

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DANIELA GIOVANA DA CUNHA BARROS

**TOXICIDADE DO FILTRO SOLAR BENZOFENONA-3 EM CONCENTRAÇÕES
AMBIENTAIS RELEVANTES A PLANTAS: SUBSÍDIOS PARA DETERMINAÇÃO
DO RISCO AMBIENTAL**

CAMPO MOURÃO

2023

DANIELA GIOVANA DA CUNHA BARROS

**TOXICIDADE DO FILTRO SOLAR BENZOFENONA-3 EM CONCENTRAÇÕES
AMBIENTAIS RELEVANTES A PLANTAS: SUBSÍDIOS PARA DETERMINAÇÃO
DO RISCO AMBIENTAL**

**Toxicity of benzophenone-3 sunscreen filter at environmentally relevant
concentrations to plants: insights for environmental risk assessment**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Ambiental da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientador(a): Profa. Dra. Ana Paula Peron.

CAMPO MOURÃO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

DANIELA GIOVANA DA CUNHA BARROS

**TOXICIDADE DO FILTRO SOLAR BENZOFENONA-3 EM CONCENTRAÇÕES
AMBIENTAIS RELEVANTES A PLANTAS: SUBSÍDIOS PARA DETERMINAÇÃO
DO RISCO AMBIENTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Ambiental da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 16/novembro/2023

Ana Paula Peron
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Débora Cristina de Souza
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Elizabete Satsuki Sekine
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2023

Dedico este trabalho à minha avó Iracema Cunha,
que em vida contemplou o início deste sonho,
mas não o seu fim.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer meus pais, Dirceu Barros e Andreia Barros, por todo apoio e por sempre me amarem sem medidas. Meus avós paternos, Joaquim Barros (*in memorian*) e Enedina Barros e meus avós maternos, José Cunha e Iracema Cunha (*in memorian*), meus avós sempre foram minha base e as pessoas que me ensinaram muito sobre a vida. Em especial agradeço minha avó Iracema Cunha por sempre me mostrar que lugar de mulher é onde ela quiser e por se fazer presente, seja aonde estiver. E a todos da minha família que fizeram a diferença de alguma forma nesse momento tão especial e desafiador para mim.

Gostaria de agradecer também aos inúmeros amigos que fiz em Campo Mourão. Às minhas eternas parceiras do apartamento 302, Emilly Boschen e Mariana Prado, que em todos esses anos se tornaram uma família para mim. Aos meus amigos Alisson Capelli e Yasser Lopes, pelos inúmeros trabalhos em grupo, mas também pela parceria fora da universidade. E ao meu namorado e amigo Leonardo Barros, por todo apoio, admiração e confiança, que foi tão essencial neste processo.

Agradeço à UTFPR de Campo Mourão por realizar meu sonho. A todos os alunos do laboratório C101 que ajudaram de alguma forma significativa neste trabalho. À minha orientadora Ana Paula Peron, por toda ajuda, apoio e acima de tudo por ser um exemplo de profissional e pessoa para mim. À professora Regiane Gonzalez pelos ensinamentos em laboratório. E à minha banca avaliadora, composta pelas professoras Elizabete Sekine e Débora Souza, por serem pessoas maravilhosas que me ensinaram muito e que eu tive a honra de conhecer.

Por fim, agradeço todas as pessoas que contribuíram neste trabalho e às que de alguma forma me acompanharam neste processo durante esses anos, vocês estão no meu coração.

“Temos permitido que as mencionadas substâncias químicas sejam usadas sem que haja investigação alguma, ou apenas uma investigação insuficiente, quanto aos efeitos sobre o solo, a água, sobre a vida dos animais silvestres e também sobre o próprio homem. As gerações futuras não perdoarão, com toda probabilidade, a nossa falta de prudente preocupação a respeito da integridade do mundo natural que sustenta a vida toda”
(CARSON, 1969).

RESUMO

O uso regular de protetores solares faz com que diferentes compostos sejam liberados na água e no solo diariamente. São classificados como poluentes orgânicos de caráter emergente, em razão dos riscos ao meio ambiente ainda não serem claros. A benzofenona-3 (BP-3) é um dos filtros solares mais utilizados em protetores solares atualmente, sendo liberado no ambiente de forma recorrente proveniente de diferentes fontes. É citado na literatura como um composto tóxico a diferentes espécies aquáticas, porém são inexistentes estudos de avaliações de seus efeitos adversos em plantas. Neste contexto, no presente estudo avaliou-se a BP-3 nas concentrações de 2, 20 e 200 µg/L. O experimento foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em Campo Mourão. Quanto a fitotoxicidade, avaliou-se a germinação de sementes e o alongamento de raízes em *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L., após 120 horas. Avaliou-se também a fitotoxicidade, citogenotoxicidade e o estresse oxidativo em raízes de bulbos de *A. cepa*, expostos a BP-3 por 120 horas. As três concentrações reduziram significativamente o alongamento das raízes oriundas das sementes e também das raízes provenientes dos bulbos. As concentrações 20 e 200 µg/L causaram distúrbios ao ciclo celular e alterações em prófase e metáfase, bem como a indução de micronúcleos, nos meristemas radiculares de *A. cepa*. Ademais, as três concentrações induziram um elevado número de prófases nos tecidos radiculares. Tais distúrbios foram ocasionados pelo excesso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) produzido nos meristemas radiculares expostos a BP-3, comprovado pela oxidação nos meristemas através do sequestro do radical livre da molécula de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), elevando a produção de compostos fenólicos nas raízes, como também, a alta atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) e pela inibição da enzima ascorbato peroxidase (APX) nos tecidos. Portanto, a BP-3 desencadeia estresse oxidativo em raízes de plantas promovendo significativa fitotoxicidade e citogenotoxicidade, o que demonstra elevado risco ambiental para organismos vegetais, mesmo na concentração de 2 µg/L. Esses resultados indicam uma necessidade iminente de estabelecer limites para o descarte desse filtro solar no meio ambiente.

Palavras-chave: micropoluentes; índice de germinação; ciclo celular; antioxidantes; peróxido de hidrogênio.

ABSTRACT

The regular use of sunscreens results in the daily release of various compounds into water and soil. These are classified as emerging organic pollutants due to the unclear environmental risks. Benzophenone-3 (BP-3) is one of the most commonly used sunscreen filters in today's sunscreens, and it is recurrently released into the environment from various sources. It is mentioned in the literature as a toxic compound to different aquatic species, but there are no studies evaluating its adverse effects on plants. In this context, the present study assessed BP-3 at concentrations of 2, 20, and 200 µg/L. The experiment was conducted at the Federal Technological University of Paraná (UTFPR) in Campo Mourão. As for phytotoxicity, the germination of seeds and root elongation in *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L., and *Cucumis sativus* L. were assessed after 120 hours. Additionally, phytotoxicity, cytogenotoxicity, and oxidative stress in the root bulbs of *A. cepa* exposed to BP-3 for 120 hours were evaluated. All three concentrations significantly reduced root elongation from both seed and bulb-derived roots. The concentrations of 20 and 200 µg/L caused disturbances in the cell cycle, alterations in prophase and metaphase, and the induction of micronuclei in the root meristems of *A. cepa*. Furthermore, all three concentrations induced a high number of prophase events in the root tissues. Such disturbances were caused by an excess of hydrogen peroxide (H₂O₂) produced in the root meristems exposed to BP-3, as evidenced by oxidation in the meristems through the scavenging of the free radical of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) molecule, leading to increased production of phenolic compounds in the roots. Moreover, there was high activity of the enzymes catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), along with the inhibition of the enzyme ascorbate peroxidase (APX) in the tissues. Therefore, BP-3 triggers oxidative stress in plant roots, leading to significant phytotoxicity and cytogenotoxicity, demonstrating a high environmental risk for plant organisms, even at the concentration of 2 µg/L. These findings underscore the urgent need to establish limits for the disposal of this sunscreen filter into the environment.

Keywords: micropollutants; germination rate; cell cycle; antioxidants; hydrogen peroxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Lista dos filtros solares mais utilizados em fotoprotetores no Brasil frente a sua classificação, absorção máxima, espectro UV e máxima concentração permitida	22
Quadro 2 - Efeitos toxicológicos da benzofenona-3 em organismos vivos, registrados na literatura	27
Figura 1 - Esquema das principais rotas de descarte dos filtros solares no meio ambiente.....	24
Figura 2 - Estrutura química da benzofenona-3	25
Figura 3 - Processo da prófase (A), prometáfase (B), metáfase (C), anáfase (D), telófase (E) e citocinese (F)	29
Figura 4 - Bulbo de <i>Allium cepa</i> L. como bioindicador e seus meristemas radiculares utilizados como biomarcadores.....	32
Figura 5 - Defesas antioxidante enzimático celular contra espécies reativas de oxigênio (EROs).....	33
Figura 6 - Exemplo da disposição das dez sementes na placa de Petri, sobre folha dupla de papel filtro umedecido	37
Figura 7 - Corte longitudinal superior (A) e limpeza dos catafilos mortos (B), nos bulbos de <i>Allium cepa</i> L.	39
Figura 8 - Exemplo de disposição dos bulbos de <i>Allium cepa</i> L. para enraizamento	39
Figura 9 - Comparação visual entre as raízes dos bulbos de <i>Allium cepa</i> L., do controle (A), e as concentrações de benzofenona-3 em 2 µg/L (B), 20 µg/L (C) e 200 µg/L (D).....	47
Figura 10 - Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i> L., obtidas de bulbos expostos às concentrações de 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, em 120 horas de exposição	49

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Estabilidade da benzofenona-3, mantida por quinze dias a 25 °C ...45**
- Gráfico 2 - Atividade antioxidante DPPH (A) e peroxidação lipídica (B) em meristemas radiculares de *Allium cepa* L., expostos as concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas52**
- Gráfico 3 - Atividade das enzimas superóxido peroxidase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), ascorbato peroxidase (APX) (C) e guaiacol peroxidase (GOPX) (D), em raízes de bulbos de *Allium cepa* L., expostas por 120 horas as concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3.....53**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Potencial fitotóxico da benzofenona-3 nas concentrações 2, 20 e 200 µg/L, a <i>Lactuca sativa</i> L., <i>Cucumis sativus</i> L. e <i>Allium cepa</i> L., com base nos parâmetros de germinação de sementes (G), índice de crescimento radicular (ICR) e índice de germinação (IG)	46
Tabela 2 - Crescimento radicular relativo (CR), índice mitótico (IM) e índice de prófases (IP) em meristemas radiculares de bulbos de <i>Allium cepa</i> L., expostos a concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas.....	48
Tabela 3 - Número, tipos e índices de alterações celulares (IAC) em meristemas radiculares de bulbos de <i>Allium cepa</i> L., expostos as concentrações 2, 20 e 200,0 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APX	Ascorbato peroxidase
BP-3	Benzofenona-3
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
CAT	Catalase
CE ₅₀	Concentração efetiva média
CL ₅₀	Concentração letal média
Co	Controle
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Conc	Concentração
CR	Crescimento médio da raiz
DP	Desvio padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ETE	Estação de tratamento de efluentes
FDA	<i>Federal Drug Administration</i>
G	Germinação
GOPX	Guaiacol peroxidase
IAC	Índice de alteração celular
ICR	Índice de crescimento relativo
IG	Índice de germinação
IM	Índice mitótico
IP	Índice de prófase
nº	Número
OECD	Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PE	Poluente emergente
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TR	Tratamento
UNEP	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

μg	Micrograma
L	Litro
ng	Nanograma
nm	Nanometro
%	Porcentagem
g	Grama
mol	Mole
$\log K_{ow}$	Coeficiente de partição octanol-água
pKa	Potencial de dissociação
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
O_2	Oxigênio
H_2O	Água
®	Marca registrada
HgCl_2	Cloreto mercúrico
x	Multiplicação
mL	Mililitro
<	Menor
>	Maior
HCl	Ácido clorídrico
mg	Miligrama
rpm	Rotações por minuto
μL	Microlitro
M	Molar
mM	Massa molar
min	Minuto
U	Unidade
-	Subtração
ϵ	Absortividade molar
p	Probabilidade
cm	Centímetro
+	Adição
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	JUSTIFICATIVA.....	18
4	REVISÃO DA LITERATURA	19
4.1	Caracterização e legislação vigente: radiação solar e filtros ultravioletas	19
4.2	Filtros solares como poluentes orgânicos de caráter emergente: riscos iminentes dos micropoluentes	22
4.3	Caracterização da benzofenona-3: propriedades físico-químicas e impactos no meio ambiente	25
4.4	Bioensaios com organismos testes: ciclo celular e toxicidade relativa	27
4.5	Avaliação de atividades antioxidantes: alterações na defesa antioxidante enzimático celular	32
5	MATERIAL E MÉTODOS	35
5.1	Obtenção, definição e preparação das concentrações de BP-3 para os bioensaios	35
5.2	Estabilidade da BP-3 por cinco dias em solução estoque	35
5.3	Teste de fitotoxicidade com sementes e raízes de <i>Allium cepa</i> L., <i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Cucumis sativus</i> L.	36
5.4	Testes de fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e estresse oxidativo em raízes de bulbos de <i>Allium cepa</i> L.....	38
5.4.1	Obtenção e enraizamento dos bulbos	38
5.4.2	Avaliação da fitotoxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade	40
5.4.3	Preparação das amostras de raízes para a análise do estresse oxidativo	41
5.4.3.1	<u>Atividade enzimática da catalase (CAT).....</u>	41
5.4.3.2	<u>Atividade enzimática da ascorbato peroxidase (APX).....</u>	42
5.4.3.3	<u>Atividade enzimática da guaiacol peroxidase (GOPX).....</u>	42
5.4.3.4	<u>Atividade enzimática da superóxido peroxidase (SOD).....</u>	42
5.5	Avaliação de antioxidantes em raízes de bulbos de <i>Allium cepa</i> L.	43
5.5.1	Preparação das amostras de raízes para análises de atividades antioxidantes	43
5.5.1.1	<u>Avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH.....</u>	43

<u>5.5.1.2</u>	<u>Avaliação da atividade antioxidante pelo método de TBARS</u>	<u>43</u>
5.6	Teste de toxicidade com Tween 80	44
5.7	Análise estatística	44
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1	Percentual de estabilidade da benzofenona-3 no ambiente	45
6.2	Potencial toxicológico da benzofenona-3 em concentrações ambientais relevantes	45
6.3	Estresse oxidativo nas atividades enzimáticas antioxidantes	51
7	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento e o uso de produtos cosméticos como filtros solares aumentaram consideravelmente nas últimas décadas, por se tratarem de uma forma eficaz de proteção aos efeitos causados pela radiação ultravioleta (Lopes; Cruz; Batista, 2012). O uso regular desses filtros solares faz com que diferentes compostos sejam liberados na água e no solo diariamente, o que os tornam potenciais contaminantes a diferentes ecossistemas (Kim; Choi, 2014).

Visto que são substâncias encontradas em diversas matrizes ambientais e não há monitoramento sistemático ou regulamentação específica por parte de algum órgão público regulamentado, como o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que estabeleça parâmetros, condições, padrões e limites de concentrações máximas presentes no lançamento de efluentes em corpos de água receptores, bem como em todas as matrizes ambientais, são classificadas como poluentes emergentes (PEs) (Costa, 2019; Visanji; Sadr; Memon, 2018).

As benzofenonas, avobenzonas, octocrileno, metoxicinamato de octila, octissalato e etilhexil triazona são alguns dos principais filtros orgânicos utilizados contra a radiação ultravioleta (UV), no Brasil atualmente (Godinho *et al.*, 2017). Dentre estes filtros, as benzofenonas são a única classe de filtros solares que pertence à categoria das cetonas aromáticas (Mancebo; Hu; Wang, 2014). Das quais a benzofenona-3 (BP-3) é a mais utilizada em todo o mundo e empregada há mais de 40 anos na indústria (Du *et al.*, 2017).

A BP-3, também denominada de 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona ou oxibenzona, é classificada como um poluente orgânico de caráter emergente. Esse filtro absorve luz ultravioleta em amplo espectro contra a radiação ultravioleta (UV), possui alta estabilidade a luz, é lipofílico apresentando potencial bioacumulativo em plantas e animais e é refratário a degradação biológica na água e no solo (Domínguez-Morueco *et al.*, 2021; Na *et al.*, 2021).

O filtro solar BP-3 é quase onipresente, encontrada desde regiões polares a recifes de corais em águas tropicais em todo o mundo (Domínguez-Morueco *et al.*, 2021). A contaminação de ambientes aquáticos ocorre diretamente por atividades recreativas e indiretamente por estações de tratamento de efluentes (ETEs) devido à remoção incompleta (Du *et al.*, 2017; Ricardo *et al.*, 2022). É encontrada em mares,

rios, lagos, lagoas, águas residuárias e lodos de ETEs na escala de $\mu\text{g/L}$, e em água potável na escala de ng/L (Kim *et al.*, 2014; Li; Kannan, 2022).

