

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de **31/03/2024**.



**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Campus do Litoral Paulista (CLP)**



**Avaliação dos efeitos biológicos da interação microplástico,
triclosan e 17 α etinil-estradiol em espécies estuarinas tropicais:
Uma abordagem ecotoxicológica.**

Caio Rodrigues Nobre

**São Vicente
2022**

Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Biociências/Campus do Litoral Paulista (IB-CLP)

Avaliação dos efeitos biológicos da interação microplástico,
triclosan e 17α etinil-estradiol em espécies estuarinas tropicais:
Uma abordagem ecotoxicológica.

Discente: Caio Rodrigues Nobre

Orientador: Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira

Coorientadora: Profa. Dra. Paloma Kachel Gusso Choueri

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do
Campus do Litoral Paulista, UNESP, para obtenção
Do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Biodiversidade de Ambientes Costeiros

**São Vicente
2022**

N754a	<p>Nobre, Caio Rodrigues</p> <p>Avaliação dos efeitos biológicos da interação microplástico, triclosan e 17 etinil-estradiol em espécies estuarinas tropicais: Uma abordagem ecotoxicológica. / Caio Rodrigues Nobre. -- São Vicente, 2022</p> <p>166 p. : il., tabs.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente</p> <p>Orientador: Camilo Dias Seabra Pereira</p> <p>Coorientadora: Paloma Kachel Gusso Choueri</p> <p>1. Poluentes Emergentes. 2. Polietileno. 3. Fármacos e Produtos de Cuidado Pessoal. 4. Organismos Estuarinos. 5. Toxicidade. I. Título.</p>
-------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

“Se reconhecermos que todo ecossistema também pode ser visto como uma teia alimentar, podemos pensar nele como um nexo circular e entrelaçado de relações entre plantas e animais (em vez de uma pirâmide estratificada com o homem no ápice) ... Cada espécie, seja uma forma de bactéria ou cervo, é tricotado em uma rede de interdependência, por mais indiretos que sejam os vínculos”.

Murray Bookchin

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu filho Gael a maior realização que já fiz em minha vida, e nada há de superar tal feito. A minha companheira de vida Karla, que está ao meu lado em todos os momentos, essa mulher e mãe forte, que me inspira todos os dias, e que tenho a honra de ter ao meu lado, Amo muito vocês, além da vida.

*A minha mãe Roberta por todo esforço e apoio que me fizeram chegar até aqui,
Te amo Mãe.*

Aos meus familiares queridos que não estão mais presentes neste plano, mas foram muito importantes para que eu chegasse até aqui, meu Pai Farley Nobre, minha avó Neuza Fernandes Roque e meus Avôs Rubens Rodrigues e Wilson Roque onde quer que vocês estejam. Amo muito vocês e carrego vocês sempre nas minhas lembranças e no meu coração.

E a todos que acreditam na ciência, pesquisadores ou não, que lutam para que ela seja mais inclusiva, valorizada e acessível para todos.

Agradecimentos

O agradecer é uma forma ou até sentimento de tentar algo que não caberá nas palavras escritas deste texto. A realização deste trabalho só é possível pela construção coletiva de pessoas, que em diferentes formas contribuíram neste processo que culmina nesta tese.

Agradeço ao meu filho Gael que veio este mundo durante o período do doutorado, sua existência e seu sorriso fazem meus dias mais felizes e leves e me dão forças e motivos para nunca desistir e deixar de lutar pelo que acredito.

A minha companheira Karla pelos eppendofs e criotubos etiquetados durante os dias, noites e madrugadas rrsrrs e principalmente por ter me aguentado durante todo esse processo, aguentar um pós-graduando em casa não é para qualquer um, obrigado por ser essa companheira e mulher incrível, te amo na alma.

A minha mãe por ter me apoiado nesse sonho que vem de anos e por ter me criado fazendo com que eu nunca deixasse de acreditar e lutar pelo que queria, obrigado mãe por acreditar em mim e ajudar a me tornar a pessoa que sou, te amo muito, mesmo não sabendo expressar. Ao meu irmão Max, por todas conversas e parceria, e por me salvar quando meu computador quebrava rrsrrs, te amo meu irmão.

A minha terapeuta Andréia Mendonça por todo auxílio, ajudando a me tornar uma pessoa mais desenvolta e por ajudar a manter a minha cabeça perturbada e dispersa no lugar.

A minha grande amiga e parceira de trabalho Bea que foi fundamental durante todo o processo deste trabalho, Bea obrigado pela parceria, ajuda, discussões e principalmente a amizade, lembre-se que você é uma grande pesquisadora com um futuro brilhante.

A minha amiga Aline, por toda parceria também, ajuda no trabalho, desabafos e trocas de ideias, você tem um belo futuro a sua frente como pesquisadora, não se esqueça, e muito obrigado pela amizade.

Aos meus maravilhosos companheiros de laboratório e amigos Mayana, Bruno, Leticia, Jonas, Heloisa, Felipe, Alexandre e Gabriela que deram suporte nas diferentes etapas de realização deste estudo, sem vocês este projeto não seria o mesmo, vocês foram fundamentais.

Gostaria de agradecer aos laboratórios de ecotoxicologia da UNISANTA e UNIFESP, e ao NEPEA e LABMA da UNESP, por abrirem as portas e sua estrutura para a realização dos experimentos e análises e todos os profissionais e alunos destes grupos que auxiliaram na realização deste trabalho.

A todos os funcionários da UNESP- São Vicente dos diferentes setores por todo suporte dado durante meu período na pós-graduação.

Ao biólogo Rafael Santos responsável pelo Aqua World aquário do Guarujá, por sempre ser tão solícito, gentilmente nos cedendo litros e mais litros de água marinha para a realização de todo este projeto.

Ao Dr. Sidney biólogo da UNIFESP, pelo auxílio, companhia e conversas nas inúmeras, nas coletas de água e de organismos.

Ao Prof. Dr. Eduardo Sanches coordenador do LANAM - UNESP de Registro-SP, pelos exemplares de Robalo flecha cedidos para a realização de parte importante deste trabalho.

A Profa. Dra. Renata Mari, pela parceria, ensinamentos e por abrir as portas de seu laboratório para mim e as outras pessoas que fazem parte deste projeto.

A Dra. Luciane Maranhão pelo auxílio nas análises bioquímicas e inúmeras trocas de ideia e principalmente pela amizade.

Ao Dr. Felipe Duarte pela parceria de anos, pela amizade e por todo ensinamento e suporte nas análises estatísticas que agregaram as discussões do trabalho.

Ao Dr. Rodrigo Choueri, pelas análises, discussões e debates que foram muito importantes para o enriquecimento do trabalho, mas mais que isso por todos esses anos de parceria acadêmica, que fazem parte do pesquisador que venho me tornando.

Ao Dr. Denis Abessa por abrir as portas de seu laboratório, pelas colaborações e revisões que engrandecem os trabalhos, e por ser essa grande pessoa e pesquisador na qual tenho grande admiração.

Aos membros componentes da banca de defesa, pela participação e o aceite para revisarem e contribuírem com este documento.

Gostaria de agradecer a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento (processo: 2017/12193-9) que tornou possível a realização deste estudo.

E por último, mas não menos importante o meu agradecimento a duas pessoas muito especiais e essenciais na minha carreira acadêmica e na condução e realização desta pesquisa.

