicas analíticas é crucial para garantir a fidelidade dos resultados.

No presente estudo, a combinação da análise visual microscópica com a confirmação por FT-IR deu maior robustez aos dados apresentados, permitindo afirmar com confiança que os polímeros predominantes em Sines pertencem à família do polietileno e polipropileno. Esta composição reflete a ampla utilização e posterior dispersão destes materiais no ambiente marinho, corroborando a hipótese de que as atividades antropogénicas locais (pesca, lazer, tráfego marítimo, indústria) contribuem diretamente para a introdução desses microplásticos no ecossistema portuário.

4.5 Relação com parâmetros biométricos

Para avaliar a existência de uma relação entre as características morfológicas dos mexilhões e a carga de microplásticos acumulada, foram conduzidas correlações de Spearman entre o comprimento, largura e peso húmido e o número total de micropartículas por indivíduo, uma vez que as amostras não seguiam uma distribuição normal. Não se verificou qualquer

correlação significativa, quer na análise global (ρ entre -0,08 e -0,02; $\rho > 0.50$), quer quando os locais foram analisados separadamente ($\rho > 0.29$ em todos os casos). Estes resultados demonstram que a acumulação de microplásticos não está correlacionada com o tamanho dos mexilhões, mas sim com as condições ambientais locais, nomeadamente à disponibilidade de partículas na coluna de água. Tal comportamento está de acordo com estudos anteriores (Phuong *et al.*, 2018; Rist *et al.*, 2019), que igualmente não identificaram relação entre biometria e ingestão de microplásticos em bivalves filtradores.

4.6 Microplásticos na coluna de água

Concretamente, as amostras de água no PPC apresentaram em média $0,083 \pm 0,076$ MPs/L, valor cerca de 5 vezes superior ao observado no CPA ($0,016 \pm 0,004$ MPs/L), enquanto o TMC exibiu $0,068 \pm 0,022$ MPs/L. As concentrações de MPs na coluna de água refletiram o mesmo ordenamento espacial observado nos mexilhões. Embora o teste de Kruskal-Wallis tenha indicado diferenças globais entre locais, a ausência de significância nos testes par-a-par após a correção de Bonferroni indica que estas diferenças devem ser interpretadas com cautela, devido ao limitado número de réplicas ($n=3$).

A comparação direta entre matrizes revelou-se mais conclusiva: os mexilhões apresentaram concentrações significativamente superiores às registadas na água em todos os locais ($p < 0.001$). Amplamente descrito na literatura, este comportamento reflete a capacidade de os bivalves filtradores integrarem a exposição ao longo do tempo (De Witte *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016; Mao *et al.*, 2020). Assim, as cargas internas observadas constituem uma medida mais estável e ecologicamente relevante da poluição local.

Esta análise confirma que as áreas de atividade antropogénica intensa e confinamento geográfico detêm uma maior carga de microplásticos em suspensão. Note-se que a maior variabilidade (desvio-padrão mais elevado) encontrada no PPC sugere que a concentração de MPs na água é variável, possivelmente em resposta a descargas esporádicas ou eventos pontuais (e.g., limpeza de redes, operações portuárias específicas ou aportes descontínuos de efluentes). Por sua vez, os valores do TMC, embora mais altos que os do CPA, tiveram menor dispersão, indicando uma contaminação relativamente consistente ao longo do tempo, tendo um influxo mais regular, mas mitigado pela renovação das águas no terminal. O CPA apresentou as concentrações absolutas mais baixas e também pouco variáveis, possivelmente por se

encontrar em mar aberto e afastado de fontes diretas, ainda que receba contribuições da ETAL e do porto.

Importa destacar que locais com mais partículas na água tendem a ter mexilhões com maior carga, o que indica que *M. galloprovincialis* reflete efetivamente as condições do meio, reforçando a sua utilização como bioindicador ambiental, como observado no capítulo 4.5 que enfatiza a falta de correlação entre os parâmetros biométricos e a bioacumulação de MPs. Esta ligação é apoiada por diversos estudos que compararam concentrações de MPs em água e em bivalves filtradores. Li *et al.* (2016), Mao *et al.* (2020) e Phuong *et al.* (2020) verificaram uma relação direta entre a quantidade de microplásticos na água e os quantificados em mexilhões e outras espécies. Isto indica que, as diferenças registadas entre locais em Sines refletem a disponibilidade ambiental de partículas, confirmando a hipótese que os mexilhões atuam como integradores da poluição local, acumulando ao longo do tempo as partículas presentes na coluna de água no local onde vivem.

