

UNIVERSIDADE TECNÓLOGICA FEDERAL DO PARANÁ

YORRANNYS MANNES

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE
MICROPARTÍCULAS DE ESPUMA DE POLIURETANO E *Luffa cylindrica* PARA
USO DOMÉSTICO**

CURITIBA

2023

YORRANNYS MANNES

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE
MICROPARTÍCULAS DE ESPUMA DE POLIURETANO E *Luffa cylindrica* PARA
USO DOMÉSTICO**

**CHARACTERIZATION AND ECOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF
MICROPARTICLES FROM POLYURETHANE FOAM AND *Luffa cylindrica* FOR
DOMESTIC USE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.
Área de Concentração: Tecnologias e Processos Ambientais.

Linha de Pesquisa: Monitoramento e Gestão Ambiental

Orientadora: Profa. Dra. Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata

Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Regina Kloss

CURITIBA

2023



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

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, **desde que sejam atribuídos os devidos créditos pela criação original.**



YORRANNYS MANNES

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE MICROPARTÍCULAS DE ESPUMA DE POLIURETANO E LUFFA
CYLINDRICA PARA USO DOMÉSTICO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciência E Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias E Processos Ambientais.

Data de aprovação: 28 de Fevereiro de 2023

Dra. Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Izonete Cristina Guiloski, Doutorado - Instituto de Pesquisa Pele Pequeno Príncipe - Ipppp

Dra. Juliana Regina Kloss, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Walter Ruggeri Waldman, Doutorado - Universidade Federal de São Carlos (Ufscar)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/04/2023.

Aos meus pais, Dolores e Jonas.

Por sempre acreditarem no meu potencial e por todo o esforço para assegurar minha educação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, fonte de toda existência, por ter me privilegiado com essa oportunidade e ter me agraciado em conhecer e conviver com pessoas extraordinárias.

Agradeço meus pais, Dolores e Jonas, por todo amor, compreensão, suporte, sacrifícios, conselhos e por serem meus exemplos de conduta e ética. Sou grato pela minha “boadrasta” Aghacelly, minha segunda mãe, que sempre me incentivou, apoiou, aconselhou, deu suporte e carinho. Agradeço pela minha quase vó, dona Silvana, pelos momentos de filosofia, lições de vida e risadas. As minhas tias e tios: Elvira, Clarete, Ricardo e Edna. Aos Primos e primas: Franciele, Jaqueline, Helder e Josiane. A minha querida vó, Doralice, pelas orações, conselhos, estímulo, amor e sinceridade, sei que está me acompanhando no céu.

A minha orientadora, minha mãe acadêmica, Prof^a. Wanessa, por ser um exemplo de profissional e pessoa. Me lapidou desde de minha primeira iniciação científica e abriu as portas dessa linha de pesquisa fantástica que é a Ecotoxicologia. Obrigado por todos os ensinamentos, confiança, paciência, parceria, conselhos, comemorações e por sempre me tranquilizar nos momentos difíceis.

A minha coorientadora, Prof^a Juliana, por compartilhar sua vasta experiência. Sua animação, estímulo e pontualidade alemã foram importantes para o desenvolvimento do trabalho. Obrigado pelas discussões científicas, ideias, puxões de orelha (principalmente com os prazos) e comemorações.

A equipe Ecotox, integrantes do Laboratório de Ecotoxicologia, com os quais aprendi muito e desenvolvi uma grande amizade, desde os primeiros integrantes que tive contato: Giovani, Juliana, Monike, Vinicius, Regiane, Eliane, Eduarda, Fernanda, Renan, Juan e Luís; Até os atuais: Isabela, Rhaissa, Larissa, Eberton, Laís, Luana, Paloma, Fábio, Matheus, Rafaela, Julia e Mariana. Obrigado pelos ótimos momentos no laboratório, troca de experiências e ajuda, que foram determinantes para a execução desta pesquisa.

Aos alunos do Laboratório de Materiais Poliméricos (LaMaPo), em especial a Samanta, Tobias e Guilherme, pelas discussões científicas, troca de experiências e ajuda.

Sou grato aos meus amigos, a família que escolhi, por todo suporte, momentos de descontração, recomendações, pontos de vista, ajuda e por fazerem meus dias melhores: Elson, Gladson, Ana, Guilherme, Saulo, Luciano, Caroline, Camila, Pricila, Suellen, Bruna e Patrícia. Em especial agradeço meu antigo grande amigo veterinário, Bruno Mattos, por toda contribuição para este trabalho.

A todos os Laboratórios e seus funcionários, que contribuíram para a realização das análises: Laboratório Multiusuários de Equipamentos e Análises Ambientais (LAMEAA - UTFPR) e as técnicas Cintia, Luana e Rafaela; Laboratório Multiusuário de Análises Químicas (LAMAQ - UTFPR) e a técnica Rúbia; Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais (CMCM - UTFPR) e o técnico Alexandre; Central Analítica De Medianeira (CEANMED – UTFPR) e o Prof^o. Paulo; Laboratórios de Materiais de Construção (DACOC -CT-UTFPR) e o técnico Felipe; Laboratório Núcleo de Excelência em Reciclagem e Desenvolvimento Sustentável (NERDES - UFRJ) e a Prof^a Ana Lucia e o técnico Renan e Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu – UEPG).

A UTFPR por toda estrutura, pelos excelentes profissionais e pela minha formação. Sou grato aos professores, bibliotecários, seguranças, porteiros, equipe de limpeza e administração. Em especial gostaria de agradecer aos professores do PPGCTA e do DAQBI, por oferecer um serviço de qualidade e pelo profissionalismo. Agradeço ao Prof^o Charles Haminiuk, coordenador do PPGCTA e Prof^a Lucila Coral, coordenadora adjunta, pela ótima administração.

Ao seu João da piscicultura Peixes e Peixes, pelo bom atendimento e dicas.

Aos membros da banca avaliadora da qualificação, Prof^a Dr^a Paula Cristina Rodrigues e Prof^a Dr^a Adriane Martins de Freitas, e da defesa, Prof^o Dr^o Walter Ruggeri Waldman e Prof^a Dr^a Izonete Cristina Guiloski, por todas as sugestões e contribuições para aprimorar o trabalho.

A Fundação Araucária pela bolsa de Apoio Técnico à Pesquisa (edital PROPPG 22/2019) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desta pesquisa – Código de financiamento 001 (Número de processo 88887.630316/2021-00).

“Se quer ir rápido, vá sozinho. Se quer ir longe, vá acompanhado”
(provérbio africano)

RESUMO

MANNES, Yorrannys. **Caracterização e avaliação ecotoxicológica de micropartículas de espuma de poliuretano e *Luffa cylindrica* para uso doméstico**. 2023. 171 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2023.

O alto consumo de materiais poliméricos, mais especificamente os plásticos é um problema pertinente aos contaminantes emergentes, pois com o passar do tempo eles podem fragmentar e/ou degradar gerando micropartículas, cujos efeitos ainda são pouco conhecidos na literatura para o poliuretano (PU), porém há evidências de que são prejudiciais para a saúde dos organismos a curto e longo prazo. A espuma de poliuretano flexível (PUF) é um polímero sintético com aplicações que vão desde isolamento térmico até esponjas de uso doméstico. No entanto, uma problemática que se observa nesta classe de polímeros, é que, as esponjas multiuso, por exemplo, acabam gerando microplásticos secundários, além disso, lixiviam aditivos, que são prejudiciais a organismos. Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos genotóxicos e bioquímicos (relacionados ao estresse oxidativo, biotransformação e neurotoxicidade) das micropartículas geradas a partir de esponja de uso doméstico (espuma de PUF e fibra abrasiva) e comparar com micropartículas da bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) em *Oreochromis niloticus* (Tilápia). Além disso, foi avaliado potencial tóxico do lixiviado, das partículas de PUF e da fibra abrasiva para *Daphnia magna* e *Artemia salina*. A caracterização estrutural, morfológica e comportamento térmico das amostras foi realizada através das análises de espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de *Fourier*, termogravimetria, microscopia eletrônica de varredura e difração de raios X. Para a avaliação dos efeitos biológicos os alevinos de *O. niloticus* foram submetidos a um ensaio subcrônico de 14 dias com renovação parcial diária de água e amostra, nas concentrações de 0,2 mg·L⁻¹; 1 mg·L⁻¹ e 5 mg·L⁻¹. Os microcrustáceos foram expostos em concentrações de micropartículas que variaram de 20 a 200 mg·L⁻¹ para *D. magna* e de 1 a 23 g·L⁻¹ para *A. salina*. Após o bioensaio foram avaliados os biomarcadores bioquímicos (acetilcolinesterase, glutathione-S-transferase, lipoperoxidação e catalase) e genético (ensaio cometa) para os alevinos e a concentração efetiva média das partículas da esponja e fator de toxicidade do lixiviado para os microcrustáceos. Foi possível verificar que as micropartículas e o lixiviado oriundo da esponja multiuso apresentaram toxicidade aguda para os microcrustáceos. Após o bioensaio com *O. niloticus* foi possível observar que todas as amostras causaram peroxidação lipídica e tiveram o potencial de inibir a atividade da AChE muscular e a amostra da bucha vegetal estimulou a AChE cerebral. As amostras oriundas da esponja multiuso tiveram potencial genotóxico e a amostra da fibra abrasiva afetou o estado nutricional dos alevinos. Este trabalho traz evidências sobre os efeitos tóxicos causados por esponjas multiuso em comparação com a bucha vegetal, sendo este material uma alternativa viável do ponto de vista ambiental, porém não inerte.

Palavras-chave: Esponja multiuso; Fibra abrasiva; *Oreochromis niloticus*; *Daphnia magna*; *Artemia salina*; Biomarcadores.

ABSTRACT

MANNES, Yorrannys. **Characterization and ecotoxicological evaluation of microparticles from polyurethane foam and *Luffa cylindrica* for domestic use.** 2023. 171 f. Thesis (Master's in Environmental Science and Technology) – Federal University of Technology – Paraná, Curitiba, 2023.

The high consumption of polymeric materials, more specifically plastics, it is a relevant problem to emerging contaminants, as over time they can fragment and/or degrade, generating microparticles, whose effects are still little known in the literature for polyurethane (PU), however, there is evidence that they are harmful for the health of organisms in the short and long term. Flexible polyurethane foam (PUF) is a synthetic polymer with applications ranging from thermal insulation to scrub sponges. However, a problem that is observed in this class of polymers is that, multipurpose sponges, for example, end up generating secondary microplastics, in addition to leaching additives, which are harmful to organisms. This work aimed to study the genotoxic, mutagenic and biochemical effects (related to oxidative stress and neurotoxicity) of microparticles generated from sponge for domestic use and compare it with microparticles from vegetable loofah (*Luffa cylindrica*) in *Oreochromis niloticus* (Tilapia). In addition, the toxic potential of the leachate, PUF particles and abrasive fiber for *Daphnia magna* and *Artemia salina* was evaluated. The structural, morphological characterization and thermal behavior of the samples was carried out through analysis of spectroscopy in the infrared region with Fourier Transform, thermogravimetry, scanning electron microscopy and wide-angle X-ray diffraction. For the evaluation of the biological effects, *O. niloticus* fingerlings were submitted to a subchronic bioassay of 14 days with partial daily renewal of water and sample, at concentrations of 0.2 mg·L⁻¹; 1 mg·L⁻¹ and 5 mg·L⁻¹. Microcrustaceans were exposed to microparticle concentrations ranging from 20 to 200 mg·L⁻¹ for *D. magna* and 1 to 23 g·L⁻¹ for *A. salina*. After the bioassay, biochemical (acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase, lipoperoxidation and catalase) and genetic (comet assay) biomarkers for fingerlings and the mean effective concentration of sponge particles and leachate toxicity factor for microcrustaceans were evaluated. Through these data it was possible to verify that the microparticles and the leachate from the scrub sponge showed acute toxicity for the microcrustaceans. After the bioassay with *O. niloticus*, it was possible to observe that all samples caused lipid peroxidation and had the potential to inhibit muscle AChE activity, while the sample of loofah stimulated brain AChE. The samples from scrub sponge had genotoxic potential and the abrasive fiber sample affected the nutritional status of fingerlings. This work brings evidence about the toxic effects caused by multipurpose sponges compared to vegetable loofah, which indicates that this material is a viable alternative from an environmental point of view, but it is not inert.

Keywords: Scrub sponge; Abrasive fiber; *Oreochromis niloticus*; *Daphnia magna*; *Artemia salina*; Biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção e consumo mundial de PU e suas principais aplicações.....	20
Figura 2 - Reação genérica de síntese do poliuretano.....	22
Figura 3 - Exemplos de aplicações de poliuretanos.	23
Figura 4 - Exemplos da Bucha vegetal.....	36
Figura 5 - Formação da molécula de celulose e da fibra vegetal	38
Figura 6 - Ciclo de vida e exemplares da <i>Artemia salina</i>	42
Figura 7 - Exemplares da <i>D. magna</i> , neonato, efípio e microalga <i>D. subspicatus</i>	43
Figura 8 - Exemplar de alevino <i>Oreochromis niloticus</i>	45
Figura 9 - Amostra de esponja sintética multiuso doméstica e da bucha vegetal utilizadas no desenvolvimento do trabalho.....	53
Figura 10 - Amostras geradas e suas abreviações.....	54
Figura 11 - Parâmetros analisados nos bioensaios com os respectivos organismos-teste.....	55
Figura 12 - Etapas realizadas no desenvolvimento do trabalho em ordem cronológica.	55
Figura 13 - Esquema do processo de moagem e preparação das misturas estoque AM e VD.	57
Figura 14 - Processo de filtração das misturas AM e VD.....	58
Figura 15 - Preparo da mistura estoque EBV.	60
Figura 16 - Ensaio preliminar.....	66
Figura 17 - Adaptação nas ponteiros das micropipetas.	67
Figura 18 - Ilustração de alguns dos procedimentos realizados no ensaio agudo com <i>A. salina</i>	72
Figura 19 - Tanques, aquários, ração e alevinos durante a aclimação.....	74
Figura 20 - Disposição dos aquários com suas respectivas concentrações.	76
Figura 21 - Esquema da metodologia do cometa com <i>O. niloticus</i> e a classificação dos danos no material genético.	79
Figura 22 - Curvas granulométricas (4,76 - 0,0755 mm).	84
Figura 23 - Curva granulométrica (0,01 - 3500 µm).	86
Figura 24 - Fotomicrografias das amostras a) SAI, b) SAM e c) SAMP obtidas por MEV.....	88

Figura 25 - Fotomicrografias das amostras a) SVI, b) SVM e c) SVMD obtidas por MEV.....	89
Figura 26 - Fotomicrografias das amostras a) SBI e b) SBM obtidas por MEV.	91
Figura 27 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) das amostras a) SAI e b) SVI.	92
Figura 28 - Composição e estrutura das fibras da BV (amostra SBI)	94
Figura 29 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) da amostra SBI.	95
Figura 30 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) das amostras a) LA e b) LV.	97
Figura 31 - Curva de TGA e DTG das amostras a) SAI, b) SAM e c) SAMP.	98
Figura 32 - Curva de TGA e DTG das amostras a) SVI e b) SVM.	99
Figura 33 - Curvas de TGA e DTG para as amostras a)SBI e b)SBM.	100
Figura 34 - Difratoograma de raios X da amostra SAI.	102
Figura 35 - Difratoograma de raios X da amostra SVI.	103
Figura 36 - Difratoograma de raios X da amostra SBI.	104
Figura 37 - Gráfico da curva de efeito das amostras AM e VD para <i>D. magna</i>	108
Figura 38 - Gráfico de curva de efeito das amostras AM e VD para <i>A. salina</i>	111
Figura 39 - <i>A. salina</i> aprisionada por fragmentos.....	113
Figura 40 - Valores do fator de condição de Fulton (K_f) para <i>O. niloticus</i>	115
Figura 41 - Escores de danos genéticos utilizando eritrócitos de <i>O. niloticus</i>	118
Figura 42 - Atividade da actilcolinesterase (AChE) nos tecidos muscular e cerebral de <i>O. niloticus</i>	121
Figura 43 - Atividade da glutathiona-S-transferase (GST) em <i>O. niloticus</i>	122
Figura 44 - Atividade da catalase (CAT) em <i>O. niloticus</i>	123
Figura 45 - Peroxidação lipídica (LPO) em <i>O. niloticus</i>	124
Figura 46 - Esquema visual simplificado das conclusões.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Intervalo de concentrações utilizadas nos ensaios preliminares.....	66
Tabela 2 - Faixa de concentrações testadas (5 diluições) das amostras AM e VD (recém preparadas e depois de 91 dias) para determinação da CE ₅₀ no ensaio agudo utilizando a <i>D. magna</i>	68
Tabela 3 - Faixa de concentrações testadas (9 diluições) das amostras AM e VD para a determinação da CE ₅₀ no ensaio agudo utilizando a <i>A. salina</i>	71
Tabela 4 - Bioensaios utilizando alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> expostos a microplásticos.....	75
Tabela 5 - Volume das soluções estoques das amostras EBV, VD e AM pipetados proporcionalmente ao volume inicial e renovado.	76
Tabela 6 - Percentual retido nas malhas com abertura entre 4,76 a 0,0755 mm.	85
Tabela 7 - Dados referentes a análise granulométrica a laser.....	86
Tabela 8 - Principais picos de absorção da amostra SAI e suas atribuições.	93
Tabela 9 - Principais picos de absorção da amostra SVI e suas atribuições.	93
Tabela 10 – Principais picos de absorção da amostra SBI e suas atribuições.	96
Tabela 11 - Valores de temperatura onset, endset e máxima de perda de massa das amostras SAI, SAM, SAMP, SVI, SVM, SBI e SBM.	100
Tabela 12 - Fator de toxicidade (48 h) do LV e LA para <i>D. magna</i>	108
Tabela 13 - Fator de toxicidade (48h) do LV e LA para <i>A. salina</i>	112
Tabela 14 - Número de mortes durante o bioensaio.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABS	Copolímero acrilonitrila butadieno estireno
AChE	Acetilcolinesterase
AM	Mistura estoque constituída por micropartículas poliuretano flexível da face amarela da esponja multiuso
AN	Acrilonitrila
ASA	Copolímero acrilonitrila estireno acrilato
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i> – Demanda Bioquímica de Oxigênio
BSA	Albumina de Soro Bovino
BV	Mistura estoque com micropartículas da bucha vegetal
CASE	<i>Coatings, Adhesives, Sealants (binders) e Elastomers</i> – Revestimentos, Adesivos, Selantes e Elastômeros.
CAT	Catalase
CE ₅₀	Concentração efetiva a 50% dos organismos
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CPVC	Cloreto de polivinil clorado
EBV	Mistura estoque constituída por micropartículas da Bucha Vegetal
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
EVA	Poli (etileno-co-acetato de vinila)
FD	Fator de Diluição
FT	Fator de Toxicidade
GST	Glutathione-S-transferase
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> – Organização Internacional para Padronização
K _f	Fator de Condição de Fulton
LA	Lixiviado filtrado da parte Amarela da Esponja Sintética Multiuso
LMP	Agarose de Baixo Ponto de Fusão
LPO	Peroxidação lipídica
LV	Lixiviado filtrado da parte verde da esponja sintética multiuso
MP	Microplástico

NBR	Norma Brasileira Regulamentadora
PA	Poliamida
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PC	Policarbonato
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PMMA	Poli (metacrilato de metila)
POM	Poli (óxido de metileno)
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PU	Poliuretano
PUF	Poliuretano flexível
PVC	Poli (cloreto de vinila)
SAI	Sólido seco da face Amarela da esponja sintética multiuso Íntegra
SAM	Sólido seco da face Amarela da esponja sintética multiuso Moída
SAMP	Sólido seco da face Amarela da esponja sintética multiuso Moída Pós bioensaio com <i>O. niloticos</i>
SAN	Copolímero estireno acrílico nitrila
SBI	Sólido Seco da Bucha Vegetal Íntegra
SBM	Sólido Seco da Bucha Vegetal Moída
SVI	Sólido seco da face Verde da esponja sintética multiuso Íntegra
SVM	Sólido seco da face Verde da esponja sintética multiuso Moída
SVMD	Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Moída depois de Decantado
TDI	Diisocianato de Tolileno ou Tolueno Diisocianato
TRIS	Trisaminometano
UV	Ultravioleta
VD	Mistura estoque constituída por microfibras e micropartículas oriundas da fibra sintética abrasiva da face Verde da esponja multiuso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral.....	18
1.1.2 Objetivos específicos	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 POLÍMEROS	19
2.1.1 Poliuretanos.....	21
2.1.2 Degradação	23
2.1.3 Microplásticos.....	25
2.1.4 Poluição em sistemas aquáticos por microplásticos.....	28
2.1.5 Efeitos biológicos.....	31
2.2 <i>Luffa cylindrica</i>	35
2.3 ECOTOXICOLOGIA	39
2.3.1 <i>Artemia salina</i>	40
2.3.2 <i>Daphnia magna</i>	42
2.3.3 <i>Oreochromis niloticus</i>	44
2.4 BIOMARCADORES	46
2.4.1 Somático.....	47
2.4.2 Genético	48
2.4.3 Bioquímicos	48
2.4.3.1 Neurotoxicidade.....	49
2.4.3.2 Biotransformação.....	50
2.4.3.3 Estresse oxidativo.....	51
3 MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1 SOLUÇÕES TESTE	56
3.1.1 Face amarela (PUF) e verde (fibra abrasiva) da esponja multiuso	56
3.1.2 Bucha vegetal.....	59
3.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA.....	60
3.2.1 Granulometria por peneiramento	60
3.2.2 Granulometria a laser.....	61