Aos Mestres com carinho:

A minha coorientadora Dra. Paloma Gusso Choueri, obrigado por todas as conversas, conselhos, apoio e ajuda desde o início do projeto, por ter comprado essa ideia megalomânica, e embarcado nessa “roubada” rsrs, não é possível mensurar a importância que você teve na

construção e condução deste projeto e na minha vida acadêmica, muito obrigado de coração, por ser essa grande pessoa, pesquisadora e coorientadora.

Dr. Camilo Seabra, são 15 anos trabalhando juntos, é pouco te agradecer apenas pela orientação neste trabalho, seria reduzir muito a gratidão que tenho por todos estes anos que vem com ensinamentos, conselhos, conversas e muito mais desde da graduação até este momento, se hoje sou o pesquisador que sou (mesmo ainda e talvez sempre em formação) você tem grande reponsabilidade nisso, muito da maneira como sou academicamente tem fortíssima influência sua e do Augusto, poucos podem trabalhar com suas referências, eu tenho este privilégio.

MUITO OBRIGADO a todos que fizeram e fazem parte desta minha jornada

Sumário

Lista de Abreviações.....	XIII
Lista de Tabelas	XVII
Lista de Figuras.....	XX
Resumo	1
Abstract.....	3
Introdução Geral, Objetivos e Estrutura da tese	5
Referências.....	9
CAPÍTULO 1	15
Avaliação dos efeitos da associação de microplásticos com o bactericida triclosan em espécies estuarinas de distintos níveis tróficos.	15
Efeitos dos Microplásticos Associados ao Triclosan em Ostras <i>Crassostrea brasiliana</i>: Uma Abordagem Integrada de Biomarcadores.	16
Resumo	16
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos	19
2.1. <i>Microplásticos marcados</i>	19
2.2. <i>Espécie Modelo</i>	19
2.3. <i>Desenho experimental</i>	20
2.4. <i>Biomarcadores</i>	20
2.4.1. <i>Etoxiresorufina-O-desetilase</i>	21
2.4.2. <i>Dibenzilfluoresceína desalquilase</i>	21
2.4.3. <i>Glutathione S-Transferase</i>	22
2.4.4. <i>Glutathione Peroxidase</i>	22
2.4.5. <i>Glutathione Reduzida</i>	22
2.4.6. <i>Peroxidação Lipídica</i>	22
2.4.7. <i>Danos em DNA</i>	23

2.4.8. <i>Colinesterase</i>	23
2.4.9. <i>Estabilidade da membrana lisossômica</i>	23
2.5. <i>Análise estatística</i>	23
3. Resultados	24
4. Discussão	29
Referências.....	31
Microplásticos como via de exposição a FPCPs: Os efeitos da associação de partículas de polietileno com o bactericida triclosan em caranguejo – Uçá (<i>Ucides Codatus</i>; Linnaeus, 1763)	38
Resumo	38
1. Introdução	39
2. Material e Métodos	41
2.1. <i>Contaminação dos microplásticos</i>	41
2.2. <i>Espécie Modelo</i>	41
2.3. <i>Desenho Experimental</i>	42
2.4. <i>Quantificação de TCS em Microplástico, Organismo e Água</i>	43
2.5. <i>Biomarcadores</i>	44
2.6. <i>Análises de Dados</i>	45
3. Resultados e Discussão	46
3.1. <i>Quantificação de TCS</i>	46
3.2. <i>Biomarcadores</i>	49
Referências.....	58
Efeitos subletais em peixes <i>Centropomus undecimalis</i> expostos a partículas de polietileno contaminadas com triclosan.	68
Resumo	68
1. Introdução	69
2. Material e Métodos	70
2.1. <i>Desenho experimental</i>	70

2.2. <i>Quantificação de Triclosan</i>	71
2.3. <i>Análises Bioquímicas</i>	72
2.4. <i>Análises de Dados</i>	72
3. Resultados e Discussão	73
3.1. <i>Quantificação do triclosan</i>	73
3.2. Biomarcadores	75
Referências.....	83
Apêndice	92
CAPÍTULO 2	93
Avaliação dos efeitos da associação de microplásticos com o hormônio sintético 17α etinil-estradiol em espécies estuarinas de distintos níveis tróficos.	93
Microplásticos e hormônios sintéticos: Quais efeitos essa associação pode ter em invertebrados marinhos?.....	94
Resumo	94
1. Introdução	95
2. Material e Métodos	96
3. <i>Resultados e Discussão</i>	99
3.1. <i>Quantificação de EE2</i>	99
3.2. <i>Biomarcadores</i>	101
Referências.....	115
Curta exposição a microplásticos e 17α etinilestradiol causa perturbações bioquímicas em diferentes tecidos de <i>C. undecimalis</i>.	123
Resumo	123
1. Introdução	124
2. Material e Métodos	125
3. Resultados e Discussão	127
3.1. <i>Quantificação de EE2 nas amostras de água, organismo e microplástico</i>	127
3.2. <i>Biomarcadores</i>	128

Referências.....	136
CAPÍTULO 3	144
Avaliação integrada dos efeitos de microplásticos isolados e associados a triclosan e 17 a etiniletradiol em organismos estuarinos de diferentes níveis tróficos	144
Resumo	145
1. Introdução	146
2. Material e Métodos	147
2.1. Fortificação dos microplásticos.....	147
2.2. Ensaio empregando os modelos biológicos <i>Crassostrea brasiliana</i> , <i>Ucides cordatus</i> e <i>Centropomus undecimalis</i>	147
2.3. Quantificação de TCS e EE2 em Microplástico, Organismo e Água.	148
2.4. Análise de Biomarcadores	150
2.5. Análise de Dados.....	151
3. Resultados e Discussão	151
3.1. Quantificação de EE2 e TCS.....	151
3.2. Biomarcadores	154
Referências.....	158
CAPÍTULO 4	164
CONCLUSÕES	164
Apêndices.....	166

Lista de Abreviações

AChE: Acetilcolinesterase

Br: Brânquias

C: Tratamento Controle

CAT: Catalase

Cb: *Crassostrea brasiliana*

CDNB: 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno

CEMSA: Centro de Espectrometria de Massas Aplicada

Cer: Cérebro

ChE: Colinesterase

Cu: *Centropomus undecimalis*

CYP 450: Citocromo P450

DBF: Dibenzilfluoresceína Desalquilase

DEs: Desreguladores endócrinos

DDT: Ditiotreitól

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DMSO: Dimetilsulfóxido

DTNB: 5,5'-Dithiobis (ácido 2-nitrobenzóico)

E2: 17 β estradiol

EDTA: Ácido etilenodiaminotetracético

EE2: 17 α etinil-estradiol

EROs: Espécies reativas de oxigênio

EROD: Etoxiresorufina-O-deetilase

ESI: Electrospray

ETEs: Estações de tratamento de esgoto

Fíg: Fígado

FPCPs: Fármacos e produtos de cuidados pessoais

GD: Glândula Digestiva

GPx: Glutathione peroxidase

GSH: Glutathione reduzida

GST: Glutathione - S – Transferase

HP: Hepatopâncreas

HPAs: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPLC-MS/MS: Cromatografia líquida de alta performance acoplada à espectrometria de massas em tandem