Em águas residuárias a BP-3 foi detectada em concentrações que variaram de 2 a 100 $\mu\text{g/L}$, em lodo de ETEs em concentrações médias de 20 a 200 $\mu\text{g/L}$ (Li *et al.*, 2022), chegando a 212,9 $\mu\text{g/L}$ em lodo de efluente urbano nos grandes centros populacionais (Kim, 2018). De acordo com Gautam *et al.* (2022), a contaminação em ambientes terrestres ocorre principalmente devido ao uso dos lodos das ETEs para fertilizar áreas agrícolas, à lixiviação do solo, à irrigação de cultivos com águas residuais e ao despejo direto de efluentes no solo, assim ocorrendo a contaminação dos organismos do solo.

As espécies de plantas convencionais *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L., são indicadas pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2006) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 1996) como biomodelos para avaliação de toxicidade de poluentes orgânicos e inorgânicos.

Dentre os ensaios biológicos propostos para investigar a toxicidade de poluentes ambientais está o teste de *Allium cepa* L., na literatura é o teste mais antigo registrado e seus ensaios consistem em identificar impactos a diversas variedades ambientais (Fiskesjö, 1985). Através da germinação das sementes de *A. cepa* e do alongamento de radículas dos bulbos, pode-se avaliar o potencial fitotóxico agudo. Além disso, a região meristemática das raízes de *A. cepa* também permite a avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e estresse oxidativo causados por diversos poluentes ambientais, dentre os quais os poluentes orgânicos emergentes (Leles, 2017).

Diante do exposto, após uma busca criteriosa verificou-se que estudos de efeitos adversos da BP-3 a plantas inexistem na literatura científica. Então, avaliou-se a toxicidade causada pela BP-3 a plantas e almeja-se que os resultados obtidos contribuam para o entendimento da periculosidade da BP-3 a plantas terrestres e auxiliem, bem como estimulem, agências reguladoras a estabelecer limites para liberação desse filtro solar no ambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade do filtro solar benzofenona-3 em concentrações ambientais relevantes a *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L., como subsídios para determinação do risco ambiental.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial germinativo de sementes e crescimento de raízes de *A. cepa*, *L. sativa* e *C. sativus* expostas ao filtro solar;
- Avaliar o índice de crescimento relativo de raízes dos bulbos de *A. cepa* expostas ao filtro solar;
- Estimar o potencial da benzofenona-3 em causar citotoxicidade, genotoxicidade em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*;
- Avaliar o potencial de oxidação da benzofenona-3 as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

3 JUSTIFICATIVA

Segundo Costa (2019), há na literatura estudos que indicam a ocorrência de filtros UV em rios, lagos, água tratada, água do mar, zonas costeiras, lodo de esgoto e efluentes. Sendo a benzofenona-3 (BP-3) um destes filtros UV frequentemente encontrados em ambientes aquáticos, o que resulta na contaminação de diferentes ecossistemas, classificando-o como poluente orgânico de caráter emergente.

Devido ao aumento de uso de protetores solares pelo público em geral para prevenir câncer de pele, ao longo do tempo, a exposição ao BP-3 pela população evolui cada vez mais (Domínguez-Morueco *et al.*, 2021). Outro fator exposto é que a maioria dos processos químicos e biológicos realizados em estações de tratamento de efluentes (ETEs), não removem produtos químicos orgânicos de forma eficaz, assim a descarga desses produtos não é controlada ou fiscalizada (Du *et al.*, 2017).

Existem uma gama de efeitos causados em organismos pela BP-3 registrados, como a inibição no crescimento de protozoários e microalgas (Du *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2020), alterações em resultados reprodutivos em diversas espécies aquáticas, induz histopatologias, defeitos no miocárdio, alterações respiratórias e desregulação endócrina em peixes (Kim *et al.*, 2014; Kinnberg *et al.*, 2015; Velanganni; Miltonprabu, 2021) e redução no tamanho, alterações no desenvolvimento embrionário e no número de descendentes em microcrustáceos (Im *et al.*, 2022).

No solo, a BP-3 está presente em diversas matrizes ambientais. Sua contaminação ocorre principalmente pelo uso de lodos de ETEs para fertilizar áreas agrícolas e pela lixiviação desses solos, assim como pela irrigação de culturas de plantas com águas residuárias e pelo despejo de efluentes diretamente no solo. Diferentemente de organismos aquáticos, o impacto ecotoxicológico desse filtro solar a organismos terrestres, como organismos vegetais, é pouco explorado, tornando-se crucial avaliar a toxicidade sistêmica e celular desse composto em plantas (Baek *et al.*, 2022; Gautam *et al.*, 2022).

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Caracterização e legislação vigente: radiação solar e filtros ultravioletas

O Sol irradia uma variedade de radiações eletromagnéticas, abrangendo a faixa dos raios gama, raios X, raios ultravioletas (UV), luz visível, luz infravermelha e raios com comprimentos de onda mais longos. Com exceção dos raios gama e X, todas as outras formas de radiação eletromagnética emitidas pelo Sol atingem a superfície terrestre. Notavelmente, a radiação UV representa aproximadamente 6% do espectro solar (Negreiros Neto, 2021).

A faixa do espectro UV, compreende uma faixa de comprimento de onda de 100 a 400 nm, divididos nas regiões UVC, UVB e UVA. A radiação UVC (100 a 280 nm), em geral, não consegue alcançar a superfície terrestre devido à filtragem exercida pela camada de ozônio e pela umidade atmosférica. No entanto, o ozônio não oferece uma proteção completa contra os efeitos prejudiciais da radiação UVB (280 a 320 nm) e UVA (320 a 400 nm) (Maverakis *et al.*, 2010; Negreiros Neto, 2021).

O ozônio desempenha um papel crucial como o principal agente fotoprotetor formado na atmosfera, uma vez que absorve não apenas a maior parte da radiação UVB, mas também uma fração menor da UVA. Sendo assim, cerca de 5 a 10% da radiação UVB atinge a superfície terrestre, e de 90 a 95% da radiação UVA (Flor; Davolos; Correa, 2007; Maverakis *et al.*, 2010).

O impacto da radiação UVB nos organismos é no DNA das células de queratinócitos, uma vez que é absorvida por essas células, resulta na formação de fotoprodutos diméricos entre as bases de pirimidina vizinhas. Sendo assim, pode levar ao impedimento da síntese e a defeitos no processo de reparo do DNA. Já radiação UVA provoca danos indiretos ao DNA, por meio de sua interação com cromóforos e fotossensibilizadores, como porfirinas, citocromos, heme, riboflavina e triptofano, que, por sua vez, geram radicais livres (Fania *et al.*, 2021).

Com o decorrer dos anos, a redução iminente da camada de ozônio levou a um aumento na incidência de câncer de pele, dada a exposição frequente e descuidada ao sol, e a alta incidência de raios ultravioleta na zona geográfica brasileira (Santos *et al.*, 2001). Diante disto, a prevenção do câncer de pele inclui

medidas de proteção solar, que são eficazes e de baixo custo, como os protetores solares (Fania *et al.*, 2021).

Os filtros solares são complexos moleculares, classificados em orgânicos ou inorgânicos, responsáveis pela promoção da fotoproteção contra as manifestações produzidas pela radiação UV, isso implica em transformar essa energia em outra forma sem causar danos à pele. Sendo assim, os filtros UV utilizados em formulações de protetores solares devem ser quimicamente e fotoquimicamente inertes (Maverakis *et al.*, 2010).

Referente a classificação, os filtros orgânicos possuem compostos orgânicos responsáveis em geral pela absorção da radiação, entretanto atualmente no mercado já existem compostos orgânicos que além de absorver, também refletem a radiação UV. Já nos inorgânicos, ocorre no geral a presença de óxidos metálicos, responsáveis pela reflexão da radiação (Flor; Davolos; Correa, 2007).

Os filtros orgânicos são compostos por substância químicas orgânicas que possuem a capacidade de absorver a radiação UV de alta energia e transformá-la em radiações com energias menores, tornando-a inofensiva para os seres humanos. Possuem a capacidade de absorver cerca de 95% da radiação UV, no espectro de comprimento de onda entre 280 a 360 nm. O mecanismo consiste em compostos aromáticos que incluem grupos carboxílicos e possuem um grupo doador de elétrons, como uma amina ou um grupo metoxila, posicionado na posição orto ou para do anel aromático (Flor; Davolos; Correa, 2007; Negreiros Neto, 2021; Santos *et al.*, 2001).

Embora os filtros orgânicos sejam eficazes na absorção da radiação UV, também são conhecidos alguns efeitos adversos, como reações alérgicas, irritações na pele e fotoalergia. Portanto, a pesquisa na área de filtros solares se concentra em desenvolver filtros com proteção e estabilidade mais abrangentes, ao mesmo tempo em que busca minimizar ou eliminar as reações adversas associadas ao seu uso (Gilbert *et al.*, 2013). Além disso, diversos estudos, realizados em humanos e em outras espécies animais, indicam que alguns filtros UV orgânicos são substâncias lipofílicas com tendência a sofrer bioacumulação e biomagnificação (Costa, 2019; Du *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2013; Gautam *et al.*, 2022; Na *et al.*, 2021).

Os filtros solares inorgânicos são fabricados em partículas com dimensões nanométricas, que atuam como uma barreira física protetora, geralmente apresentam um baixo potencial alergênico, tornando-as particularmente importantes

em formulações de produtos destinados a bebês, uso diário e para pessoas com pele sensível. Durante esse processo de reflexão e dispersão, a luz incidente nas partículas inorgânicas é redirecionada, refletindo de volta ou se espalhando em diferentes direções. Isso é responsável pela translucidez e opacidade das partículas dos filtros inorgânicos quando aplicadas sobre a pele, reduzindo o aspecto branco da maioria dos protetores solar (Flor; Davolos; Correa, 2007; Manaia *et al.*, 2013).

Segundo Godinho *et al.* (2017), atualmente no Brasil podem ser listados cerca de onze filtros solares, orgânicos e inorgânicos, mais utilizados nas formulações de fotoprotetores (Quadro 1). Mancebo, Hu e Wang (2014), classificaram os filtros solares aprovados pela FDA (*Federal Drug Administration*) utilizados nos Estados Unidos, de acordo com sua máxima absorção e espectro UV de proteção abrangente, muitos destes filtros solares também são utilizados em fotoprotetores nacionais, e regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

No âmbito da legislação, atualmente está em vigor a Resolução RDC nº 600, de 9 de fevereiro de 2022, da ANVISA. Esta resolução dispõe o regulamento técnico MERCOSUL sobre a lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Tais filtros ultravioletas podem ser utilizados desde que dentro dos limites e condições discriminadas pela legislação vigente (Brasil, 2022).

Quadro 1 - Lista dos filtros solares mais utilizados em fotoprotetores no Brasil frente a sua classificação, absorção máxima, espectro UV e máxima concentração permitida

Substância	Classificação do filtro solar	Máximo de absorção (nm)	Espectro UV de proteção	Máxima concentração permitida pela ANVISA
Dióxido de titânio	Inorgânico	Variável	UVB e UVA	25%
Octocrileno	Orgânico	303	UVB e UVA	10% (expresso como ácido)
Metoxicinamato de octila	Orgânico	311	UVB	10%
Avobenzona	Orgânico	360	UVA	5%
Etilhexil triazona	Orgânico	314	UVB	5%
Octissalato	Orgânico	307	UVB	5%
Homosalato	Orgânico	306	UVB	15%
Benzofenona-3	Orgânico	325	UVB e UVA	10%
Ensulizole	Orgânico	310	UVB	8% (expresso como ácido)
Ecamsule	Orgânico	345	UVB e UVA	10% (expresso como ácido)
Óxido de zinco	Inorgânico	Variável	UVB e UVA	25%

Fonte: Adaptado de Mancebo, Hu e Wang (2014), Godinho *et al.* (2017) e BRASIL (2022)

4.2 Filtros solares como poluentes orgânicos de caráter emergente: riscos iminentes dos micropoluentes

No Brasil, a Portaria de Consolidação GM/MS nº 888 de 4 de maio de 2021 é responsável pelos procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (Brasil, 2021). Entretanto, a água considerada potável pela legislação pode conter substâncias ainda não regulamentadas, que podem ser prejudiciais à saúde humana, mesmo em concentrações baixas (Soares; Souza, 2020).

De acordo com Gautam *et al.* (2022), os poluentes emergentes (PEs) são considerados compostos tóxicos que não são removidos pelos métodos tradicionais de tratamento de água e efluentes. Segundo Lu *et al.* (2023), são compostos preocupantes devido à sua alta toxicidade, persistência e capacidade de acumulação no ambiente.

Pode-se citar como exemplo de PEs, os fármacos, hormônios, agrotóxicos, cosméticos, produtos químicos de limpeza, aditivos industriais, aditivos de combustíveis, entre outros. Outro fator agravante são os subprodutos do tratamento

de água, com a alteração das moléculas originais, alguns subprodutos tendem a ser mais tóxicos que as moléculas originais, sendo mais difícil a detecção e identificação (Azevedo, 2021; Gautam *et al.*, 2022).

O termo “micropoluentes emergentes”, refere-se aos PEs encontrados em quantidades mínimas nas matrizes ambientais. Mesmo em concentrações de µg/L ou ng/L, possuem uma capacidade de causar impactos negativos e acumulativos, onde atualmente é reconhecido como uma necessidade urgente de pesquisas e investigações (Azevedo, 2021; Lima *et al.*, 2017).

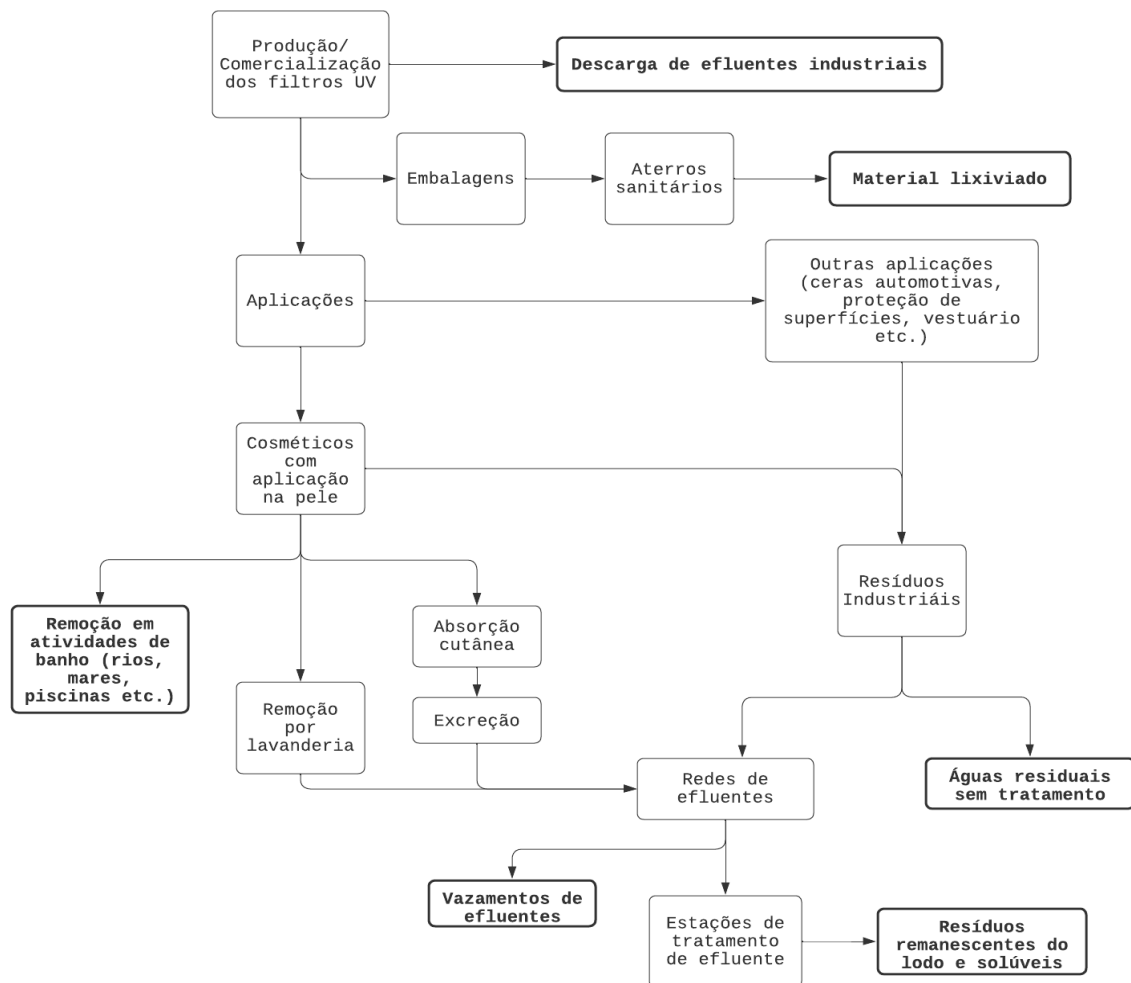
Referente a legislação nacional, a Política Nacional do Meio Ambiente nº 6938 de 31 de agosto de 1981, dispõe das diretrizes e instrumentos de orientações para as empresas sobre as melhores práticas na gestão de atividades que interferem no meio ambiente (Brasil, 1981). A Política Nacional de Recursos Hídricos nº 9433 de 8 de janeiro de 1997, determina todo o processo de gestão dos recursos hídricos brasileiros e o uso das águas (Brasil, 1997). Já a Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011, é a resolução mais atual referente as condições, padrões, parâmetros e diretrizes para a gestão do lançamento de efluentes em corpos de água receptores (Brasil, 2011).