3.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA E MORFOLÓGICA DAS AMOSTRAS POLIMÉRICAS	61
3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....	61
3.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de <i>Fourier</i> (FT-IR).....	61
3.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)	62
3.3.4 Difração de raios X (DRX).....	62
3.4 <i>Daphnia magna</i>	62
3.4.1 Cultivo	62
3.4.2 Parâmetros do ensaio agudo.....	63
3.4.3 Sensibilidade	65
3.4.4 Ensaio preliminar	65
3.4.5 Ensaio agudo.....	67
3.5 <i>Artemia salina</i>	68
3.5.1 Eclosão dos cistos	68
3.5.2 Parâmetros para exposição aguda.....	69
3.5.3 Sensibilidade	70
3.5.4 Ensaio preliminar	70
3.5.5 Ecotoxicidade aguda.....	70
3.6 <i>Oreochromis niloticus</i>	72
3.6.1 Exposição subcrônica	72
3.6.1.1 Aclimação	72
3.6.1.2 Bioensaio.....	74
3.6.2 Biomarcador somático	77
3.6.3 Biomarcador genético	78
3.6.3.1 Ensaio cometa.....	78
3.6.4 Biomarcadores bioquímicos.....	79
3.6.4.1 Concentração de proteínas totais	80
3.6.4.2 Atividade da acetilcolinesterase (AChE).....	80
3.6.4.3 Atividade da glutathione-S-transferase (GST)	81
3.6.4.4 Atividade da catalase (CAT)	81
3.6.4.5 Determinação da peroxidação lipídica (LPO)	82

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	82
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
4.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA.....	84
4.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA E MORFOLÓGICA DAS AMOSTRAS POLIMÉRICAS	86
4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....	86
4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de <i>Fourier</i> (FT-IR).....	91
4.2.3 Análise termogravimétrica (TGA).....	97
4.2.4 Difração de raios X (DRX).....	101
4.3 <i>Daphnia magna</i>	104
4.3.1 Ecotoxicidade aguda.....	104
4.4 <i>Artemia salina</i>	110
4.4.1 Ecotoxicidade aguda.....	110
4.5 <i>Oreochromis niloticus</i>	114
4.5.1 Biomarcador somático	114
4.5.2 Biomarcador genético	116
4.5.2.1 Ensaio cometa alcalino.....	116
4.5.3 Biomarcadores bioquímicos.....	119
4.5.3.1 Atividade da acetilcolinesterase (AChE).....	119
4.5.3.2 Atividade da glutathione-S-transferase (GST)	121
4.5.3.3 Atividade da catalase (CAT)	122
4.5.3.4 Determinação da peroxidação lipídica (LPO)	123
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	126
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	128
REFERÊNCIAS.....	129
APÊNDICE 1 – CARTA CONTROLE	160
APÊNDICE 2 – PARECER EMITIDO PELO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR).....	161
APÊNDICE 3 – DADOS DA ANÁLISE MEV/EDS PARA A AMOSTRA SVI.....	162
APÊNDICE 4 – GRÁFICO DA CURVA DE EFEITO DO DODECILSULFATO DE SÓDIO PARA <i>A. salina</i>	163

APÊNDICE 5 – DADOS RELATIVOS AO CONTROLE DE TEMPERATURA E PH DURANTE A ACLIMATAÇÃO E BIOENSAIO COM <i>O. niloticus</i>.	164
APÊNDICE 6 – DADOS DAS MORTES DURANTE BIOENSAIO COM <i>O. niloticus</i>.	165
ANEXO 1 – MEIO DE CULTIVO (M4)	166
ANEXO 2 – MEIO BÁSICO	167
ANEXO 3 – ÁGUA DO MAR RECONSTITUÍDA	168

1 INTRODUÇÃO

A utilização de polímeros vem se intensificando desde suas primeiras aplicações. O alto consumo de materiais poliméricos é um problema pertinente aos contaminantes emergentes, principalmente se descartados incorretamente, pois com o tempo eles fragmentam e degradam gerando micropartículas (microplásticos) que não são regulamentados, pouco monitorados e potencialmente poluidores (MATHI, 2018; MOREIRA, 2020).

A degradação dos plásticos podem levar a geração de partículas, as quais com tamanho inferior a 5 mm são denominadas de microplásticos, que podem ser classificados como primários (partículas produzidas e descartadas em pequenas dimensões) e secundários (partículas geradas através da degradação de macroplásticos) (BOUCHER; FRIOT, 2017). Os efeitos dessas micropartículas ainda são pouco explorados na literatura, porém há evidências de que são prejudiciais para a saúde de organismos em curto e longo prazos (BEJGARN et al., 2015; HAMLIN; MARCIANO; DOWNS, 2015; KOELMANS; BESSELING; FOEKEMA, 2014; LUO et al., 2019). Mesmo assim, estudos abordando a quantificação, caracterização e os efeitos em organismos representativos são escassos para muitos tipos de polímeros, como por exemplo, o poliuretano flexível (PUF) (CHEN; LI; LI, 2020; ELTEMSAH; BØHN, 2019; ZHU et al., 2019).

Uma preocupação relacionada às micropartículas poliméricas está na lixiviação de aditivos (retardantes de chamas, estabilizadores, plastificantes, antioxidantes e pigmentos), que no decorrer da sua degradação, mesmo depois de muito tempo, pode continuar sendo liberado na forma de substâncias tóxicas, sendo difícil estimar a magnitude dos danos aos ecossistemas e a saúde humana em longo prazo (HAHLADAKIS et al., 2018; HERMABESSIERE et al., 2017; LUO et al., 2019; RILLIG et al., 2021; WALDMAN; RILLIG, 2020). Diversos estudos mostraram que detritos poliméricos e as substâncias lixiviadas podem causar efeitos de toxicidade aguda em crustáceos marinhos (copépodes), microcrustáceos de água doce (*D. magna*) e peixes (*Pseudochromis fridmani*) (BEJGARN et al., 2015; HAMLIN; MARCIANO; DOWNS, 2015; KOELMANS; BESSELING; FOEKEMA, 2014).

As esponjas de uso doméstico são essencialmente compostas por poliuretano, um polímero sintético com diversas aplicações em embalagens, estofados de móveis, isolamento térmico, entre outros, (PENG et al., 2014). A

utilização de poliuretano (PU) está prevista para atingir mais de 29 milhões de toneladas em 2029 (STATISTA, 2023), sendo que até o ano 2014 atingiu cerca de 18 milhões de toneladas, (ADEME, 2014).

A utilização de esponjas multiuso acaba gerando microplásticos secundários, além disso, também lixiviam aditivos durante sua utilização. No estudo realizado por Luo et al. (2019), foram identificados vários tipos de aditivos fluorescentes lixiviados de esponja de PUF, que tinham uma estrutura semelhante ao 3,3 diaminobenzidina e foram capazes de afetar a eficiência fotossintética da microalga *Chlorella vulgaris*.

Partículas de poliuretano (PU) têm sido encontradas em todas as partes do mundo, em todos os compartimentos ambientais (aquático, terrestre e aéreo) e também em diferentes sistemas biológicos. Estudos mostram a presença desta classe de polímero em regiões aquáticas do Canadá (FELISMINO; HELM; ROCHMAN, 2021), Brasil (BERTOLDI et al., 2021), China (ZHANG et al., 2017), Noruega (BAO et al., 2022), Antártica (LACERDA et al., 2019), Itália (SIGHICELLI et al., 2018), Estados Unidos (CHENG et al., 2021), Austrália (BARRETT et al., 2020), Malásia (LIONG et al., 2021), Japão (KABIR et al., 2022) e Índia (KARTHIK et al., 2018).

As esponjas são amplamente utilizadas para higienização de utensílios domésticos e sua degradação/fragmentação resulta na geração de micropartículas e na lixiviação de substâncias químicas aditivas. Embora tenha-se evidências da periculosidade dos microplásticos, pouco se sabe sobre os efeitos causados por essas micropartículas e dos aditivos lixiviados oriundos de espumas de PUF e fibras abrasivas da esponja multiuso. Esse trabalho contribuirá no esclarecimento de algumas dessas lacunas na literatura, com a finalidade de estudar o potencial tóxico por meio dos efeitos genotóxicos e bioquímicos (relacionados ao estresse oxidativo, biotransformação e neurotoxicidade) do lixiviado e das micropartículas geradas a partir de esponja de poliuretano flexível comparado com micropartículas da bucha vegetal (*Luffa cylindrica*), em peixes e microcrustáceos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Caracterizar e avaliar a ecotoxicidade de micropartículas e do lixiviado de esponja multiuso (face constituída por espuma de PUF e fibra abrasiva) e de *Luffa cylindrica* (bucha vegetal) em diferentes organismos aquáticos.

1.1.2 Objetivos específicos

- Adquirir e caracterizar amostras da BV, PU e fibra abrasiva através das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* (FT-IR), difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Caracterizar as micropartículas geradas a partir das amostras BV, PU e fibra abrasiva através das técnicas de MEV, TGA e análise granulométrica e o lixiviado proveniente das amostras PU e fibra abrasiva através da técnica de FT-IR;
- Determinar a ecotoxicidade aguda ($CE_{50(48h)}$) das micropartículas (MPs) de PU e fibra abrasiva e a toxicidade do lixiviado ($FT_{(48h)}$) da parte polimérica e fibra abrasiva da esponja para *Artemia salina* e *Daphnia magna*;
- Avaliar as condições de saúde dos alevinos *Oreochromis niloticus* após a exposição subcrônica (14 dias) a MPs de PU, fibra abrasiva e BV, através do fator de condição de Fulton;
- Avaliar e comparar os efeitos em diferentes tecidos (músculo, fígado e cérebro) de MPs de PU, fibra abrasiva e BV em *Oreochromis niloticus* após exposição subcrônica, através de biomarcadores bioquímicos Acetilcolinesterase (cerebral e muscular), Glutathione-S-transferase, Lipoperoxidação e Catalase;
- Avaliar e comparar possíveis efeitos genotóxicos de MPs de PU, fibra abrasiva e BV em células sanguíneas de *Oreochromis niloticus* após exposição subcrônica, através do biomarcador ensaio cometa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 POLÍMEROS

Os polímeros são formados por macromoléculas constituídas pelas repetições de átomos (ou grupo de átomos) chamados de meros unidos por ligações covalentes. As matérias primas mais utilizadas para a produção desta classe de materiais são o petróleo, o carvão e o gás natural, mas também existem os de origem natural como a seda, celulose e amido, além desses existem os polímeros formados a partir de fontes renováveis como é o caso do polietileno (PE) formado a partir do etanol gerado pela cana de açúcar (COLE et al., 2011; SPINACÉ; PAOLI, 2005; GAUTO; ROSA, 2013).

Um dos tipos de polímeros mais conhecidos são os plásticos, amplamente utilizados em diversas atividades cotidianas industriais, comerciais e medicinais, com aplicações que vão desde roupas e veículos de transporte até produtos de limpeza e estéticos. Muitas vezes, após sua vida útil não são reciclados por serem produzidos para um uso único, como por exemplo, as sacolas com um baixo potencial de recuperação. Estima-se que a produção total de plásticos no mundo desde sua criação até o ano de 2017 foi de 9,2 bilhões toneladas dos quais apenas 9% foram reciclados. Quando se verifica a utilização dessa classe de polímeros na história, percebe-se um progressivo aumento anual, por exemplo, na década de 60 a produção anual de plásticos era de 0,5 milhão de toneladas, no ano de 2017 foi de 349 milhões de toneladas e em 2020 foi de 367 milhões de toneladas e a estimativa é que acompanhe o aumento população mundial (BOUCHER; FRIOT, 2017; EUROPEAN ASSOCIATION OF PLASTICS RECYCLING & RECOVERY, 2021; GEYER; JAMBECK; LAW, 2017; MEIJER et al., 2021; OLIVATTO et al., 2018; WANG et al., 2016).

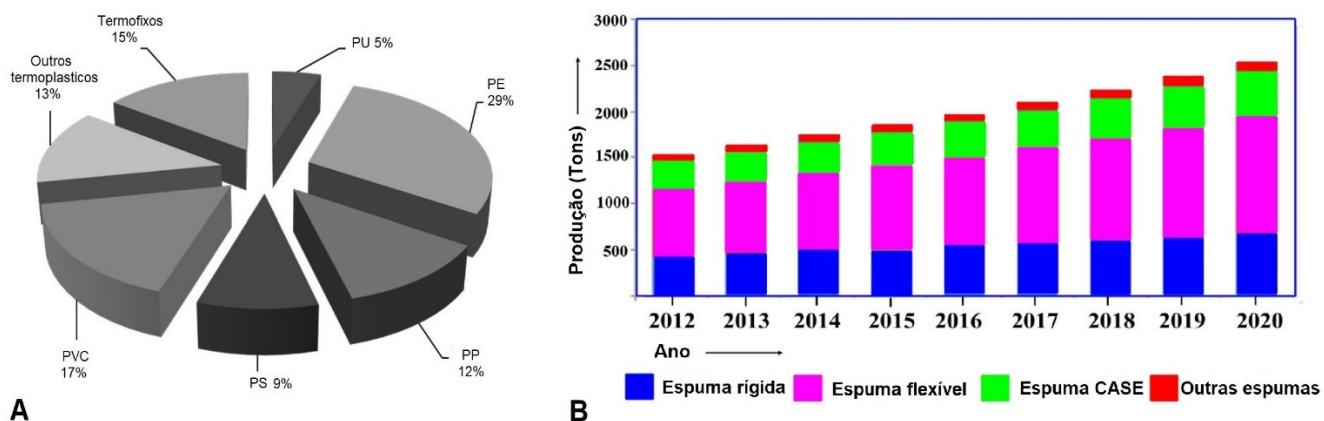
Em 2018 uma quantia superior a 1,13 trilhão de embalagens, em sua maioria plásticas foram utilizadas para alimentos na União Europeia e estima-se que em todo mundo cerca de 6,5 milhões de toneladas de plástico são utilizados na agricultura todo ano. No Brasil, estima-se que anualmente 776 mil toneladas de embalagens plásticas são utilizadas no ramo alimentício e 202 mil toneladas no setor de bebidas. Após a pandemia houve um aumento de 46% no consumo, causado pelo sistema “*delivery*”, passando de 17,16 mil toneladas em 2019 para 25,13 mil toneladas em 2021. Neste cenário, o país é o quarto maior gerador de resíduos plásticos no mundo com uma

produção anual de cerca de 11,3 milhões de toneladas. Em 2020 foi fabricado no Brasil o correspondente a 2% da produção mundial de plásticos, (ABIPLAST, 2019; BERTOLDI et al., 2021; FERNANDO et al., 2022; HEINRICH, 2020).

Os materiais mais utilizados são PE, polipropileno (PP), poliestireno (PS), poli (cloreto de vinila) (PVC), PU e poli (tereftalato de etileno) (PET), que em 2017 correspondiam a 92% do consumo mundial. Desses termoplásticos os mais encontrados em resíduos sólidos urbanos são o PE, PET, PVC e PP, (ANDRADY; NEAL, 2009; DA SILVA SPINACÉ; DE PAOLI, 2005; GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). Calcula-se que em 2015, foram fabricados 407 milhões de toneladas de polímeros no mundo, dos quais 26% pertencem a categoria do poliuretano (PU), poliamida (PA), Poli (metacrilato de metila) (PMMA), Copolímero estireno acrílico nitrila (SAN), Copolímero acrílico nitrila butadieno estireno (ABS), Copolímero acrílico nitrila estireno acrilato (ASA), entre outros (HEINRICH, 2020).

Em relação ao PU, a maior parte da produção mundial (figura 1 A) tem como finalidade a aplicação de espumas flexíveis, principalmente em colchões e manufaturas automotivas. A figura 1 B apresenta o consumo de espumas a base de PU no período de 2012 a 2020 (IONESCU, 2016; SIMÓN et al., 2018; SINGH et al., 2020).

Figura 1 - Produção e consumo mundial de PU e suas principais aplicações.



FONTE: Adaptado (IONESCU, 2016; SINGH et al., 2020)

LEGENDA: A. Produção mundial de polímeros; B. Produção anual da espuma PU (CASE - *Coatings, Adhesives, Sealants and Elastomers* – Revestimentos, Adesivos, Selantes e Elastômeros).

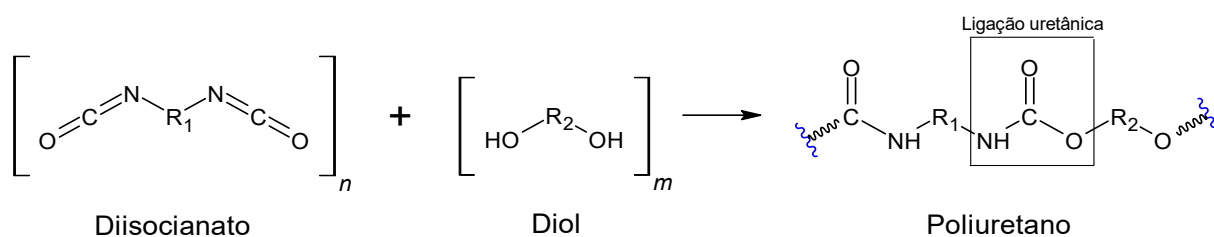
2.1.1 Poliuretanos

Em Leverkusen na Alemanha, em 1937, o Dr. Otto Bayer, juntamente de sua equipe sintetizaram um novo material que chamaram de “*Das Di-Isocganat-Poluadditionsverfahren*”, hoje conhecido como poliuretano. Suas primeiras aplicações ocorreram na segunda guerra mundial em revestimentos de materiais, acabamento de aviões e vestimentas impermeáveis e resistentes à corrosão (DAS; MAHANWAR, 2020).

Na década de 1950, a DuPont iniciou a produção comercial de um PU espumado, motivando o desenvolvimento dos PUs celulares que estimulou a produção de diisocianatos aromáticos, propiciando o surgimento da primeira fábrica de espuma flexível na Alemanha (BALSEMÃO, 2017). Por ser um material versátil, aos poucos foi substituindo vários materiais e até mesmo outros polímeros (látex), o que ocorre até hoje devido suas propriedades e facilidade de produção (DAS; MAHANWAR, 2020; HOWARD, 2002).

O PU é um termo geral utilizado para uma classe de polímeros derivados da reação de di/poli isocianatos ($-N=C=O$), di/poli álcoois ($-OH$), aditivos e extensores de cadeia juntamente de catalisadores resultando em um copolímero em que a unidade repetidora contém a ligação uretânica ($-NH-COO-$), reação representada na figura 2 (BOLSONI, 2008; DAS; MAHANWAR, 2020; DEMHARTER, 1998; HOWARD, 2002). A versatilidade do PU se deve ao fato de suas propriedades (térmicas, mecânicas e químicas) poderem ser manipuladas de acordo com o poliols, poliisocianato e catalisador utilizado na síntese, podendo resultar em fibra, plástico ou borracha (JAYAKUMAR; NANJUNDAN; PRABAHARAN, 2006; OLIVATTO, 2017). Variações nos grupos R, R' ou nos hidrogênios amida produzem diversos PUs, sendo possível adicionar grupos funcionais (éster, éter, ureia, aromáticos, entre outros), podendo resultar em frações maiores de grupos funcionais do que uretano (HOWARD, 2002). Essas modificações na composição dos substituintes dos segmentos influencia na estrutura e nas interações entre as cadeias do polímero resultando em configurações e propriedades distintas (KLOSS, 2007).

Figura 2 - Reação genérica de síntese do poliuretano.