IBR: Índice integrado de respostas de biomarcadores

Int: Intestino

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

KCL: Cloreto de potássio

KOC: Coeficiente de partição de carbono orgânico

KOW: Coeficiente de partição octanol-água

LANAM: Laboratório nacional de aquicultura marinha

LPO: Peroxidação Lipídica

M: Músculo

MDA: Malondialdeído

MLD: Limite de detecção do método

MLQ: Limite de quantificação do método

MP: Tratamento Microplástico sem contaminação

MPE: Tratamento Microplástico contaminado com 17 α etinil-estradiol

MPs: Microplásticos

MPT: Tratamento Microplástico contaminado com triclosan

MRMs: Monitoramento de reações múltiplas

Na⁺ /K⁺ -ATPase: Sódio-potássio ATPase

NADPH: Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

OH: Órgão hepáticos

PA: Poliamida

PBDEs: Éteres difenílicos polibromados

PCBs: Bifenilas policloradas

PE: Polietileno

PEAD: Polietileno de alta densidade

PEBD: Polietileno de baixa densidade

PET: Polietilenotereftalato

pH: Potencial hidrogeniônico

PKA: Constante de dissociação ácido

PLA: Ácido Polilático

PMSF: Fluoreto de fenilmetilsulfonil

PP: Polipropileno

PPEs: Poluentes de preocupação emergente

PS: Poliestireno

PVC: Policloreto de vinila

SOD: Superóxido dismutase

T3: 3 dias de exposição

T7: 7 dias de exposição

TBARS: Ácido tiobarbitúrico

TCS: Triclosan

TRCVN: Tempo de retenção do corante vermelho neutro

Uc: *Ucides cordatus*

UV: Ultravioleta

Lista de Tabelas

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Índice de resposta integrada aprimorada de biomarcador (EIBR), conforme proposto por Liu et al. (2013).....	28
Tabela 2. Parâmetros analíticos empregados nas análises de TCS nas amostras de microplástico, tecido e água.	43
Tabela 3. Recuperação analítica observada para as substâncias em modo negativo no microplástico marcado e concentração de Triclosan (TCS) nas amostras de partículas plásticas sem contaminação (MP) e contaminadas com Triclosan (MPT). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.g}^{-1}$	47
Tabela 4. Dados da concentração de Triclosan (TCS) nas amostras de água, organismo e partículas plásticas após a exposição nos diferentes tratamentos, controle (C), microplástico (MP) e microplástico contaminado com triclosan (MPT). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água e $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o organismo e o plástico após a exposição.	48
Tabela 5. PERMANOVA calculado com base em dados de biomarcadores nos tecidos de brânquias e hepatopâncreas.	49
Tabela 6 Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração.....	53
Tabela 7. Índice de Resposta de Biomarcadores Integrados (IBR) proposto por Liu et al. (2013) em <i>U. cordatus</i> , os valores apresentados foram obtidos calculando-se o índice para cada tratamento em diferentes momentos e tecidos.	54
Tabela 8. Dados da concentração de Triclosan (TCS) nas amostras de água, organismo e partículas plásticas após a exposição nos diferentes tratamentos, controle (C), microplástico (MP) e microplástico contaminado com triclosan (MPT). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água e $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o organismo e o plástico após a exposição.	74
Tabela 9. Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração.....	78

CAPÍTULO 2

Tabela 10. Índice de Resposta de Biomarcadores Integrados (IBR) proposto por Liu et al. (2013) em <i>C.undecimalis</i> , os valores apresentados foram obtidos calculando-se o índice para cada tratamento em diferentes momentos e tecidos.	79
Tabela 11. Parâmetros analíticos empregados nas análises de EE2 nas amostras de microplástico, tecido e água.	98
Tabela 12. Recuperação analítica observada para as substâncias em modo negativo no microplástico marcado e Concentração de 17 α etinil-estradiol (EE2) nas amostras de partículas plásticas sem contaminação (MP) e contaminadas com EE2 (MPE). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.g}^{-1}$	99
Tabela 13. Dados da concentração de 17 α etinil-estradiol (EE2) nas amostras de água, organismo e partículas plásticas após a exposição nos diferentes tratamentos, controle (C), microplástico (MP) e microplástico contaminado com EE2 (MPE) nos ensaios empregando <i>C. brasiliana</i> e <i>U. cordatus</i> . Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água e $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o organismo e o plástico após a exposição.....	101
Tabela 14. PERMANOVA calculado com base em dados de biomarcadores para <i>Crassostrea brasiliana</i> e <i>Ucides cordatus</i>	102
Tabela 15. Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais de <i>Crassostrea brasiliana</i> nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração.....	108
Tabela 16. Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais de <i>Ucides cordatus</i> nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração.....	111
Tabela 17. Dados da concentração de 17 α etinil-estradiol (EE2) nas amostras de água, organismo e partículas plásticas após a exposição nos diferentes tratamentos, controle (C), microplástico (MP) e microplástico contaminado com EE2 (MPE). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água e $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o organismo e o plástico após a exposição.	127
Tabela 18. Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração.....	131

Tabela 19. Índice de Resposta de Biomarcadores Integrados (IBR) proposto por Liu et al. (2013) em *C. undecimalis*, os valores apresentados foram obtidos calculando-se o índice para cada tratamento em diferentes momentos e tecidos. 132

CAPÍTULO 3

Tabela 20. Parâmetros analíticos empregados nas análises de EE2 e TCS nas amostras de microplástico, tecido e água. 150

Tabela 21. Dados da concentração de 17 α etinil-estradiol (EE2) e Triclosan (TCS) nas amostras de água, organismo e partículas plásticas após a exposição nos diferentes tratamentos, controle (C), microplástico (MP) e microplástico contaminado com triclosan (MPT) e 17 α etinil-estradiol (MPE). Os resultados são apresentados em $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água e $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o organismo e o plástico após a exposição. 152

Tabela 22. Valores fatoriais rotacionados ordenados das variáveis originais nos quatro fatores principais da Análise Fatorial, empregando a Análise de Componentes Principais como procedimento de extração. 156

Lista de Figuras

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Biomarcadores para cada tratamento em diferentes tecidos (brânquia e glândula digestiva) após 3 e 7 dias de exposição (média ± desvio padrão). * Diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,05$). ** Diferença significativa em relação a outro tratamento ($p < 0,05$). *** Diferença significativa em relação ao controle e outro tratamento ($p < 0,05$). **** Diferença significativa entre os dois ensaios de tempo de exposição ($p < 0,05$). 27
- Figura 2.** Biomarcador de neurotoxicidade com base na atividade da colinesterase (A) e ensaio de NRRT para determinar a estabilidade da membrana lisossomal (B) (média ± desvio padrão). * Diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,05$). ** Diferença significativa em relação a outro tratamento ($p < 0,05$). *** Diferença significativa em relação ao controle e outro tratamento ($p < 0,05$). **** Diferença significativa entre os dois ensaios de tempo de exposição ($p < 0,05$). 27
- Figura 3.** Respostas integradas de biomarcadores nas diferentes amostras de brânquia, glândula digestiva, músculo adutor e hemolinfa. A imagem mostra o comportamento dos biomarcadores nos tratamentos separadamente ao longo do tempo. 28
- Figura 4. Média e desvio padrão dos biomarcadores nos diferentes tecidos e tratamentos após 3 dias (barras cinza claro) e 7 dias (barras cinza escuro) de exposição. As letras cinza claro refletem as diferenças entre os tratamentos em 3 dias, e as letras cinza escuro refletem as diferenças entre os tratamentos em 7 dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). * representam diferenças significativas entre o tempo de um único tratamento ($p < 0,05$). 52
- Figura 5.** Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes EROD, DBF, GST, GPx, GSH, LPO, dano ao DNA (DNA), ChE, tempo de retenção de vermelho neutro (NRRT) dos tecidos Brânquias (G), Hepatopâncreas (H), Hemolinfa (NRRT) e Músculo (ChE), e as variáveis independentes tratamentos Controle (C), Microplástico (MP) e Microplástico + Triclosan (MPT) e tempos de exposição (3 dias, T3 e 7 dias, T7) registrados para espécies de *Ucides cordatus* expostas a triclosan microplástico e microplástico reforçado. 53
- Figura 6.** Índice de respostas de biomarcadores em brânquias (G), hepatopâncreas (Hp), músculo (M) e hemolinfa (H). A imagem mostra o comportamento dos biomarcadores nos