Em relação aos micropoluentes, não há legislação nacional específica em vigor, fazendo-se necessário estabelecer metas com base nos planos de segurança ambiental e humano (Costa, 2019). As diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2011, solicitam aos governos que intensifiquem o controle da qualidade da água, o que pode resultar em melhorias significativas em questões de saúde pública. A lei reconhece que alguns PEs podem ter efeitos adversos na saúde humana com exposição prolongada através das águas de abastecimento público, mas isso representa apenas uma pequena parte dos produtos químicos que podem atingir as fontes de água utilizadas (OMS, 2011).

Dentro da linha dos cosméticos, os filtros solares orgânicos são substâncias químicas que geralmente possuem estruturas aromáticas capazes de absorver e estabilizar a radiação UV. Por se tratar de um composto químico fotoestável, lipofílico e potencialmente bioacumulativo, são classificados como poluentes orgânicos de caráter emergente (Du *et al.*, 2017). Pode-se também inferir que a concentração desse poluente varia sazonalmente, visto que a presença dessas substâncias é mais alta durante o verão, de acordo com os padrões de comportamento da população (Ekpeghere *et al.*, 2016).

A BP-3 é um dos filtros UV orgânicos mais utilizados em produtos cosméticos da atualidade. A contaminação do meio ambiente pode ocorrer de forma direta por atividades recreativas, ou indiretamente pela rede de efluentes (Figura 1). Seus impactos no ambiente ainda são pouco claros, e estudos como testes ecotoxicológicos são de extrema importância para que ocorra um critério ambiental como padrão de descarte. (Du *et al.*, 2017; Kim; Choi, 2014).

Figura 1 - Esquema das principais rotas de descarte dos filtros solares no meio ambiente

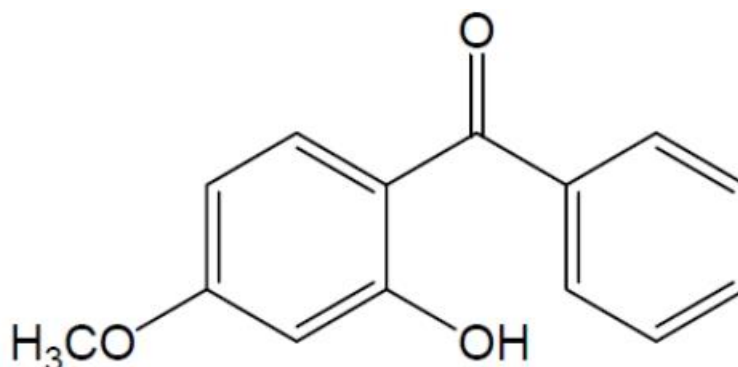


Fonte: Adaptado de Costa (2019)

4.3 Caracterização da benzofenona-3: propriedades físico-químicas e impactos no meio ambiente

A benzofenona-3, oxibenzona ou 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona é o derivado da benzofenona mais utilizado, pois possui melhor estabilidade fotoquímica. Apresenta como fórmula química $C_{14}H_{12}O_3$, coloração amarelo claro, número CAS 131-57-7, peso molecular de 228,25 g/mol, coeficiente de partição octanol-água alto $\log K_{ow}$ de 3,79 e estrutura química contendo dois anéis aromáticos (Figura 2) (Gao *et al.*, 2013). É um composto fenólico proveniente naturalmente de plantas como flores, insolúvel em água e óleo mineral, mas solúvel em acetona, Tweens (surfactantes não iônicos), óleo sintético (Eutanol G), álcool etílico, álcool isopropílico (co-surfactantes) e acetato de etila (Roggia *et al.*, 2014; Songkro *et al.*, 2014).

Figura 2 - Estrutura química da benzofenona-3



Fonte: Roggia *et al.* (2014, p. 223)

A BP-3 absorve em comprimento de onda de 290 a 440 nm, mas quase não absorve a luz visível, possui um potencial de dissociação pK_a de 7,56. Apresenta ponto de fusão entre 62 e 64 °C e ponto de ebulição entre 150 e 160 °C (Du *et al.*, 2017; Rodil; Schrader; Moeder, 2009).

Comparadas a outros filtros orgânicos, as benzofenonas sofrem ressonância mais facilmente, o que requer menor energia quântica para a transição de elétrons (Ribeiro *et al.*, 2004). O filtro solar se mostrou degradar cerca de 4% após 28 dias em água, o que indica uma degradação lenta (Kim; Choi, 2014). Nos humanos, a BP-3 pode ser absorvida pela boca e pele, devido a sua lipofilidade, estabilidade à luz e bioacumulação (Du *et al.*, 2017).

Por se tratar de um filtro de amplo espectro, pode possuir possíveis efeitos alérgicos e dermatite de contato, além de estar estatisticamente associada à toxicidade reprodutiva em humanos e animais (Ghazipura *et al.*, 2017). Embora a legislação brasileira libere este filtro a uma concentração máxima de 10% em produtos cosméticos, para concentrações maiores que 0,5%, fica obrigatório incluir advertência na rotulagem descrito “contém benzofenona-3” (Brasil, 2022).

Existe uma gama de efeitos toxicológicos da BP-3 em diferentes organismos vivos. Brausch e Rand (2011), relatam a BP-3 está associada na desregulação endócrina, onde tal substância se mostra responsável por interromper o comportamento agonístico dos peixes da espécie *Betta splendens*. Downs *et al.* (2015), utilizando testes ecotoxicológicos, inferiu que a BP-3 em concentrações ambientais relevantes, exibiu uma taxa crescente de branqueamento em corais, conforme suas concentrações foram aumentando.

Tal composto orgânico, também se mostrou impactante na interrupção do crescimento de algas verdes e cianobactérias, por ser responsável pela interrupção do fluxo de elétrons fotossintéticos, assim é responsável por interromper suas atividades fotossintéticas (Lee *et al.*, 2020). Na espécie de cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, a BP-3 é responsável pela elevada produção de carotenoides ao decorrer da exposição, em concentrações mais elevadas, como 1000 µg/L, obteve-se o maior teor de carotenoides (Mao *et al.*, 2017).

A partir dos potenciais efeitos possíveis explanados, a BP-3 é disposta na literatura científica em diversos estudos ecotoxicológicos, onde são encontrados resultados como concentrações efetivas médias (CE₅₀) e concentrações letais médias (CL₅₀) do composto, a determinados organismos vivos (Quadro 2).

Quadro 2 - Efeitos toxicológicos da benzofenona-3 em organismos vivos, registrados na literatura

Taxonomia	Organismo teste	Duração do experimento	Resultados obtidos	Foco principal do estudo	Fonte
Algas	<i>Scenedesmus obliquus</i>	96 horas	CE ₅₀ = 3,64 mg/L	Avaliação ecotoxicológica, biodegradação e via metabólica	(LEE <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	240 horas	CE ₅₀ = 1,85 mg/L	Avaliação ecotoxicológica	(MAO <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Scenedesmus vacuolatus</i>	24 horas	CE ₅₀ = 360 µg/L	Avaliação ecotoxicológica	(RODIL; SCHRADER; MOEDER, 2009)
	<i>Chlorella vulgaris</i>	96 horas	CE ₅₀ = 2,98 mg/L	Taxa de crescimento	(DU <i>et al.</i> , 2017)
Corais	<i>Stylophora pistillata</i>	24 horas	CL ₅₀ = 42 µg/L	Alterações na clorofila e alterações no DNA	(DOWNS <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Pocillopora damicornis</i>	24 horas	CL ₅₀ = 8 µg/L	Alterações na clorofila e alterações no DNA	(DOWNS <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Montastrea annularis</i>	24 horas	CL ₅₀ = 74 µg/L	Alterações na clorofila e alterações no DNA	(DOWNS <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Porites astreoides</i>	24 horas	CL ₅₀ = 340 µg/L	Alterações na clorofila e alterações no DNA	(DOWNS <i>et al.</i> , 2015)
Invertebrados	<i>Daphnia magna</i>	48 horas	CL ₅₀ = 1,10 mg/L	Imobilização e mortalidade	(DU <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Dugesia japonica</i>	48 horas	CE ₅₀ = 900 µg/L	Imobilização	(LI, 2012)
	<i>Eisenia fetida</i>	14 dias	CL ₅₀ = 360 µg/L	Mortalidade	(GAUTAM <i>et al.</i> , 2022)
Protozoários	<i>Tetrahymena thermophila</i>	24 horas	CE ₅₀ = 7,54 mg/L	Inibição no crescimento	(GAO <i>et al.</i> , 2013)
Peixes	<i>Brachydanio rerio</i>	96 horas	CL ₅₀ = 3,90 mg/L	Mortalidade	(DU <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Danio rerio</i>	45 dias	CE ₅₀ = 44 µg/L	Alterações celulares	(VELANGANNI; MILTONPRABU, 2021)
	<i>Oryzias latipes</i>	26 dias	CE ₅₀ = 26 µg/L	Reprodução	(KIM <i>et al.</i> , 2014)

Fonte: Autoria própria (2023).

4.4 Bioensaios com organismos testes: ciclo celular e toxicidade relativa

A ecotoxicologia uniu a ecologia com a toxicologia para estudos destinados aos efeitos de potenciais poluentes a determinados ecossistemas, baseando-se no emprego de métodos de laboratório e campo. Os ensaios de toxicidade consistem em avaliar um organismo teste exposto a uma determinada substância ou mistura, a

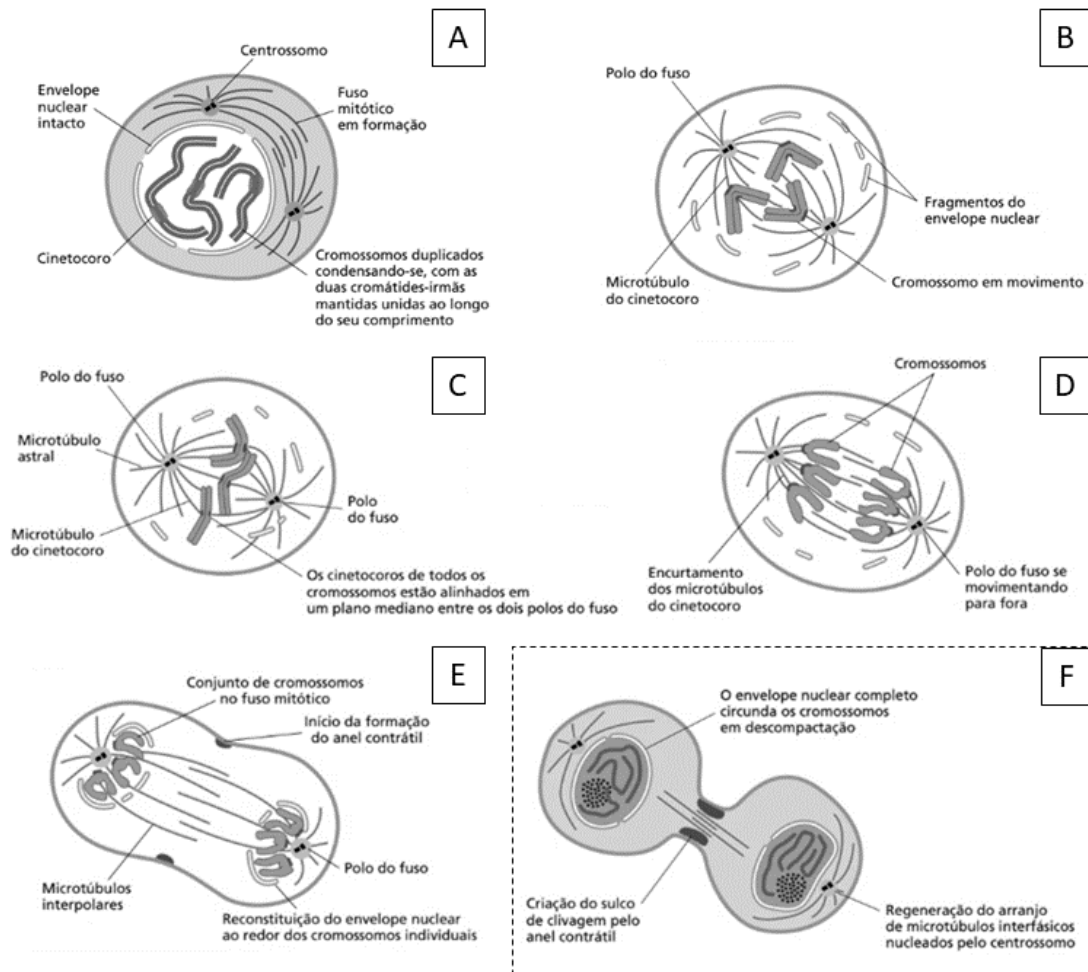
fim de analisar comportamentos como mortalidade ou imobilidade, ciclos de vida, reprodução e crescimento (Costa, 2019).

Nas células eucariontes, o ciclo celular é o processo no qual ocorre a reprodução da célula e do DNA nuclear (material genético). É composto por quatro fases, G1, S, G2 e M, onde a interfase se refere pelo seguimento das fases G1, S e G2. Na fase G1 ocorre elevada atividade metabólica, crescimento celular e reparo, nesta fase ainda não ocorre a replicação do DNA, e também permite que a célula se prepare para entrar na fase S. Na fase S ocorre a replicação do DNA para que a célula se replique. Já na fase G2 a célula apresenta-se duplicada, consistindo em duas cromátides-irmãs idênticas para iniciar a mitose (Taiz *et al.*, 2017).

No processo da mitose os cromossomos anteriormente replicados se alinham, separam-se e são distribuídos ordenadamente para as células-filhas. A mitose é dividida em cinco etapas, são elas: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase (Figura 3A-E). Ao final da fase M, ocorre a citocinese (Figura 3F), processo onde o citoplasma é dividido e a célula da origem a duas células-filhas, cada uma com um núcleo (Alberts, 2017; Taiz *et al.*, 2017).

Na prófase, ocorre a condensação dos cromossomos replicados, cada um deles composto por duas cromátides-irmãs. Simultaneamente, fora do núcleo, o fuso mitótico começa a se formar, preparando-se para o processo de separação. Já na prometáfase, os cromossomos se conectam aos microtúbulos e começam a mover-se. Na metáfase, os cromossomos são alinhados precisamente no centro entre os dois polos, enquanto os microtúbulos dos cinetocoros se ligam aos polos opostos. Na anáfase, as cromátides irmãs se separam e são puxadas em direção ao polo do fuso ao qual estão ligadas. Por fim, a telófase marca o término da mitose, quando a formação dos dois núcleos é concluída, e inicia-se a divisão do citoplasma (Alberts, 2017).

Figura 3 - Processo da prófase (A), prometáfase (B), metáfase (C), anáfase (D), telófase (E) e citocinese (F)



Fonte: Adaptado de Alberts (2017, p. 622-623)

As plantas, desempenham um papel fundamental como modelos ecotoxicológicos valiosos para a análise do ambiente e a detecção precoce dos efeitos de diversos poluentes. A toxicidade é dada pelo processo que inibe ou retarda a capacidade germinativa e/ou crescimento da planta-teste. Portanto, os estudos referentes aos efeitos de compostos químicos na germinação e/ou desenvolvimento das plantas, contribuem para a compreensão dos processos que ocorrem a nível celular (Ferreira; Borghetti, 2004; Sampaio, 2021).

Em testes de toxicidade envolvendo plantas vasculares, como *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L., é possível avaliar os impactos adversos causados pela descarga de efluentes no solo (Young *et al.*, 2012). Esses testes são úteis para caracterizar os efeitos prejudiciais de resíduos orgânicos, são realizados de maneira relativamente fácil e rápida, permitindo que os bioensaios sejam completados em poucos dias (Charles *et al.*, 2011; Leles, 2017). Já as espécies citadas são ideais

devido à sua biologia bem conhecida e aos protocolos de teste estabelecidos já publicados (OECD, 2006).

Os bioensaios com *L. sativa* são práticos e não exigem equipamentos complexos. Eles permitem avaliar a toxicidade de compostos, observando a inibição da germinação, o crescimento das radículas e do hipocótilo (Valerio; García; Peinado, 2007). Isso é crucial, já que a interferência de contaminantes nos estágios iniciais de desenvolvimento pode ser prejudicial à sobrevivência das plantas. Além disso, esse ensaio é capaz de detectar concentrações muito baixas de contaminantes que não inibem a germinação, mas retardam o crescimento da plântula, o que o torna um indicador sensível (Sobrero; Ronco, 2008).

No caso da espécie *C. sativus*, os bioensaios de fitotoxicidade também analisam as características visíveis, como germinação e crescimento da raiz, mas também a plântula da semente de *C. sativus* é fundamental para observar o desenvolvimento das reações de mercúrio e sua capacidade de prejudicar a planta nas fases posteriores do crescimento, demonstrando a sensibilidade desse organismo a vários compostos tóxicos (Cargnelutti, 2007). São testes eficazes na detecção de contaminantes no ambiente, especialmente nas fases iniciais de desenvolvimento das sementes de *C. sativus*. Isso os torna amplamente utilizados na avaliação da toxicidade de diferentes amostras de contaminantes (Guevara *et al.*, 2019; Peduto *et al.*, 2020).