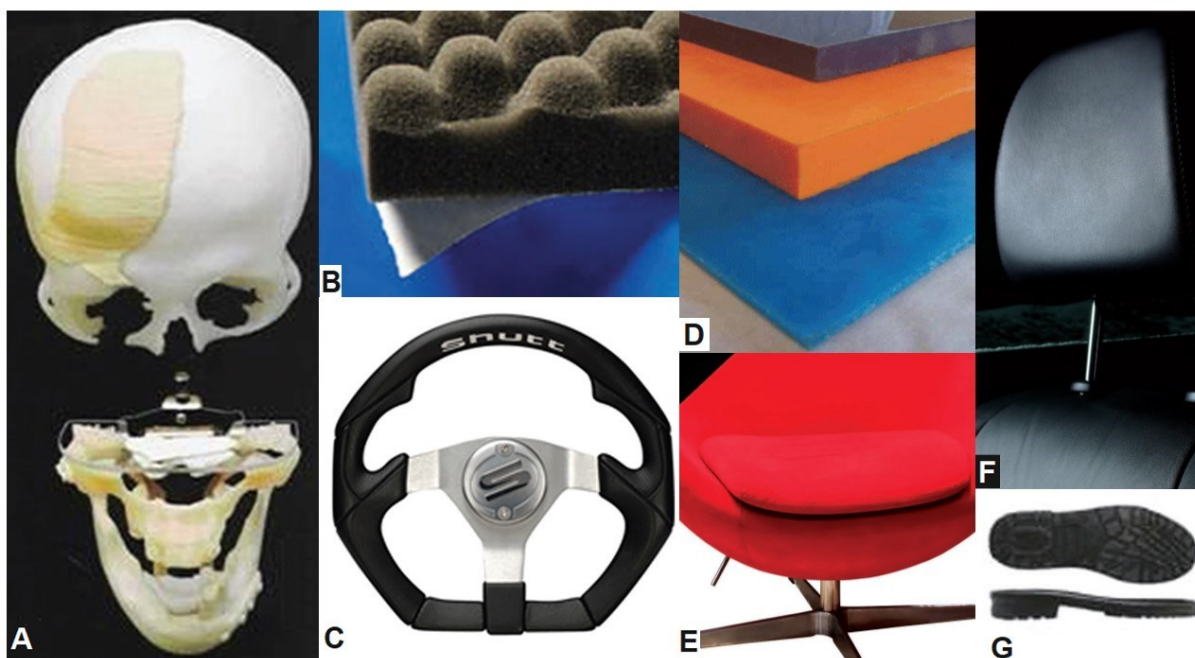


FONTE: O autor.

LEGENDA: Figura gerada com o auxílio do programa ChemSketch®.

Nas últimas décadas, o poliuretano foi reconhecido como um dos principais polímeros, sendo um material de destaque no mercado mundial de polímeros sintéticos. As possibilidades de aplicações para o PU são inúmeras (figura 3): como espuma flexível pode ser aplicado em artigos de limpeza, estofados, colchões, componentes de estofado automotivos, calçados, artigos de construção civil, embalagens para produtos frágeis, entre outros. Aplicações na forma de espuma rígida podem ser em: solados, construção civil (painéis divisórios, pisos e telhas), isolante térmico (refrigeradores, caminhões frigoríficos e aquecedores), oleodutos, tanques, prancha de surf, embalagens, parte de mobílias, componentes automobilísticos, estrutura flutuantes (barcos e equipamentos de flutuação), etc. Outras aplicações como na fabricação de preservativos, adesivos, aglomerantes (madeira, borracha e areia de fundição), selantes, encapsulantes, tintas, revestimentos, fibras ou como biomaterial que é bem explorada na medicina devido a compatibilidade com o organismo humano (podendo até ser metabolizado pelo organismo, o caso do PU derivado de óleo de mamona) (BALSEMÃO, 2017; CANGEMI; SANTOS; NETO, 2009; VILAR, 2004).

Figura 3 - Exemplos de aplicações de poliuretanos.



Fonte: Adaptado (BALSEMÃO, 2017; CANGEMI; SANTOS; NETO, 2009)

Legenda: A. Próteses ósseas; B. Placa de isolamento; C. Volante de automóvel; D. Placas coloridas; E. Estofado de móveis; F. Estofado automotivo; G. Solado.

2.1.2 Degradação

Um dos fatores responsáveis pela geração de microplásticos é a degradação, seja por métodos controlados ou por meio das intempéries climáticas. A decomposição de um polímero depende de sua composição química, em que alguns grupos químicos reativos favorecem reações químicas com o material ocasionando a quebra de suas ligações (BECERRA, 2015; VIZCAYA, 2009).

Os PUs são suscetíveis à degradação, mas a facilidade para degradá-lo depende das características estruturais, como grupos químicos ligados nas cadeias moleculares, cristalinidade, orientação molecular, entre outros (HOWARD, 2002). Portanto, de acordo com a formulação do PU há diferentes produtos de degradação, podendo estes serem mais tóxicos. Allan, Daly e Liggat (2013), estudaram a despolimerização do PU flexível por meio da degradação térmica em atmosfera de hélio, em que observaram que a reação ocorre predominantemente mediante a quebra da ligação uretânica. Desta forma, o diisocianato é a espécie volátil e ocorre a regeneração do polioli. Caso o diisocianato não volatilize, pode reestabelecer a ligação

uretânica originando amina, dióxido de carbono e poliol insaturado como produtos de degradação.

Os microrganismos responsáveis pela degradação necessitam de condições adequadas de oxigênio, temperatura, pH e umidade, caso contrário a biodegradação pode acontecer em conjunto com a degradação abiótica. A degradação do PU raramente ocorre apenas por biodegradação, uma vez que as condições ideais para ação dos microrganismos dificilmente são encontradas no ambiente. As enzimas aplicadas para a degradação de PU flexível são esterases, ureases, proteases, impranilases, amidases e laccases, sendo que as mais eficientes são as ureases (SKLENIČKOVÁ et al., 2022). No trabalho de Kemoná e Piotrowska (2016) foram isolados mais de 20 bactérias, fungos e leveduras de espumas de PU, em que a maioria dos organismos produzia a enzima urease, que promove a quebra da ligação ureia (KEMONÁ; PIOTROWSKA, 2016).

Pesquisas atuais têm descoberto cada vez mais organismos capazes de degradar MPs em diversas regiões, um exemplo foi na pesquisa de Yang et al. (2022) que avaliaram como diferentes MPs afetam na diversidade fúngica do sedimento marinho. Nesse estudo, MPs de PU, PS e PET, foram incubados em amostras de sedimentos do oceano pacífico oriental. Foram observadas alterações das comunidades fúngicas nos sedimentos, que a princípio eram compostas em sua maioria por fungos Ascomycota, após a incubação a abundância de variedades de fungos aumentou. Dos MPs avaliados o PU apresentou um maior número de fungos e de maior complexidade, dentre eles *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium halotolerans*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum* e *Exophiala jeanselmei*. Um trabalho relevante na determinação de microrganismos com potencial de biodegradação foi o descrito por Ekanayaka et al. (2022) em que foi elaborada uma lista com todos os fungos degradadores de plásticos conhecidos até o presente momento. Nesse trabalho foram analisadas 395 cepas e os autores determinaram que os fungos degradadores de plástico pertencem a onze classes nos filos fúngicos, sendo o filo Eurotiomycetes o que possui o maior número de fungos degradadores de plástico.

A degradação de polímeros muitas vezes intensifica a difusão de contaminantes tóxicos, oriundos de aditivos utilizados no plástico somado as impurezas como produtos da degradação, monômeros que não reagiram e substâncias adsorvidas. Rillig et al. (2021) explica que o plástico é um sólido com

estruturas internas (volume livre) preenchidas com substâncias potencialmente tóxicas (aditivos) que são liberadas espontaneamente em condições normais e são aceleradas com a degradação.

Além disso, as fragmentações sucessivas de plásticos e MPs geram os nanoplásticos, em que há uma modificação das propriedades como maior área superficial e menor volume interno que propicia maior difusão das substâncias internas (RILLIG et al., 2021). Na pesquisa de Lithner, Larsson e Dave (2011) foram identificados os produtos químicos utilizados em 55 polímeros e classificados de acordo com o perigo ambiental que eles representam. O PU flexível foi classificado entre os mais perigosos porque os seus monômeros, catalisadores e produtos da degradação (cianeto de hidrogênio) são tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos.

2.1.3 Microplásticos

Os plásticos podem ser encontrados no ambiente em grandes e pequenas dimensões. Quando estão na forma de partículas com tamanho inferior a 5 mm são denominados microplásticos e com tamanho inferior a 1 μm , nanoplásticos. Os mais estudados são encontrados na forma de fragmentos, fibras e microesferas (BOUCHER; FRIOT, 2017; BROWNE; GALLOWAY; THOMPSON, 2007).

Os microplásticos são classificados em primários e secundários. Os primários são os que foram produzidos diretamente na forma de pequenas partículas (microesferas irregulares), geralmente utilizados com finalidade abrasiva em produtos cosméticos e de higiene pessoal em sua maioria de uso doméstico. Os secundários nada mais são do que a conversão de macropelásticos em microplásticos, tendo como fonte a degradação de plásticos maiores em fragmentos, geralmente ocasionado pelo intemperismo (fotodegradação e variações de temperatura) e de desgastes abrasivos de materiais poliméricos como tecidos e esponjas na hora da lavagem ou da deterioração de borrachas de pneus (BOUCHER; FRIOT, 2017; BROWNE et al., 2011; RIOS; MOORE; JONES, 2007; ZITKO; HANLON, 1991).

Estudos mostram que o ambiente doméstico é uma importante fonte de microplásticos, uma vez que estes podem ser liberados através de produtos de higiene pessoal, roupas sintéticas, móveis, embalagens de alimentos, recipientes, acessórios de limpeza, entre outros. Os produtos de higiene e cosméticos são bem documentados na literatura, pois muitos deles possuem microesferas, geralmente

constituídas pelos polímeros polipropileno (PP), poli (tereftalato de etileno) (PET), poli (metacrilato de metila) (PMMA), polietileno (PE) e nylon. No ambiente doméstico existem diversos utensílios e acessórios que acabam liberando micropartículas, um exemplo é a esponja multiuso que durante sua utilização se fragmenta gradualmente devido ao envelhecimento e abrasão (BOUCHER; FRIOT, 2017; GOUIN, 2015; LEI et al., 2017; LUO et al., 2022; TAGG; IVAR DO SUL, 2019; YURTSEVER, 2019).

Essas partículas e fibras se misturam no efluente doméstico, tendo como fim os corpos hídricos, que acabam sendo ingeridos e assimilados em diferentes tecidos dos organismos expostos e conseqüentemente são biomagnificados, podendo afetar os ecossistemas. Além disso, os tratamentos de água utilizados atualmente não são capazes de remover totalmente as micropartículas plásticas, sendo uma via de entrada de MPs para os ambientes aquáticos, por isso nos EUA (em 2015), França (em 2016) e Reino Unido (em 2018) a adição destes produtos em cosméticos foi proibida (DEY; UDDIN; JAMAL, 2021; FRANÇA, 2016; OLIVATTO et al., 2018; SUN et al., 2020; THE GUARDIAN, 2018). Os MPs são um substrato propício para a aderência de contaminantes hidrofóbicos, deposição de ovos, colônias de bactérias e vírus (AMATO-LOURENÇO et al., 2022; PHUONG et al., 2016).

Em diversos habitats do mundo se tem encontrado MPs com características distintas e em variadas concentrações, sendo que alguns deles são resistentes ao envelhecimento e a degradação microbiológica, devido às suas pequenas dimensões eles são facilmente dispersos em meios aquáticos, terrestres e aéreos (DERRAIK, 2002).

No trabalho de Allen et al. (2019) foram detectados fragmentos, fibras e filmes microplásticos em regiões remotas de Paris (França) e Dongguan (China), em que se observou o transporte através da atmosfera percorrendo cerca de 95 km com o potencial de afetar áreas remotas. Dris et al. (2016) investigou a precipitação atmosférica de microplásticos em locais urbanos e suburbanos e observaram que a maior parte dos coletados era composta por fibras sintéticas. Mediante os dados das coletas foi feita a estimativa de que entre 3 e 10 toneladas de fibras são depositadas por precipitação atmosférica em uma região de 2500 km² em Paris.

No estudo feito por Gasperi et al., (2018) foi verificado que a inalação de MPs por organismos resulta na retenção dessas partículas nas vias aéreas e pode causar inflamação pulmonar e problemas respiratórios. Além disso, há evidências que as

substâncias que compõem os plásticos têm um potencial genotóxico, podendo causar carcinogenicidade e mutagenicidade.

Foram detectados MPs em camadas rasas e profundas de solos agrícolas em vários campos de plantio nas regiões suburbanas de Xangai na China (LIU et al., 2018). Pesquisas mostram que microartrópodes (*Folsomia candida*, *Hypoaspis aculeifer* e *Damaeus exspinosus*) e minhocas (*Lumbricus terrestres*) são capazes de deslocar partículas de MPs para camadas profundas do solo, podendo alterar as propriedades físicas desses ambientes, além disso, este transporte auxilia para a chegada desses MPs em águas subterrâneas (RILLIG; ZIERSCH; HEMPEL, 2017; ZHU et al., 2018). No estudo realizado por Wright et al. (2013), os autores expuseram vermes marinhos (*Arenicola marina*) a sedimentos contendo PVC em concentrações ambientais e observaram que o MP foi responsável por reduzir as atividades alimentares devido ao material permanecer no intestino causando inflamações, o que resultou em reservas energéticas sendo esgotadas mais rapidamente.

Na pesquisa realizada por Ossmann et al. (2018) foram analisadas diferentes amostras de água mineral engarrafada, sendo possível detectar partículas com tamanhos superiores a 1 µm. Foram encontrados MPs em todas as amostras analisadas inclusive naquelas que utilizavam garrafas de vidro. A quantidade de MPs variou de 2649 ± 2857 por litro em garrafas PET e 6292 ± 10521 por litro em garrafas de vidro, sendo o polímero predominante PET. Curiosamente, nas garrafas de vidro foram encontrados outros tipos de polímeros como PP e copolímero de estireno-butadieno. Mais de 90% dos MPs encontrados tinham dimensões inferiores que 5 µm. Barboza et al. (2018) também relatou a presença de MPs em água mineral e em alimentos como sardinha, cerveja, sal, mel e açúcar. Conti et al. (2020) encontraram MPs em frutas, legumes e hortaliças, provenientes da assimilação durante o cultivo, em que as partículas plásticas têm o potencial de penetrar nas células das raízes, folhas, sementes, frutas e caules. Dentre os vegetais estudados, as frutas foram as que apresentaram a maior contaminação por MPs, em especial a maçã com 223 mil partículas por grama, micropartículas com dimensões inferiores a 10 µm.

Liebmann et al. (2018) investigaram fezes humanas de habitantes de oito países diferentes e em todas as amostras foi detectada a presença de MPs numa proporção de 10 a 24 micropartículas por grama de fezes. A composição era PET, PP, PS, PE, PA, PVC, PU, PC (policarbonato) e POM (poli (óxido de metileno)) e as dimensões variaram entre 50 a 500 µm, sendo uma comprovação de que os humanos

também consomem MPs. Liu et al. (2023) estudou a exposição de mães e filhos a MPs e detectou várias partículas em placentas, mecônio, fezes infantis e leite materno, sendo PU e PA predominantes e as partículas tinham tamanhos entre 20 a 50 µm. A provável fonte de contaminação nas mães foi através da ingestão de água, creme dental e esfoliante e nos bebês foi por meio da amamentação e brinquedos de plástico. Amato-Lourenço et al. (2022) investigaram a relação entre partículas suspensas coletadas em ambiente hospitalar com o RNA do SARS-CoV-2, em que foi concluído que os aerossóis SARS-CoV-2 têm o potencial de se ligar a partículas de MPs facilitando a disseminação do vírus.

2.1.4 Poluição em sistemas aquáticos por microplásticos

Os MPs são classificados como contaminantes de interesse emergentes, ou seja, contaminantes de origem antrópica que apresentam risco ambiental, pois possuem potencial de poluição, são isentos de regulamentação e conseqüentemente pouco monitorados (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). A preocupação, juntamente com o número de estudos científicos a respeito deste tema, tem crescido muito rapidamente (HALDEN, 2015; TAGG; SUL, 2019).

Existem muitos estudos no mundo que comprovaram a existência de microplásticos em ambientes aquáticos como rios, lagos e oceanos (LIU et al., 2018), cujas fontes provêm das descargas de esgotos domésticos, industriais, sistemas agrícolas, por meio do vento e terrestres, que é a principal origem. Grande parte do que está presente nos oceanos ficam na parte superficial em virtude de sua baixa densidade. Pesquisas relatam que esses materiais podem ser colonizados por organismos (plastifério), formando biofilmes microbianos capazes de modificar as características físicas da partícula (aumento de tamanho e densidade), fazendo com que essas partículas se depositem nos sedimentos ou sejam transportadas carregando microrganismos a grandes distâncias (ANDRADY, 2011; DRIS et al., 2015; DUARTE, 2019; WALKINSHAW et al., 2020). A fração biológica influencia na velocidade de sedimentação, no trabalho de Nguyen, Tang e Maggi (2020) foi observado que MPs de PU contendo 80% de material biológico tinham quase o dobro do tamanho dos que continham 5% e demoravam duas vezes mais para decantar.

Bao et al. (2022) avaliaram as águas superficiais (0 a 0,4 m) e profundas (200 m) dos fiordes do Ártico, ambiente marinho da Noruega. As dimensões dos MPs

encontrados variaram de 200 a 5000 μm , numa concentração de $0,15 \pm 0,19$ partículas· m^{-3} em águas superficiais e $0,15 \pm 0,03$ partículas· m^{-3} em águas profundas. Foram identificados 10 tipos diferentes de polímeros, sendo o PE e o PU os mais abundantes. Lacerda et al. (2019) avaliaram os detritos plásticos das águas superficiais da Península Antártica, e encontraram 969 partículas· km^{-2} , sendo a maior parte compostas por PU (35%), seguido de PA (25%), PE (21%), PS (11%) e PP (8%).

No trabalho realizado por Yu et al. (2016) foram encontrados microplásticos na areia da praia de Bohai (China), tendo sido observado que nas áreas superficiais (com cerca de 2 cm de profundidade), as concentrações de MPs eram maiores que nas regiões mais profundas (com 20 cm de profundidade). Nessa mesma região, Zhang et al. (2017) analisaram as águas superficiais do mar de Bohai, e encontraram diversos tipos de polímeros com diferentes tamanhos, formas, cores e composições (PE, PP, PS, PET, PVC, PU e AN (acrilonitrila)). A concentração média foi de $0,33 \pm 0,34$ partículas· m^{-3} .

Na investigação realizada por Liong et al., (2021) foi determinada a abundância de MPs nos sedimentos e na água do rio Miri (Malásia), a concentração de MPs na água variou de 0,8 a 2,1 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ e nos sedimentos 26,2 a 62,5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. A maioria das partículas tinham dimensões inferiores a 1 mm e compostas por PE, PU, PP, monômero de etileno propileno dieno, butil-branham e Poli (etileno-co-acetato de vinila) (EVA). Kabir et al. (2022) pesquisaram a poluição por MPs em sedimentos de quatro rios localizados no Japão, a quantidade de MPs encontrados variou de 8 a 1010 partículas· kg^{-1} , com dimensões entre 1 e 5 mm, compostas por 8 polímeros diferentes, dentre eles o PU.

Karthik et al., (2018) verificaram a extensão da poluição por MPs em 25 praias localizadas na Índia, nos sedimentos foi detectada a presença de PE, PP, PS, Nylon, PU, PVC, entre outros, em que o PE e PP estavam em maior abundância. As regiões de coleta próximas aos rios tinham maior profusão, assim como nas regiões de maré alta. Dowarah e Devipriya (2019) monitoraram os sedimentos de 6 praias na Índia, em que detectaram 13 polímeros dentre eles o PU.

Na análise realizada por Sighicelli et al. (2018) foram avaliados diferentes lagos subalpinos de água doce (Maggiore, Iseo e Garda) localizados na Itália e foram comparados os fatores que influenciam na presença de partículas MPs, tais como as descargas de esgotos e o escoamento dos mesmos. Foram encontrados mais de 10

tipos diferentes de MPs dentre eles o PE, PS, PP e PU. Mistri et al. (2020) estudaram os sedimentos do fundo do mar Tirreno (Itália), numa extensão de 31 km entre dois portos, onde a poluição plástica era mais intensa. A maioria tinha dimensões entre 1 e 5 mm, formatos de filamentos, filmes e fragmentos, os mais abundantes eram constituídos por PU e nylon.

No trabalho de Felismino, Helm e Rochman (2021), foi realizado um levantamento de micropartículas plásticas nas águas superficiais e sedimentos no lago Simcoe localizado em Ontário no Canadá, um lago retirado e com finalidade de recreação e pesca, em que foram detectados vários tipos diferentes de polímeros, dentre eles o PU. Anderson et al. (2017) monitoraram durante três anos as densidades de MPs no lago Winnipeg, uma das maiores massas de água doce do mundo localizado no Canadá e os autores observaram que a maior frequência era composta por fibras. Da mesma forma, foram detectadas micropartículas, microfibras e microesferas em sedimentos costeiros em Ontário (Canadá) próximo ao lago Erie, dentre os 1178 fragmentos foram encontrados MPs de PU, PE, PVC, PP e PMMA (DEAN; CORCORAN; HELM, 2018).