tratamentos controle, microplástico e microplástico + triclosan separadamente ao longo do tempo.	55
Figura 7. Média e desvio padrão dos biomarcadores nos diferentes tecidos e tratamentos após 3 dias (barras cinza claro) e 7 dias (barras cinza escuro) de exposição. As letras cinza claro refletem as diferenças entre os tratamentos em 3 dias, e as letras cinza escuro refletem as diferenças entre os tratamentos em 7 dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). * representam diferenças significativas entre o tempo de um único tratamento ($p < 0,05$).	76
Figura 8. Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes, GST, GPx, GSH, LPO, dano ao DNA (DNA), ChE, dos tecidos Brânquias(Br), Fígado (Fig), Músculo (M), Intestino (Int) e Cérebro (Cer), e as variáveis independentes tratamentos Controle (C), Microplástico (MP) e Microplástico + Triclosan (MPT) e tempos de exposição (3 dias, T3 e 7 dias, T7) registrados para espécies <i>Centropomus undecimalis</i> expostas a triclosan microplástico e microplástico reforçado.	77
Figura 9. Índice de respostas de biomarcadores em brânquias (Br), fígado (Fig), músculo (M), intestino (Int) e cérebro (Cer). A imagem mostra o comportamento dos biomarcadores nos tratamentos controle, microplástico e microplástico + triclosan separadamente ao longo do tempo.	80

CAPÍTULO 2

Figura 10. Média e desvio padrão dos biomarcadores em <i>Crassostrea brasiliana</i> nos diferentes tecidos e tratamentos após 3 dias (barras cinza claro) e 7 dias (barras cinza escuro) de exposição. As letras cinza claro refletem as diferenças entre os tratamentos em 3 dias, e as letras cinza escuro refletem as diferenças entre os tratamentos em 7 dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). * representa diferenças significativas entre os tempos em um único tratamento ($p < 0,05$).	105
Figura 11. Média e desvio padrão dos biomarcadores em <i>Ucides cordatus</i> nos diferentes tecidos e tratamentos após 3 dias (barras cinza claro) e 7 dias (barras cinza escuro) de exposição. As letras cinza claro refletem as diferenças entre os tratamentos em 3 dias, e as letras cinza escuro refletem as diferenças entre os tratamentos em 7 dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). * representa diferenças significativas entre os tempos em um único tratamento ($p < 0,05$).	107
Figura 12. Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes EROD, DBF, GST, GPx, GSH, LPO, dano ao	

DNA (DNA) e ChE, tempo de retenção de vermelho neutro (NRRT) de amostras de tecido obtidas nas brânquias (G), Glândula Digestiva (DG), hemolinfa (NRRT) e músculo (ChE), e os tratamentos das variáveis independentes, que consistiram no tratamento controle (C), no tratamento microplástico (MP) e na tratamento com microplástico + 17 α etinil estradiol (MPE) e tempos de exposição (3 dias, ou T3, e 7 dias, ou T7) registrados para amostras de *Crassostrea brasiliana* expostas apenas a microplásticos e a microplásticos enriquecidos com 17 α etinil estradiol. 108

Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes EROD, DBF, GST, GPx, GSH, LPO, dano ao DNA (DNA) e ChE, tempo de retenção de vermelho neutro (NRRT) de amostras de tecido obtidas nas brânquias (G), Hepatopâncreas (H), hemolinfa (NRRT) e músculo (ChE), e os tratamentos das variáveis independentes, que consistiram no tratamento controle (C), no tratamento microplástico (MP) e na tratamento com microplástico + 17 α etinil estradiol (MPE) e tempos de exposição (3 dias, ou T3, e 7 dias, ou T7) registrados para amostras *Ucides cordatus* expostas apenas a microplásticos e a microplásticos enriquecidos com 17 α etinil estradiol. 110

Figura 14. Média e desvio padrão dos biomarcadores nos diferentes tecidos e tratamentos após 3 dias (barras cinza claro) e 7 dias (barras cinza escuro) de exposição. As letras cinza claro refletem as diferenças entre os tratamentos em 3 dias, e as letras cinza escuro refletem as diferenças entre os tratamentos em 7 dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). * representam diferenças significativas entre o tempo de um único tratamento ($p < 0,05$). 129

Figura 15. Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes, GST, GPx, GSH, LPO, danos em DNA (DNA), ChE, dos tecidos Brânquias(Br), Fígado (Fig), Músculo (M), Intestino (Int) e Cérebro (Cer) e as variáveis independentes tratamentos Controle (C), Microplástico (MP) e Microplástico + 17 α etinil-estradiol (MPE) e tempos de exposição (3 dias, T3 e 7 dias, T7) registrados para espécies *Centropomus undecimalis* expostas a triclosan microplástico e microplástico reforçado. 131

Figura 16. Índice de respostas de biomarcadores em brânquias (Br), fígado (Fig), músculo (M), intestino (Int) e cérebro (Cer). A imagem mostra o comportamento dos biomarcadores nos tratamentos controle, microplástico e microplástico + triclosan separadamente ao longo do tempo. 133

CAPÍTULO 3

Figura 17. Análise de componentes principais (PCA) usando a função biplot, a saber: distâncias de similaridade entre as variáveis dependentes, GST, GPx, GSH, LPO, danos em DNA (DNA), ChE, dos tecidos Brânquias(Br), Glândula digestive (GD), Hepatopâncreas (HP), Fígado (Fig) e Músculo (M) para *Crassostrea brasiliana* (Cb), *Ucides cordatus* (Uc) e *Centropomus undecimalis* (Cu) respectivamente, as variáveis independentes tratamentos Controle (C), Microplástico (MP), Microplástico + 17 α etinil-estradiol (MPE) e Microplástico + Triclosan (TCS) e tempos de exposição (3 dias, T3 e 7 dias, T7) para as espécies avaliadas. 155