No que respeita às fontes potenciais de MPs na água, as evidências apontam para um contributo importante das descargas de águas residuais urbanas e de lastro associadas às atividades portuárias. Browne *et al.* (2011) demonstrou o papel das descargas domésticas (e.g., efluentes com fibras têxteis) na poluição marinha, enquanto Sun *et al.* (2019) e Talvitie *et al.* (2017) relataram que mesmo após tratamento, as estações de águas residuais e as descargas de navios revelaram libertar microplásticos. Galgani *et al.* (2018) também enfatizaram a contribuição de fontes portuárias e industriais para as cargas de MPs em águas costeiras. Os presentes resultados validam as tendências identificadas na literatura: o PPC, com forte atividade de pesca e sujeito a entradas de resíduos urbanos (águas pluviais e esgotos pluviais não tratados), marítimos (águas de lastro) e de utilização para lazer (inserido na Baía da Praia Vasco da Gama), exibiu a maior grau de contaminação; já o CPA, mais exposto ao oceano mas influenciado por uma fonte localizada (ETAL), mostrou contaminação limitada; e o TMC, com atividade industrial mas troca de água eficiente, apresenta-se numa situação intermédia de contaminação. Em síntese, a coluna de água portuária em Sines espelha a distribuição e a intensidade das fontes de poluição por microplásticos, o que por sua vez se refletiu na contaminação dos organismos filtradores residentes.

4.7 Limitações do estudo e recomendações

Este estudo, apesar do planeamento e dos resultados obtidos, apresenta algumas limitações que importa enunciar. Em primeiro lugar, a amostragem foi restrita ao período de inverno, não sendo possível avaliar a variabilidade sazonal na contaminação por microplásticos, que pode ser significativa. A precipitação intensa no inverno e outono pode aumentar o transporte de detritos para a costa, enquanto no verão uma maior atividade turística e náutica pode introduzir outros padrões de poluição. Assim sendo, os dados do presente estudo representam apenas um instante sazonal que poderá diferir noutras épocas. Em segundo lugar, a metodologia utilizada: triagem visual seguida de FT-IR; que privilegiou partículas na faixa micrométrica visível, podendo subestimar a presença de partículas mais pequenas (<400 μm) ou nanométricas (<100 μm) devido a limitações de deteção. Assim, a carga total de polímeros microscópicos pode ter sido subavaliada, uma vez que partículas de menores dimensões não foram possível de serem submetidas a $\mu\text{FT-IR}$, e as nanopartículas de plástico não foram quantificadas. Em terceiro lugar, apesar dos cuidados tomados para evitar contaminações externas, como uso de amostras de controlo de ar (filtros em branco) e procedimentos de limpeza, a contaminação de fundo por fibras atmosféricas e outras partículas permanece um desafio. O facto de terem sido detetadas algumas fibras nos filtros de controlo ($n < 25$) evidencia que há sempre um grau de deposição aérea que pode enviesar os resultados, mesmo aplicando as boas práticas de laboratório. Embora tenham sido controlados, a sua existência ilustra a dificuldade em quantificar MPs ambientais com absoluta certeza, requerendo precaução na interpretação de valores muito baixos.

Tendo em conta estas limitações, recomenda-se que trabalhos futuros aprofundem as questões em aberto e complementem as abordagens aqui usadas contribuindo para um entendimento mais holístico do problema dos microplásticos no ambiente marinho portuário. Em particular, sugere-se:

1. Realização de campanhas de amostragem sazonais, de modo a abranger diferentes estações do ano e capturar possíveis variações temporais na abundância e tipologia de MPs (por exemplo, comparando períodos húmidos vs. secos, ou épocas de maior atividade turística vs. menor).
2. Inclusão de sedimentos como matriz ambiental adicional, dado que uma fração significativa dos microplásticos tende a depositar-se no fundo (especialmente partículas mais densas ou após bioincrustação).