Cheng et al. (2021) avaliaram os sedimentos de até 30 cm de profundidade do *Great Bay Estuary* na região do Golfo (EUA), onde encontraram MPs na proporção de 116 ± 21 partículas·g⁻¹, em que as partículas predominantes na superfície dos sedimentos eram compostas de PU. O trabalho de Arreola-Alarcón et al. (2022) detectou a existência de PP, PET, PE, PS, PC, PU e raio em sedimentos de parques marinhos protegidos na região do golfo da Califórnia (México). A maioria tinha coloração branca ou transparente com formatos de fibra, esferas e fragmentos, oriundos de atividades turísticas. As concentrações variaram de 680 a 321 partículas·g⁻¹.

Barrett et al. (2020) analisaram os sedimentos do fundo do mar (entre 1655 a 3062 m) da grande baía Australiana, entre 288 a 356 km de distância da costa. Foram detectados quatro tipos diferentes de MPs, dentre eles o PU. Neste trabalho foi feita a estimativa de que no fundo do oceano estão decantadas 14 milhões de toneladas de MPs. No Brasil, existem poucos trabalhos quantificando e caracterizando MPs em sedimentos e em águas doces e marinhas. Bertoldi et al. (2021) avaliaram a distribuição e composição de microplásticos na superfície do Lago Guaíba localizado no Rio Grande do Sul (Brasil), em que foram detectados vários polímeros, inclusive PU.

Nos últimos anos em ambientes aquáticos de todas as partes do mundo foram detectados MPs de diversas dimensões, formatos e composições. A maioria dos trabalhos que detectaram partículas de PU, foram os que também analisaram sedimentos, isso se deve ao fato do comportamento ser influenciado pelo ambiente e depender da natureza química e propriedades físicas do polímero, por exemplo: o PE e PP geralmente afetam a superfície do mar e os sedimentos, porque flutuam na água, já o PVC e PU (elastomérico) afetam o fundo do oceano próximo da fonte por serem mais densos que a água marinha. Portanto, essas partículas podem interagir com animais de diferentes compartimentos ambientais e o potencial de causar efeitos adversos nos organismos expostos precisa ser melhor investigado (ENGLER, 2012; OLIVATTO, 2017; PHUONG et al., 2016; THOMPSON et al., 2009).

2.1.5 Efeitos biológicos

Estudos apontam que os MPs estão sendo acumulados em organismos aquáticos de ambientes marinhos e de água doce e pouco se conhece sobre os efeitos deletérios nesses organismos. Os MPs possuem diversas formas de afetar os organismos expostos, sendo as mais comuns na forma química e física. A forma física age mecanicamente, impedindo os movimentos dos seres com dimensões proporcionais aos MPs, nesse caso os organismos acabam se enroscando em fibras ou fragmentos plásticos que impedem sua locomoção e podem provocar danos físicos. A forma química afeta os seres marinhos através da ingestão desses fragmentos plásticos e dos compostos adsorvidos ou lixiviados, como por exemplo, as bifenilas policloradas (DUARTE, 2019; SIMÕES, 2017; WRIGHT et al., 2013).

Diversos MPs possuem dimensões que se assemelham a organismos planctônicos, que muitas vezes são ingeridos por invertebrados marinhos, como consequência organismos pequenos acabam ingerindo esses fragmentos que podem ficar retidos no trato digestivo ou acabam se sentindo saciados provocando distúrbios alimentares (DERRAIK, 2002; DUARTE, 2019; LIU et al., 2018; WRIGHT et al., 2013).

Os MPs podem ser transferidos entre espécies de níveis tróficos distintos. Batel et al. (2016) expuseram *Artemia sp.* a partículas de MPs (PE com dimensões de 10 a 20 µm e outro polímero de composição não revelada com dimensões de 1 a 5 µm) e posteriormente os microcrustáceos foram utilizados para alimentar os peixes (*Danio rerio*). Os autores observaram que parte das partículas eram armazenadas no

intestino das artêmias e dos peixes, mas não apresentaram danos significativos nas células epiteliais dos peixes.

No estudo realizado por Cole et al. (2015) foi avaliado o impacto de microesferas de PS na alimentação, função e fecundidade do copépode marinho *Calanus helgolandicus*. Foi observado que este copépode ingere MPs com tamanhos similares ao das algas (partículas esféricas com 20 μm de diâmetro) e os menores podem aderir aos seus apêndices funcionais, reduzindo sua capacidade de alimentação, causando deficiências energéticas e redução da sobrevivência dos organismos expostos, podendo atingir organismos de níveis tróficos superiores.

Von, Holm e Köhler (2012) investigaram o efeito de partículas industriais de PEAD com dimensões inferiores a 80 μm sobre o mexilhão azul (*Mytilus edulis*) com exposições de até 96 h, os autores observaram a assimilação das partículas plásticas a níveis celulares e subcelulares. Após 3 horas de exposição, as partículas eram arrastadas para as brânquias, absorvidas pelo estômago e levadas para a glândula digestiva e se acumulavam no sistema lisossômico. Como consequência, foram observadas alterações histológicas e inflamação na membrana lisossômica.

Alguns estudos também avaliaram os efeitos dos MPs em mais de uma geração. Schür et al. (2020) estudaram os efeitos de MPs secundários de PS com formatos irregulares e dimensões inferiores a 63 μm em quatro gerações de *D. magna*. Os autores observaram que as partículas MPs afetam a reprodução e crescimento dos organismos, provocado pelo estado nutricional inadequado. Altas concentrações (2 a 10 mil partículas·mL⁻¹) causam a extinção dos organismos dentro de quatro gerações. Eltemsah e Bøhn (2019) investigaram os efeitos agudos e crônicos causados por microesferas de PS (6 μm) em *D. magna* adultas (9 dias) e jovens (com menos de 24 horas). Nesse trabalho, os autores observaram que os MPs influenciaram todos os parâmetros avaliados: sobrevivência, crescimento, fecundidade, maturação sexual e tamanho dos filhotes. Nos ensaios de toxicidade aguda os MPs não se mostravam tóxicos em 48 horas de exposição, mas causaram imobilidade após 120 horas de exposição (concentrações de 5 até 300 mg·L⁻¹) com CE₅₀ de 34,3 mg·L⁻¹ (jovens) e 52 mg·L⁻¹ (adultas). Após o ensaio crônico (75 a 77 dias) perceberam um aumento no número de filhotes, porém com tamanhos menores, indicativo da interferência na alimentação dos organismos causada pela obstrução nas funções de filtração e intestinos preenchidos com MPs.

Da mesma forma, outros trabalhos também mostram que os MPs podem apresentar uma toxicidade tardia após exposição. No trabalho de Jemec et al. (2016) foram verificados os efeitos de microfibras têxteis de PET (62 a 140 μm) em *D. magna* após 48 horas de exposição. Os organismos que foram expostos em jejum apresentaram imobilidade após 48 horas, mas não foi observado efeito nos previamente alimentados com alga, porém os organismos não se mostraram capazes de sobreviver 24 horas após exposição em meio livre de MPs, devido ao acúmulo no intestino. Os autores também observaram que as daphnias ingeriram fibras de todos os comprimentos, até mesmo as mais longas.

Um estudo relevante realizado por Chen, Li e Li (2020) analisou a hipótese: se a cor do MP influenciava nos efeitos de diferentes organismos, alga (*Scenedesmus obliquus*) e microcrustáceo (*Daphnia magna*). Foram avaliadas quatro cores diferentes (verde, branco, laranja e vermelho) de MP de PS (5 μm) tendo sido observado que o crescimento da alga foi afetado pelos MPs, pois houve maior inibição nas concentrações mais elevadas de MPs. As partículas de coloração verde afetaram menos no crescimento das algas, devido a associação com as próprias algas, enquanto que as de coloração branca afetaram mais. Os autores assumiram que alga possui uma função de reconhecimento de cor e melhor se adapta em cores semelhantes. Já os microcrustáceos não foram afetados pelas diferentes cores, porém os organismos que estavam nas maiores concentrações (MPs correspondiam a 40% da concentração celular de algas) observou-se um aumento na ingestão de algas, causado pela redução da qualidade do alimento.

Duan et al. (2020) realizaram a exposição de peixes (*Danio rerio*) em estágio embrionário a partículas de PS com escalas de micro e nanômetro (diâmetro de $157 \pm 52 \mu\text{m}$) e analisaram a interação dessas partículas com o coro embrionário (barreira de proteção com alta eficiência contra poluentes), que foi capaz de afetar a permeabilidade dos poros dos córions. Como consequência observou aumento da frequência cardíaca e do fluxo sanguíneo nos embriões, além disso houve alterações das vias metabólicas associadas ao sistema antioxidante.

Os MPs de origem secundária degradam liberando partículas menores e substâncias tóxicas. No trabalho de Bejgarn et al. (2015) foi avaliada a toxicidade dos lixiviados provenientes da intemperização dos plásticos, diferentes tipos de plásticos (PE, PP, PVC, PS, PET e PU) foram submetidos à radiação solar artificial e lixiviados. Para a avaliação de ecotoxicidade foi utilizado o copépode marinho *Nitocra spinipes*

e foi possível observar que a duração da irradiação influenciava na toxicidade do lixiviado, mas alguns dos plásticos mostraram toxicidade antes de serem submetidos a irradiação. Wik e Dave (2006) estudaram a ecotoxicidade dos lixiviados da borracha de diferentes pneus em estradas para *D. magna* em que se observou uma CE_{50} (48 h) de 0,5 a $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Os autores também avaliaram a diferença de toxicidade entre o lixiviado filtrado e não filtrado (com as partículas de borracha) e foi possível observar maior toxicidade para as amostras não filtradas, além disso, a CE_{50} se mostrou muito inferior (40 vezes) às concentrações encontradas no ambiente. Lithner et al. (2009) utilizou *D. magna* para analisar a toxicidade aguda (48 horas) dos lixiviados oriundos de produtos plásticos (15 itens) e observaram que 32 lixiviados de diferentes polímeros, alguns obtidos por técnicas de extração distintas, mostraram que os mais tóxicos foram o PVC e o PU, com CE_{50} entre 5 a $80 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Zimmermann et al. (2020) levantou uma questão relevante: “Quais são as causas da toxicidade dos MPs?” em comparação com produtos químicos. Para esclarecer essa dúvida, foi realizado um ensaio crônico de 21 dias com *D. magna* em MPs (59 μm) de PVC, PU, ácido polilático e partículas naturais de caulim na faixa de concentrações de 10 a $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em cenários de exposição distintos para diferenciação da toxicidade química e física: MPs com e sem produtos químicos extraíveis e apenas produtos químicos extraídos. Os autores observaram que os 3 MPs afetaram os organismos, em que o mais tóxico foi o PVC que afetou principalmente a reprodução, sendo os aditivos químicos que compõem o PVC o principal fator de toxicidade; O ácido polilático afetou a sobrevivência dos organismos, indicativo que os bioplásticos também são tóxicos e o PU apresentou toxicidade induzida apenas pela partícula.

Um fator importante a ser levado em consideração é de que os MPs podem interagir e absorver outros poluentes, causando um efeito tóxico sinérgico para os organismos que os incorporam. Wardrop et al. (2016) demonstrou que os MPs são capazes de adsorver poluentes químicos do meio, neste estudo esferas microplásticas foram expostas a éteres difenílicos polibromados e os autores observaram que os peixes (*Melanotaenia fluviatilis*) que ingeriram as microesferas contaminadas assimilaram o poluente mais facilmente. Rochman et al. (2013) mostraram que os peixes (*Oryzias latipes*) expostos a PE com poluentes químicos adsorvidos (de origem marinha), acabaram incorporando essas substâncias mais facilmente, sendo mais tóxicos e causando patologias hepáticas. Ao final do estudo, compararam os peixes que

apenas ingeriram PE virgem e observaram que sofreram danos, porém menos severos que os alimentados com o PE marinho.

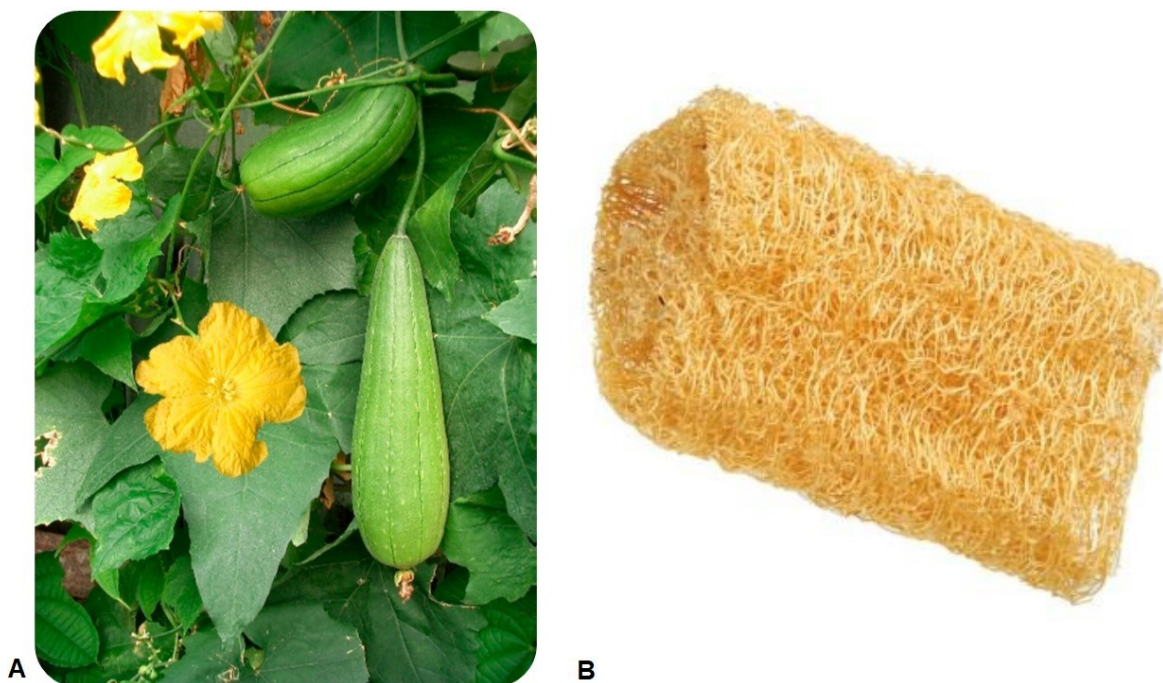
Dinani, Baradaran e Ebrahimpour (2021) avaliaram os efeitos tóxicos no peixe-zebra (*Danio rerio*) causados por MPs de PU, após 10 dias de exposição, em concentrações que variaram de 1 a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. As micropartículas tinham dimensões entre 100 a 1000 μm geradas a partir de uma espuma rígida de PU. Para as partículas de menores dimensões entre 100 e 300 μm na maior concentração (1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) houve letalidade para todos os peixes, com uma CL_{50} (concentração letal a 50% dos organismos) de 16,59 e 100,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente. Além disso os pesquisadores observaram acúmulo de MPs no trato gastrointestinal e nas brânquias. No intestino causou afinamento da parede intestinal, descolamento e dano epitelial, inflamação congestiva e lesões nas vilosidades da parede gástrica. Nas brânquias foram observadas necrose, fusão parcial de lamelas secundárias e no fígado necrose celular e gotículas lipídicas.

2.2 *Luffa cylindrica*

Luffa cylindrica (filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Cucurbitales, família Cucurbitáceas, gênero *Luffa* e espécie *Luffa Cylindrica*) popularmente conhecida como bucha ou esponja vegetal (figura 4), uma planta subtropical de origem asiática (Índia) e incorporada no Brasil pelos portugueses durante a colonização. É uma trepadeira de ciclo anual de verão encontrada e utilizada em várias regiões do mundo, principalmente no Japão, China, América Central e do Sul, possui bom desenvolvimento em regiões tropicais devido a temperaturas mais altas e umidade. É uma planta monoica, ou seja, têm os dois sexos na mesma planta, sendo fácil distinguir as flores machos das fêmeas. A polinização acontece principalmente pelas abelhas, em que se originam frutos de formato cilíndrico alongado. Quando os frutos não estão maduros, de coloração verde, com tamanho inferior a 6 cm, são comestíveis com aspecto e gosto semelhantes ao quiabo e pepino. Os frutos podem chegar ao comprimento de 1,5 m e quando maduros ficam com coloração marrom e após seca e descascada forma uma esponja fibrosa (sistema vascular tridimensional), que possui diversas aplicações artesanais e industriais (BISOGNIN, 2002; COSTA, 2018; D'ALMEIDA et al., 2005; ESQUINAS-ALCAZAR; GULICK, 1983; LIMA, 2014;

MOREIRA et al., 2007; PARTAP et al., 2012; PATRO, 2013; SATYANARAYANA; GUIMARÃES; WYPYCH, 2007).

Figura 4 - Exemplos da Bucha vegetal



FONTE: Adaptado (ANTUNES et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2009).

LEGENDA: A. Planta *Luffa cylindrica*; B. Bucha vegetal seca.

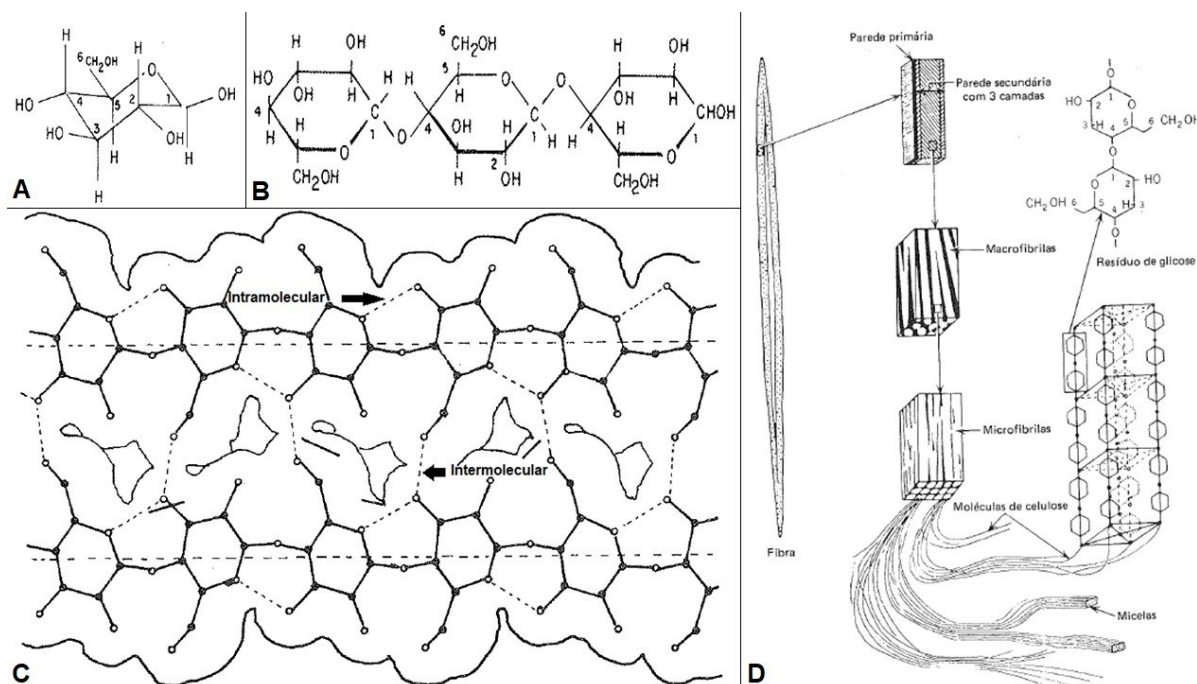
A utilização de buchas vegetais tem crescido devido às diversas possíveis aplicações na indústria e medicina. Além disso, são de baixo custo, tem uso renovável, são biodegradáveis e tem bom desempenho para várias aplicações (TANOBE et al., 2005). O Brasil é um grande produtor das fibras da BV e exporta grande parte para os Estados Unidos e Europa (SATYANARAYANA; GUIMARÃES; WYPYCH, 2007). A BV é muito utilizada no ambiente doméstico com finalidades de higiene, sendo empregada como esponja de cozinha ou de banho (BISOGNIN, 2002; ESQUINAS-ALCAZAR; GULICK, 1983). Nas aplicações industriais, as fibras são utilizadas para fabricação de filtros de óleo para motores de automóveis, isolamentos acústicos, confecção de palmilhas, solados de calçados e luvas de banho. As fibras crescem de forma ramificada lhe conferindo elasticidade, que permite a utilização em materiais de revestimento, no empacotamento para transporte de objetos frágeis e no enchimento de travesseiros e colchões (ANNUNCIADO, 2005; COSTA, 2018; MAZALI; ALVES, 2005). No ramo artesanal, as fibras são utilizadas na confecção de chapéus, bolsas,

cestos, peneiras, cintos, correias e tapetes (ANNUNCIADO, 2005; CARVALHO, 2007). Também possui aplicações medicinais e farmacológicas, pois em países asiáticos e do oriente médio desde tempos primordiais, as sementes, frutas e fibras são utilizadas como medicamentos (PORTERFIELD, 1955), os extratos tem aplicações terapêuticas com efeitos eméticos, laxantes e abortivos sendo utilizado no tratamento para sinusite, asma e vermes intestinais (NG, 1993). Os constituintes fitoterápicos de diferentes partes dessa planta são utilizados para tratar várias doenças distintas como: nefrite, bronquite, febre, picadas de cobra, tétano, convulsões, hidropisia, câibras, catártico, entre outros (PARTAP et al., 2012). Também são utilizadas na medicina com finalidades: anti-inflamatórios, antifúngicos, sedativos (analgésico), anti-isquemias miocárdicas e cerebrais, anti hipertriglicerídeos, imunoestimulantes, antialérgicos (anafilaxias), expectorantes, antitussígenos, anti-asmáticos, de estimulações cardíacas, anti-lesões hepáticas, anticancerígenos, antivirais, etc. (AZEEZ; BELLO; ADEDEJI, 2013; PARTAP et al., 2012).