Os ensaios de citotoxicidade se referem ao ciclo da fase M, o qual mede a taxa de divisão celular após todo o processo de mitose e citocinese, dado em porcentagem (Smaka-Kincl *et al.*, 1996). Já a genotoxicidade se refere as eventuais alterações que podem ocorrer durante todo o ciclo celular como aumento de micronúcleos, cromossomos errantes, metáfase com quebra cromossômica e anáfase ou telófase anormais (Herrero *et al.*, 2012).

Dentre os bioensaios com organismos teste utilizados registrados na literatura, o teste mais antigo citado é o bioensaio com *A. cepa*, registrado desde 1930, foi padronizado em 1985 em um protocolo publicado por Geirid Fiskesjö, sob o título “The Allium test as a standard in environmental monitoring”, na Suécia (Fiskesjö, 1985).

A *A. cepa* é uma espécie reconhecida e validada internacionalmente como indicadora para o biomonitoramento citogenotóxico de poluentes ambientais, sendo endossada pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP), pela

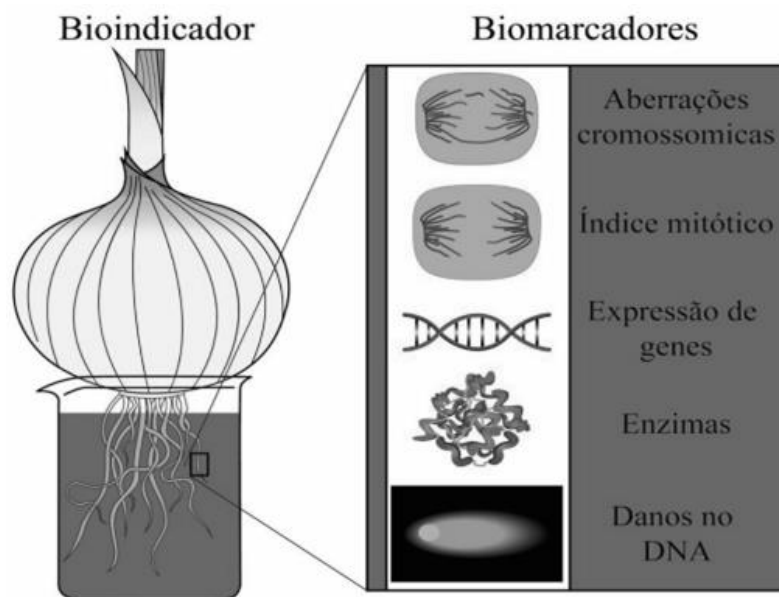
Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) (Sampaio, 2021).

São bioensaios bastante sugeridos pela literatura, pois apresentam um custo relativamente baixo e podem ser realizados em um curto período de tempo, o que auxilia diversos estudos para prevenção e controle de danos ambientais (Parvan *et al.*, 2020). O processo envolve na imersão dos bulbos de *A. cepa* em água para estimular o crescimento das raízes, seguido pelo mesmo processo às substâncias teste. Alternativamente, o ensaio pode ser conduzido utilizando sementes de *A. cepa*, as quais são colocadas em uma caixa de germinação contendo papel umedecido com a substância em análise ou em solo contaminado (Herrero *et al.*, 2012).

Dessa forma, a *A. cepa* funciona como um biosensor ou bioindicador, contendo biomarcadores (Figura 4) que podem avaliar as alterações provocadas pelas substâncias em análise de processos celulares, comportamentais, bioquímicos, ou estruturais, e que quantificam o impacto dessa exposição dos organismos as substâncias testes (Magalhães; Ferrão Filho, 2008; Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

Após a exposição, as raízes são avaliadas quanto à sua morfologia, taxa de germinação, crescimento e também microscopicamente para identificar alterações na divisão celular, aberrações cromossômicas e anormalidades nucleares. Esses testes são realizados para obter um melhor entendimento dos efeitos e das respostas fisiológicas de um organismo exposto determinados poluentes. Por exemplo, os organismos aquáticos frequentemente enfrentam a exposição de substâncias tóxicas em sua biota, resultando em distúrbios bioquímicos, como o estresse oxidativo, e danos ao material genético, incluindo mutações, aberrações cromossômicas e a formação de micronúcleos (Herrero *et al.*, 2012; Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

Figura 4 - Bulbo de *Allium cepa* L. como bioindicador e seus meristemas radiculares utilizados como biomarcadores



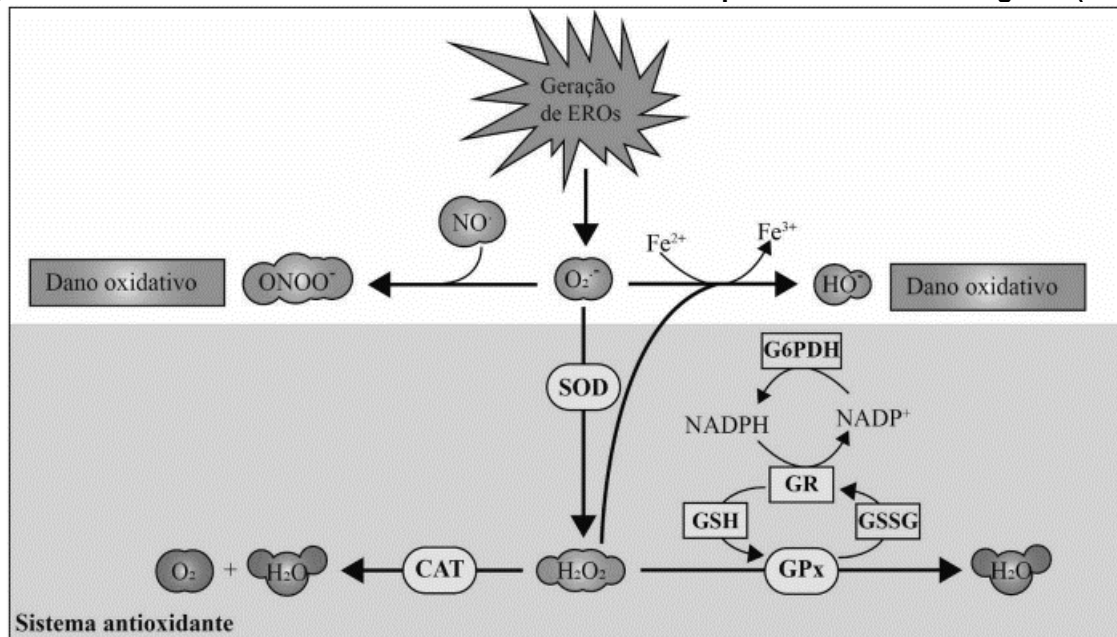
Fonte: Almeida *et al.* (2021, p. 177)

4.5 Avaliação de atividades antioxidantes: alterações na defesa antioxidante enzimático celular

Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de atrasar ou prevenir a oxidação de substâncias que podem ser oxidáveis, sejam elas de natureza enzimática, como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, ou não enzimática, como α -tocoferol, β -caroteno, ascorbato e GSH (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Entre os biomarcadores enzimáticos, também pode-se citar a identificação e a quantificação de enzimas antioxidantes nos meristemas radiculares de *A. cepa* após sua exposição a poluentes. As enzimas antioxidantes desempenham um papel essencial na preservação da integridade do metabolismo celular, especialmente em situações de estresse oxidativo, caracterizadas pela produção elevada e pela neutralização de moléculas altamente reativas, como as espécies reativas de oxigênio (EROs) (Figura 5) (Morris *et al.*, 2012; Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

Figura 5 - Defesas antioxidante enzimático celular contra espécies reativas de oxigênio (EROs)



Fonte: Almeida *et al.* (2021, p. 183)

Para evitar a ação das EROs, o principal sistema de defesa antioxidante enzimático celular é composto pelas enzimas oxidantes, como por exemplo a catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GOPX) e a superóxido dismutase (SOD) (Strobel *et al.*, 2011).

A SOD é considerada uma das defesas antioxidantes mais cruciais contra as EROs, esta enzima está amplamente distribuída em praticamente todos os organismos eucarióticos. Sua função primordial é transformar o oxigênio prejudicial em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), uma molécula menos reativa, realizando a catalisação por dismutação do superóxido (O_2^-) em H_2O_2 (Halliwell; Gutteridge, 2015).

A CAT é uma enzima que está presente em grande parte dos organismos aeróbicos, onde ajudam a célula no combate às EROs. Ela atua na transformação H_2O_2 em água (H_2O) e oxigênio (O_2) (Switala; Loewen, 2002). Já a APX é a enzima antioxidante principal em organismos vegetais e fotossintetizantes, age no citosol, vacúolo e parede celular, onde é utilizado o ácido ascórbico como o principal doador de elétrons para realizar a eliminação e quebra das moléculas de H_2O_2 . A GOPX também é responsável pelo mesmo processo, agindo nas organelas onde a detoxificação é necessária (Foyer; Noctor, 2003).

Outro método antioxidante de retardar a velocidade da oxidação nas células é inibindo os radicais livres, tornando-se essenciais para o equilíbrio entre os

radicais livres e o sistema de defesa antioxidante dos organismos (Martelli; Nunes, 2014). A atividade antioxidante medida através do sequestro do radical livre da molécula de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), mostra a capacidade de substâncias pertencentes ao extrato enzimático em sequestrar radicais livres do meio existente (Merino *et al.*, 2015). O método DPPH foi desenvolvido por Blois em 1958 para determinar a atividade antioxidante de várias substâncias utilizando um radical livre estável, atualmente é um dos métodos mais amplamente empregados em análises de antioxidantes solúveis em meios orgânicos (Verruck; Prudencio; Silveira, 2018).

A peroxidação lipídica também pode ser utilizada como biomarcador de estresse oxidativo em *A. cepa*, através da detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Mendes *et al.*, 2011). Trata-se de um processo que resulta na perda da integridade das biomembranas celulares, causando prejuízos como a perda de permeabilidade, fluidez e ruptura devido à produção excessiva de EROs (Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003). Esse fenômeno provoca a liberação de proteínas intracelulares, levando a danos nos tecidos e afetando as biomoléculas no organismo celular (Souza Junior; Pereira, 2008). Além disso, a peroxidação lipídica pode resultar na inativação enzimática, ruptura de membranas, aumento da aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas, mutações e até mesmo na morte celular (Cerqueira; Medeiros; Augusto, 2007).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Obtenção, definição e preparação das concentrações de BP-3 para os bioensaios

As preparações e análises foram desenvolvidas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *câmpus* Campo Mourão. A preparação das concentrações da BP-3 e os experimentos de ações antioxidantes e peroxidação lipídica foram realizadas na Central Analítica Multiusuário (G107), já os experimentos de fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e estresse oxidativo, foram realizados no Laboratório de Ecologia (C101).

A benzofenona-3 (2-hidroxi-4-metoxibenzofenona), CAS 131-57-7, foi adquirida da empresa norte-americana Sigma-Aldrich® em grau analítico. Os outros reagentes, equipamentos e vidrarias utilizados nos experimentos foram disponibilizados pela UTFPR.

Com base nos resultados de diferentes estudos referentes a identificação e quantificação de concentrações da BP-3 encontrada em vários países, constatou-se que a concentração média deste composto em águas residuárias foi de 2,10 µg/L, e em lodo de efluentes de 20,5 µg/L (Díaz-Cruz; Barceló, 2011; Du *et al.*, 2017; Gago-Ferrero; Tsui *et al.*, 2014; Heffernan *et al.*, 2015; Nieto *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 2019). Nos grandes centros populacionais, em lodo de efluente urbano, foram determinadas concentrações de BP-3 de 199,1 a 212,9 µg/L (Kim, 2018). Com base nessas informações, foram estabelecidas as concentrações de 2, 20 e 200 µg/L para avaliação da toxicidade da BP-3 presente em lodo de efluente utilizado para adubação e em águas residuárias destinadas à irrigação.

Uma solução estoque de 1000 µg/L de BP-3 foi preparada em meio aquoso usando a mesma concentração de Tween® 80 (0,11 g/L) como surfactante e em seguida armazenada no escuro a 4°C.

5.2 Estabilidade da BP-3 por cinco dias em solução estoque

Para verificar a estabilidade do protetor solar, a BP-3 foi dissolvida em Tween® 80, com concentração de 0,11 g/L. A estabilidade da BP-3 foi avaliada por espectrofotometria em 320 nm, para soluções de concentração milimolar com absorbância inicial (dia zero) entre 0,9 e 1,1, para um período de 15 dias, sendo a

estabilidade determinada em percentual. Para isto, considerou-se como 100% o valor da absorbância inicial e para os demais dias avaliados o percentual da BP-3 foi determinado através da Equação 1.

$$BP3 \text{ estável (\%)} = \left(\frac{\text{Absorbância amostra}}{\text{Absorbância inicial}} \right) \times 100 \quad (1)$$

5.3 Teste de fitotoxicidade com sementes e raízes de *Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L.

A avaliação de fitotoxicidade foi realizada com base na porcentagem de germinação de sementes e alongamento de raízes, conforme os protocolos recomendados pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2006).

As sementes de *A. cepa*, *L. sativa* e *C. sativus*, marca comercial Isla®, isentas de agrotóxicos e inibidores de crescimento, foram adquiridas em casa agropecuária no município de Campo Mourão. A taxa de germinação do lote das sementes informada nos rótulos era superior a 95%. Em todo o experimento utilizou-se sementes do mesmo lote.

Para as três espécies, sementes de tamanhos semelhantes foram selecionadas sob lupa estereoscópica e descontaminadas superficialmente com 0,1% (p/v) de HgCl₂ por um minuto, seguido de repetidas lavagens com água destilada para isentá-las de qualquer contaminação microbiana.

Sementes de cada espécie foram distribuídas em placas de Petri de 90 mm de diâmetro autoclavadas sobre folha dupla de papel filtro. Cada placa recebeu dez sementes espaçadas em distâncias semelhantes (Figura 6). Foram feitas cinco repetições (cinco placas), totalizando cinquenta sementes para cada tratamento (controle e concentrações). Como controle negativo (Co), utilizou-se água destilada.

Figura 6 - Exemplo da disposição das dez sementes na placa de Petri, sobre folha dupla de papel filtro umedecido



Fonte: A autoria própria (2023)

Toda placa foi irrigada com 2,0 mL de seu respectivo tratamento, quantidade suficiente para umedecer o papel filtro sem encharcá-lo. Em seguida, as placas foram seladas com parafilme para evitar o ressecamento e incubadas em BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), sem fotoperíodo, em temperatura controlada de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 120 horas. Durante a incubação, quando necessário, adicionou-se 0,5 mL das respectivas soluções às placas que apresentaram leve ressecamento.

Como critério de germinação, foi considerado quando a radícula emergiu na semente após o período analisado. O cálculo da porcentagem de germinação das sementes (G) foi realizado conforme a Equação 2.

$$G (\%) = \left(\frac{\text{Número de sementes germinadas}}{\text{Total de sementes avaliadas}} \right) \times 100 \quad (2)$$

De cada placa, cinco sementes germinadas foram selecionadas aleatoriamente para medição das raízes. Quando não havia cinco sementes com radículas, media-se todas as sementes enraizadas. As radículas foram medidas com paquímetro digital e os dados obtidos foram usados para calcular o Índice de Crescimento Relativo (ICR) (Equação 3) e o Índice de Germinação (IG) (Equação 4), de acordo com adaptações de Young *et al.* (2012), Biruk *et al.* (2017) e Santo *et al.* (2023).

$$ICR (cm) = \frac{RLI}{RLC} \quad (3)$$

$$IG (\%) = \left(\frac{RLI \times GSI}{RLC \times GSC} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde: RLI é o comprimento médio das radículas tratadas com concentrações de BP-3, RLC é o comprimento das radículas do Co, GSI é o número de sementes germinadas nas concentrações de BP-3 e GSC é o número de sementes germinadas no Co.

Os valores de ICR foram classificados em três categorias de acordo com os efeitos tóxicos observados: a) Inibição do alongamento das raízes (I): $0 < ICR < 0,8$, b) Sem efeitos significativos (SES): $0,8 \leq ICR \leq 1,2$ e c) Estímulo no alongamento das raízes (E): $ICR > 1,2$.