3. Utilização de técnicas analíticas de maior resolução para detecção de nanoplásticos, tais como microscopia Raman e espectrometria de massa após pirólise, para identificar e quantificar partículas de tamanho inferior às partículas observadas pelo FT-IR utilizado neste estudo.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo fornece uma caracterização abrangente da contaminação por microplásticos no Porto de Sines, revelando um sistema costeiro sob influência de atividades portuárias, piscatórias e urbanas. A detecção de micropartículas em 100% das amostras de *Mytilus galloprovincialis* e da coluna de água confirma que a presença de microplásticos constitui uma pressão ambiental persistente neste ecossistema. A abundância significativamente inferior de MPs nos mexilhões do TMC, em comparação com CPA e PPC, reflete diretamente o esperado com base na intensidade das atividades humanas e à hidrodinâmica local.

A assinatura morfológica e polimérica das partículas reforça esta leitura espacial. Locais menos perturbados, como TMC e CPA, apresentaram forte predominância de fibras, típicas de fontes difusas urbanas, enquanto o PPC revelou maior diversidade, incluindo fragmentos e filamentos compatíveis com desgaste de redes, cordoaria náutica e plásticos rígidos de uso industrial. A predominância de poliolefinas (PP e PE), identificadas por FT-IR, é consistente com a utilização destas matérias-primas em embalagens, equipamentos portuários e artes de pesca, ilustrando a ligação direta entre as atividades do porto e o perfil de microplásticos observados.

A comparação entre matrizes demonstrou que *M. galloprovincialis* acumula quantidades de MPs significativamente superiores às encontradas na água, reforçando o seu papel como bioindicador eficaz. A ausência de correlação entre biometria e carga de MPs indica que a acumulação é determinada pelo contexto ambiental e não por características individuais, o que fortalece a fiabilidade desta espécie para monitorização ambiental. A coluna de água exibiu tendências espaciais semelhantes às registadas nos mexilhões, embora a capacidade estatística para discriminar diferenças entre locais tenha sido limitada pelo reduzido número de réplicas.

No seu conjunto, estes resultados evidenciam que a distribuição de microplásticos em Sines resulta da interação entre fontes antropogénicas específicas e dinâmicas físico-oceânicas locais. A contaminação é mais intensa em áreas de confinamento hidrodinâmico e elevada atividade humana, demonstrando a necessidade de estratégias direcionadas de mitigação e monitorização contínua em zonas portuárias.

Este trabalho contribui para a compreensão da dinâmica dos microplásticos em ambientes costeiros complexos e destaca a importância de integrar múltiplas matrizes (organismos, água e sedimentos) para avaliar de forma rigorosa a pressão antropogénica e os riscos ecológicos associados. A persistência destes contaminantes sublinha a urgência de abordagens de

gestão que reduzam a sua introdução e promovam uma utilização mais sustentável de materiais plásticos em sistemas portuários.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, S., Soltani, N., Keshavarzi, B., Moore, F., Turner, A., & Hassanaghahi, M. (2018). Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Persian Gulf and their potential risk to human health. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 324-332. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.047>
- Adeogun, A. O., Ibor, O. R., Omogbemi, E. D., & Arukwe, A. (2020). Occurrence, detection and human exposure risk of microplastics in freshwater fishes from two southern Nigerian rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 31035-31045. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09157-w>
- Akdogan, Z., Guven, B., & Kideys, A. E. (2023). Microplastic distribution in the surface water and sediment of the Ergene River. *Environmental Research*, 234, 116500. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116500>
- Al-Malaika, S., Axtell, F., Rothon, R., & Gilbert, M. (2017). Chapter 7 - Additives for plastics. In M. Gilbert (Ed.), *Brydson's Plastics Materials* (8.^a ed., pp. 127-168). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35824-8.00007-4>
- Alomar, C., Capó, X., Rios-Fuster, B., Bernárdez, P., Santos-Echeandía, J., & Deudero, S. (2025). Are mussels accumulating trace metals and microplastics in port facilities? *Marine Environmental Research*, 210, 107263. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2025.107263>
- An, Y., Dang, Y., Wang, J., Sun, J., & Feng, Y. (2023). Identification of heavily polluted areas based on a novel grey integrated incidence model: A case study of the Yangtze River Delta, China. *Sustainable Cities and Society*, 92, 104466. <https://doi.org/10.1016/j.scs.2023.104466>
- Antunes, J., Frias, J., & Sobral, P. (2018). Microplastics on the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 131, 294-302. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.025>
- APA. (2021). Resíduos: Microplásticos. Disponível em: <https://apambiente.pt/residuos/microplasticos>. (Consultado em 05/01/2024).
- APP. (s.d.). Porto de Sines - Porta do Atlântico. Disponível em: <https://www.portosdeportugal.pt>. (Consultado em 05/01/2024).
- APS. (s.d.). Porto de Sines - Caracterização Geral. Disponível em: <https://www.portodesines.pt>. (Consultado em 05/01/2024).