As fibras das buchas vegetais são constituídas majoritariamente por celulose (62%), hemicelulose (20%) e lignina (11,2%) (MAZALI; ALVES, 2005; SATYANARAYANA; ARIZAGA; WYPYCH, 2009) e pode conter outras substâncias como: polipeptídeos, proteínas, glicosídeos, aminoácidos e compostos inorgânicos (CHEN et al., 2014).

A celulose, um polímero de alta massa molecular, é o principal componente das fibras da BV, composta por um polissacarídeo (polímero linear) constituído por monossacarídeos (unidades de açúcar β -D-glucose (figura 5 A)) que se ligam entre si pelos carbonos 1 e 4 (figura 5 B). As moléculas de celulose têm interações intramoleculares e intermoleculares (figura 5 C), ou seja, as moléculas de glucose fazem ligações de hidrogênio entre si, entre moléculas de glucose da mesma unidade (promove rigidez das cadeias) ou entre moléculas vizinhas (responsável pela formação da fibra) (ANNUNCIADO, 2005; PHILIPP; D' ALMEIDA, 1988).

Figura 5 - Formação da molécula de celulose e da fibra vegetal



FONTE: Adaptado (PHILIPP; D' ALMEIDA, 1988).

LEGENDA: A. Formula estrutural β -D-glucose; B. Molécula de celulose; C. Pontes de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares entre os grupos hidroxilas das moléculas celulose; D. Formação estrutural da fibra de celulose.

As possibilidades de aplicações para a bucha vegetal são inúmeras. No estudo realizado por Ogbonna, Mashima e Tanaka (2001) a *Luffa cylindrica* foi utilizada como suporte para imobilizar a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para produção de etanol e Vignoli, Celligoi e Silva (2006) imobilizaram a *Zymomonas mobilis* para produção de sorbitol (poliol). As fibras da BV podem ser úteis na remoção de contaminantes como chumbo (ADEWUYI; PEREIRA, 2017), cádmio (LINDINO et al., 2014) e corantes (ANTUNES et al., 2016; NADAROGLU; CICEK; GUNGOR, 2017).

A BV tem grande potencial para diversas aplicações em variados ramos, além disso é encontrada em todos os estados brasileiros (MOREIRA et al., 2007), entretanto, ainda é subutilizada. Atualmente, diversas pesquisas tem mostrado a BV como uma excelente alternativa sustentável, uma vez que é biodegradável, não derivada do petróleo, de baixo custo de produção e ambientalmente correta (PATRO, 2013; SILVA; BARROS; PAVÃO, 2014; TANOBE et al., 2005).

2.3 ECOTOXICOLOGIA

Na mesma magnitude com que os avanços da humanidade ocorrem, originam-se os problemas quanto ao gerenciamento de recursos, espaço e a disposição de resíduos. Com a transformação do modelo de civilização dos últimos séculos, se implantou a industrialização que proporcionou o aumento populacional tornando os sinais da poluição mais evidentes, causando problemas aos ecossistemas e a própria humanidade. O interesse pelas questões ambientais tem crescido nas últimas décadas, mas a preocupação com a poluição só começou quando graves acidentes ambientais aconteceram, em que se iniciou o monitoramento ambiental em vários países do mundo (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

A Ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar reconhecida mundialmente, com o foco em estudar os efeitos adversos de substâncias tóxicas liberadas no ambiente sobre organismos, populações ou comunidades de um ecossistema. Essa ciência fornece ferramentas para prevenir impactos ambientais através de estudos que avaliam e investigam como os ecossistemas metabolizam, acumulam, transformam, eliminam e degradam substâncias que penetram no meio ambiente, sendo possível fazer previsões e extrapolações dos efeitos de substâncias nocivas ao meio ambiente e desenvolver técnicas simples e acessíveis capazes de verificar efeitos biológicos pertinentes e reversíveis com a finalidade de propor alternativas preventivas e restauradoras (AZEVEDO; CHASIN, 2004; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Estudos ecotoxicológicos se preocupam em avaliar efeitos de substâncias tóxicas em diferentes níveis de organizações biológicas, desde as mais basais como níveis atômicos e moleculares até níveis mais complexos de organização como populações, comunidades e ecossistemas. Ensaios laboratoriais fornecem informações relevantes dos efeitos de estressores químicos isoladamente e em condições controladas, portanto podem superestimar ou subestimar a situação real, uma vez que no ambiente há uma mistura de substâncias químicas juntamente de oscilações das condições naturais que podem afetar de modo sinérgico ou antagônico os efeitos dessas substâncias (HOLMSTRUP et al., 2010; MAGALHÃES; FILHO, 2008; WALKER et al., 2005).

Nos ensaios ecotoxicológicos, os organismos são expostos em condições ideais a diferentes concentrações de um estressor químico, de modo agudo (curto

período de tempo) ou crônico (abrange grande parte do ciclo de vida do organismo) em que são observados efeitos tóxicos letais e subletais como: mutagenicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, teratogenicidade, alterações metabólicas e fisiológicas (FERRARO et al., 2004; PANDRANGI, RAJ; PETRAS, MICHAEL; RALPH, 1995; RAND; PETROCELLI, 1985). Os ensaios ecotoxicológicos são complementares às análises físico-químicas, pois fornecem informações a respeito do potencial tóxico de agentes químicos em espécies vivas, levando em conta as interações dos compostos entre si e com o meio ambiente, ou seja, são capazes de retratar o impacto ambiental causado por poluentes e os efeitos sobre os ecossistemas, mas não são capazes de quantificar e caracterizar as substâncias xenobióticas (MAGALHÃES; FILHO, 2008; REGINATTO, 1998).

2.3.1 *Artemia salina*

Artemia salina (subfilo *Crustacea*, classe *Branchiopoda*, ordem *Anostraca*) é um microcrustáceo de água salgada, encontrado em diversas regiões do mundo, vive em ambientes marinhos, lagoas salinas e costeiras (águas salobras). Se alimentam de algas e bactérias unicelulares, protozoários e particulados dissolvidos no meio, possuem alta adaptabilidade a salinidade e temperatura, tolerância a diferentes concentrações de oxigênio, resistentes ao manuseio em laboratório, os ensaios são de rápidos resultados e utilizam pequenos volumes de amostra, por consequência geram poucos resíduos. Além disso, o microcrustáceo é representativo de ambientes aquáticos, é importante para o fluxo energético da cadeia alimentar, é sensível a vários contaminantes, possui mesma condição fisiológica, idade e estabilidade genética, por isso este organismo é recomendado em ensaios ecotoxicológicos de ambientes marinhos, estuarinos e hipersalinos (BOUCHET, 2004; DIONÍSIO et al., 2018; NUNES et al., 2006; PIMENTEL et al., 2011; SORGELOOS; WIELEN; PERSOONE, 1978).

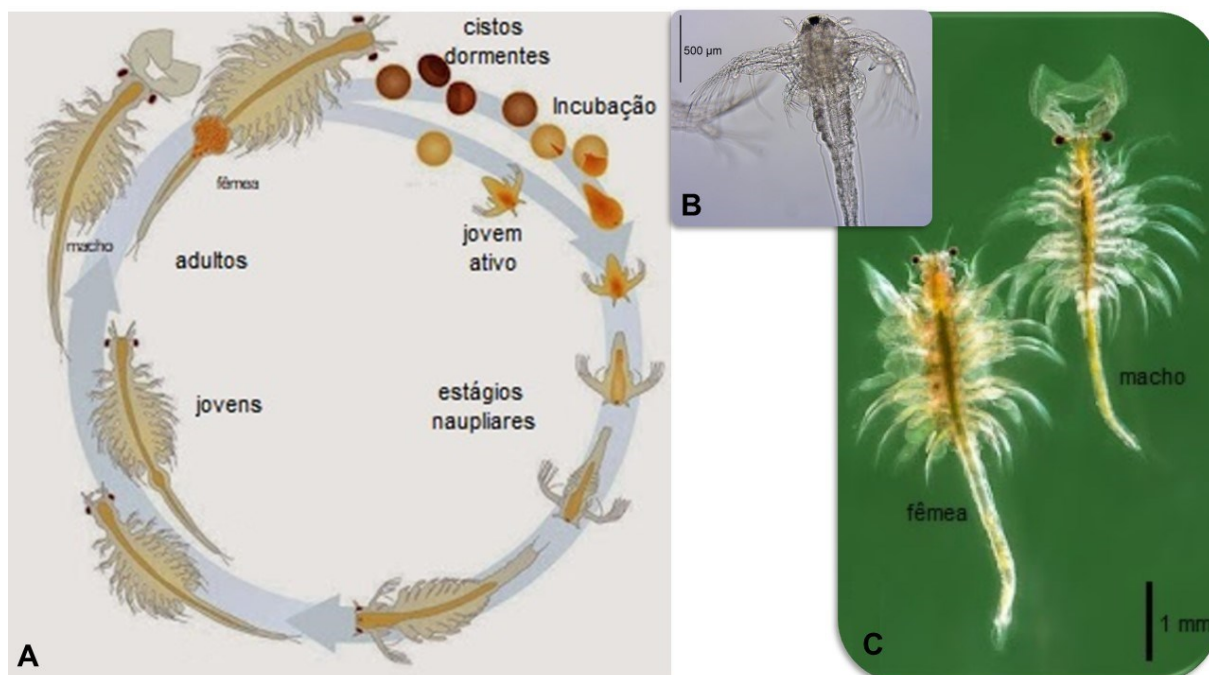
Os bioensaios ecotoxicológicos com *Artemia salina* são bem consolidados na literatura, principalmente após trabalhos descrevendo metodologias para bioensaio e determinação da toxicidade, como os realizados por Vanhackle e Sorgeloos (1980), Meyer et al. (1982) e Persoone e Wells (1987). Em 2016 a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) padronizou os ensaios com a *A. salina* (ABNT, 2016b). A utilização deste organismo vem crescendo, devido à facilidade de cultura, baixo custo, ciclo de vida curto, alta taxa de reprodução, fácil adaptabilidade a condições adversas

e por serem filtradores não seletivos, o que facilita na observação de efeitos de contaminantes (DIONÍSIO et al., 2018; LIBRALATO et al., 2016; NUNES et al., 2006).

Artemia salina possui diferentes estratégias reprodutivas, em que a reprodução pode ocorrer de duas formas: sexuada ou partenogenética (figura 6 A). Na reprodução por partenogênese, a artemia mãe da origem a náuplios (artêmias filhas) geneticamente idênticas à matriz, nesses cultivos apenas existem fêmeas, na qual as artêmias adultas podem chegar ao comprimento de 16 mm. Na reprodução sexuada, há o cruzamento entre macho e fêmea gerando cistos (ovos com alta resistência química e física), como consequência os náuplios apresentam variação genética, nesses cultivos as artêmias adultas podem chegar ao comprimento de 10 mm (CISNEROS, 2002; LAVENS; SORGELOOS, 1996; NUNES et al., 2006; TORRES, 2017; YOCKTENG, 2017).

Um dos pontos positivos no uso da artêmia está na disponibilidade comercial, uma vez que os cistos são facilmente encontrados em aviários e pisciculturas, com a finalidade de serem alimento para larviculturas de peixes e crustáceos. A técnica para a incubação de cistos comerciais permite apenas a eclosão de náuplios da variedade com ambos os sexos, não da partenogenética. Os cistos quebram o estado de dormência ao ficarem em condições propícias à eclosão, ou seja, em meio salino (5 a 250 g·L⁻¹) e temperatura adequada (6 a 35 °C), após 24 a 48 h, a eclosão dos cistos acontece, obtendo-se náuplios em estágios 1 e 2 (figura 6 B) (LAVENS; SORGELOOS, 1996; NUNES et al., 2006; PINHEIRO, 2021).

Figura 6 - Ciclo de vida e exemplares da *Artemia salina*.



FONTE: Adaptado (PINHEIRO, 2021; SANTOS, 2019).

LEGENDA: A. Ciclo de vida, B. Náuplio estágio 2, C. Exemplares de macho e fêmea adultos.

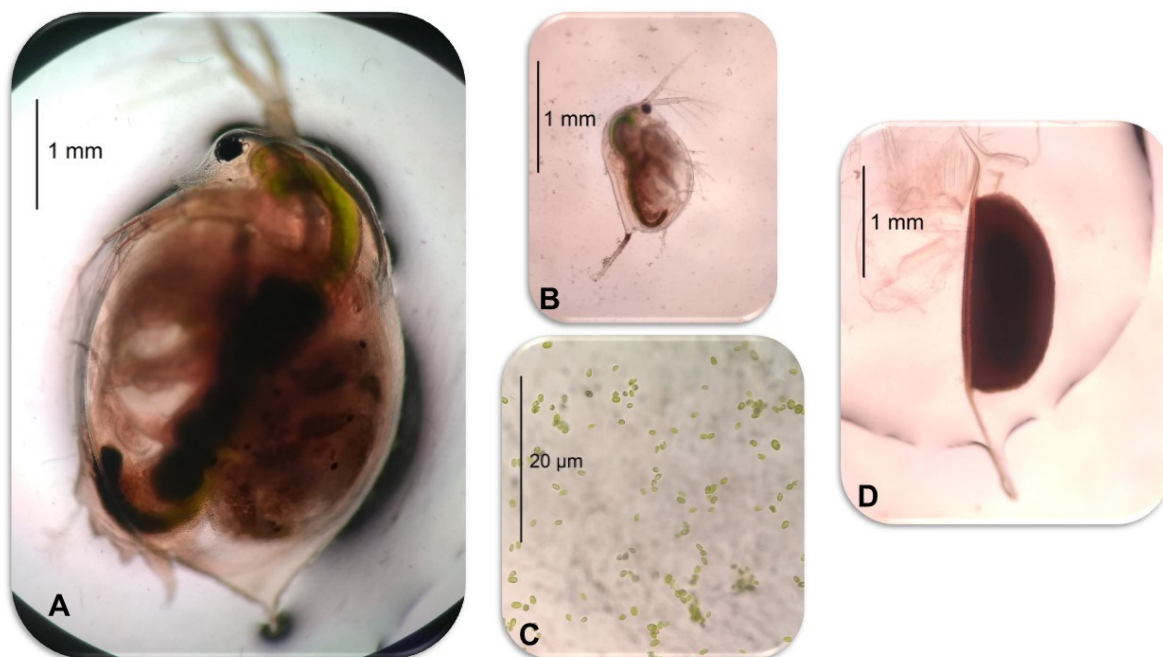
2.3.2 *Daphnia magna*

Daphnia magna Straus 1820 (filo *Arthropoda*, subfilo *Crustacea*, classe *Branchipoda*, ordem *Diplostraca*, subordem *Cladocera*, família *Daphniidae*, gênero *Daphnia*) é um microcrustáceo planctônico que vive em ambientes de água doce, encontrada em rios, lagoas, planícies inundadas e represas. Apresenta um importante papel na cadeia alimentar como consumidor primário, se alimentando por meio da filtração de matéria orgânica particulada, detritos, bactérias e algas unicelulares (figura 7 C). O microcrustáceo adulto pode chegar ao comprimento de 6 mm, atinge maturação sexual entre 6 a 8 dias após o nascimento e possui um ciclo de vida próximo a 60 dias (ALVES; SILVANO, 2006; BORDIN, 2021; BRÜNNICH et al., 2005; ESTEVES, F., 1998; KNIE; LOPES, 2004; LOUREIRO-ELMOOR, 1997).

Assim como *A. salina*, *D. magna* possui duas formas de reprodução: sexuada e assexuada. A reprodução sexuada acontece quando há condições desfavoráveis (oscilações de temperatura, desregulação de fotoperíodo, ausência ou demasia de alimento ou superpopulação), em que os machos surgem como uma ferramenta estratégica para evitar a extinção. Em decorrência da reprodução sexuada surgem os efípios (figura 7 D), que são ovos de alta resistência em condições de risco, pois

suportam altas variações de temperatura e pH, baixo oxigênio dissolvido e até mesmo ausência de alimento. A reprodução assexuada acontece por partenogênese quando o organismo se encontra em condições favoráveis, em que apenas se originam neonatos fêmeas (filhotes - figura 7 B) que são geneticamente idênticas a matriz (figura 14 A) (ALVES; SILVANO, 2006; KNIE; LOPES, 2004; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Figura 7 - Exemplos da *D. magna*, neonato, efípio e microalga *D. subspicatus*.



FONTE: O autor.

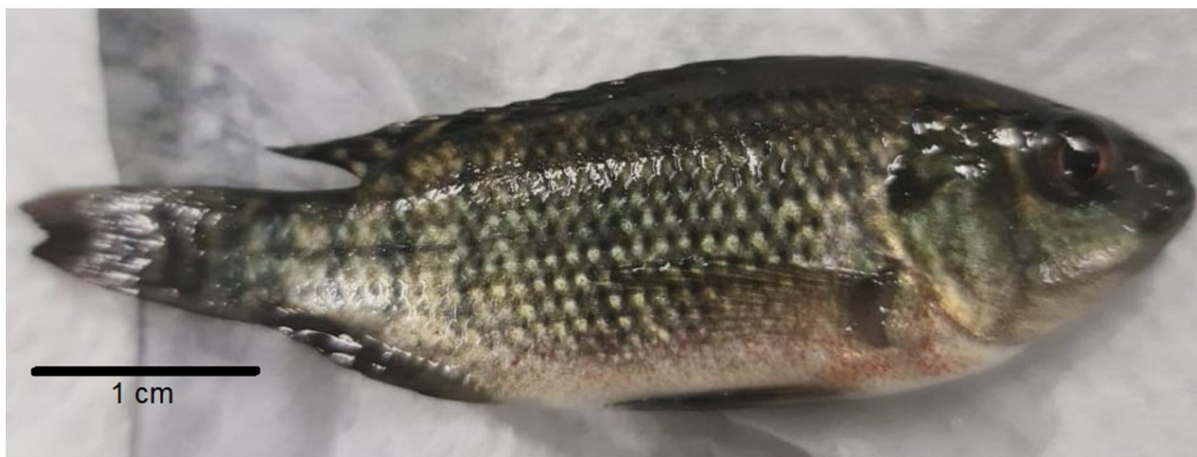
LEGENDA: A. *D. magna* matriz, B. *D. magna* filhote, C. *Desmodesmus subspicatus* alga unicelular utilizada como alimento (magnificação de 400x), D. Efípio.

Os ensaios com *D. magna* são bem estabelecidos, em 1908 Élie Metchnikoff realizou experimentos com a *D. magna* que resultou em um prêmio Nobel. A utilização da daphnia como modelo de sistema biológico é muito bem conhecida, sendo um dos organismos referência mais recomendados para ensaios ecotoxicológicos, principalmente após o trabalho realizado por Einar Naumann Who que em 1933 relatou a utilização da *D. magna* como organismo teste para ensaios toxicológicos. Devido diversos estudos mostrarem a Daphnia como um organismo promissor, os testes foram padronizados pela EPA (*Environmental Protection Agency*) 1973, DIN (*Deutsche Institut für Normung*) e ISO (*International Standard Organization*) em 1982, BS (*British Standard*) e NF (*Norme Française*) em 1983. No Brasil, os ensaios com a *D.*

magna são padronizados pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) com sua primeira edição em 1993. No cenário de pesquisas nacionais e internacionais, atualmente a *D. magna* é um dos organismos zooplanctônicos mais empregados em ensaios ecotoxicológicos, pois detêm características como: alta relevância ecológica, vasta distribuição geográfica, uniformidade genética, resposta sensível à uma ampla gama de substâncias químicas, fácil cultivo e manutenção em laboratório, curto ciclo de vida e ensaios com resultados rápidos (ALVES; SILVANO, 2006; EBERT, 2011; NIKUNEN; MIETTINEN, 1985).