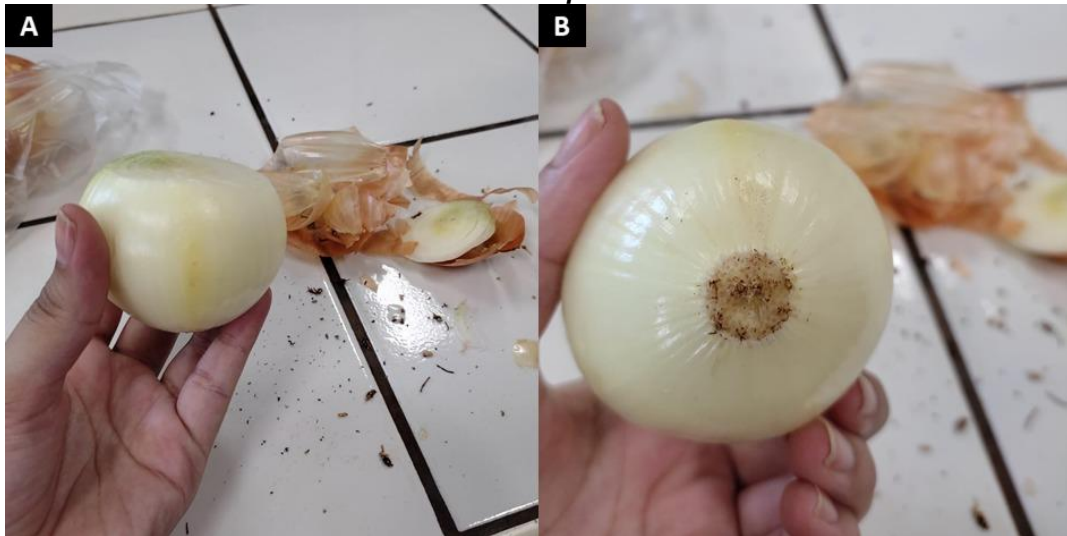
Outros sinais de toxicidade considerados foram alterações na consistência e cor das raízes, espessura das raízes e presença de raízes em forma de gancho ou retorcidas.

5.4 Testes de fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e estresse oxidativo em raízes de bulbos de *Allium cepa* L.

5.4.1 Obtenção e enraizamento dos bulbos

Os bulbos de *A. cepa* (cebola) foram obtidos de horta orgânica, cultivados sem inibidores de crescimento e agrotóxicos. Para cada concentração e para o controle com água destilada, foram utilizados cinco bulbos de cebola, os quais foram previamente escarificados para retirada dos catafilos mortos, lavados em água destilada, posteriormente realizou-se um corte longitudinal na parte superior, de cada bulbo (Figura 7).

Figura 7 - Corte longitudinal superior (A) e limpeza dos catafilos mortos (B), nos bulbos de *Allium cepa* L.



Fonte: Autoria própria (2023)

Após a limpeza e manipulação, os bulbos foram colocados em béqueres de vidro de 100 mL (Figura 8), onde permaneceram em contato com seus respectivos tratamentos (concentrações de BP-3 e água destilada), por 120 horas para enraizamento.

Figura 8 - Exemplo de disposição dos bulbos de *Allium cepa* L. para enraizamento



Fonte: Autoria própria (2023)

O mesmo número de repetições de bulbos foi considerado para todos os experimentos com *A. cepa* que foram: fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, estresse oxidativo e ações antioxidantes.

5.4.2 Avaliação da fitotoxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade

As avaliações de toxicidade em *A. cepa* foram realizadas de acordo com Fiskesjö (1985), com modificações.

A fitotoxicidade foi avaliada com base no comprimento das raízes dos bulbos de cada tratamento. Dez raízes de cada bulbo foram medidas usando um paquímetro digital para determinar o comprimento médio da raiz (CR) por tratamento (Equação 5). Outros sinais de toxicidade também foram considerados, como alterações na consistência e coloração das raízes, presença de tumores, raízes em ganchos e retorcidas.

$$CR (cm) = \frac{\text{Soma do comprimento das raízes de cada amostra}}{10} \quad (5)$$

Para avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade raízes de cada bulbo foram coletadas e fixadas em Carnoy 3:1 (metanol: ácido acético) por 24 horas. Após a fixação, as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N e coradas, e suas regiões meristemáticas foram excisadas para montagem de lâminas pela técnica de esmagamento, segundo Herrero *et al.* (2012). As lâminas foram analisadas em microscópio óptico com aumento de 400x.

A citotoxicidade foi estabelecida com base na proliferação das células dos meristemas radiculares, por meio da contagem das células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase, e o Índice Mitótico (IM) foi calculado (Equação 6). De cada bulbo foram contadas 2.000 células, totalizando 10.000 células analisadas por tratamento.

$$IM (\%) = \left(\frac{\text{Total de células em divisão}}{\text{Total de células observadas}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Para cada concentração analisou-se o Índice de Prófase (IP), o qual foi calculado com base no número de prófases observados tecidos meristemáticos

expostos ao tratamento (Equação 7). Para CR, IM e IP de cada concentração foram expressos valores com base na porcentagem para o Co, ao qual foi estabelecido 100%.

$$IP (\%) = \left(\frac{\text{Numero de células em prófase}}{\text{Total de células em divisão}} \right) \times 100 \quad (7)$$

A genotoxicidade foi definida com base no Índice de Alteração Celular (IAC) calculado a partir do número de alterações celulares observadas nos meristemas (Equação 8). De cada bulbo foram analisadas 200 células, totalizando 1.000 células por tratamento. As categorias de células aberrantes consideradas foram micronúcleo, viscosidade, metáfase com quebra cromossômica e ana/telófases anormais, que incluem pontes, cromossomos errantes, quebra cromossômica e fusos multipolares.

$$IAC (\%) = \left(\frac{\text{Total de células alteradas}}{\text{Total de células observadas}} \right) \times 100 \quad (8)$$

5.4.3 Preparação das amostras de raízes para a análise do estresse oxidativo

Pesou-se 50 mg de pontas de raiz de cada bulbo que foram maceradas a frio em uma solução de 1 mL de HCl 0,38% e 2 mL de ácido dietilenotriamina-pentacético (DTPA) 5 mM. As amostras foram centrifugadas a 3.700 rpm por vinte minutos. Uma alíquota de 3 mL do sobrenadante (extrato enzimático) foi coletada e mantida congelada a -26 °C até a análise.

Do extrato enzimático foram analisadas atividades enzimáticas tidas como sensores ambientais que controlam a produção e destruição de espécies reativas de oxigênio em plantas, como a catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), a guaiacol peroxidase (GPOX) e a superóxido dismutase (SOD).

5.4.3.1 Atividade enzimática da catalase (CAT)

Do extrato enzimático, foram utilizados 150 µL em solução de 2 mL de tampão fosfato de potássio (0,5 mM, pH 7,5) e adicionado 0,5 mL de H₂O₂ (1,0 mM) no momento da leitura por espectrofotometria a 240 nm, por dois minutos em intervalos de dois segundos. A atividade da CAT foi determinada de acordo com a

decomposição do peróxido de hidrogênio e calculada pelo coeficiente de extinção de $2,8 \text{ M.cm}^{-1}$, com resultados expressos em $\mu\text{mol/min}/\mu\text{g}$ de proteína, utilizando o método de Kraus, McKersie e Fletcher (1995), com contribuições de Azevedo *et al.* (1998).

5.4.3.2 Atividade enzimática da ascorbato peroxidase (APX)

Foram utilizados 150 μL de extrato enzimático em 2 mL de solução tampão fosfato de sódio (25 mM, pH 7,0, com 0,1 mM de EDTA), 0,5 mL de ascorbato (0,25 mM) e adicionados no momento da leitura 0,5 mL de H_2O_2 (1,0 mM). A atividade enzimática da APX foi determinada por espectrofotometria por dois minutos, com intervalo de dois segundos a 290 nm, e calculada pelo coeficiente de extinção de $2,8 \text{ M.cm}^{-1}$, com resultados expressos em $\mu\text{mol/min}/\mu\text{g}$ de proteína, conforme protocolo de Zhu *et al.* (2004).

5.4.3.3 Atividade enzimática da guaiacol peroxidase (GOPX)

Em solução tampão de 250 μL de fosfato-citrato (fosfato de sódio dibásico 0,2 M e ácido cítrico 0,1 M, com pH 5,0), foi adicionado 150 μL de extrato enzimático e 25 μL de guaiacol (0,5%), misturados em vórtex com 25 μL de solução de H_2O_2 (30%). A solução foi levada à estufa a 30 °C por quinze minutos, adicionou-se 25 μL da solução de meta bissulfito de sódio a 2%, e novamente foi agitada em vórtex, seguindo por repouso de dez minutos. A atividade enzimática da APX foi determinada por espectrofotometria a 450 nm, por um minuto com intervalo de dois segundos. O coeficiente de extinção utilizado para os cálculos foi de $26,6 \text{ M}$ (Matsuno; Uritani, 1972). Com resultados expressos em $\mu\text{mol/min}/\mu\text{g}$ de proteína.

5.4.3.4 Atividade enzimática da superóxido peroxidase (SOD)

Uma solução tampão de 2000 μL de fosfato de potássio (fosfato de potássio dibásico e monobásico, pH 7,5) foi adicionado com 150 μL de extrato enzimático, 50 μL de NTB (Cloro de Azul Nitrotetrazólio), 50 μL de EDTA (0,1 mM), 50 $\mu\text{g/L}$ de metionina e 50 $\mu\text{g/L}$ de riboflavina. O extrato foi preparado em duplicata, sendo metade mantida no escuro e a outra metade exposta a uma lâmpada fluorescente de 80 W por dez minutos. Em seguida, determinado a 560 nm em espectrofotômetro, e

calculado pela diferença entre as amostras mantidas no claro e no escuro. A SOD é expressa em $\text{U} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de proteína, a unidade enzimática necessária para inibir 50% da fotorredução de NBT, segundo Sun, Oberley e Li (1988).

5.5 Avaliação de antioxidantes em raízes de bulbos de *Allium cepa* L.

5.5.1 Preparação das amostras de raízes para análises de atividades antioxidantes

Pesou-se 50 mg de pontas de raiz de cada bulbo que foram maceradas a frio com 3 mL de água destilada. As amostras foram centrifugadas a 3.700 rpm por vinte minutos, em seguida uma alíquota de 3 mL do sobrenadante (homogeneizado de raízes) foi coletada contida o extrato enzimático e mantida congelada a -26°C até ocorrerem as análises.

5.5.1.1 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH

A ação antioxidante do BP-3 nos meristemas de raízes de bulbos foi avaliada segundo Unalan *et al.* (2021), com algumas modificações. Para isso, 0,5 mL de cada homogeneizado de raízes foi adicionado a 1 mL de uma solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) na concentração de 0,00316% (m/V). A mistura foi deixada em repouso no escuro por trinta minutos e então avaliada por espectrofotometria a 515 nm. A capacidade de eliminar o radical DPPH foi usada para determinar a porcentagem de Atividade Antioxidante (AA), calculada pela Equação 9.

$$AA (\%) = \left(\frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100 \quad (9)$$

Onde: A_{controle} é a absorbância da solução DPPH sem a amostra, e A_{amostra} é a absorbância da amostra com o DPPH.

5.5.1.2 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de TBARS

A análise da peroxidação lipídica em amostras de meristemas de raízes foi realizada de acordo com o protocolo de Papastergiadis *et al.* (2012), em que o índice

de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) indica o grau de peroxidação nos tecidos e organismos avaliados. Para isso, utilizou-se 0,5 mL de cada homogeneizado de raízes por amostra e foram adicionados 1 mL de uma solução de TBARS (46 mM) em ácido acético glacial e levado em banho maria a 95 °C por trinta e cinco minutos, seguido de refrigeração a -26 °C e centrifugação à temperatura ambiente por três minutos. Os sobrenadantes obtidos foram avaliados em espectrofotômetro a 532 nm. Através da Equação 10, foi calculada a concentração (C) de TBARS para cada tratamento.

$$C (\mu\text{mol/L}) = \left(\frac{A_{\text{amostra}}}{\varepsilon} \right) \times 1000 \quad (10)$$

Onde: A_{amostra} é a absorbância da amostra com o TBARS e ε é a absorvidade molar do TBARS (155 mmol/L).

5.6 Teste de toxicidade com Tween 80

Segundo Songkro *et al.* (2014), o surfactante Tween® 80, proporcionou a maior microemulsão da BP-3. Assim, antes dos experimentos, a solução de Tween® 80 (concentração 0,11 g/L) utilizada no preparo das diluições de concentrações da BP-3, foi avaliada em sementes *A. cepa*, *L. sativa* e *C. sativus*, utilizando a mesma metodologia dos tratamentos (5.3). Para uma prova concreta sobre os resultados da literatura que indicavam livre de toxicidade, semelhantes aos controles negativos com água destilada.

5.7 Análise estatística

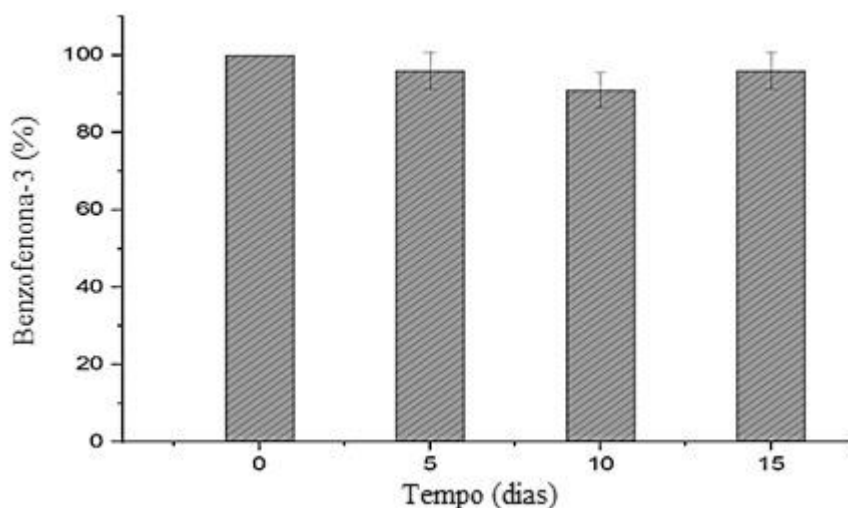
Os dados obtidos pelos bioensaios foram testados quanto à normalidade pelo teste de Lilliefors. A fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, estresse oxidativo e ações antioxidantes nas plantas foram avaliados pela análise de variância de Kruskal-Wallis H, seguida do teste de Dunn ($p \leq 0,05$) usando o *software* Rstudio®, versão 2015.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Percentual de estabilidade da benzofenona-3 no ambiente

Após quinze dias do preparo, a solução estoque de BP-3 permaneceu estável. Os valores de percentual de estabilidade apresentaram-se próximos a 100%, referentes a absorbância no dia zero (Gráfico 1). Algumas pequenas diferenças percentuais observadas entre os dias analisados podem ser associadas a erros intrínsecos da própria análise espectrofotométrica, sendo considerados dentro da margem de erro.

Gráfico 1 - Estabilidade da benzofenona-3, mantida por quinze dias a 25 °C



Fonte: Autoria própria (2023)

6.2 Potencial toxicológico da benzofenona-3 em concentrações ambientais relevantes

O potencial fitotóxico para as três concentrações de BP-3, com exceção a concentração de 200 µg/L em *L. sativa*, não causaram redução na germinação de sementes quando comparadas aos seus respectivos controles. No entanto, todas as concentrações, nas três espécies, causaram Índice de Crescimento Relativo (ICR) entre 0,0 e 0,8 cm, o que caracteriza significativa inibição no alongamento das raízes, com ênfase na maior concentração da BP-3 (Tabela 1).

Ademais, as três concentrações do filtro causaram redução nos Índices de Germinação (IG) das plantas, com destaque na concentração de 200 µg/L. Segundo Mañas e De las Heras (2018), valores de IG ≤ 50% caracterizam alta toxicidade com

potencial em prejudicar significativamente o desenvolvimento da planta, podendo levá-la a morte. Assim, infere-se que a BP-3 nas concentrações de 2, 20 e 200 µg/L foi fitotóxica a *L. sativa*, *C. sativus* e *A. cepa*.