- Auta, H. S., Emenike, C. U., & Fauziah, S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1-2), 307-315. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.050>
- Barboza, L. G. A., Lopes, C., Oliveira, P., Bessa, F., Otero, V., Henriques, B., Raimundo, J., Caetano, M., Vale, C., & Guilhermino, L. (2020). Microplastics in wild fish from Northeast Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Science of The Total Environment*, 717, 134625. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134625>
- Bayo, J., Ramos, B., López-Castellanos, J., Rojo, D., & Olmos, S. (2022). Weathering indices of microplastics along marine and coastal sediments from the harbour of Cartagena (Spain) and its adjoining urban beach. *Scientific Reports*, 12, 784937. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.784937>
- Bessa, F., Barría, P., Neto, J. M., Frias, J., Otero, V., Sobral, P., & Marques, J. C. (2018). Occurrence of microplastics in commercial shellfish from Portuguese waters. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 606-611. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.030>
- Bessa, F., Frias, J., Kögel, T., Lusher, A., Andrade, J. M., Antunes, J., Sobral, P., Pagter, E., Nash, R., O'Connor, I., Pedrotti, M. L., Kerros, M. E., León, V., Tirelli, V., Suaria, G., Lopes, C., Raimundo, J., Caetano, M., Gago, J., Viñas, L., Carretero, O., Magnusson, K., Granberg, M., Dris, R., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B., Muniategui, S., Grueiro, G., Fernández, V., Palazzo, L., de Lucia, A., Camedda, A., Avio, C. G., Gorbi, S., Pittura, L., Regoli, F., & Gerds, G. (2019). Harmonized protocol for monitoring microplastics in biota: Deliverable 4.3 of BASEMAN Project (JPI-Oceans). Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28588.72321/1>
- Boerger, C. M., Lattin, G. L., Moore, S. L., & Moore, C. J. (2010). Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2275-2278. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.007>
- Bonferroni, C. E. (1936). Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità. *Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze*.
- Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., & Uricchio, V. F. (2020). A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1212. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041212>

- Chen, Q., Allgeier, A., Yin, D., & Hollert, H. (2019). Leaching of endocrine disrupting chemicals from marine microplastics and mesoplastics under common life stress conditions. *Environment International*, 130, 104938. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104938>
- Comissão Europeia. (2018). Uma Estratégia Europeia para os Plásticos numa Economia Circular. COM(2018) 28 final.
- Compa, M., Ventero, A., Iglesias, M., & Deudero, S. (2019). Microplastics on the seafloor of the Mediterranean Sea: Impact of deep sea currents. *Marine Pollution Bulletin*, 146, 188-195. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.016>
- Constant, M., Ludwig, W., Kerhervé, P., Sola, J., & Charrière, B. (2020). Controls on the distribution and characteristics of microplastic particles in the northwestern Mediterranean Sea under contrasting hydrodynamic conditions. *Environmental Pollution*, 263, 114406. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114406>
- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Cooreman, K., & Vandermeersch, G. (2014). Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*) — Microplastics, chemical and microbial contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.048>
- Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., & Paul-Pont, I. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223-233.
- Dereszewska, A., Czernecki, D., Miotk, M., Piekarek-Jankowska, H., & Praglov, D. (2023). Microplastics in harbour seawaters: A case study in the Port of Gdynia. *Sustainability*, 15(8), 6678. <https://doi.org/10.3390/su15086678>
- Diniz, N. V., Cunha, D. R., de Santana Porte, M., Oliveira, C. B. M., & de Freitas Fernandes, F. (2024). A bibliometric analysis of sustainable development goals in the maritime industry and port sector. *Regional Studies in Marine Science*, 69, 103319. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2023.103319>
- Dunn, O. J. (1961). Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, 56(293), 52-64.
- Dusaucy, J., Gateuille, D., Perrette, Y., & Naffrechoux, E. (2021). Microplastic pollution of worldwide lakes. *Environmental Pollution*, 284, 117075. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117075>
- EcoSlops. (2020). Estação de Tratamento de Águas de Lastro do Porto de Sines. Disponível em: <https://www.ecoslops.com>. (Consultado em 05/01/2024).

- Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., & Amato, S. (2013). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>
- Faure, F., Corbaz, M., Baecher, H., & de Alencastro, L. (2012). Pollution due to plastics and microplastics in Lake Geneva and in the Mediterranean Sea. *Archives des Sciences*, 65, 157-164.
- Folbert, M., Stoorvogel, J., & Löhr, A. (2025). *Plastic pellet spills and leakages during maritime transportation: A transdisciplinary approach to understand the complex causal pathways*. *Marine Pollution Bulletin*, 218, 118194. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118194>

- Frias, J. P. G. L., Gago, J., Otero, V., & Sobral, P. (2016). Microplastics in coastal sediments from southern Portuguese shelf waters. *Marine Environmental Research*, 114, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.12.006>
- Frias, J. P. G. L., Otero, V., & Sobral, P. (2014). Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters. *Marine Environmental Research*, 95, 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.01.001>
- Galgani, F., Hanke, G., Werner, S., & De Vrees, L. (2018). Marine litter within the European Marine Strategy Framework Directive. *ICES Journal of Marine Science*, 76(1), 238-249. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy113>
- Gatidou, G., Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2019). Review on the occurrence and fate of microplastics in sewage treatment plants. *Journal of Hazardous Materials*, 367, 504-512. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.081>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Goldstein, M. C., Rosenberg, M., & Cheng, L. (2012). Increased oceanic microplastic debris enhances oviposition in an endemic pelagic insect. *Biology Letters*, 8(5), 817-820. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0298>
- Hale, R. C., Seeley, M. E., La Guardia, M. J., Mai, L., & Zeng, E. Y. (2020). A global perspective on microplastics. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(11), e2018JC014719. <https://doi.org/10.1029/2018JC014719>
- Henriques, B., Silva, E., Amaral, M., & Rocha, L. (2022). Microplastics in sediments from the Port of Leixões: Sources and environmental implications. *Marine Pollution Bulletin*, 179, 113706. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113706>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060-3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2115-2126. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311>
- Housni, F., Boumane, A., Rasmussen, B. D., Britel, M. R., Barnes, P., Abdelfettah, S., Lakhmas, K., & Maurady, A. (2022). Environmental sustainability maturity system: An integrated system scale to assist maritime port managers in addressing environmental sustainability goals. *Environmental Challenges*, 7, 100481. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2022.100481>

- Huang, W., He, Y., Jiang, J., Jin, J., Ma, Y., & Zhou, G. (2021). Microplastic pollution in commercially important fish species from the Pearl River estuary, South China. *Environmental Pollution*, 269, 116149. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116149>
- Hüffer, T., & Hofmann, T. (2016). Sorption of non-polar organic compounds by micro-sized plastic particles in aqueous solution. *Environmental Pollution*, 214, 194-201. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.018>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Käppler, A., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B. M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., & Fischer, D. (2015). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(22), 6791-6801. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8850-8>
- Klein, S., Worch, E., & Knepper, T. P. (2015). Occurrence and spatial distribution of microplastics in river shore sediments of the Rhine-Main area in Germany. *Environmental Science & Technology*, 49(10), 6070-6076. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00492>
- Kowalski, N., Reichardt, A. M., & Waniek, J. J. (2016). Sinking rates of microplastics and potential implications of their alteration by physical, chemical, and biological factors. *Marine Environmental Research*, 111, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.11.006>
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583-621.
- Kurunthachalam, K., & Vimalkumar, K. (2021). A review of human exposure to microplastics and insights into microplastics as obesogens. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 978. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.724989>
- Lebreton, L. C., van der Zwet, J., Damsteeg, J. W., Slat, B., Andrady, A., & Reisser, J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature Communications*, 8, 15611. <https://doi.org/10.1038/ncomms15611>
- Levene, H. (1960). Robust tests for equality of variances. In *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling* (pp. 278-292). Stanford University Press.