2.3.3 *Oreochromis niloticus*

A tilápia do Nilo (figura 8) ou *Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758 (filo *Chordata*, subfilo *Pisces*, classe *Actinopterygii*, ordem *Perciformes*, família *Cichlidae*, gênero *Oreochromis*) é um peixe originário de rios africanos, naturalmente distribuídos entre o centro-sul da África ao norte da Síria, foi introduzida em diversas regiões do mundo com finalidade de aquicultura, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (BAUMGARTNER et al., 2012; BOSCOLO et al., 2001; DIALLO et al., 2020; GOUIN, 2015; GRACA; PAVANELLI, 2007; OTA et al., 2018). São também encontradas em águas salobras e estuários, pois conseguem suportar variações de salinidade, por possuírem um eficiente mecanismo de regulação osmótica (VIJAYAN et al., 1996). No Brasil, mais especificamente no nordeste, a tilápia do Nilo foi primeiramente introduzida em 1971, posteriormente foi distribuída para todas as regiões, sendo hoje a espécie mais cultivada no país, abrangendo todas as bacias hidrográficas do Brasil, desde os rios da região amazônica até do Rio Grande do Sul (BOSCOLO et al., 2001; LOVSHIN, 1997).

Figura 8 - Exemplar de alevino *Oreochromis niloticus*.

FONTE: O autor.

Segundo Brum et al. (2018) entre todos os peixes de água doce do mundo a espécie mais cultivada é *O. niloticus*, em virtude da facilidade de adaptação em cativeiro, da resistência a doenças e condições ambientais adversas (pois sobrevive a uma ampla gama de salinidades, variações de temperatura, baixas concentrações de oxigênio dissolvido e altas concentrações de amônia na água), da facilidade de alimentação (onívoro), por terem fácil reprodução, bom desempenho de crescimento e da rusticidade, características que atendem às demandas do mercado, principalmente relacionadas à dieta humana, fazendo com que esta espécie seja de extrema relevância comercial e ecológica (BOSCOLO et al., 2001; ZHOU et al., 1998). Além disso, existem muitos estudos utilizando esta espécie como organismo teste, além de possuir alta adaptabilidade em ensaios laboratoriais, são considerados bioindicadores sensíveis, facilitando a detecção de potenciais efeitos adversos em níveis elementares como genético e bioquímico (AHMED et al., 2011; ALMEIDA et al., 2002).

Atualmente, a tilápia tem sido amplamente estudada, tanto em aspectos comerciais quanto como objeto de estudos ecotoxicológicos, por meio de parâmetros biológicos e reprodutivos. Este organismo tem se mostrado um bom modelo biológico, pois é encontrado em vários habitats aquáticos (rios, canais, lagos, águas salobras e estuários), são disponíveis durante todo ano e são de fácil manejo. Além disso estudos mostram que este organismo é sensível a diversas substâncias químicas como: metais (SANTOS et al., 2007; ZHOU et al., 1998), fármacos (GRÖNER et al., 2017; RIBAS, 2022), agrotóxicos (AL-GHANIM, 2012; BARBIERI; FERREIRA, 2011),

contaminantes emergentes (BUCHIR et al., 2021; OLSMAN, 2022), microplásticos (DING et al., 2020; ZHANG et al., 2019) e outros (BOSCOLO et al., 2001; SIMÕES, 2017; VIJAYAN et al., 1996).

2.4 BIOMARCADORES

Os efeitos biológicos causados por compostos xenobióticos podem ser evidentes em diferentes níveis de organização, desde níveis mais basais, em compartimentos subcelulares, interferindo em reações bioquímicas intracelulares ou no material genético, podendo afetar as células, sistemas fisiológicos, organismos, populações, comunidades e ecossistemas. Quanto mais complexo o nível de organização biológica, mais difícil a associação do efeito do agressor ambiental com a alteração do sistema biológico. De acordo com Walker et al. (2005), quando organismos entram em contato com substâncias prejudiciais, podem ser provocados dois tipos de efeitos: respostas de autoproteção e danos causados pelo agente xenobiótico. Normalmente, os mecanismos de autoproteção visam reduzir a concentração de poluentes no sistema celular, prevenindo interações indesejáveis com os componentes celulares. Biomarcadores possuem as finalidades de detectar e mensurar essas alterações no sistema biológico, para tal existem três classes de biomarcadores: exposição, efeito e suscetibilidade (GOLDSTEIN et al., 1987; WALKER et al., 2005; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

A primeira definição para biomarcador (*biological marker*) foi estabelecido pelo *Committee on Biological Markers of National Research Council* em 1987, descrita resumidamente na revisão de Van der Oost et al. (2003) como: “medições em fluídos corporais, células ou tecidos que indicam modificações bioquímicas ou celulares devido a presença e magnitude de substâncias tóxicas ou da resposta do hospedeiro” (GOLDSTEIN et al., 1987; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Goldstein et al. (1987) apresentaram as definições das diferentes classes de biomarcadores: de Exposição que são os que detectam e quantificam a dose interna e a biodisponibilidade de um xenobiótico ou de seus metabólitos; de Efeito que são caracterizados pela incitação de mecanismos de defesa característicos da presença de um estressor, sendo respostas adaptativas a níveis moleculares, bioquímicos, celulares ou teciduais, podendo ser reversíveis; e de Suscetibilidade que são caracterizados pelas variações de respostas entre causa (exposição) e efeito do

agente estressor frente ao organismo, sendo possível verificar a resistência fisiológica obtida e a herdada geneticamente (RAMSDORF, 2011; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Outras classificações mais específicas sobre biomarcadores foram descritas por Peakall (1992) em seu livro, em que relata sobre biomarcadores relacionados ao sistema nervoso, sistema reprodutivo, genéticos, estresse oxidativo, histopatológicos, metabolismo energético, comportamentais e disruptores endócrinos.

Os biomarcadores são de extrema importância no monitoramento ambiental, uma vez que são capazes de detectar alterações em níveis de organizações elementares, sendo que toda resposta biológica aparece primeiro nos compartimentos moleculares, bioquímicos e celulares, logo parâmetros moleculares e bioquímicos podem ser relacionados a sistemas biológicos mais complexos, sendo possível obter respostas precoces e reversíveis de perturbações ambientais, viabilizando atitudes para evitar danos permanentes no ambiente (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

2.4.1 Somático

Fulton (1902) foi o primeiro cientista a fazer uma relação entre a medida do comprimento e massa corporal com a condição do animal, que determinou essa relação para diferentes espécies de peixes. Fulton se baseou na “lei” descrita por Spencer (1884) que diz: “um peixe que dobra de tamanho deve aumentar seu peso em oito vezes”. Desta forma, Fulton fez uma relação entre as medidas de comprimento e massa, para isso ele estudou diferentes espécies de peixes, em regiões distintas e em diferentes estações do ano. Essa relação foi aprimorada por outros pesquisadores e a equação mais utilizada hoje em dia foi descrita por Ricker (1975) (NASH; VALENCIA; GEFFEN, 2006).

O fator de Fulton (K_f) é um índice que fornece informações a respeito do estado nutricional (gordura) e saúde (bem estar) dos peixes, desta forma um peixe de maior comprimento e massa corporal, possui maior reserva energética, portanto está em boas condições (BOLGER; CONNOLLY, 1989; NASH; VALENCIA; GEFFEN, 2006; OLSMAN, 2022). Na literatura, o índice de Fulton tem sido empregado em estudos de monitoramento ambiental (COMPA et al., 2018; ENCINA; GRANADO-LORENCIO, 1997) e para verificação das condições dos organismos após bioensaios (QIAO et al., 2019; RIBAS, 2022).

2.4.2 *Genético*

O biomarcador ensaio cometa é uma técnica sensível, rápida e prática que consiste numa eletroforese em microgel utilizada para detectar precocemente danos no DNA (simples e dupla-fita) em células individualizadas. Este método foi elaborado por Östlig e Johanson (1984) e aprimorado por Singh et al. (1988) podendo ser empregados em células nucleadas de qualquer tipo de tecido (animais e vegetais) e necessita de poucas células para se obter um resultado significativo (RAMSDORF, 2011; SINGH et al., 1988; ZAGATTO, 2008).

Esta metodologia consiste em quebrar as membranas celulares e nucleares que posteriormente, são submetidas a eletroforese. A princípio o DNA encontra-se espiralizado e altamente compactado, o tratamento alcalino propicia a descompactação do material genético. Deste modo, quando há alterações na estrutura do material genético provocadas por quebras ou lesões no DNA devido a fatores genotóxicos (substâncias, radiação, estresse oxidativo, entre outros), estes fragmentos ou distensões migram com velocidades distintas na presença de um campo elétrico (ZAGATO, 2008; KNAPIK, 2017).

As limitações desse método são que os danos não podem ser atribuídos a uma exposição específica (BELPAEME; COOREMAN; KIRSCH-VOLDERS, 1998) e os danos no material genético podem ser reparados precocemente às análises (BEEDANAGARI et al., 2014), entretanto os mecanismos de reparo ocorrem de forma mais lenta em organismos aquáticos (ESPINA; WEISS, 1995).

2.4.3 *Bioquímicos*

Toda resposta biológica se manifesta primeiramente na escala molecular e bioquímica, porque são os primeiros níveis de organização biológica a serem afetados por estressores ambientais, caracterizando-os como indicadores altamente sensíveis e específicos, amplamente empregados como parâmetros preventivos de impacto ambiental (BUCHELI; FENT, 1995; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Entre os biomarcadores bioquímicos mais sensíveis estão as enzimas de biotransformação, pois essas são responsáveis pela conversão de xenobióticos nos processos de metabolização de fase I e II (BITENCOURT et al., 2011; LIVINGSTONE,

1998; RAND, 1995). Os biomarcadores de estresse oxidativo também apresentam alta relevância, caracterizados por antioxidantes como sistema de defesa a danos oxidativos (SONG; XU; ZHOU, 2006; TOCHER et al., 2002). Entre os biomarcadores de neurotoxicidade, os de maior relevância são as enzimas colinesterases, que possuem um papel importante no sistema nervoso e são sensíveis a baixas concentrações de substâncias neurotóxicas (OSÓRIO et al., 2014; PAYNE et al., 1996; XIONG et al., 2018).

2.4.3.1 Neurotoxicidade

Agentes xenobióticos podem interagir com o sistema nervoso e afetar funções neurais (cerebrais e musculares), nesse caso as enzimas de interesse como biomarcadores de neurotoxicidade são as colinesterases, comumente avaliada em biomonitoramentos ambientais. Existem dois tipos de colinesterases: as que possuem alta afinidade com a acetilcolina (acetilcolinesterase – AChE) e as que possuem afinidade com a butirilcolina (butirilcolinesterase – BChE), ambas são encontradas nos tecidos musculares de peixes, mas apenas a AChE é detectada no tecido cerebral (BEYER et al., 1996; DE ANDRADE BRITO et al., 2012; OSÓRIO et al., 2014; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; YAMAMOTO, 2016).

A AChE está envolvida no processo de regulação de transmissões nervosas, ela opera após a transmissão do impulso nervoso, pois é responsável pela desativação do neurotransmissor acetilcolina através da hidrólise em ácido acético e colina, desta forma interrompe a interação dos receptores com neurotransmissor, encerrando a transmissão sináptica colinérgica. Alterações na atividade da AChE pode causar diversos efeitos deletérios, entre eles os mais comuns são: modificações comportamentais, paralisia muscular, convulsões, insuficiência respiratória, alterações na coordenação motora e na memória e pode levar a morte (COLOVIC et al., 2013; PETRONILHOA; PINTOB; VILLARA, 2011; SOUZA, 2018; VANDEPUT et al., 2015). Eddleston et al. (2002) estudou a desativação da enzima AChE causada por pesticidas organofosforados, a inativação da enzima ocorre muito rapidamente pela interação do grupo fosforil (oriundo de pesticidas) com o sítio ativo da AChE. Desta forma, se acumulam enzimas inativas impossibilitadas de realizar a hidrólise, havendo uma redução na degradação da acetilcolina, ocasionando a hiperestimulação dos receptores colinérgicos, resultando em um excesso de transmissão nervosa.

2.4.3.2 Biotransformação

Após a exposição e absorção de um xenobiótico por um organismo, a substância pode ser acumulada ou biotransformada. No caso de substâncias hidrofílicas (polares) a excreção é facilitada, geralmente são eliminados sem transformação (composto parental) (LINDE; HENDRIKS; SIJM, 2001). Substâncias hidrofóbicas (apolares) não são excretadas facilmente, portanto o organismo possui duas estratégias de metabolização: uma delas consiste na inativação e armazenamento em regiões lipofílicas do organismo e a outra na biotransformação do xenobiótico (BOELSTERLI, 2002). As células possuem mecanismos de conversão de substâncias lipofílicas em hidrofílicas, na qual a célula produz enzimas capazes de aumentar a polaridade da substância através da inserção de agrupamentos polares (YAMAMOTO, 2016). Esses mecanismos de biotransformação acontecem principalmente no tecido hepático que é separado em duas partes de reação, as de fase I e II, que podem acontecer de forma independente, ou seja, podem ou não acontecer em sequência (BOELSTERLI, 2002; OGA, 2008).

Reações de fase I são realizadas por enzimas (esterases, desidrogenases, monooxigenases e oxidases) que fazem adições ou quebras de grupos funcionais (-OH, -COOH, -NO₂, -SH, -NH₂) através de reações de oxidação, redução e hidrólises (AZEVEDO; CHASIN, 2004; BITENCOURT et al., 2011; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Na fase II, o xenobiótico passa por reações de glucuronidação, sulfatação, metilação, acetilação e conjugação que são catalisadas por enzimas transferases (glutationa, aminoácidos, metilas, acetilas ou sulfatos), gerando moléculas com maior polaridade (hidrofílicas) (BUCHELI; FENT, 1995; KLAASSEN, 2008; OGA, 2008). As duas reações tem a finalidade de aumentar a hidrofílicidade para facilitar a excreção, mas nem sempre causa a inativação do xenobiótico, em alguns casos acontece a bioativação do composto, em que o metabólito formado possui um maior potencial tóxico que o composto parental (BOELSTERLI, 2002).

As enzimas da família das glutatona-S-transferases (GST) são diméricas, multifuncionais e solúveis, presentes no citoplasma celular. São essenciais na homeostase celular atuando no processo de detoxificação de xenobióticos, transporte intracelular, biossíntese e possuem papel de proteção contra danos oxidativos, principalmente no material genético e lipídeos (MALINS, 2018; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). No processo de biotransformação, a GST atua nas

reações de fase II, responsável por catalisar a conjugação do co-fator glutatona reduzida (GSH) com o xenobiótico ou produtos oriundos da fase I do metabolismo (STOREY, 1996; TIMBRELL, 2008).

2.4.3.3 Estresse oxidativo

No processo de respiração celular ou fotossíntese (no caso das plantas), devido ao fluxo de elétrons, naturalmente formam-se radicais livres que geram espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Essas espécies são reativas e tem potencial de interagir com biomoléculas e danificar ácidos nucleicos, membrana celular, lipídeos, proteínas, carboidratos, organelas celulares e interferir na cadeia transportadora de elétrons (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; KESARI; JHA, 2021; PIKULA et al., 2019). Além dos fatores endógenos, substâncias xenobióticas podem induzir a formação de EROs e causar um desequilíbrio no sistema oxirredutor das células, em que o sistema antioxidante é incapaz de restaurar o estado redox normal na célula, levando a um quadro de desequilíbrio denominado estresse oxidativo (BOELSTERLI, 2002; JONES, 2006; VALKO et al., 2007; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

O sistema de defesa contra danos oxidativos é composto por antioxidantes que tem a finalidade de manter um estado redox ideal celular através: da eliminação de EROs, prevenção e reparo de danos em lipídeos, reduzir grupamentos tióis e reter metais redox-ativos (PISOSCHI; POP, 2015; YAMAMOTO, 2016). As defesas antioxidantes são formadas por substâncias hidrossolúveis (carotenos, GSH e vitamina C), lipossolúveis (retinol, vitamina A e E) e por enzimas antioxidantes (superóxido-dismutase, catalase e glutatona peroxidase) (LIVINGSTONE, 2001; RAMSDORF, 2011).

Os mecanismos de metabolização e antioxidantes da célula, nem sempre conseguem neutralizar um xenobiótico em apenas um passo, geralmente geram subprodutos que se enquadram na categoria de EROs, como o peróxido de hidrogênio. No citoplasma celular, os peroxissomos são organelas que armazenam a enzima catalase (CAT) que catalisa a reação de degradação do peróxido de hidrogênio, em espécies menos reativas (oxigênio e água), evitando a formação de radicais altamente reativos, com potencial de afetar a homeostase celular. A concentração das EROs pode induzir alterações na atividade da CAT, que geralmente

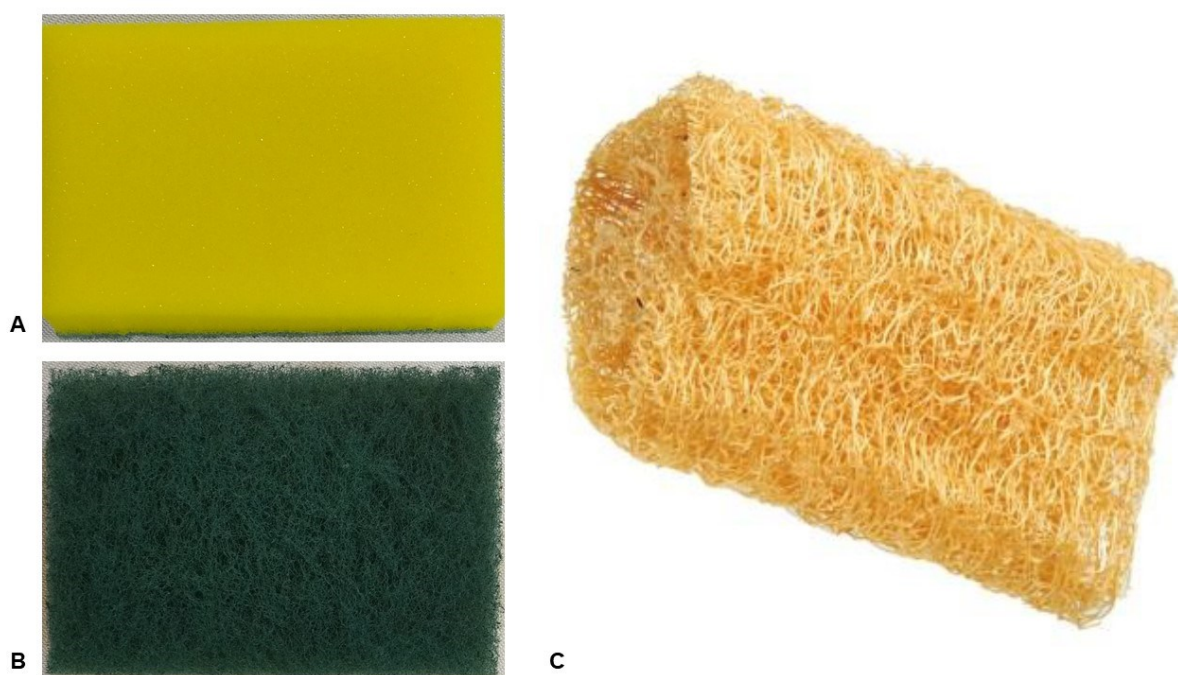
está associada a alterações na atividade da superóxido-dismutase e da glutationala peroxidase, uma vez que esses mecanismos de defesa geram o peróxido de hidrogênio como subproduto (AHMAD et al., 1995; CUTLER, 2005; LACKNER, 1998).

As membranas celulares são compostas essencialmente por macromoléculas lipídicas, que possuem grande importância para manter a estrutura celular e auxiliam no controle de diversas funções. A membrana plasmática é o primeiro alvo das EROs que ocasiona a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados (LPO – lipoperoxidação ou peroxidação lipídica), esta reação se inicia com as EROs ou xenobióticos reativos, em que se forma um radical lipídico que é rapidamente peroxidado formando um radical peroxil que reage em cadeia, que só termina com a fixação de peróxidos lipídicos na estrutura da membrana. Conseqüentemente a membrana celular aumenta a permeabilidade alterando o processo de transporte e manutenção metabólitos, desregulação de íons, disfunção na transdução de sinais através de receptores e ativação de enzimas como nucleases, proteases e fosfolipases (BARRERA, 2012; GIROTTI, 2002; MASON; WALTER; MASON, 1997; RAMSDORF, 2011; YIN; XU; PORTER, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas foram esponjas sintéticas dupla face de limpeza doméstica (figura 9). Visando a simulação da utilização e desgaste das esponjas, as amostras foram separadas e fragmentadas originando micropartículas da parte amarela (PU flexível), da parte verde (fibra sintética abrasiva) e da bucha vegetal.