Tabela 1 - Potencial fitotóxico da benzofenona-3 nas concentrações 2, 20 e 200 µg/L, a *Lactuca sativa* L., *Cucumis sativus* L. e *Allium cepa* L., com base nos parâmetros de germinação de sementes (G), índice de crescimento radicular (ICR) e índice de germinação (IG)

<i>Lactuca sativa</i> L.			
BP-3	G/DP (%)	ICR/DP	IG/DP (%)
Co	96,0 ±0,4	1	100
2,0 µg/L	88,0 ±0,6	0,47*	46,9*
20,0 µg/L	72,0 ±0,6	0,31*	40,0*
200,0 µg/L	52,0 ±0,8*	0,36*	40,0*
<i>Cucumis sativus</i> L.			
BP-3	G/DP (%)	ICR/DP	IG/DP (%)
Co	100,0	1	100
2,0 µg/L	100,0	0,46*	46,0*
20,0 µg/L	100,0	0,43*	43,0*
200,0 µg/L	100,0	0,25*	25,0*
<i>Allium cepa</i> L.			
BP-3	G/DP (%)	ICR/DP	IG/DP (%)
Co	98,0	1	100
2,0 µg/L	82,0	0,53*	45,0*
20,0 µg/L	86,0	0,27*	24,8*
200,0 µg/L	80,0	0,24*	20,4*

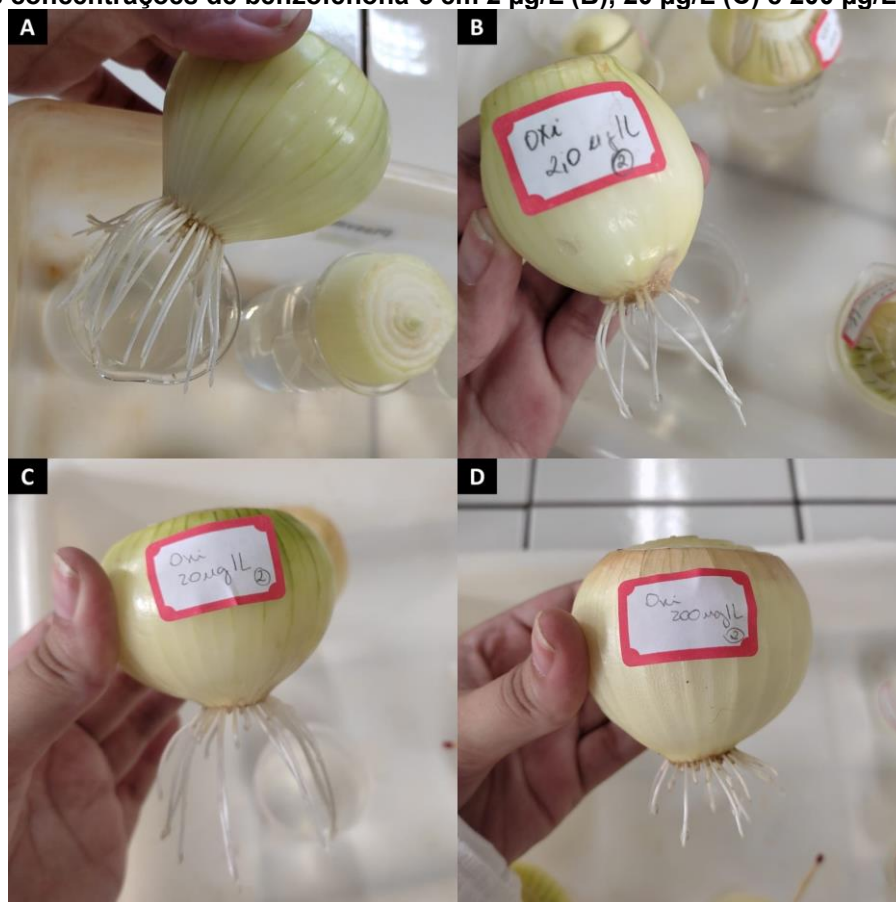
Nota: DP = desvio padrão; Co = Controle (água destilada); * = Indica diferenças significativas em relação ao Co segundo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2023)

As raízes obtidas da exposição das sementes de *L. sativus* e *A. cepa* aos tratamentos nas concentrações 20 e 200 µg/L da BP-3 apresentaram-se demasiadamente finas e com diferenças significativas na germinação. Em razão disto, não foi possível utilizar as raízes de *A. cepa* oriundas das sementes nos testes citogenotóxicos e de estresse oxidativo.

Referente ao alongamento das raízes de bulbos de *A. cepa*, as três concentrações de BP-3 reduziram o alongamento quando comparadas ao controle (Tabela 2), demonstrando fitotoxicidade e corroborando os dados da Tabela 1 com as raízes de *L. sativa*, *C. sativus* e *A. cepa*., também foi possível notar a redução no alongamento das raízes dos bulbos, visualmente (Figura 9).

Figura 9 - Comparação visual entre as raízes dos bulbos de *Allium cepa* L., do controle (A), e as concentrações de benzofenona-3 em 2 µg/L (B), 20 µg/L (C) e 200 µg/L (D)



Fonte: Autoria própria (2023)

Diante dos resultados expostos na Tabela 2, a concentração de 2 µg/L não reduziu a divisão celular quando comparado ao controle. Entretanto, as concentrações 20 e 200 µg/L de BP-3 reduziram significativamente a proliferação celular nos meristemas radiculares, mostrando-se citotóxicas. As três concentrações também induziram um elevado número de prófase aos meristemas radiculares quando comparadas ao controle.

De acordo com Santo *et al.* (2023), o expressivo número de prófases demonstra distúrbios no fuso mitótico que acarretam uma cinética cromossômica anormal e prófases prolongadas, retardando a evolução da mitose.

Tabela 2 - Crescimento radicular relativo (CR), índice mitótico (IM) e índice de prófases (IP) em meristemas radiculares de bulbos de *Allium cepa* L., expostos a concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas

Composto	TR	CR/DP	IM/DP	IP/DP
	Co	100,0 ± 0,5	100,0 ± 0,8	100,0 ± 0,5
BP-3	2,0 µg/L	50,7 ± 0,9*	75,70 ± 0,9	187,0 ± 0,4*
	20,0 µg/L	32,81 ± 0,7*	52,05 ± 0,8*	178,5 ± 0,5*
	200,0 µg/L	17,18 ± 0,6*	50,25 ± 0,7*	175,0 ± 0,7*

Nota: TR = tratamento; DP = desvio padrão; Co: Controle (água destilada); * = Indica diferenças significativas entre as concentrações e os seus respectivos controles, de acordo com Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2023).

O elevado número de prófases explica o fato da concentração 2 µg/L, que não induziu citotoxicidade, ter causado redução significativa no crescimento das raízes, uma vez que, as células entraram em divisão, mas muitas permaneceram em prófase (Tabela 2). Tal condição demonstra a periculosidade da concentração 2 µg/L aos meristemas radiculares.

O retardo na evolução da mitose nas raízes pode comprometer significativamente o desenvolvimento da planta. Segundo Alberts (2017), as células podem atrasar ou interromper temporariamente o ciclo celular em alguns casos para reparar o DNA danificado, ou aguardar condições adequadas, mas em casos extremos, o ciclo celular pode ser interrompido permanentemente.

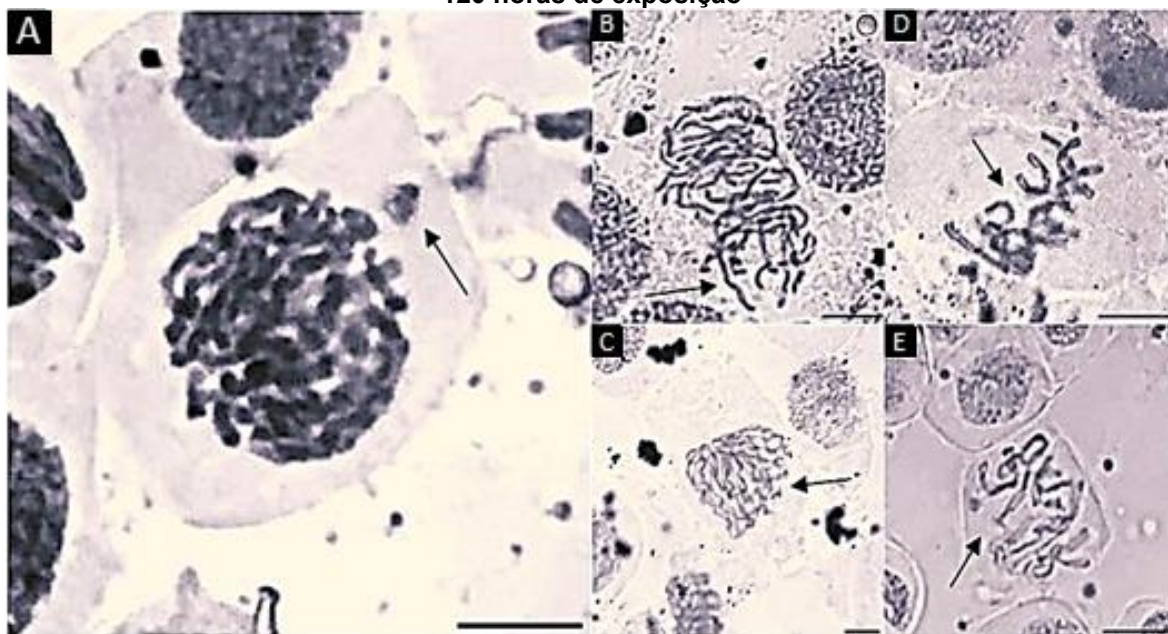
Ademais, a redução significativa na proliferação celular causada pelas concentrações 20 e 200 µg/L (Tabela 2), demonstra que a BP-3 teve potencial em inibir a síntese de DNA e/ou bloquear a finalização da fase G2 na interfase. De acordo com Dias *et al.* (2019) e Ferreira *et al.* (2022) ambas as condições retardam a entrada das células em mitose, demonstrando efeito mitodepressivo. Segundo Alberts (2017), se ocorrer erros durante a replicação do DNA, ou se a replicação for incompleta, o próprio sistema do ciclo celular utiliza um mecanismo que pode retardar a fase M, permanecendo em G2.

O índice mitótico não deve ser inferior a 50% do valor de índice de divisão celular do controle para obter uma análise confiável das alterações celulares (Rank; Nielsen, 1997). Os índices mitóticos observados para as três concentrações de BP-3 atenderam a esse critério (Tabela 1).

Concomitantemente a redução da divisão celular (Tabela 1), as concentrações 20 e 200 µg/L induziram nos meristemas radiculares em frequência significativa, alterações em prófase e metáfase, bem como micronúcleos, mostrando-se genotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa* (Tabela 2, Figura 10).

Se ocorrer alguns danos severos causados no DNA durante o processo de divisão que não forem reparados antes de replica-lo, acarreta em altas taxas de mutações celulares e na produção de células cancerosas. Para que isso não ocorra, as células podem retardar a progressão do ciclo celular em pontos específicos de transição, ou até mesmo interromper o ciclo celular permanentemente (Alberts, 2017).

Figura 10 - Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., obtidas de bulbos expostos às concentrações de 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, em 120 horas de exposição



Nota: A) Micronúcleo, B e C) desarranjos cromossômicos em prófase, D e E) desarranjos cromossômicos em metáfase. A) célula observada em microscópio óptico em objetiva de 100x. B-E: células observadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Barra = 10 µm.

Fonte: Autoria própria (2023).

Os desarranjos cromossômicos em prófase e metáfase, mais uma vez, indicam que a BP-3 apresenta potencial em causar distúrbios na formação do fuso mitótico. Desarranjos cromossômicos em prófase, como os observados no presente estudo, também caracterizam distúrbios na condensação dos cromossomos devido instabilidade no arranjo de histonas e de outras proteínas responsáveis pela condensação das fibras de cromatina (Kurás *et al.*, 2006).

As alterações ocorridas em prófase e metáfase acarretaram perdas cromossômicas e, conseqüentemente, a formação de micronúcleos em frequência significativa, caracterizando efeito aneugênico da BP-3 nas concentrações 20 e 200 µg/L aos meristemas radiculares (Tabela 3).

Assim, demonstram risco iminente das concentrações de 20 e 200 µg/L expostas a raízes, visto que, a inibição da divisão celular associada as alterações celulares observadas têm potencial em causar a morte da planta. Portanto, os resultados de redução do crescimento radicular (Tabelas 1 e 2), os distúrbios ocorridos no ciclo celular (Tabela 2) e as alterações celulares em frequência significativa (Tabela 3) indicam claramente que a BP-3 tem ação direta no material genético das células vegetais.

Tabela 3 - Número, tipos e índices de alterações celulares (IAC) em meristemas radiculares de bulbos de *Allium cepa* L., expostos as concentrações 2, 20 e 200,0 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas

TR	Conc. (µg/L)	Número e tipos de alterações celulares				IAC ± DP (%)
		Micronúcleos	Desarranjos em prófase	Desarranjos em metáfase	Ponte/perda cromossômica em anáfase e/ou telófase	
BP-3	Co	01	n.d.	n.d	01	0,20 ± 0,9
	2,0	02	03	02	00	0,70 ± 0,9
	20,0	34	35	23	n.d.	9,20 ± 0,8*
	200,0	42	52	34	00	12,80 ± 1,0*

Nota: TR = Tratamento; Conc. = Concentração; Co = Controle (água destilada); DP = Desvio Padrão; n.d. = não detectado; * = Indica diferenças significativas entre as concentrações e os seus respectivos controles, de acordo com Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2023).

6.3 Estresse oxidativo nas atividades enzimáticas antioxidantes

Em ecotoxicologia, a utilização de marcadores bioquímicos como ferramentas para a avaliação de risco de produtos químicos, como os poluentes emergentes, tem sido cada vez mais presente para explicar a toxicidade ocorrida nos tecidos frente a esses compostos e entender como os distúrbios nas células são desencadeados (Nascimento *et al.*, 2023).

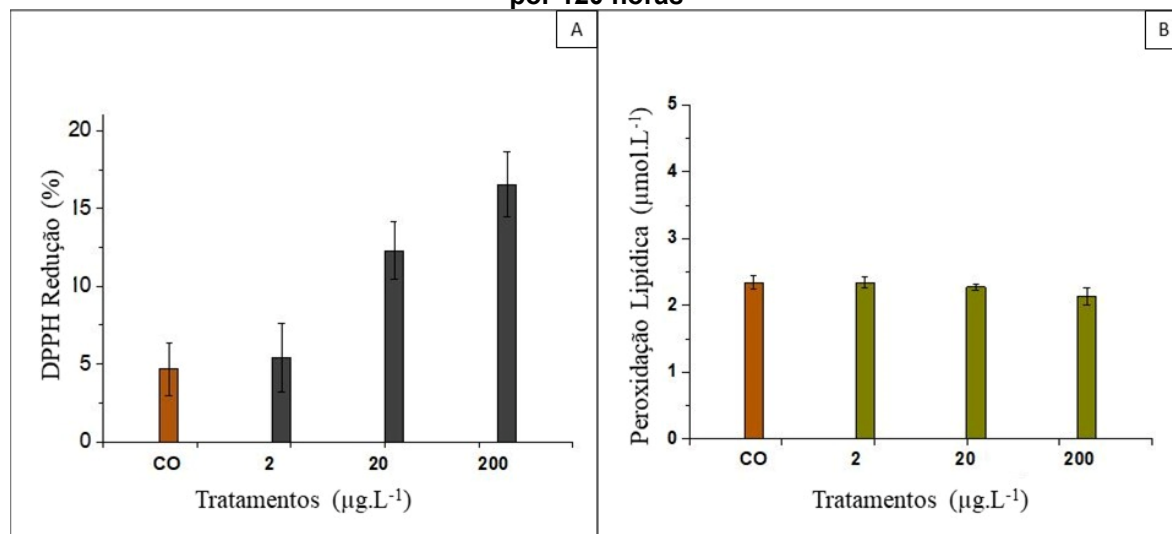
Por meio do ensaio de ações antioxidantes (DPPH), verificou-se que as concentrações 20 e 200 µg/L causaram oxidação nos meristemas elevando a produção de compostos fenólicos nas raízes (Gráfico 2A). O aumento desses compostos demonstrou ativação do sistema de defesa da planta frente a BP-3 nas maiores concentrações avaliadas.

Com base nesse resultado, pode-se inferir que apesar da elevada quantidade de compostos fenólicos, não foi possível livrar os meristemas do estresse oxidativo. Porém, também pode-se sugerir que a quantidade de compostos fenólicos produzidos foi muito alta, uma vez que a BP-3 também é um composto fenólico (Roggia *et al.*, 2014). Se tornou prejudicial causando um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante nas raízes.

Em relação a peroxidação lipídica nos meristemas radiculares, os resultados indicam que não houve relação com a BP-3 (Gráfico 2B). Tal condição foi corroborada pela não atividade da GPOX, uma enzima de proteção à parede celular e membranas celulares (Gráfico 3D).

Dessa forma, a exposição dos meristemas a BP-3 não ocasionou danos a membrana plasmática e as membranas de organelas de alto metabolismo como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Assim, o estresse oxidativo nas células se deu por outra via.