- Lewandowska-Czarnecka, A., Ciesielski, T., & Garbulinska, M. (2023). Spatial variability of microplastic pollution in small marinas and coastal zones of the southern Baltic Sea. *Environmental Pollution*, 321, 121159. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121159>
- Li, J., Qu, X., Su, L., Zhang, W., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D., & Shi, H. (2016). Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 214, 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.012>
- Li, W. C., Tse, H. F., & Fok, L. (2023). Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of the Total Environment*, 636, 1358-1369. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.1358>
- Li, X., Bao, L., Wei, Y., Zhao, W., Wang, F., Liu, X., Su, H., & Zhang, R. (2023). Occurrence, bioaccumulation, and risk assessment of microplastics in the aquatic environment: A review. *Water*, 15(9), 1768. <https://doi.org/10.3390/w15091768>
- Long, M., Paul-Pont, I., Weber, A., & Echevarria, F. (2015). Interactions between microplastics and phytoplankton aggregates: Impact on sinking rates. *Environmental Science & Technology*, 49(20), 12314-12321. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01090>
- Malla-Pradhan, R., Suwunwong, T., Phoungthong, K., Joshi, T. P., & Pradhan, B. L. (2022). Microplastic pollution in urban Lake Phewa, Nepal: The first report on abundance and composition in surface water of a lake in different seasons. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(26), 39928-39936. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18301-9>
- Mann, H. B., & Whitney, D. R. (1947). On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics*, 18(1), 50-60.
- Mao, R., Hu, Y., Zhang, S., Wu, R., & Guo, X. (2020). Accumulation and distribution of microplastics in mussels: A review and case study in coastal China. *Journal of Hazardous Materials*, 393, 122387. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122387>
- Mehrdad, Els, Gert, & Liesbeth. (2021). Integrating drone imaging with artificial intelligence to detect marine plastics. [Apresentação de comunicação]. Book of Abstracts.
- Nath, J., Parvin, F., & Tareq, S. M. (2023). Bioaccumulation of microplastics in the edible tissues of fish collected from urban lakes of Bangladesh: A potential exposure to public health. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31219-8>
- OECD. (2016). *Extended Producer Responsibility: Updated Guidance for Efficient Waste Management*. OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/9789264256385-en>

- Pan, Z., Liu, Q., Zhang, H., Wang, J., Guo, X., & Sun, Y. (2020). Microplastic pollution and ecological risk assessment in coastal areas. *Chemosphere*, 252, 126684. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126684>
- Parlamento Europeu e do Conselho. (2000). Diretiva 2000/60/CE, de 23 de outubro de 2000, que estabelece um quadro de ação comunitária no domínio da política da água (Diretiva-Quadro da Água). *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, L 327, 22.12.2000, p. 1-73.
- Parlamento Europeu e do Conselho. (2006). Regulamento (CE) n.º 1907/2006, de 18 de dezembro de 2006, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição de substâncias químicas (Regulamento REACH). *Jornal Oficial da União Europeia*, L 396, 30.12.2006, p. 1-849.
- Parlamento Europeu e do Conselho. (2008). Diretiva 2008/56/CE, de 17 de junho de 2008, que estabelece um quadro de ação comunitária no domínio da política marinha (Diretiva-Quadro Estratégia Marinha). *Jornal Oficial da União Europeia*, L 164, 25.6.2008, p. 19-40.
- Parlamento Europeu e do Conselho. (2019). Diretiva (UE) 2019/904, de 5 de junho de 2019, relativa à redução do impacto de determinados produtos de plástico no ambiente. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 155, 12.6.2019, p. 1-19.
- Peng, G., Zhu, B., Yang, D., Su, L., Shi, H., & Li, D. (2017). Microplastics in sediments of the Changjiang Estuary, China. *Environmental Pollution*, 225, 283-290. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.064>
- Pequeno, J., Antunes, J., Dhimmer, V., Bessa, F., Sobral, P., & outros. (2021). Microplastics in marine and estuarine species from the coast of Portugal. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 579127. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.579127>
- Pfeiffer, F., & Fischer, E. K. (2020). Various digestion protocols within microplastic sample processing - Evaluating the resistance of different synthetic polymers and the efficiency of biogenic organic matter destruction. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 572424. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.572424>
- Phuong, N. N., Zalouk-Vergnoux, A., Poirier, L., Kamari, A., Châtel, A., Mouneyrac, C., & Lagarde, F. (2020). Uptake and distribution of microplastics in *Mytilus galloprovincialis*. Sentinel species for monitoring marine pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 32224–32235.
- Phuong, N. N., Zalouk-Vergnoux, A., Poirier, L., Kamari, A., Châtel, A., Mouneyrac, C., & Lagarde, F. (2018). Is there any consistency between the microplastics found in the field and those used in laboratory experiments? *Environmental Pollution*, 243, 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.051>