Resumo

Os efluentes domésticos são uma mistura complexa de diferentes substâncias, incluindo microplásticos e fármacos e produtos para cuidados pessoais (FPCPs). Microplásticos apresentam afinidade com substâncias hidrofóbicas tais como o hormônio sintético 17 α etinil-estradiol o bactericida triclosan, e podem interagir em ambientes aquáticos atuando como vetores de dispersão dessas substâncias, com potenciais efeitos a biota. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar efeitos tóxicos de microplásticos contaminados com FPCPs através de uma abordagem ecotoxicológica empregando organismos estuarinos. Os organismos ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*), caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) e robalo (*Centropomus undecimalis*) foram expostos a tratamentos: controle (C); microplásticos sem contaminação (MP); e microplástico contaminado com 17 α etinil-estradiol (MPE); microplástico contaminado com triclosan (MPT). Os organismos foram expostos por 3 e 7 dias. Para as ostras e os caranguejos, a posteriori à exposição, 10 organismos/ tratamento/ tempo tiveram sua saúde celular avaliada mediante ao ensaio de estabilidade da membrana lisossômica na hemolinfa. Após o encerramento dos ensaios também foram separados tecidos de 7 organismos para as análises de biomarcadores bioquímicos (EROD, DBF, GST, GPx, GSH, LPO, danos em DNA e ChE) nas ostras (brânquias, glândulas digestivas e músculos adutores), caranguejos (brânquias, hepatopâncreas e músculos) e GST, GPx, GSH, LPO, danos em DNA e ChE em peixes (brânquias, fígado, intestino, músculo e cérebro). Os 3 organismos restantes de cada espécie foram separados para determinações analíticas nos níveis de 17 α etinil-estradiol e triclosan. Ambas as substâncias avaliadas EE2 e TCS tiveram sua presença detectada na água e nos organismos expostos. Ao serem inseridas no meio experimental as partículas de polietileno sem contaminação e contaminadas com EE2 e TCS foram capazes de promover efeitos bioquímicos nas enzimas de fase I, fase II, sistema anti-oxidante, levar ao estresse oxidativo e desencadear danos em DNA e efeitos neurotóxicos e citotóxicos nas três espécies modelos *C. brasiliana*, *U. cordatus* e *C. undecimalis* nos diferentes tecidos avaliados. Ao compararmos os efeitos das substâncias adsorvidas pelos MPs, o TCS mesmo em menor concentração se mostrou mais tóxico que o EE2 para as espécies modelos. Quando os organismos foram comparados entre si o fator espécie se mostrou o mais relevante para ocorrência de efeitos dos MPs de uma maneira geral. A partir dos dados obtidos é possível inferir que os microplásticos de polietileno associados aos FPCPs 17 α etinil-estradiol e triclosan conferem risco aos ecossistemas estuarinos tropicais e as espécies *Crassostrea brasiliana*,

Ucides cordatus e *Centropomus undecimalis* podendo gerar perturbações ecológicas à cadeia alimentar estuarina.

Palavras-Chave: Partículas plásticas; 17 α etinil-estradiol; Triclosan; Polietileno; Biomarcadores; Ecossistemas Costeiros

Abstract

Domestic wastewater is a complex mixture of different substances, including microplastics and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs). Microplastics have affinity with hydrophobic substances such as the synthetic hormone 17 α ethinyl-estradiol or the antimicrobial triclosan, and can interact in aquatic environments acting as vectors for the dispersion of these substances, with potential synergistic or additive effects. In this context, the present study aims to assess the environmental risk of microplastics as vectors of PPCPs through an ecotoxicological approach using estuarine organisms. The oyster (*Crassostrea brasiliana*), crab (*Ucides cordatus*) and fish (*Centropomus undecimalis*) organisms were exposed to treatments: control (C); contamination-free microplastics (MP); and microplastic contaminated with 17 α ethinyl estradiol (MPE); microplastic contaminated with triclosan (MPT). The organisms were exposed for 3 and 7 days. For oysters and crabs, after exposure to 10 organisms/treatment/time, their cellular health was evaluated using the lysosomal membrane stability assay in hemolymph. After the end of the trials, tissues of 7 organisms were also separated for the analysis of biochemical biomarkers (EROD, DBF, GST, GPx, GSH, LPO, DNA damage and ChE) in oysters (gills, digestive glands and adductor muscles), crabs (gills, hepatopancreas and muscles) and GST, GPx, GSH, LPO, DNA damage and ChE in fish (gills, liver, intestine, muscle and brain). The 3 remaining organisms of each species were separated for analytical determinations at the levels of 17 α ethinyl estradiol and triclosan. Both the substances evaluated EE2 and TCS had their presence detected in the water and in the exposed organisms. When inserted in the experimental medium, the polyethylene particles without contamination and contaminated with EE2 and TCS were able to promote biochemical effects on phase I, phase II enzymes, anti-oxidant system, lead to oxidative stress and trigger DNA damage and neurotoxic and cytotoxic effects in the three model species *C. brasiliana*, *U. cordatus* and *C. undecimalis* in the different tissues evaluated. When comparing the effects of substances adsorbed by MPs, TCS, even at lower concentrations, was more toxic than EE2 for the model species. When the organisms were compared with each other, the species factor proved to be the most relevant for the occurrence of PM effects in general. Based on the data obtained, it is possible to infer that the polyethylene microplastics associated with PPCPs 17 α ethinyl-estradiol and triclosan pose a risk to tropical estuarine ecosystems and the species *Crassostrea brasiliana*, *Ucides cordatus* and *Centropomus undecimalis* can generate ecological disturbances to the estuarine food chain.

Keywords: Plastic particles; 17 α ethinyl estradiol; Triclosan; Polyethylene; Biomarkers; Coastal Ecosystems

Introdução Geral, Objetivos e Estrutura da tese

O crescimento exponencial da população mundial nas últimas décadas, juntamente com um modelo econômico baseado em consumo, tem levado à busca por tecnologias e novos produtos que sustentem as demandas impostas por tal estilo de vida.

Entre os diversos setores, o de extração, transporte, refino e comercialização de petróleo e seus derivados teve grande expansão neste período.

Em função da multiplicidade de seu uso, o petróleo se tornou de suma importância, sendo empregado desde o uso industrial até o doméstico em atividades cotidianas, culminando em grandes impactos ambientais, como perda de biodiversidade e mudanças climáticas, a partir de e poluição pontual e difusa em distintos ecossistemas (Young et al., 2016).

Entre os derivados de petróleo, os polímeros plásticos se encontram entre os mais utilizados. Por suas propriedades e versatilidade têm sido aplicados a uma grande variedade de produtos de uso cotidiano, levando a diversos avanços tecnológicos, economia de energia, e melhora na saúde e vida do consumidor, tornando-se essencial ao estilo de vida moderno (Zarlf et al., 2010; Plastic Europe, 2012; Wang et al. 2016).

Por possuir baixo custo de produção e transporte, o plástico se tornou um material produzido em larga escala, com perdas ao longo de toda sua cadeia produtiva, desde sua produção, manufatura, transporte até o uso, tornando-se um dos poluentes de impacto mais drásticos e perceptíveis em distintos ambientes (Zarlf et al., 2010).

As zonas costeiras têm sido impactadas por uma série de pressões antropogênicas (Bebiano et al., 2015), como a introdução de contaminantes de diferentes classes, onde se destacam os fármacos e produtos de cuidado pessoal (FPCPs), além dos resíduos sólidos, os quais são compostos predominantemente por detritos plásticos (Derraik, 2002; Jambeck et al., 2015).