Figura 9 - Amostra de esponja sintética multiuso doméstica e da bucha vegetal utilizadas no desenvolvimento do trabalho.

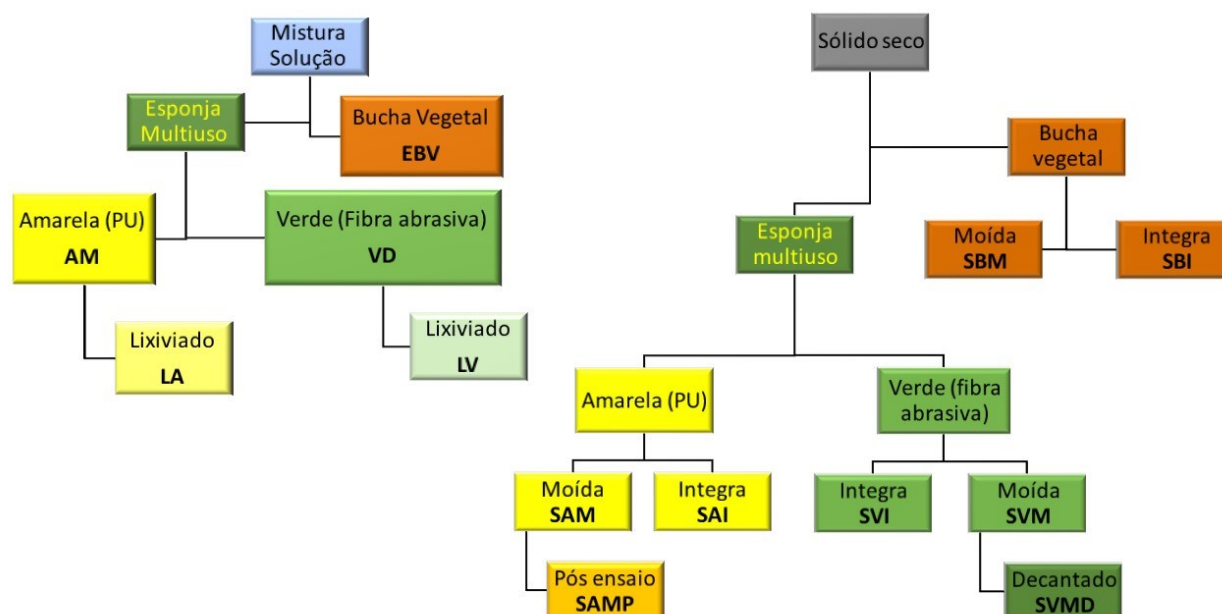


FONTE: O autor.

LEGENDA: A. Fração amarela da esponja multiuso, face constituída de espuma de PUF; B. Fração verde da esponja multiuso, face constituída por fibra sintética abrasiva; C. Bucha vegetal.

O organograma da figura 10 apresenta de forma simplificada as amostras geradas e suas abreviações.

Figura 10 - Amostras geradas e suas abreviações.



FONTE: O autor.

LEGENDA: MISTURAS E SOLUÇÕES

Misturas - Parâmetros avaliados: toxicidade aguda ($CE_{50(48h)}$) para microcrustáceos e subcrônica para peixes.

Mistura estoque constituída por micropartículas da bucha vegetal (**EBV**), Mistura estoque constituída por micropartículas de PUF da face amarela da esponja multiuso (**AM**) e Mistura estoque constituída por microfibras e micropartículas oriundas da fibra sintética abrasiva da face verde da esponja multiuso (**VD**).

Soluções - Parâmetro avaliado: toxicidade aguda (FT_{48h}); Caracterização: FT-IR.

Lixiviado filtrado das micropartículas da face amarela (**LA**) e Lixiviado filtrado e decantado das micropartículas e microfibras da face verde (**LV**)

SÓLIDOS

Íntegros - Caracterizações: MEV, FT-IR, TGA e DRX.

Sólido seco da face Amarela da esponja multiuso Íntegra (**SAI**), Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Íntegra (**SVI**) e Sólido seco da Bucha vegetal Íntegra (**SBI**)

Moídos - Caracterizações: Análise granulométrica, MEV e TGA

Sólido seco da face Amarela da esponja multiuso Moída (**SAM**), Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Moída (**SVM**) e Sólido seco da Bucha vegetal Moída (**SBM**).

Exposto - Caracterizações: MEV e TGA.

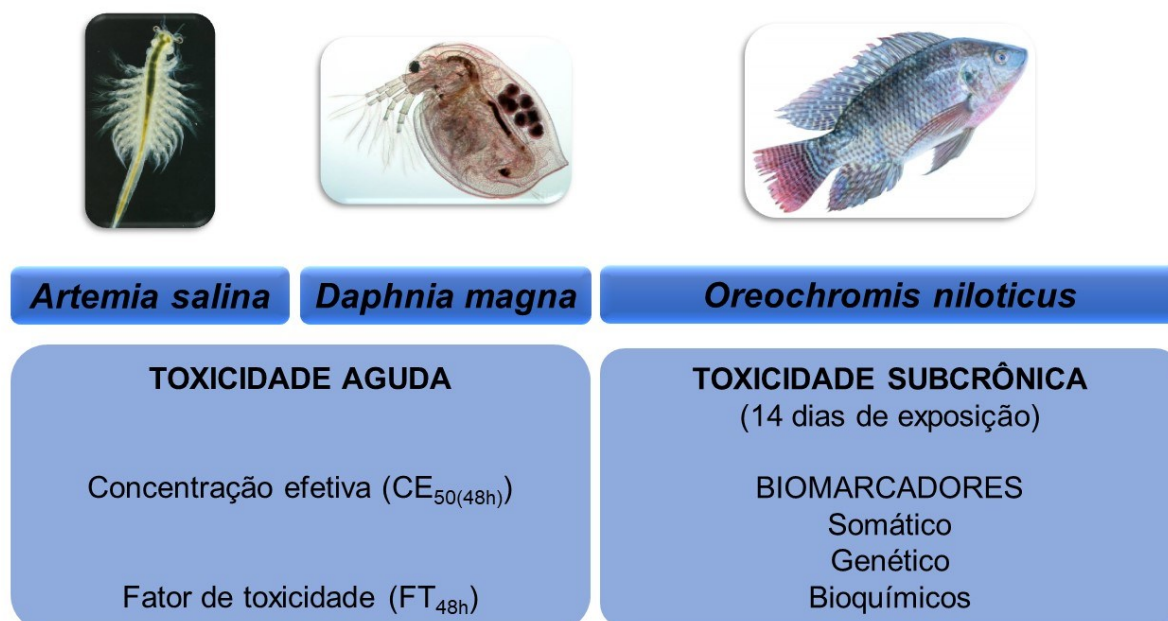
Sólido seco da face Amarela da esponja multiuso Moída Pós bioensaio com *O. niloticus* (**SAMP**).

Decantado - Caracterizações: MEV.

Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Moída após filtração e Decantação (**SVMMD**).

A figura 11 demonstra um resumo dos bioensaios realizados com os respectivos organismos-teste.

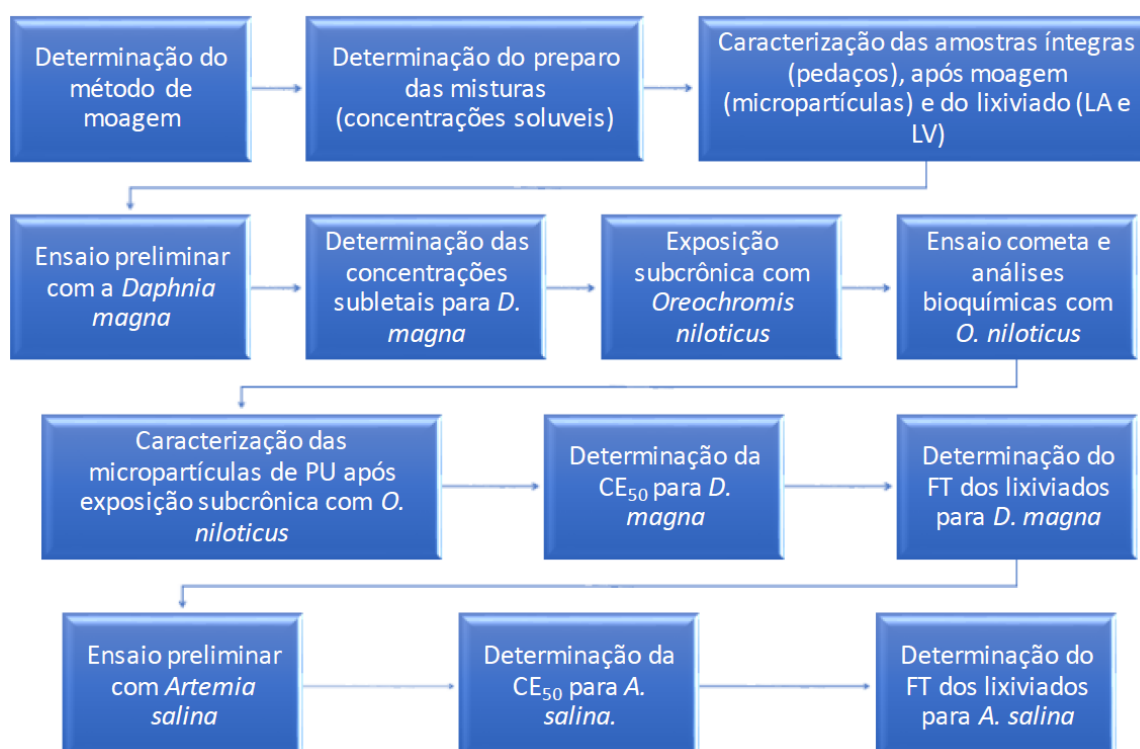
Figura 11 - Parâmetros analisados nos bioensaios com os respectivos organismos-teste.



Fonte: O autor.

No esquema da figura 12 tem-se o fluxograma em ordem cronológica com o resumo dos procedimentos realizados.

Figura 12 - Etapas realizadas no desenvolvimento do trabalho em ordem cronológica.



Fonte: O autor.

3.1 SOLUÇÕES TESTE

Devido a diferença na consistência, no preparo das soluções/misturas foram empregados diferentes métodos de moagem para cada amostra. As misturas finais foram classificadas como misturas heterogêneas devido a possibilidade de fazer a distinção das fases, portanto, no preparo das diluições foi necessário agitar e verter para miscigenar a mistura e diminuir o erro analítico.

3.1.1 Face amarela (PUF) e verde (fibra abrasiva) da esponja multiuso

Para preparação da mistura estoque contendo micropartículas de PU flexível (parte amarela) e micropartículas da fibra sintética abrasiva (parte verde), oriundas da esponja dupla face multiuso doméstica, foi necessário que ambas as partes passassem por um processo de moagem, sendo utilizado o mesmo método de granulação para as duas amostras.

Primeiramente foi realizada a separação manual das duas faces (amarela e verde), e cortadas manualmente, com o auxílio de uma tesoura, em formatos cúbicos irregulares com largura, comprimento e espessura próximos a 1 cm, em que a amostra de PU flexível da parte amarela (Sólido Amarelo Íntegro – **SAI**) e a fibra sintética abrasiva da parte verde (Sólido Verde Íntegro – **SVI**), foram armazenadas para posteriores análises de caracterização.

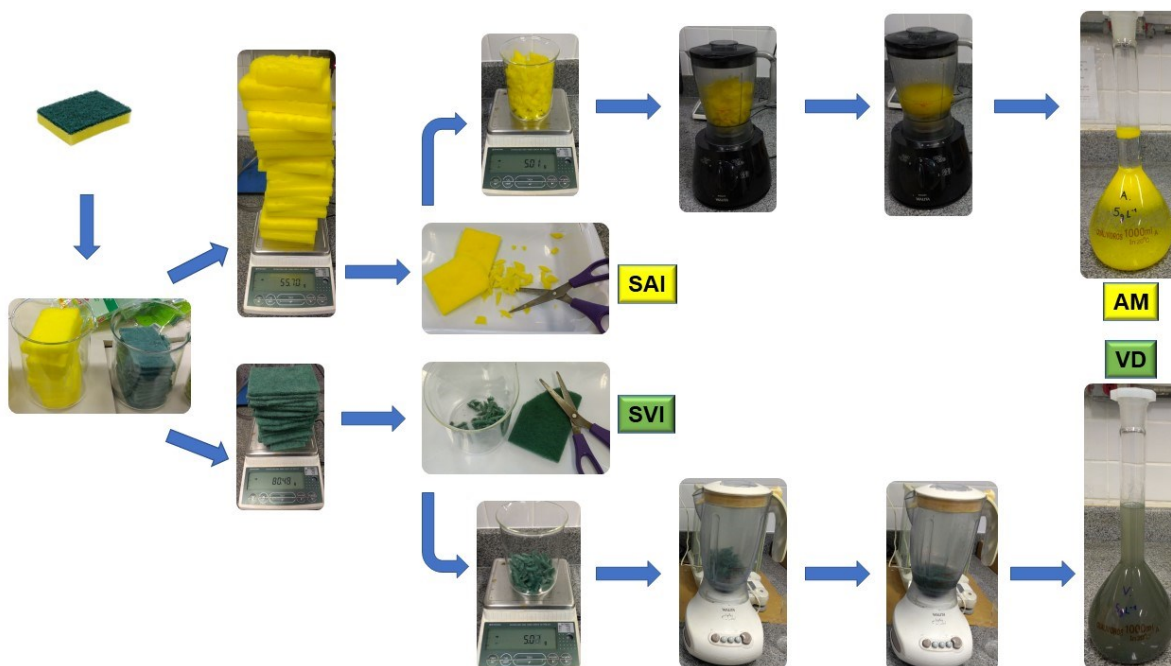
Para a moagem do SAI e do SVI foi utilizado um moinho doméstico de hélice laminar (liquidificador), em que foi necessário realizar adição de água de osmose devido a dificuldade no processo de granulação, quando secos provocam aquecimento e a amostra SAI criava carga estática impossibilitando o contato com as lâminas. Em todo o procedimento tomou-se o cuidado para não contaminar uma amostra com a outra, portanto foi utilizado um moinho para cada. Num primeiro momento as amostras foram pesadas com auxílio de uma balança (Shimadzu – BL3200H, com precisão de duas casas), foram transferidas para o moinho e adicionou-se água de osmose em que foram submetidas a 30 pulsos em velocidade máxima, velocidade mínima por 5 minutos e posteriormente, a três seções de 3 minutos na velocidade máxima com intervalos de 10 minutos para resfriamento.

Após o processo de moagem obteve-se duas misturas heterogêneas: Uma mistura contendo micropartículas de PU flexível com diferentes dimensões de aspecto

uniforme com coloração amarela (Mistura Amarela – **AM**) e uma mistura contendo micropartículas e microfibras da fibra sintética abrasiva com dimensões distintas e coloração verde (Mistura Verde – **VD**).

O processo de preparação e moagem para a obtenção das misturas AM e VD estão representadas de forma esquemática na figura 13. Para cada amostra foram preparadas misturas estoques nas concentrações de 5 e 20 g·L⁻¹. A determinação dessas concentrações foi baseada na quantidade máxima de partículas miscíveis na água para a amostra menos miscível, em que foi possível misturar 21 g·L⁻¹ da amostra SAI e 30 g·L⁻¹ da amostra SVI.

Figura 13 - Esquema do processo de moagem e preparação das misturas estoque AM e VD.



FONTE: O autor.

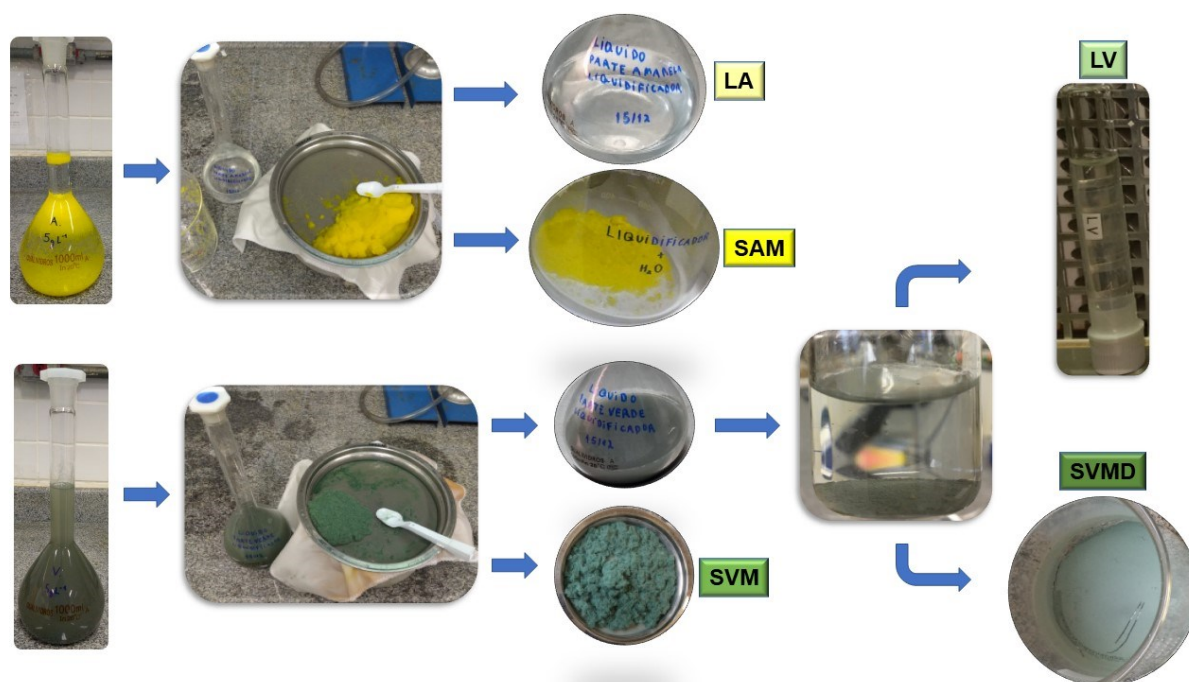
LEGENDA: Sólido seco da face Amarela da esponja multiuso Íntegra (**SAI**), Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Íntegra (**SVI**), Mistura estoque constituída por micropartículas de PUF da face amarela da esponja multiuso (**AM**) e Mistura estoque constituída por microfibras e micropartículas oriundas da fibra sintética abrasiva da face verde da esponja multiuso (**VD**).

Posteriormente as misturas AM e VD foram filtradas com uma peneira de malha quadrada (abertura 0,045 mm) em série com um tecido de poliéster, fornecido pela Empresa Air Slaid, processo esquematizado na figura 14. Após a filtração da mistura AM obteve-se micropartículas com diâmetros de uniformidade aparente, que foram secas a temperatura ambiente ($\cong 24$ °C) e tinham tendência a aglutinação

(Sólido seco Amarelo Moído – **SAM**), o material foi armazenado para posterior análise de caracterização e granulometria.

O filtrado originado da amostra AM, com aspecto não viscoso, incolor, levemente opaco e com odor acentuado (Lixiviado da parte Amarela – **LA**), foi armazenado em geladeira (Temperatura $\cong 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) para análises. Após a filtragem da amostra VD obteve-se microfibras e micropartículas sem uniformidade aparente nos diâmetros, foram secas a temperatura ambiente (Sólido seco Verde Moído – **SVM**) e armazenadas para análises. O líquido filtrado da amostra VD, tinha aspecto não viscoso, coloração verde opaca e com odor característico. O filtrado VD foi submetido ao processo de decantação gravitacional, para tal foi armazenado em béquer na geladeira ($\cong 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 4 semanas em que foi separado o particulado fino de coloração verde (Sólido seco da parte Verde Moído depois de Decantado – **SVMD**) do líquido cristalino e inodoro (Lixiviado da parte Verde – **LV**), que foram armazenados em condições adequadas para análises posteriores.

Figura 14 - Processo de filtração das misturas AM e VD.



FONTE: O autor.