- Pilapitiya, P. G. C. N. T., & Ratnayake, A. S. (2024). The world of plastic waste: A review. *Cleaner Materials*, 11, Article 100220. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2024.100220>
- Piskula, P., & Astel, A. M. (2023). Microplastics in commercial fishes and by-catch from selected FAO major fishing areas of the southern Baltic Sea. *Animals*, 13(3), 458. <https://doi.org/10.3390/ani13030458>
- Portugal. (2005). Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro (Lei da Água). *Diário da República* n.º 249/2005, Série I-A, de 29-12-2005.
- Portugal. (2010). Decreto-Lei n.º 108/2010, de 13 de outubro. *Diário da República* n.º 199/2010, Série I, de 13-10-2010.
- Portugal. (2021a). Decreto-Lei n.º 69/2021, de 30 de julho. *Diário da República* n.º 147/2021, Série I, de 30-07-2021.
- Portugal. (2021b). Estratégia Nacional do Mar 2021-2030. Resolução do Conselho de Ministros n.º 68/2021, de 4 de junho. *Diário da República* n.º 109/2021, Série I, de 04-06-2021.
- Portugal. (2024). Plano de Ação Nacional para o Lixo Marinho 2024-2028 (PALM2028). Resolução do Conselho de Ministros n.º 148/2024, de 29 de outubro. *Diário da República* n.º 210/2024, Série I, de 29-10-2024.
- Preston-Whyte, F., Silburn, B., Meakins, B., Bakir, A., Pillay, K., Worship, M., Paruk, S., Mdazuka, Y., Mooi, G., Harmer, R., Doran, D., Tooley, F., & Maes, T. (2021). Meso- and microplastics monitoring in harbour environments: A case study for the Port of Durban, South Africa. *Marine Pollution Bulletin*, 163, 111948. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111948>
- Provenza, F., Rampin, D., Pignattelli, S., Pastorino, P., Barceló, D., Prearo, M., Specchiulli, A., & Renzi, M. (2022). Mussel watch program for microplastics in the Mediterranean Sea: Identification of biomarkers of exposure using *Mytilus galloprovincialis*. *Ecological Indicators*, 142, 109212. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109212>
- Qiu, Q., Peng, J., Yu, X., Chen, F., Wang, J., & Dong, F. (2015). Occurrence of microplastics in the coastal marine environment: First observation on sediment of China. *Marine Pollution Bulletin*, 98(1), 274-280. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.028>
- Randhawa, J. S. (2023). Advanced analytical techniques for microplastics in the environment: A review. *Bulletin of the National Research Centre*, 47(1), 174. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01148-0>
- Rellán, A., Ares, D., Brea, C., López, A., & Bugallo, P. M. (2023). Sources, sinks and transformations of plastics in our oceans: Review, management strategies and modelling. *Science of The Total Environment*, 854, 158745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158745>