Os resíduos plásticos podem ser classificados quanto à sua escala de tamanho em: megaplástico (> 1.00m), macropástico (1.00m – 2.5cm), mesoplástico (2.5cm – 0.5cm), micropástico (5mm – 1 µm) e nanopástico (< 1µm). Estima-se que há cerca de 268.940 toneladas de partículas plásticas à deriva nos oceanos, das quais 92,4 % é composta por micropásticos (Eriksen et al., 2014; GESAMP 2016).

Os micropásticos (MPs) podem ser compostos por uma diversidade de polímeros, como o poliestireno (PS), polipropileno (PP), poliamida (PA), polietileno (PE), policloreto de vinila (PVC), polietilenotereftalato (PET), entre outros, e são classificados de duas maneiras quanto

à sua origem. Microplásticos primários são as partículas produzidas em escala micrométrica para o uso industrial e comercial em diferentes produtos. A outra classe de MPs é denominada microplásticos secundários e sua origem se dá pela fragmentação de objetos ou materiais plásticos maiores, devido à fotodegradação, intempéries, ação biológica ou física como atrito ou colisão com estruturas, rochas e outros (Andrady, 2011; GESAMP, 2015).

Entre os pertencentes aos MPs primários se encontram: (i) os *pellets* plásticos: grãos de diferentes polímeros utilizados na manufatura de objetos e materiais plásticos; (ii) o *glitter*: empregado em cosméticos como esmaltes e maquiagens e uso artístico em fantasias, materiais escolares, decoração e adornos e; (iii) as micropartículas ou esferas denominadas *microbeads*: fragmentos ou esferas que possuem tamanho entre 1mm e 5µm, produzidos a partir de diferentes polímeros como o polietileno (PE), ácido polilático (PLA), polipropileno (PP), poliestireno (PS) ou polietileno tereftalato (PET), sendo empregado como abrasivos em uma variedade de produtos como cremes faciais, sabonetes, shampoos, cremes dentais, produtos de limpeza entre outros (Rochman et al., 2015).

As partículas plásticas presentes nos ambientes aquáticos têm como sua origem principal o continente, tendo sua presença relatada nos ambientes costeiros e marinhos desde a década de 1970. Atualmente as taxas de entrada destes resíduos tem alcançado volumes que equivalem proporcionalmente a seus níveis de produção no último meio século, sendo que nas últimas décadas sua introdução nos ecossistemas ultrapassa seus níveis de produção, sendo a ocorrência e acúmulo do MPs registrados desde a zona costeiras, áreas pelágicas rasas ao oceano aberto, indo dos trópicos aos mares polares (Carpenter & Smith, 1972; Doyle et al., 2011).

Os microplásticos tem seu lançamento nos ecossistemas costeiros por diferentes fontes como aterros, lixões, agricultura, hospital, aquicultura, pesca e principalmente estações de tratamento de esgoto (ETEs), nas quais recebem efluentes de descarte doméstico contendo MPs provenientes de diferentes produtos e de processos de lavagem de roupas de materiais sintéticos (Karbalaï et al., 2018).

Estudos apontam que ETEs que contam com tratamento secundário empregando lodo ativado tendem a reter cerca de 64 a 98% dos MPs (Yang et al., 2019; Petroody et al., 2020), com apenas uma baixa porcentagem das partículas lançadas pelos efluentes, sendo destes apenas 3% composto por micropartículas esfoliantes (Carr et al., 2016). Contudo este valor pode representar uma grande quantidade de partículas, Rochman et al. (2015) estimou que 8 bilhões de microesferas plásticas são lançadas por dia nos ambientes aquáticos pelas estações de tratamento de esgoto nos Estados Unidos. Estes valores tendem a ser ainda maiores quando

as estimativas são tratadas em um panorama global, onde muitos países não possuem ETEs ou apresentam estações de tratamento inadequadas ou ineficazes, lançando constantemente grandes volumes de efluentes domésticos contendo partículas plásticas, o que torna as estações de tratamento de esgoto uma importante fonte de contribuição de MPs para os ecossistemas aquáticos (Xanthos & Walker, 2017; Yang et al., 2019).

Efluentes urbanos por ter aporte de várias origens se tratam de uma mistura complexa possuindo composição variada (Abessa et al., 2005), onde juntamente com os microplásticos têm em sua formação uma gama de substâncias diversas, entre elas os fármacos e produtos de cuidados pessoais (FPCPs).

Os fármacos e produtos de cuidados pessoais são substâncias que tem por característica serem altamente bioativas e amplamente empregados em diversas áreas como medicina, veterinária, indústria, pecuária, aquicultura e no uso cotidiano das pessoas. São divididas em diversas classes como hormônios, antibióticos, reguladores de lipídios, anti-inflamatórios não esteroidais, betabloqueadores, antidepressivos, anticonvulsivantes, conservantes, antimicrobianos e agentes de proteção UV (Barceló e Petrovick, 2007; Wang & Wang, 2016).

Por serem lançados de maneira contínua nos ambientes aquáticos pelas ETEs, os FPCPs têm por características serem pseudo-persistentes, ou seja, sua taxa de entrada no ambiente é maior que a sua taxa de transformação/degradação (Barceló e Petrovick, 2007). Entre as diversas substâncias pertencentes a este grupo se encontram o hormônio 17α etinil- estradiol (EE2) e o bactericida triclosan (TCS).

O 17α etinil-estradiol é um estrogênio sintético derivado do estrogênio natural 17β estradiol, empregado na medicina humana, veterinária e aquicultura. Por seu alto uso o EE2 se tornou uma substância de grande preocupação uma vez que sua presença é detectada em águas superficiais do mundo todo, ocorrendo em concentrações que variam entre 6,6 a 27,7 ng/l, o que faz com que o EE2 entrasse para a lista de poluentes prioritários a serem monitorados pela União Europeia (Aris et al., 2014; Tang et al., 2021).

O triclosan é um agente bacteriostático de amplo espectro utilizado como ingrediente ativo em produtos como sabonetes, cremes dentais, detergentes, esponjas, desodorantes, utensílios de cozinha, roupas e brinquedos. SUA ocorrência foi relatada em tecidos animais, vegetais, sangue, urina, leite materno e em ambientes aquáticos em concentrações variando entre 1,4 a 40.000 ng/l (Braid & Wale, 2002; Montaseri & Forbes, 2016; Dar et al., 2022).

Ao serem introduzidos nos ambientes os MPs tendem a se comportar como um substrato para as diferentes substâncias interagindo com o meio a qual está inserido, desorvendo e adsorvendo moléculas. Podem acumular até 10^6 a mais de contaminantes que 1 litro de água

do mar e 100 vezes mais que o sedimento, e tal comportamento está diretamente associado às propriedades das partículas plásticas, como o tipo de polímero, porosidade, densidade, grau de cristalinidade e emborrachamento (Mato et al., 2001; Teuten et al., 2009; Wang et al., 2016; Enyoh et al., 2021).

Mediante a ocorrência conjunta dos MPs com o FPCPS e pelas características químicas do EE2 (Kow: 4.2, Koc: 5.4 e Pka: 10.3) (Ying et al., 2002; Yu et al., 2004) e do TCS (Kow: 4.8, Koc: 4.3 e Pka: 7.9) (Chen et al., 2011), os microplásticos se associam a estas substâncias podendo atuar como vetores e dispersores nos ecossistemas (Li et al., 2019; Ma et al., 2019; Wu et al., 2020; Lu et al., 2021; Lara et al., et al., 2021; Santos et al., 2021), causando impactos ao meio e à biota a ele associada.