Gráfico 2 - Atividade antioxidante DPPH (A) e peroxidação lipídica (B) em meristemas radiculares de *Allium cepa* L., expostos as concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3, por 120 horas



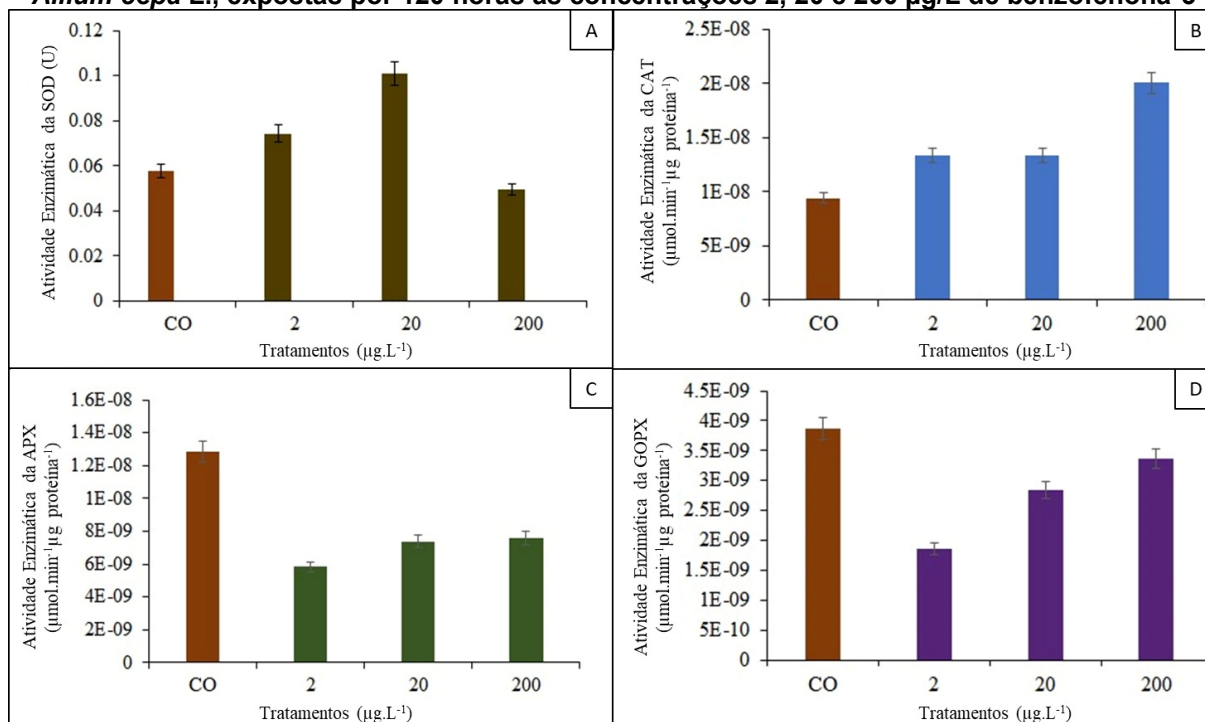
Fonte: Autoria própria (2023)

As enzimas CAT, APX, SOD e GPOX são as mais importantes no sistema fitossanitário em plantas, responsáveis pela homeostase do funcionamento celular (Nascimento *et al.*, 2023; Santo *et al.*, 2023).

Ao avaliar a atividade enzimática nos meristemas radiculares de *A. cepa* expostas a BP-3, observou-se atividade da SOD nas concentrações 2 e 20 µg/L (Gráfico 3A), que associado a inativação da APX (Gráfico 3C) e ativação da CAT (Gráfico 3B), explica a atuação do sistema de defesa de *A. cepa* em relação a formação de H₂O₂.

A reação dos meristemas ao contato com a BP-3 levou a produção de superóxido que por dismutação via SOD, onde foi convertido o O₂ em H₂O₂. De acordo com Anjum *et al.* (2015), Singh *et al.* (2017) e Santo *et al.* (2023), H₂O₂ em excesso nas células tem potencial em interferir no controle da progressão do ciclo celular, na duplicação do DNA, bem como nas fases G1 e G2 da interfase impedindo ou retardando as células a entrarem em mitose. Além de que, pode agir diretamente na organização do fuso mitótico acarretando alterações de fuso e micronúcleos.

Gráfico 3 - Atividade das enzimas superóxido peroxidase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), ascorbato peroxidase (APX) (C) e guaiacol peroxidase (GOPX) (D), em raízes de bulbos de *Allium cepa* L., expostas por 120 horas as concentrações 2, 20 e 200 µg/L de benzofenona-3



Fonte: Autoria própria (2023)

A análise enzimática, mais uma vez, alertou sobre o efeito de 2 µg/L da BP-3 perante as raízes de bulbos de *A. cepa*, pois não há produção de DPPH (Gráfico 2A) e a enzima GOPX fica inibida, assim o sistema de defesa com compostos fenólicos é pouco percebida (Gráfico 3D).

Foi observado que o sistema enzimático apresentou apenas atividade da SOD e inibição da APX. Isso demonstra a capacidade do filtro solar em entrar na célula e se ligar a compostos intracelulares, que nesta concentração não causaram redução da divisão celular e alterações celulares em número significativo, mas não permitiram que a mitose avançasse muito para além da prófase (Tabela 2).

Assim, a não citotoxicidade da concentração 2 µg/L pode induzir a falsa percepção de que somente concentrações maiores de BP-3, como as de 20 e 200 µg/L, são prejudiciais uma vez que podem levar a planta a morte. Porém, as baixas concentrações podem ser altamente prejudiciais uma vez que as plantas podem se subdesenvolver e acumular esse filtro em seus tecidos, transferindo-o via cadeia trófica.

Por outro lado, na concentração 200 µg/L é clara a ineficiência do sistema de defesa da célula, pois os compostos fenólicos triplicam em relação ao controle

(Gráfico 2A), a atividade da SOD é inibida e a atividade da CAT é aumentada (Gráfico 3), causando elevada produção de peróxido de hidrogênio nas células e desencadeando expressiva fitotoxicidade (Tabelas 1 e 2) e citogenotoxicidade (Tabela 2 e 3) nas raízes.

Em um estudo realizados por Gautam *et al.* (2022) com *Eisenia fetida* Sav., verificou-se que após 28 dias de exposição dos animais a BP-3, a concentrações ambientalmente relevantes, os níveis de CAT e SOD se elevaram e altos níveis de H_2O_2 foram produzidos nos tecidos das minhocas. Esta condição afetou significativamente a reprodução e a homeostase dos organismos causando distúrbios na formação de casulos e morte dos animais.

Gao *et al.* (2013) também verificaram estresse oxidativo da BP-3 a protozoários *Tetrahymena thermophila* na concentração de 1 $\mu g/L$, com elevação expressiva das enzimas CAT e SOD, bem como alta produção de H_2O_2 , o que causou alterações comportamentais e a morte dos organismos.

Velanganni e Miltonprabu (2021) apresentam a verificação do estresse oxidativo em peixes *Danio rerio*, aos quais foram expostos a BP-3 por 45 dias. Apesar de não ter ocasionado a morte dos peixes, o filtro solar causou estresse oxidativo no qual se verificou elevada produção de H_2O_2 nas brânquias, com alteração significativa na fisiologia respiratórias dos animais.

Dessa forma, os resultados observados para animais e protozoários corroboram com os resultados de estresse oxidativo observados em plantas, pois a fitotoxicidade e a citogenotoxicidade observadas foram em decorrência de estresse oxidativo, no qual se observou elevação de H_2O_2 nos meristemas radiculares.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo revela descobertas importantes sobre os efeitos da BP-3 em espécies vegetais. Nas concentrações analisadas de 2, 20 e 200 µg/L, a BP-3 provou ser fitotóxica para as espécies bioindicadoras *L. sativa*, *C. sativus* e *A. cepa*. Embora a concentração de 2 µg/L não tenha se mostrado citotóxica aos bulbos de *A. cepa*, ambas as concentrações induziram um grande número de eventos de prófase nos meristemas radiculares. Já as concentrações de 20 e 200 µg/L induziram alterações em prófase e metáfase, juntamente com micronúcleos, demonstrando genotoxicidade.

A BP-3 também causou oxidação nos meristemas radiculares, provocando a ativação no sistema de defesa da planta contra compostos fenólicos em concentrações mais elevadas. Entretanto as análises enzimáticas ressaltam a preocupação com a concentração de 2 µg/L, pois o sistema de defesa da planta sequer foi ativado. Assim, pode-se concluir que a fitotoxicidade e citogenotoxicidade referentes as três concentrações da BP-3 é decorrente do estresse oxidativo causado pelo aumento de peróxido de hidrogênio nos meristemas radiculares da planta.

Os resultados destacam um risco ambiental considerável associado a BP-3 em concentrações ambientais relevantes. Indicando a necessidade de regulamentações mais específicas para controlar a presença de BP-3 em produtos de consumo e descarte adequado, bem como a importância de uma aplicação rigorosa das leis ambientais existentes. Essas descobertas fornecem subsídios para repensar as políticas ambientais, especialmente no que diz respeito a poluentes emergentes, e sugerem a importância de estudos futuros que avaliem os riscos ecológicos associados aos filtros solares contendo BP-3.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. O ciclo da divisão celular. *In: Fundamentos da biologia celular*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 18, p. 603-644. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582714065/pageid/1>. Acesso em: 14 jul. 2023.
- ALMEIDA, L. M.; BAILÃO, E. F. L. C.; CAMILO-COTRIM, C. F.; SOARES, R. R.; GARCIA, F. F.; PAULA, M. I. M.; LIMA, G. G. Conservação e monitoramento ambiental utilizando *Allium cepa* como indicadora de poluição das águas superficiais: Uma revisão narrativa. *In: OLIVEIRA, R. J. Águas e florestas: Desafios para conservação e utilização*. Científica, 2021. cap. 11, p. 174-191. Disponível em: <https://doi.org/10.37885/978-65-89826-21-7>. Acesso em: 11 maio 2022.
- ANJUM, N. A.; SOFO, A.; SCOPA, A.; ROYCHOUDHURY, A.; GILL, S. S.; IQBAL, M.; LUKATKIN, A. S.; PEREIRA, E.; DUARTE, A. C.; AHMAD, I. Lipids and proteins: Major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 4099-4121, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3917-1>. Acesso em: 31 maio 2023.
- AZEVEDO, A. C. R. **Técnicas de remoção de micropoluentes emergentes presentes na água: Uma revisão sistemática**. 2021. 28 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2021. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/15672>. Acesso em: 25 maio 2023.
- AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, ed. 2, p. 280-292, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>. Acesso em: 1 mar. 2023.
- BAEK, J. H.; KIM, K. H.; LEE, Y.; JEONG, S. E.; JIN, H. M.; JIA, B.; JEON, C. O. Elucidating the biodegradation pathway and catabolic genes of benzophenone-3 in *Rhodococcus* sp. S2-17. **Environmental Pollution**, v. 299, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118890>. Acesso em: 17 nov. 2022.
- BIRUK, L. N.; MORETTON, J.; IORIO, A. F.; WEIGANDT, C.; ETCHEVERRY, J.; FILIPPETO, J.; MAGDALENO, A. Toxicity and genotoxicity assessment in sediments from the Matanza-Riachuelo river basin (Argentina) under the influence of heavy metals and organic contaminants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 302-311, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.09.024>. Acesso em: 1 mar. 2023.
- BRASIL. **Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981**. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulações e aplicação, e dá outras providências. Brasília: Casa Civil, 1981. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6938compilada.htm. Acesso em: 15 ago. 2023.

BRASIL. **Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997**. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Brasília: Casa Civil, 1997. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9433.htm. Acesso em: 13 ago. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 600, de 9 de fevereiro de 2022**. Dispõe sobre o regulamento técnico Mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. [Brasília]: [MS], 2022. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6391620/RDC_600_2022_.pdf/f3c5718c-d16b-45b2-8ac6-b4ea8597d891. Acesso em: 20 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021**. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade [Brasília]: [MS], 2021. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html. Acesso em: 18 ago. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. [Brasília]: [MMA], 2011. Disponível em: http://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=627. Acesso em: 22 ago. 2023.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.018>. Acesso em: 25 abr. 2022.

CARGNELUTTI, D. **Efeito do mercúrio no estresse oxidativo, na atividade da delta-ala-d e no crescimento de plântulas de pepino**. 2007. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/11152>. Acesso em: 4 set. 2023.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. 2. ed. São Paulo: Pórtico, 1969. 305 p.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. **Química nova**, v. 30, ed. 2, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200036>. Acesso em: 4 set. 2023.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, M.; BADOT, P. M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, ed. 7, p. 2057-2064, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.025>. Acesso em: 4 set. 2023.

COSTA, D. A. **Efeitos de protetores solares comerciais na sobrevivência, reprodução e desenvolvimento embrionário de caramujo *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818)**. 2019. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/35259>. Acesso em: 4 maio 2022.

DIAS, W. L. F.; VALE JUNIOR, E. P.; OLIVEIRA, M. D. A.; BARBOSA, Y. L. P.; SILVA, J. N.; COSTA JUNIOR, J. S.; ALMEIDA, P. M.; MARTINS, F. A. Cytogenotoxic effect, phytochemical screening and antioxidant potential of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill leaves. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 30-35, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.007>. Acesso em: 14 jul. 2023.

DOMÍNGUEZ-MORUECO, N.; MORENO-MERINO, L.; MOLINS-DELGADO, D.; DIÁZ-CRUZ, M. S.; AZNAR-ALEMANY, O.; ELJARRAT, E.; FARRÉ, M.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.; ALDA, M. L.; SILVA, A.; VALSERO, J. J. D.; VALCÁRCEL, Y. Anthropogenic contaminants in freshwater from the northern Antarctic Peninsula region. **Ambio: A Journal of Environment and Society**, v. 50, p. 544-559, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01404-x>. Acesso em: 6 mar. 2023.

DOWNS, C. A.; KRAMARSKY-WINTER, E.; SEGAL, R.; FAUTH, J.; KNUTSON, S.; BRONSTEIN, O.; CINER, F. R.; JEGER, R.; LICHTENFELD, Y.; WOODLEY, C. M.; PENNINGTON, P.; CADENAS, K.; KUSHMARO, A.; LOYA, Y. Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, p. 265-288, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0227-7>. Acesso em: 19 jul. 2023.

DU, Y.; WANG, W. Q.; PEI, Z. T.; AHMAD, F.; XU, R. R.; ZHANG, Y. M.; SUN, L. W. Acute toxicity and ecological risk assessment of Benzophenone-3 (BP-3) and Benzophenone-4 (BP-4) in ultraviolet (UV)-filters. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, ed. 11, p. 1-15, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph14111414>. Acesso em: 24 out. 2022.

EKPEGHERE, K. I.; KIM, U. J.; O, S. H.; KIM, H. Y.; OH, J. E. Distribution and seasonal occurrence of UV filters in rivers and wastewater treatment plants in Korea. **Science of The Total Environment**, v. 542, p. 121-128, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.033>. Acesso em: 17 mar. 2023.

FANIA, L.; SAMPOGNA, F.; RICCI, F.; HYERACI, M.; PARADISI, A.; PALESE, E.; LELLA, G. D.; PALLOTTA, S.; PANEBIANCO, A.; CANDI, E.; DELLAMBRA, E.;

ABENI, D. Systemic photoprotection in skin cancer prevention: Knowledge among dermatologists. **Nicotinamide in Health and Diseases**, v. 11, ed. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom11020332>. Acesso em: 13 fev. 2023.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p. *E-book*. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/335078531_Germinacao_Do_basico_ao_aplicado. Acesso em: 7 ago. 2023.

FERREIRA, P. M. P.; SOUSA, I. J. O.; MACHADO, K. N.; SILVA NETO, L. A.; FREITAS, M. M.; SANTOS, I. L.; RODRIGUES, D. C. N.; SOUSA, R. W. R.; REIS, A. C. Antimitotic and toxicogenetic action of *Stevia urticifolia* aerial parts on proliferating vegetal and mammalian cells: in vitro and in vivo traditional and replacement methods. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 85, ed. 18, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2081640>. Acesso em: 7 ago. 2023.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, ed. 1, p. 99-112, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>. Acesso em: 3 maio 2022.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química nova**, v. 30, ed. 1, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100027>. Acesso em: 6 mar. 2023.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, ed. 3, p. 355-364, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00223.x>. Acesso em: 21 ago. 2023.

GAGO-FERRERO, P.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 84, ed. 8, p. 1158-1165, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.003>. Acesso em: 6 mar. 2023.

GAO, L.; YUAN, T.; ZHOU, C.; CHENG, P.; BAI, Q.; AO, J.; WANG, W.; ZHANG, H. Effects of four commonly used UV filters on the growth, cell viability and oxidative stress responses of the *Tetrahymena thermophila*. **Chemosphere**, v. 93, ed. 10, p. 2507-2513, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.041>. Acesso em: 13 jun. 2022.

GAUTAM, K.; SETH, M.; DWIVEDI, S.; JAIN, V.; VAMADEVAN, B.; SINGH, D.; ROY, S. K.; DOWNS, C. A.; ANBUMANI, S. Soil degradation kinetics of oxybenzone (Benzophenone-3) and toxicopathological assessment in the earthworm, *Eisenia fetida*. **Environmental Research**, v. 213, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113689>. Acesso em: 12 abr. 2023.

GHAZIPURA, M.; MCGOWAN, R.; ARSLAN, A.; HOSSAIN, T. Exposure to benzophenone-3 and reproductive toxicity: A systematic review of human and animal

studies. **Reproductive Toxicology**, v. 73, p. 175-183, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.08.015>. Acesso em: 17 nov. 2022.

GILBERT, E.; PIROT, F.; BERTHOLLE, V.; ROUSSEL, L.; FALSON, F.; PADOIS, K. Commonly used UV filter toxicity on biological functions: Review of last decade studies. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 35, ed. 3, p. 208-219, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ics.12030>. Acesso em: 13 mar. 2023.

GODINHO, M. M.; HOSSY, B. H.; NIEMEYER-CORBELLINI, J. P.; SILVA, M. R. Perfil dos filtros solares utilizados nos fotoprotetores no Brasil. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 9, n. 3, p. 243-246, 2017. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265553579009>. Acesso em: 4 out. 2022.

GUEVARA, M. D.; MELLO, A. G.; CORREA, E. K.; GUEDES, H. A. S. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. Phytotoxicity in domestic wastewater using seeds as bioindicators. **Revista DAE**, v. 67, n. 216, p. 44-51, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/dae.2019.014>. Acesso em: 6 set. 2023.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. **Oxford University Press**, ed. 5, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>. Acesso em: 5 jun. 2023.