- Rist, S., Carney Almroth, B., Hartmann, N. B., & Karlsson, T. M. (2019). A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. *Science of the Total Environment*, 626, 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.041>
- Rocha-Santos, T., & Duarte, A. C. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 65, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>
- Rochman, C. M., Hoh, E., Kurobe, T., & Teh, S. J. (2013). Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Scientific Reports*, 3, 3263. <https://doi.org/10.1038/srep03263>
- Rodrigues, M., Pereira, P., & Pinho, R. (2023). Microplastics in an urban estuary (Barcelos, Portugal): Sources, abundance and environmental implications. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 10723-10738. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23988-1>
- Romeo, T., Pietro, B., Pedà, C., Consoli, P., Andaloro, F., & Fossi, M. C. (2015). First evidence of presence of plastic debris in the stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 95(1), 358-361. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.048>
- Saliu, F., Montano, S., Garavaglia, M. G., Lasagni, M., Seveso, D., & Galli, P. (2021). Microplastic accumulation in the Adriatic Sea: Sediment and seawater contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112113. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112113>
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3-4), 591-611.
- Shimizu, I., & Ferreira, J. C. (2023). Losing your fear of using R for statistical analysis. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 49(3), e20230212.
- Sun, J., Dai, X., Wang, Q., van Loosdrecht, M. C. M., & Ni, B. (2019). Microplastics in wastewater treatment plants: Detection, occurrence and removal. *Water Research*, 152, 21–37. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.060>
- Talvitie, J., Mikola, A., Koistinen, A., & Setälä, O. (2017). Solutions to microplastic pollution: Removal of microplastics from wastewater effluent with advanced wastewater treatment technologies. *Water Research*, 123, 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.005>
- Toscano, D. (2023). The impact of shipping on air quality in the port cities of the Mediterranean area: A review. *Atmosphere*, 14(7), 1180. <https://doi.org/10.3390/atmos14071180>

- Tzannatos, E. (2010). Ship emissions and their externalities for the port of Piraeus - Greece. *Atmospheric Environment*, 44(3), 400-407. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.10.024>
- Ullah, S., Ahmad, S., Guo, X., Ullah, S., Ullah, S., Nabi, G., & Wanghe, K. (2023). A review of the endocrine-disrupting effects of micro and nano plastic and their associated chemicals in mammals. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 1084236. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1084236>
- UNCTAD. (2021). Review of Maritime Transport 2021. Nova Iorque: United Nations.
- Valavanidis, A. (2024). Plastic pollution, unsustainable environmental problem? Industry and academic research must co-operate to short out the pervasive global problem of plastic waste. *Scientific Reviews*.
- Verla, A., Enyoh, C., Verla, E., & Nwarnorh, K. (2019). Microplastic-toxic chemical interaction: A review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Applied Sciences*, 1(10), 1400. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1352-0>
- Wang, J., Peng, J., Tan, Z., Gao, Y., Zhan, Z., Chen, Q., & Cai, L. (2017). Microplastics in the surface sediments from the Beijiang River littoral zone: Composition, abundance, surface textures and interaction with heavy metals. *Chemosphere*, 171, 248-258. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.074>
- Wang, W., Ndungu, A. W., Li, Z., & Wang, J. (2016). Microplastics pollution in inland freshwaters of China: A case study. *Environmental Pollution*, 210, 217-225. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.019>
- Yu, X., Peng, J., Wang, J., Wang, K., & Bao, S. (2016). Occurrence of microplastics in the beach sand of the Chinese inner sea: The Bohai Sea. *Environmental Pollution*, 214, 722-730. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.080>
- Zhang, C., Zhou, H., Cui, Y., Wang, C., Li, Y., & Zhang, D. (2021). Microplastic pollution in the surface waters of the Bohai Sea, China. *Marine Pollution Bulletin*, 162, 111836. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111836>
- Zhang, K., Gong, W., Lv, J., Xiong, X., & Wu, C. (2015). Accumulation of floating microplastics behind the Three Gorges Dam. *Environmental Pollution*, 204, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.04.023>
- Zhao, S., Zhu, L., & Li, D. (2015 a). Microplastic in the surface waters of the Yangtze Estuary System, China. *Environmental Science & Technology*, 49(19), 11356-11364. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02174>

- Zhao, S., Zhu, L., & Li, D. (2015 b). Microplastic in three urban estuaries, China. *Environmental Pollution*, 206, 597-604. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.08.027>
- Zhao, S., Zhu, L., Wang, T., & Li, D. (2014). Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: First observations on occurrence and distribution. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1), 562-568. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.032>
- Zoeller, T. R. (2010). Environmental chemicals targeting thyroid. *Hormones*, 9(1), 28-40. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1250>