Os impactos à biota vão desde alterações na homeostase, estresse oxidativo, impacto genético e neurotóxico, danos histológicos, inibição de crescimento e alterações de comportamento em diferentes espécies como algas, bivalves, crustáceos e peixes (Syberg et al., 2017; Zhu et al., 2019; Webb et al., 2020; Sheng et al., 2021).

Por ser tratar de um tema complexo há ainda muitas lacunas a serem respondidas sobre a associação de microplásticos e fármacos e produtos de cuidados pessoais, uma vez que o número de polímeros avaliados é escasso, além disso os organismos apresentam diferentes sensibilidades a contaminantes. Nesse contexto, organismos de diferentes níveis tróficos devem ser considerados ao se avaliar o impacto ecológico da interação de MPs e produtos farmacêuticos e por fim, maior atenção deve ser dada à metabolização/degradação de fármacos por organismos aquáticos e como a presença de MPs pode interferir nesses processos, uma vez que podem alterar a toxicodinâmica de fármacos e sua toxicidade para os organismos (Santos et al. 2021).

Baseado nos fatos apresentados, o presente estudo parte da hipótese que microplásticos de polietileno podem se associar ao FPCPs 17 α etinil-estradiol e triclosan e atuar como vetores dessas substâncias para os ambientes estuarinos e causar efeitos subletais para espécies de diferentes níveis tróficos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar efeitos tóxicos da interação de microplásticos e FPCPs em regiões costeiras, através do uso de biomarcadores em diferentes níveis de organização biológica empregando *Crassostrea brasiliana*, *Ucides cordatus* e *Centropomus undecimalis* expostos a 17 α etinil- estradiol e triclosan.

Para atingir o objetivo pretendido, esta tese foi estruturada em 4 capítulos:

Capítulo 1: Apresenta a avaliação da capacidade de interação e atuação como vetor dos microplástico associado ao triclosan juntamente com os efeitos na ostra *Crassostrea brasiliana* (Artigo 1), no caranguejo *Ucides cordatus* (Artigo 2) e no peixe *Centropomus undecimalis* (Artigo 3).

Capítulo 2: Demonstra a análise da associação de micropartículas de polietileno com o fármaco 17α etinil-estradiol e seu potencial como dispersora de EE2 na coluna d'água e seus impactos a ostra *Crassostrea brasiliana* e o caranguejo *Ucides cordatus* (Artigo 4), e no peixe *Centropomus undecimalis* (Artigo 5).

Capítulo 3: Apresenta os resultados químicos das substâncias de interesse na coluna d'água e nas espécies avaliadas de maneira conjunta e a integração das respostas bioquímicas das diferentes espécies avaliadas para EE2 e TCS afim de compreender o impacto nos organismos de estuários tropicais (Artigo 6).

Capítulo 4: Considerações Finais

Referências

- Abessa, D. M., Carr, R. S., Rachid, B. R., Sousa, E. C., Hortelani, M. A., & Sarkis, J. E. 2005. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 50(8), 875-885.
- Andrady, A. L. 2011. Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.
- Aris, A. Z., Shamsuddin, A. S., & Praveena, S. M. 2014. Occurrence of 17α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. *Environment international*, 69, 104-119.

- Barceló, D., & Petrovic, M. 2007. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387(4), 1141-1142.
- Bebianno, M. J., Pereira, C. G., Rey, F., Cravo, A., Duarte, D., D'errico, G., Regoli, F. 2015. Integrated approach to assess ecosystem health in harbor areas. *Science of The Total Environment*, v. 514, p. 92-107.
- Braid, J. J., & Wale, M. C. 2002. The antibacterial activity of triclosan-impregnated storage boxes against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Shewanella putrefaciens* in conditions simulating domestic use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(1), 87-94.
- Carr, S. A., Liu, J., & Tesoro, A. G. 2016. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water research*, 91, 174-182.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.01.002>
- Carpenter, E. J., & Smith, K. L. 1972. Plastics on the Sargasso Sea surface. *Science*, 175(4027), 1240-1241.
- Dar, O. I., Aslam, R., Pan, D., Sharma, S., Andotra, M., Kaur, A., Jia, A. Q. & Faggio, C. 2022. Source, bioaccumulation, degradability and toxicity of triclosan in aquatic environments: A review. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 102122.
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., & Hartemann, P. 2011. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. *International journal of hygiene and environmental health*, 214(6), 442-448.
- Derraik, J. G. 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 842-852.
- Doyle, M. J., Watson, W., Bowlin, N. M., & Sheavly, S. B. 2011. Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific ocean. *Marine Environmental Research*, 71(1), 41-52.

- Enyoh, C.E., Ohiagu, F. O., Verla, A.W., Wang, Q., Shafea, L., Verla, E. N., Isiuko, B.O., Chowdhury, T. Ibe, F.C.& Chowdhury, M.A.H. 2021. “Plasti-remediation”: Advances in the potential use of environmental plastics for pollutant removal. *Environmental Technology & Innovation*, 101791. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101791>
- Europe, P. 2012. *Plastics—The Facts 2016, An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data, 2016*. Plastic Europe, EuPC, EuPR and EPRO.
- Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G. & Reisser, J. 2014. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PloS one*, 9(12), e111913.
- GESAMP. 2015. Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment. (Kershaw, P. J., ed.). (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Stud. GESAMP No. 90, 96 p.
- GESAMP. 2016. Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: part two of a global assessment. P.J. Kershaw, C.M. Rochman (Eds.), IMO/FAO/UNESCO IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Reports and Studies Series. GESAMP No. 93, International Maritime Organization, London. 220 p.
- 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, 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>.
- Karbalaei, S., Hanachi, P., Walker, T. R., & Cole, M. 2018. Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental science and pollution research*, 25(36), 36046-36063.

- Lara, L. Z., Bertoldi, C., Alves, N. M., & Fernandes, A. N. 2021. Sorption of endocrine disrupting compounds onto polyamide microplastics under different environmental conditions: Behaviour and mechanism. *Science of The Total Environment*, 796, 148983.
- Li, Y., Li, M., Li, Z., Yang, L., & Liu, X. 2019. Effects of particle size and solution chemistry on Triclosan sorption on polystyrene microplastic. *Chemosphere*, 231, 308-314.
- Lu, J., Wu, J., Wu, J., Zhang, C., & Luo, Y. 2021. Adsorption and desorption of steroid hormones by microplastics in seawater. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 107(4), 730-735.
- Ma, J., Zhao, J., Zhu, Z., Li, L., & Yu, F. 2019. Effect of microplastic size on the adsorption behavior and mechanism of triclosan on polyvinyl chloride. *Environmental Pollution*, 254, 113104.
- Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C., & Kaminuma, T. 2001. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environmental science & technology*, 35(2), 318-324.
- Montaseri, H., & Forbes, P. B. 2016. A review of monitoring methods for triclosan and its occurrence in aquatic environments. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 85, 221-231.
- Petroody, S. S. A., Hashemi, S. H., & van Gestel, C. A. 2020. Factors affecting microplastic retention and emission by a wastewater treatment plant on the southern coast of Caspian Sea. *Chemosphere*, 261, 128179.
- Rochman, C. M., Kross, S. M., Armstrong, J. B., Bogan, M. T., Darling, E. S., Green, S. J., Smyth, A. R. & Veríssimo, D. 2015. Scientific evidence supports a ban on microbeads. *Environ. Sci. Technol.* 49(18), 10759–10761. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03909>.
- Santos, L. H., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. 2021. Microplastics as vectors of pharmaceuticals in aquatic organisms—An overview of their environmental implications. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 3, 100079.