HEFFERNAN, A. L.; BADUEL, C.; TOMS, L. M. L.; CALAFAT, A. M.; YE, X.; HOBSON, P.; BROOMHALL, S.; MUELLER, J. F. Use of pooled samples to assess human exposure to parabens, benzophenone-3 and triclosan in Queensland, Australia. **Environment International**, v. 85, p. 77-83, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.001>. Acesso em: 6 mar. 2023.

HERRERO, O.; MARTÍN, J. M.; FREIRE, P. F.; LÓPEZ, L. C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environment Mutagenesis**, v. 743, n. 1-2, p. 20-24, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>. Acesso em: 19 ago. 2022.

IM, H.; ACHAR, J. C.; SHIM, T.; JUNG, J. Elevated temperature alleviates benzophenone-3 toxicity in *Daphnia magna*. **Aquatic Toxicology**, v. 242, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106047>. Acesso em: 22 maio 2023.

KIM, J. Y. U. **Degradação de filtros solares selecionados, ureia e desinfecção de água de piscina por fotoeletrocatalise combinado com ozonização**. 2018. Dissertação (Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=5817284. Acesso em: 6 mar. 2023.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: A mini-review. **Environment International**, v. 70, p. 143-157, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.015>. Acesso em: 9 maio 2022.

KIM, S.; JUNG, D.; KHO, Y.; CHOI, K. Effects of benzophenone-3 exposure on endocrine disruption and reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*): A two generation exposure study. **Aquatic Toxicology**, v. 155, p. 244-252, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.07.004>. Acesso em: 11 abr. 2023.

KINBERG, K. L.; PETERSEN, G. I.; ALBREKTSEN, M.; MINGHLANI, M.; AWAD, S. M.; HOLBECH, B. F.; GREEN, J. W.; BJERREGAARD, P.; HOLBECH, H. Endocrine-disrupting effect of the ultraviolet filter benzophenone-3 in zebrafish, *Danio rerio*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, ed. 12, p. 2833-2840, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.3129>. Acesso em: 21 nov. 2022.

KRAUS, T. E.; MCKERSIE, B. D.; FLETCHER, R. A. Paclobutrazol-induced Tolerance of Wheat Leaves to Paraquat May Involve Increased Antioxidant Enzyme Activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 145, ed. 4, p. 570-576, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81790-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81790-6). Acesso em: 1 mar. 2023.

KURÁS, M.; NOWAKOSKA, J.; SLIWINSKA, E.; PILARSKI, R.; ILASZ, R.; TYKARSKA, T.; ZOBEL, A.; GULEWICZ, K. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* Test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, ed. 2, p. 211-221, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.018>. Acesso em: 7 ago. 2023.

LEE, S. H.; XIONG, J. Q.; RU, S.; PATIL, S. M.; KURADE, M. B.; GOVINDWAR, S. P.; OH, S. E.; JEON, B. H. Toxicity of benzophenone-3 and its biodegradation in a freshwater microalga *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 389, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122149>. Acesso em: 30 set. 2022.

LELES, D. **Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa***. 2017. 43 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/140/o/TCC_2_-_DENISE_LELES.pdf. Acesso em: 11 mar. 2022.

LIMA, D. R. S.; TONUCCI, M. C.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S. F. Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1043-1054, 2017. Disponível em: <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/10380>. Acesso em: 10 abr. 2023.

LI, M. H. Acute toxicity of benzophenone-type UV filters and paraben preservatives to freshwater planarian, *Dugesia japonica* Mei-Hui Li. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 49, ed. 3, p. 566-573, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02772248.2012.655695>. Acesso em: 4 set. 2023.

LI, Y.; ZHU, Q.; LI, G.; ZHOU, Q.; LIANG, Y.; LIAO, C.; JIANG, G. Concentration profiles of a typical ultraviolet filter benzophenone-3 and its derivatives in municipal sewage sludge in China: Risk assessment in sludge-amended soil. **Science of The Total Environment**, v. 811, 2022. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152329>. Acesso em: 19 abr. 2023.

LI, Z. M.; KANNAN, K. Comprehensive Survey of 14 Benzophenone UV Filters in Sunscreen Products Marketed in the United States: Implications for Human Exposure. **Environmental Science and Technology**, v. 56, ed. 17, p. 12473-12482, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c03885>. Acesso em: 3 out. 2022.

LOPES, F. M.; CRUZ, R. O.; BATISTA, K. A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 4, p. 183-199, 2012. Disponível em: <https://ensaioseciencia.pgsskroton.com.br/article/view/2780>. Acesso em: 10 maio 2022.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27395>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MANAIA, E. B.; KAMINSKI, R. C. K.; CORRÊA, M. A.; CHIAVACCI, L. A. Inorganic UV filters. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, ed. 2, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000200002>. Acesso em: 1 mar. 2023.

MAÑAS, P.; DE LAS HERAS, J. Phytotoxicity test applied to sewage sludge using *Lactuca sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. **International Journal of Environmental Science & Technology**, v. 15, ed. 2, p. 273-280, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1386-z>. Acesso em: 16 maio 2023.

MANCEBO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. Sunscreens: A review of health benefits, regulations, and controversies. **Dermatologic Clinics**, v. 32, ed. 3, p. 427-438, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.det.2014.03.011>. Acesso em: 4 out. 2022.

MAO, F.; HE, Y.; KUSHMARO, A.; GIN, K. Y. H. Effects of benzophenone-3 on the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Aquatic Toxicology**, v. 193, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.029>. Acesso em: 10 jul. 2023.

MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: Em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 66, n. 3, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>. Acesso em: 16 ago. 2023.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v.

13, ed. 6, p. 1091-1101, 1972. Disponível em:
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a074815>. Acesso em: 1 mar. 2023.

MAVERAKIS, E.; MIYAMURA, Y.; BOWEN, M. P.; CORREA, G.; ONO, Y.; GOODARZI, H. Light, including ultraviolet. **Journal of Autoimmunity**, v. 34, ed. 3, p. J247-J257, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.11.011>. Acesso em: 3 mar. 2023.

MENDES, B. G.; BUDZIAK, D.; STOLBERG, J.; PEIXER, Z. I.; DALMARCO, J. B.; SIMIONATTO, E. L.; PEDROSA, R. C.; FELIPE, K. B.; OGAWA, J.; PEGORARO, C.; SCHEFFER, L.; BESEN, M. R.; OLIVEIRA, L. J. G. G.; GEREMIAS, R. Estudo da qualidade das águas do rio Marombas (SC/Brasil), utilizando parâmetros físico-químicos e bioensaios. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 5, n. 2, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18316/260>. Acesso em: 4 set. 2023.

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_137. Acesso em: 21 ago. 2023.

MORRIS, A. A.; ZHAO, L.; PATEL, R. S.; JONES, D. P.; AHMED, Y.; STOYANOVA, N.; GIBBONS, G. H.; VACCARINO, V.; DIN-DZIETHAM, R.; QUYYUMI, A. A. Differences in systemic oxidative stress based on race and the metabolic syndrome: The morehouse and emory team up to Eliminate Health Disparities (META-Health) study. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 10, n. 4, p. 252-259, 2012. Disponível em: <http://doi.org/10.1089/met.2011.0117>. Acesso em: 16 ago. 2023.

NA, J.; SONG, J.; ACHAR, J. C.; JUNG, J. Synergistic effect of microplastic fragments and benzophenone-3 additives on lethal and sublethal *Daphnia magna* toxicity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 402, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123845>. Acesso em: 22 fev. 2023.

NASCIMENTO, G. C. S. G.; DUSMAN, E.; GONZALEZ, R. S.; NICOLA, J. V.; MOURA, M. A. S.; OLIVEIRA, K. M.; OLIVEIRA, A. K. G.; BRESSANI, P. A.; SANTO, D. E.; FILIPI, A. C. K.; GOMES, E. M. V.; POKRYWIECKI, J. C.; SOUZA, D. C.; PERON, A. P. Toxicity of methylparaben and its chlorinated derivatives to *Allium cepa* L. and *Eisenia fetida* Sav. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, ed. 20, p. 57850-57861, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26539-8>. Acesso em: 5 jun. 2023.

NEGREIROS NETO, L. G. **A física das radiações: uma abordagem sobre suas aplicações na medicina**. 2021. 79 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Física) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2021. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/21790>. Acesso em: 2 mar. 2023.

NIETO, A.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M.; POCURULL, E. Determination of personal care products in sewage sludge by pressurized liquid extraction and ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, ed. 30, p. 5619-5625, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.05.061>. Acesso em: 6 mar. 2023.

OECD. Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. Test n. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Paris, v. 2, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264070066-en>. Acesso em: 8 mar. 2022.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Guidelines for Drinking-water Quality**. 4. ed. Geneva: WHO Word Health Organization, 2011. 564 p. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>. Acesso em: 14 abr. 2023.

PAPASTERGIADIS, A.; MUBIRU, E.; LANGENHOVE, H. V.; MEULENAER, B. D. Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, ed. 38, p. 9589-9594, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf302451c>. Acesso em: 2 mar. 2023.

PARVAN, L. G.; LEITE, T. G.; FREITAS, T. B.; PEDROSA, P. A. A.; CALIXTO, J. S.; AGOSTINHO, L. A. Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223202000544>. Acesso em: 2 maio 2022.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; COELHO, L. H. G.; HANISCH, W. S.; MORETTO, M. R. D.; BENASSI, R. F. Phytotoxicological assessment and its relationship with environmental variables of Rio Grande Reservoir waters (São Paulo State, Brazil). **Advances in environmental engineering**, v. 24, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2236117062687>. Acesso em: 5 set. 2023.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. *Allium cepa* anaphase–telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 390, ed. 1-2, p. 121-127, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00008-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00008-6). Acesso em: 24 maio 2023.

RIBEIRO, R. P.; SANTOS, V. M.; MEDEIROS, E. C.; SILVA, V. A.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Avaliação do fator de proteção (FPS) in vitro de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 7-8, p. 85-88, 2004. Disponível em: <https://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=320>. Acesso em: 6 jun. 2023.

RICARDO, I. A.; PANIAGUA, C. E. S.; ALBERTO, E. A.; STARLING, M. C. V. M.; AGÜERA, A.; TROVÓ, A. G. A critical review of trends in advanced oxidation processes for the removal of benzophenone-3, fipronil, and propylparaben from aqueous matrices: Pathways and toxicity changes. **Journal of Water Process**

Engineering, v. 49, 2022. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102973>. Acesso em: 5 jun. 2023.

RODIL, R.; SCHRADER, S.; MOEDER, M. Non-porous membrane-assisted liquid–liquid extraction of UV filter compounds from water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, ed. 24, p. 4887–4894, 2009. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.042>. Acesso em: 8 fev. 2023.

ROGGIA, I.; FERRONY, D.; ALVES, M. P.; LAPORTA, L. V.; FRIEDRICH, M.; SANTOS, M. R.; RUBIM, A.; PEIXOTO, S. C.; PAESE, K. Validação de metodologia analítica para a determinação de benzofenona-3 nanoencapsulada incorporada em creme gel e estudo da estabilidade físico química. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, p. 223-232, 2016. Disponível em:
<https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/134>. Acesso em: 4 abr. 2022.

SAMPAIO, L. **Shedding light sobre a toxicidade de mistura de poluentes na biota aquática vegetal**: Um estudo envolvendo *Allium cepa* L. 2021. 48 p. Dissertação (Pós-graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) - Instituto Federal Goiano, Urataí, 2021. Disponível em:
<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/2140>. Acesso em: 3 out. 2022.

SANTO, D. E.; DUSMAN, E.; GONZALEZ, R. S.; ROMERO, A. L.; NASCIMENTO, G. C. S. G.; MOURA, M. A. S.; BRESSIANI, P. A.; FILIPI, A. C. K.; GOMES, E. M. V.; POKRYWIECKI, J. C.; MEDEIROS, F. V. S.; SOUZA, D. C.; PERON, A. P. Prospecting toxicity of octocrylene in *Allium cepa* L. and *Eisenia fetida* Sav. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 8257-8268, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22795-2>. Acesso em: 19 maio 2023.

SANTOS, E. P.; GARCIA, S.; FREITAS, Z. M. F.; BARTH, A. L. Avaliação fotobiológica de uma mistura de filtros solares. **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 71-76, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v2i2.489>. Acesso em: 3 mar. 2023.

SINGH, S.; TRIPATHI, D. K.; SINGH, S.; SHARMA, S.; DUBEY, N. K.; CHAUHAN, D. K.; VACULÍK, M. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 177-193, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.005>. Acesso em: 31 maio 2023.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 368, ed. 3-4, p. 171-179, 1996. Disponível em:
[https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90059-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90059-2). Acesso em: 20 mar. 2023.

SOARES, A. F. S.; SOUZA, L. P. S. Contaminação das águas de abastecimento público por poluentes emergentes e o direito à saúde. **Revista de Direito Sanitário**, v. 20, n. 2, p. 100-133, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9044.v20i2p100-133>. Acesso em: 6 fev. 2023.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. In: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo**: La experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008. p. 55-68. Disponível em: http://centro.paot.org.mx/documentos/semarnat/ensayo_toxicologico.pdf. Acesso em: 5 set. 2023.

SONGKRO, S.; LO, N. L.; TANMANEE, N.; MANEENUAN, D.; BOONME, P. In vitro release, skin permeation and retention of benzophenone-3 from microemulsions (o/w and w/o). **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 24, ed. 6, p. 703-711, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(14\)50140-2](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(14)50140-2). Acesso em: 5 set. 2022.

SOUZA JUNIOR, T. P.; PEREIRA, B. Exercício físico intenso como pró-oxidante: mecanismos de indução de estresse oxidativo e consequências. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 16, n. 3, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.18511/rbcm.v16i3.907>. Acesso em: 4 set. 2023.

STROBEL, N. A.; FASSETT, R. G.; MARSH, S. A.; COOMBES, J. S. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. **International Journal of Cardiology**, v. 147, ed. 2, p. 191-201, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.08.008>. Acesso em: 16 ago. 2023.

SUN, Y.; OBERLEY, L. W.; LI, Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. **Clinical Chemistry**, v. 34, ed. 3, p. 497-500, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>. Acesso em: 1 mar. 2023.

SWITALA, J.; LOEWEN, P. C. Diversity of properties among catalases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 401, ed. 2, p. 145-154, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(02\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(02)00049-8). Acesso em: 18 ago. 2023.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Arquitetura da Célula e do Vegetal. In: **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 1, p. 1-50. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582713679/pageid/1>. Acesso em: 7 ago. 2023.

TSUI, M. M. P.; LEUNG, H. W.; LAM, P. K. S.; MURPHY, M. B. Seasonal occurrence, removal efficiencies and preliminary risk assessment of multiple classes of organic UV filters in wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 53, p. 58-67, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.014>. Acesso em: 6 mar. 2023.

UNALAN, I.; FUGGERER, T.; SLAVIK, B.; BUETTNER, A.; BOCCACCINI, A. R. Antibacterial and antioxidant activity of cinnamon essential oil-laden 45S5 bioactive glass/soy protein composite scaffolds for the treatment of bone infections and oxidative stress. **Materials Science and Engineering: C**, v. 128, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112320>. Acesso em: 2 mar. 2023.

USEPA. Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Ecological effects test guidelines: 850.4200 Seed germination/ root elongation toxicity test. **Oppts Eco-Effect Guide**, 1996. Disponível em:

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?Lab=ORD&dirEntryID=47927. Acesso em: 9 mar. 2022.

VALERIO, M. E.; GARCÍA, J. F.; PEINADO, L. M. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Science of The Total Environment**, v. 378, ed. 1-2, p. 63-66, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.007>. Acesso em: 5 set. 2023.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, ed. 2, p. 57-149, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6). Acesso em: 1 ago. 2023.

VELANGANNI, S.; MILTONPRABU, S. Effect of benzophenone-3 at the environmentally relevant concentration on the liver of zebra fish (*Danio rerio* (Hamilton)). **International Journal of Ecology and Environmental Sciences**, v. 2, ed. 4, p. 640-646, 2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/348677984>. Acesso em: 16 mar. 2023.

VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S.; SILVEIRA, S. M. Compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 4, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5965/24473650412018111>. Acesso em: 28 ago. 2023.

VISANJI, Z.; SADR, S. M. K.; MEMON, F. A. An implementation of a decision support tool to assess treatment of emerging contaminants in India. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 10, n. 4, p. 422-440, 2018. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=84268>. Acesso em: 10 maio 2022.

YE, Z.; STETER, J. R.; CENTELLAS, F.; CABOT, P. L.; BRILLAS, E.; SIRÉS, I. Photoelectro-Fenton as post-treatment for electrocoagulated benzophenone-3-loaded synthetic and urban wastewater. **Journal of Cleaner Production**, v. 208, p. 1393-1402, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.181>. Acesso em: 6 mar. 2023.

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 182-186, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.09.019>. Acesso em: 1 mar. 2023.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v. 167, ed. 3, p. 527-533, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.020>. Acesso em: 1 mar. 2023.