- Sheng, C., Zhang, S., & Zhang, Y. 2021. The influence of different polymer types of microplastics on adsorption, accumulation, and toxicity of triclosan in zebrafish. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123733.
- Syberg, K., Nielsen, A., Khan, F. R., Banta, G. T., Palmqvist, A., & Jepsen, P. M. 2017. Microplastic potentiates triclosan toxicity to the marine copepod *Acartia tonsa* (Dana). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 80(23-24), 1369-1371.
- Tang, Z., Liu, Z. H., Wang, H., Dang, Z., & Liu, Y. 2021. A review of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in surface water across 32 countries: Sources, concentrations, and potential estrogenic effects. *Journal of Environmental Management*, 292, 112804.
- Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R., Barlaz, M. A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S. J., Thompson, R. C., Galloway, T. S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P. H., Tana, T. S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M. P., Akkhavong, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M. & Takada, H. 2009. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences*, 364(1526), 2027-2045.
- Wang, J., Tan, Z., Peng, J., Qiu, Q., & Li, M. 2016. The behaviors of microplastics in the marine environment. *Marine Environmental Research*, 113, 7-17.
- Wang, J., & Wang, S. 2016. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: a review. *Journal of environmental management*, 182, 620-640.
- Webb, S., Gaw, S., Marsden, I. D., & McRae, N. K. 2020. Biomarker responses in New Zealand green-lipped mussels *Perna canaliculus* exposed to microplastics and triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110871.
- Wu, X., Liu, P., Huang, H., & Gao, S. 2020. Adsorption of triclosan onto different aged polypropylene microplastics: Critical effect of cations. *Science of the Total Environment*, 717, 137033.

- Xanthos, D, Walker, T. 2017 International policies to reduce plastic marine pollution from single-use plastics (plastic bags and microbeads): A review. *Marine Pollution Bulletin*.v.118, 2017.
- Yang, L., Li, K., Cui, S., Kang, Y., An, L., & Lei, K. 2019. Removal of microplastics in municipal sewage from China's largest water reclamation plant. *Water research*, 155, 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.046>.
- Ying, G. G., Kookana, R. S., & Ru, Y. J. 2002. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment international*, 28(6), 545-551.
- Young, H. S., McCauley, D. J., Galetti, M., Dirzo, R., 2016. Patterns, Causes, and Consequences of Anthropocene Defaunation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 47, 333–358. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054142>.
- Yu, Z., Xiao, B., Huang, W., & Peng, P. A. 2004. Sorption of steroid estrogens to soils and sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 23(3), 531-539.
- Zarfl, C. & Matthies, M. 2010. Are marine plastic particles transport vectors for organic pollutants to the Arctic?. *Marine Pollution Bulletin*, 60(10), 1810-1814.
- Zhu, Z. L., Wang, S. C., Zhao, F. F., Wang, S. G., Liu, F. F., & Liu, G. Z. 2019. Joint toxicity of microplastics with triclosan to marine microalgae *Skeletonema costatum*. *Environmental pollution*, 246, 509-517.

CONCLUSÕES

O uso indiscriminado de produtos plásticos ou contendo partículas plásticas em sua composição é cada vez maior, a falta da gestão e legislação adequada destes resíduos faz com que estes por seu descarte irregular aportem nos sistemas de tratamentos esgoto doméstico e urbanos coexistindo e interagindo com outras substâncias como os FPCPs. ETEs em sua maioria não apresentarem tratamentos adequados para a remoção de tais partículas e substâncias, as quais são lançados em grandes volumes nos ecossistemas costeiros, provocando efeitos significativos em organismos a partir da associação dos microplásticos com os fármacos e produtos de cuidados pessoais, uma possibilidade que deve ser considerada nos estudos de monitoramento e impacto de microplásticos nos ecossistemas aquáticos.

O presente estudo demonstrou que há associação entre micropartículas de polietileno com os FPCPs 17 α etinil-estradiol e triclosan, e ao serem inseridos em ambientes salinos pode ocorrer liberação destas substâncias para a coluna d'água e para os organismos ali residentes, comprovando a capacidade dos microplásticos atuarem como carreadores e dispersores de FPCPs nos ecossistemas costeiros, sendo que EE2 apresentou maiores concentrações na água e na biota quando comparado ao TCS.

Ao entrarem em contato com o meio experimental as partículas plásticas sem contaminação e contaminadas com EE2 e TCS foram capazes de promover efeitos bioquímicos nas enzimas de fase I, fase II, sistema antioxidante, levar ao estresse oxidativo e desencadear danos em DNA e efeitos neurotóxicos e citotóxicos nas três espécies modelos *C. brasiliiana*, *U. cordatus* e *C. undecimalis* nos diferentes tecidos avaliados.

O fator tempo se mostrou determinante, principalmente para o aumento dos efeitos bioquímicos. Entre os tecidos avaliados as brânquias se mostraram o órgão mais impactado em *C. brasiliiana*, *U. cordatus* e *C. undecimalis* quando expostos aos microplásticos contaminados com EE2 e TCS, devido principalmente ao modo de exposição via água, onde a substância foi liberada no meio.

Apesar de apresentar as menores concentrações da substância adsorvida os MPs contaminados com TCS se mostraram mais tóxicos aos organismos testados do que os MPs contaminados com EE2.

A importância de se avaliar os mesmos cenários de contaminação com diferentes espécies se dá nas variedades das respostas obtidas. Os invertebrados *C. brasiliiana* e *U. cordatus* apresentaram efeitos associados aos microplásticos contaminados, não tendo alterações significativas quando expostos aos MPs de maneira isolada e sendo o caranguejo mais suscetível a estes efeitos principalmente quando exposto a MPs com triclosan. Diferentemente, o vertebrado *C. undecimalis* apresentou efeitos associados tanto quando expostos aos microplásticos sem contaminação e contaminados com EE2 e TCS.

A bateria de biomarcadores de fase I, fase II, sistema antioxidantes, estresse oxidativo, danos em DNA, neurotoxicidade e citotoxicidade em diferentes tecidos de espécies distintas, possível possibilitou a obtenção de novas evidências sobre as enzimas e vias metabólicas responsáveis pela detoxificação dos MPs de polietileno sem contaminação e contaminados com 17 α etinil-estradiol e triclosan. Recomenda-se a aplicação de novos estudos utilizando ferramentas como expressão gênica, metabolômica e transcriptômica e histopatologia.

Com base nos achados do presente estudo pôde-se afirmar que os microplásticos de polietileno associados aos FPCPs 17 α etinil-estradiol e triclosan conferem risco aos ecossistemas estuarinos tropicais e as espécies *Crassostrea brasiliiana*, *Ucides cordatus* e *Centropomus undecimalis* podendo gerar perturbações ecológicas a cadeia alimentar estuarina.

Estudos como o presente se fazem necessário para fomentar tomadas de decisões futuras legislações ambientais acerca do monitoramento e avaliação dos impactos dos polímeros plásticos isolados ou associados a outros contaminantes nos ecossistemas costeiros.