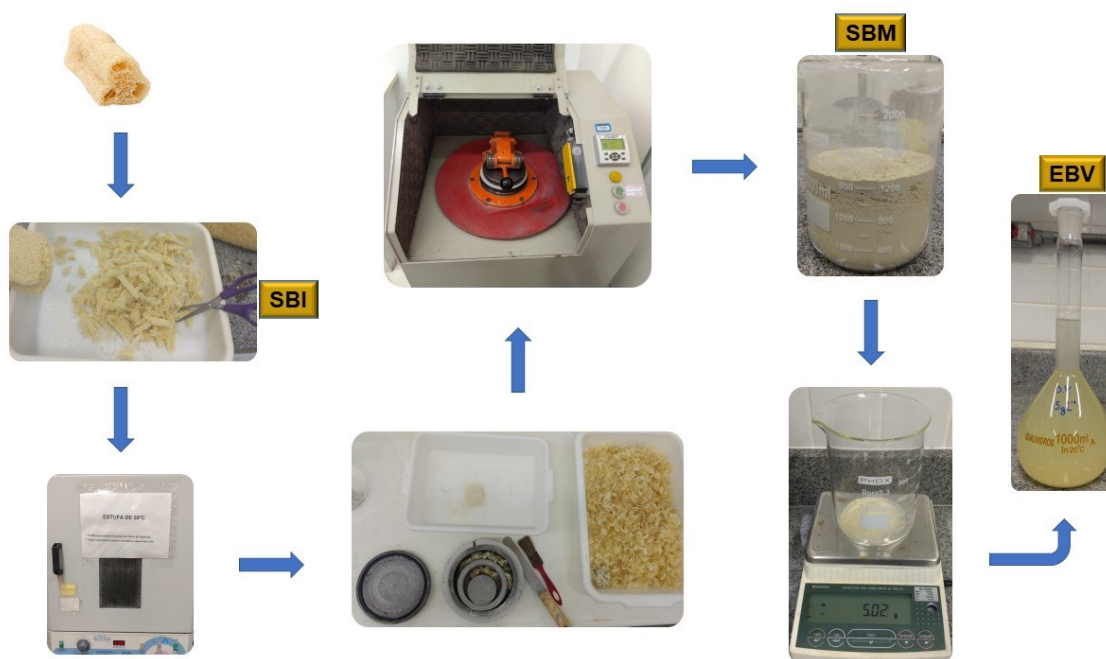
LEGENDA: Sólido seco da face Amarela da esponja multiuso Moída (**SAM**), Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Moída (**SVM**), Lixiviado filtrado das micropartículas da face amarela (**LA**), Lixiviado filtrado e decantado das micropartículas e microfibras da face verde (**LV**) e Sólido seco da face Verde da esponja multiuso Moída após filtração e Decantação (**SVMD**).

3.1.2 Bucha vegetal

Para a preparação da mistura estoque contendo micropartículas da Bucha Vegetal, foi necessário um processo de beneficiamento, portanto a amostra foi moída até ficar com aspecto de pó fino.

Na primeira etapa do processo de beneficiamento, a amostra foi picotada manualmente com auxílio de uma tesoura, gerando pequenos blocos com dimensões irregulares com comprimento próximo a 3 cm, largura e espessura próximas a 2 cm (Sólido seco da Bucha vegetal Inteira – **SBI**), em que foi armazenado alguns desses blocos SBI para posteriores análises de caracterização. Esses pequenos blocos da BV foram mantidos em estufa (LABOR – SP-200) com temperatura próxima a 50 °C durante 24 horas para perda da umidade e facilidade na trituração. Na segunda etapa, com o auxílio de um moinho tipo pulverizador de panela (AMEF – AMP1-M), os blocos da BV foram submetidos a trituração por 40 segundos, em que gerou um pó fino da amostra (Sólido seco da Bucha vegetal Moída – **SBM**). A parte do pó SBM gerado foi armazenado para posteriores análises de caracterização e granulometria. Para o preparo da mistura estoque, a amostra SBM foi pesada em balança e misturada com água de osmose reversa gerando duas misturas estoques: 5 e 20 g·L⁻¹ (Solução Estoque da Bucha Vegetal - **EBV**). A figura 15 apresenta de forma simplificada o processo de beneficiamento da BV e preparo da mistura estoque EBV.

Figura 15 - Preparo da mistura estoque EBV.



FONTE: O autor.

LEGENDA: Sólido seco da Bucha vegetal Íntegra (**SBI**), Sólido seco da Bucha vegetal Moída (**SBM**) e Mistura estoque constituída por micropartículas da bucha vegetal (**EBV**).

3.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

3.2.1 Granulometria por peneiramento

No ensaio de granulometria foi utilizado o mesmo método para todas as amostras, que foi desenvolvido com base na metodologia descrita por Jordan et al. (2016) e seguindo as recomendações da norma ABNT NBR 7181 (2016), que dispõe dos parâmetros e metodologias para análise granulométrica de solos.

As amostras SAM e SVM foram previamente secas a temperatura ambiente (24 °C) e o processo foi realizado utilizando oito peneiras com tela de aço inox, as dimensões das malhas (mesh) variaram de 4,7600 a 0,0755 mm. O material foi peneirado manualmente e posteriormente submetido por 20 minutos ao peneirador eletromagnético – marca Cotenco (UTFPR Campus Curitiba – Departamento Acadêmico de Construção Civil), utilizando intensidade de vibração máxima. Após o peneiramento pesou-se em balança semi-analítica a fração do material retido em cada peneira para posterior determinação da distribuição granulométrica. As partículas que passaram pela malha de 0,0755 mm foram submetidas a granulometria a laser.

3.2.2 Granulometria a laser

A análise granulométrica das partículas com dimensões inferiores a 0,0755 mm (75,5 µm) das amostras SVM e SBM, seguiram os parâmetros estabelecidos pela norma ISO 13320 (2009). A distribuição granulométrica foi determinada pelo analisador de partículas a laser Bettersize – modelo S3 Plus (UTFPR Campus Curitiba – Departamento Acadêmico de Construção Civil) com faixa de análise de 0,01 a 3500 µm.

3.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA E MORFOLÓGICA DAS AMOSTRAS POLIMÉRICAS

3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Para a verificação da morfologia as amostras antes (30 mm X 10 mm) e após a moagem, foram fixadas em suporte específico (stub), submetidas a metalização com ouro (equipamento: Quanta Quorum - modelo Q150R ES), e avaliadas utilizando os microscópios eletrônicos de varredura: Zeiss – modelo EVO MA 15 com detector de energia dispersiva EDS X (UTFPR Campus Curitiba - Sede Centro – Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais) e Tescan – modelo Mira 3 (UEPG – Complexo de Laboratórios Multiusuários). As amostras foram visualizadas, nas condições de 15 kV e aumentos de 40, 100, 200, 500 e 1000X.

Com o propósito de melhor conhecimento da composição da fibra abrasiva (amostra SVI) foi utilizado o detector EDS X (*Oxford instruments*) para análise química elementar qualitativa.

3.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram analisados na faixa de 4000 a 500 cm⁻¹ nos espectrofotômetros: Varian - modelo 640-IR (UTFPR campus Curitiba - sede Ecoville – Laboratório Multiusuário de Análises Químicas) e Frontier PerkinElmer – modelo Spectrum 100S (UTFPR campus Medianeira – Central

Analítica Multiusuário de Medianeira). Para as amostras sólidas os espectros foram registrados em pastilhas de brometo de potássio (KBr) a partir de uma média de 18 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} . As pastilhas foram preparadas a uma pressão próxima a 8 kbar em prensa axial.

3.3.3 *Análise termogravimétrica (TGA)*

As análises de TGA foram feitas em um Analisador Termogravimétrico PerkinElmer – modelo STA 6000 (UTFPR Campus Medianeira – Central Analítica Multiusuário de Medianeira). As amostras foram submetidas a uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, até $650 \text{ }^\circ\text{C}$ em atmosfera de nitrogênio.

3.3.4 *Difração de raios X (DRX)*

As amostras sólidas foram analisadas a partir do equipamento Shimadzu – modelo XRD-7000 (realizado na UTFPR Campus Curitiba – Sede Centro – Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais). As análises foram realizadas com tensão de 40 kV, corrente de 40 mA, com faixa de varredura em 2θ de 5 a 90° , velocidade de varredura de $2^\circ\cdot\text{min}^{-1}$ e com radiação Cu-K α com comprimento de onda (λ) de $1,54184 \text{ \AA}$.

Para o cálculo do teor cristalino das amostras utilizou-se a relação descrita por Ruland (equação 1), que utiliza os valores da integração dos picos de difração (I_c), integração do halo amorfo (I_a) e a constante de proporcionalidade (K), que para os polímeros analisados nesse trabalho são próximos de 1 (CALLISTER; WILLIAN, 1996; CANEVAROLO JR, 2002, 2007).

$$\%C = \frac{I_c}{(I_c + k \cdot I_a)} \cdot 100 \quad (1)$$

3.4 *Daphnia magna*

3.4.1 *Cultivo*

O cultivo de *D. magna* foi mantido de acordo com a norma ABNT NBR 12713 (2022) no Laboratório de Ecotoxicologia da UTFPR. Os lotes contendo cerca de 50 organismos foram cultivados em béqueres de 2 L e mantidos em meio de cultivo. Os lotes eram armazenados em incubadora em B.O.D. (Solab – SL-224), com controle de temperatura (20 ± 2 °C) e fotoperíodo (16 horas luz e 8 horas escuro) (KNIE; LOPES, 2004; MANNES, 2019).

O meio de cultivo (anexo 1) tem composição semelhante a água doce natural, foi preparado seguindo a metodologia da norma ABNT NBR 12713 (2022), constituído por sais essenciais, vitaminas e elementos traço. Possui dureza de 250 ± 25 mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, pH alcalino ($7,8 \pm 2$), oxigênio dissolvido (saturação acima de 80%) e condutividade próxima de 500 μS (KNIE; LOPES, 2004; MANNES, 2019).

A manutenção diária (exceto finais de semana) dos cultivos consistia na renovação do meio, higienização dos béqueres e utensílios, separação das matrizes (mães) dos filhotes e alimentação com microalga. Nas segundas e sextas-feiras fazia-se a renovação total do meio de cultivo (1,5 L) e nos demais dias da semana a renovação parcial (500 mL). Na abertura de novos lotes esperava-se 12 dias após a primípara (início da produção de filhotes) para a utilização dos filhotes em bioensaios. Os organismos eram alimentados com a suspensão celular da microalga fotossintetizante *Desmodesmus subspicatus*, na concentração de 10^6 células $\cdot \text{mL}^{-1}$, cultivada no Laboratório de Ecotoxicologia, seguindo a metodologia descrita na norma NBR 12648 (2018) (BORDIN, 2021; KNIE; LOPES, 2004).

No preparo das diluições das amostras nos bioensaios com a *D. magna* foi utilizado um meio básico de cultivo denominado água de diluição (anexo 2), que contém os nutrientes mínimos para a sobrevivência dos organismos durante o bioensaio, é preparada da mesma forma que o meio de cultivo e possui as mesmas características físico-químicas, porém com menos nutrientes (KNIE; LOPES, 2004).

3.4.2 Parâmetros do ensaio agudo

Todos os ensaios e procedimentos realizados com a *D. magna* seguiram os parâmetros estabelecidos pela norma ABNT NBR 12713 (2022). O ensaio agudo acontece em 4 etapas: alimentação dos neonatos, preparo das diluições, exposição e leitura.

a) Alimentação dos neonatos: Para os ensaios, os filhotes recém separados das matrizes, com idade máxima de 24 horas de vida, foram alimentados com a suspensão celular da microalga (*Desmodesmus sp.*) por no mínimo 2 horas precedentes a exposição.

b) Preparo das diluições: Os filhotes (2 a 26 horas de idade) foram expostos em diferentes concentrações/porcentagens da substância analisada, em que as diluições foram preparadas (com água de diluição) a partir da solução/mistura estoque da amostra (Sulfato de zinco – sensibilidade, EBV, AM, VD, LA e LV) com o auxílio de um balão volumétrico de 100 mL, micropipetas de 10, 20, 50, 100, 200, 1000 e 10000 µL e pipeta de Pasteur (3 mL).

c) Exposição: Para maior precisão e menor erro estatístico dos resultados, os ensaios foram realizados em triplicata, exceto os testes preliminares. O controle negativo (contendo apenas água de diluição) e as diluições (concentrações teste) eram transferidas para béqueres de 50 mL, preenchendo o volume de 20 mL, no qual 10 neonatos eram adicionados por réplica, posteriormente vedados com papel filme devido a provável presença de componentes voláteis, cobertos por papel alumínio e armazenados em incubadora B.O.D. por 48 horas, sem fotoperíodo e com temperatura controlada (20 ± 2 °C).

d) Leitura: Após a exposição os neonatos com capacidade natatória comprometida (imóveis) foram visualmente contabilizados. Os ensaios apenas foram validados quando a porcentagem de imobilidade no controle negativo foi inferior a 10%. A toxicidade das amostras foi expressa de duas formas: CE₅₀ (amostras com concentração definida) e FT_{48h} (amostras com concentração indeterminável).

Para o cálculo da concentração efetiva, ou seja, a concentração da substância teste que causa a imobilidade a 50% dos organismos expostos (CE₅₀) foi feita uma relação entre as concentrações e a imobilidade, gerando uma curva sigmoide de causa e efeito, que é linearizada no tratamento dos dados, os valores das concentrações são modificados para escala logarítmica e as porcentagens de imobilidade são transformadas em probitos (unidades de probabilidade). Desta forma os dados são normalizados sendo possível traçar uma reta através dos pontos e obter a concentração efeito mediano. O cálculo estatístico foi efetuado pelo método Probit,

utilizando os programas estatísticos Microsoft Excel® e BioStat®. Os gráficos foram elaborados através do software GraphPad Prism®.

O fator de toxicidade (FT₄₈) é determinado através da observação direta da imobilidade dos neonatos numa série de diluições-teste, não sendo necessário cálculo estatístico. O FT corresponde à menor diluição da amostra com imobilidade inferior a 10%, em que o resultado é expresso em número inteiro igual ao fator de diluição (FD). Quando o FD=1 a amostra pura (100%), 2 tem volumes iguais da amostra (50%) e água de diluição, 4 corresponde a 25% de amostra para 75% de água de diluição, assim sucessivamente. Quanto maior o FT, maior é a toxicidade da amostra.

3.4.3 Sensibilidade

Para a avaliação da sensibilidade e consequente viabilidade dos resultados, paralelamente aos bioensaios foram realizados testes de sensibilidade com a substância referência sulfato de zinco padrão analítico Synth (ZnSO₄.7H₂O).

Os testes de sensibilidade foram realizados da mesma forma que os ensaios agudos definitivos (descritos na seção 3.4.2), em que os neonatos foram expostos em diferentes concentrações da substância referência: 2, 10, 18, 26 e 34 mg·L⁻¹. Decorrido o tempo de exposição os organismos imóveis foram contabilizados e calculou-se a CE₅₀. Após 20 ensaios de sensibilidade foi calculado o valor médio da CE₅₀, desvio padrão (superior e inferior) e coeficiente de variação, sendo confeccionada uma carta-controle (apêndice 1), validando a utilização dos neonatos no seu período de elaboração.

3.4.4 Ensaio preliminar

Com o intuito de determinar as concentrações limites, ou seja, o intervalo de concentrações que causa a imobilidade de 0 a 100% dos neonatos durante a exposição aguda, foram necessários ensaios preliminares com as amostras.

Os ensaios preliminares foram realizados seguindo os parâmetros estabelecidos na norma NBR 12713 (2022), similares aos agudos definitivos (descrito na seção 3.4.2) com a diferença de serem feitos em monoplicata, empregando um menor número de organismos (5 neonatos) e não ser definido nenhum parâmetro de

toxicidade, apenas visando determinar a faixa de concentrações que causam ou não imobilidade.

As diluições com as concentrações máximas (mais altas) utilizadas foram baseadas na maior concentração de partículas miscíveis no preparo das misturas, em que as misturas estoques tinham concentrações distintas para cada amostra: AM $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, VD $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e EBV $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. No segundo ensaio preliminar a amostra EBV não foi analisada por não apresentar toxicidade no primeiro ensaio e as concentrações das misturas estoques AM e VD foram padronizadas para $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. A tabela 1 mostra a faixa de concentrações avaliadas com a respectiva amostra nos dois ensaios preliminares e a figura 16 ilustra o primeiro ensaio preliminar.

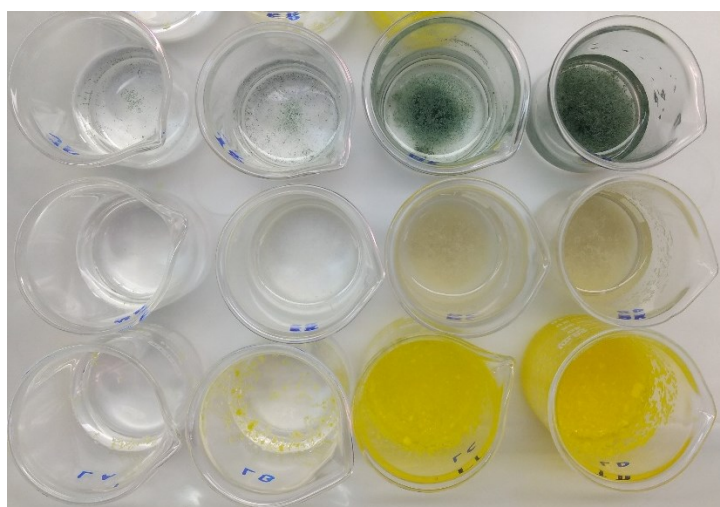
Tabela 1 - Intervalo de concentrações utilizadas nos ensaios preliminares.

Amostra	Teste 1 / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Teste 2 / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
AM	100 – 20000	50 – 5000
VD	100 – 30000	0,15 – 100
EBV	100 – 40000	-

FONTE: O autor.

LEGENDA: Amostras AM, VD e BV com suas respectivas faixas de concentrações testadas no ensaio preliminar. Teste 1 relativo a uma faixa abrangente de concentrações explorando os limites de solubilidade. Teste 2, restrição das concentrações com base no resultado do teste 1, valores mais próximos dos utilizados nos ensaios definitivos.

Figura 16 - Ensaio preliminar.



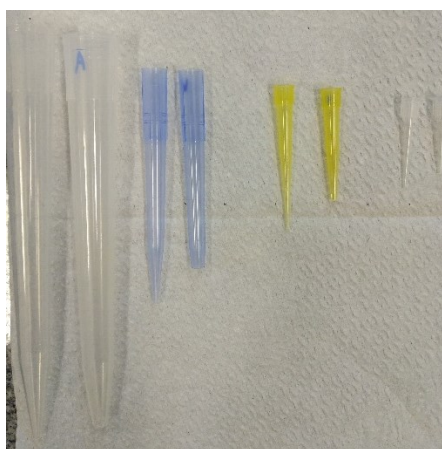
FONTE: O autor.

LEGENDA: Fotografia do Teste preliminar 1 para as amostras AM, VD e BV.

3.4.5 Ensaio agudo

A determinação da toxicidade aguda das amostras AM, VD, LA e LV seguiu-se os parâmetros descritos na seção 3.4.2 Para as amostras AM e VD que continham micropartículas foi necessário o corte das ponteiros das micropipetas (figura 17) em razão da obstrução da abertura na extremidade das ponteiros com micropartículas e microfibras.

Figura 17 - Adaptação nas ponteiros das micropipetas.



FONTE: O autor.

LEGENDA: Exemplos das ponteiros utilizadas na preparação das diluições a partir das misturas estoque (AM, VD e BV). As ponteiros ao lado esquerdo são íntegras e as do lado direito adaptadas (com corte na extremidade).

Para as amostras AM e VD a exposição foi feita através da diluição das misturas estoques, ambas com a concentração de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. O parâmetro de toxicidade avaliado foi a CE_{50} e para melhor compreensão da toxicidade da amostra foi determinada a CE_{50} de ensaios realizados logo após o preparo da mistura estoque e após 91 dias (aproximadamente 3 meses). As faixas de concentrações avaliadas para a determinação da CE_{50} com as diferentes misturas estoques estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 - Faixa de concentrações testadas (5 diluições) das amostras AM e VD (recém preparadas e depois de 91 dias) para determinação da CE₅₀ no ensaio agudo utilizando a *D. magna*.

Mistura estoque recém preparada		Mistura estoque após 91 dias	
Concentrações testadas		Concentrações testadas	
[AM] / (mg·L ⁻¹)	[VD] / (mg·L ⁻¹)	[AM] / (mg·L ⁻¹)	[VD] / (mg·L ⁻¹)
50	25	40	20
90	40	80	50
130	55	120	80
170	70	160	110
210	85	200	140

FONTE: O autor

LEGENDA: Concentrações das diluições testadas para as amostras AM e VD antes e após o envelhecimento de 91 dias.

O parâmetro de toxicidade avaliado para as amostras dos lixiviados LA e LV foi o FT_{48h}. Para a amostra LA foram feitas diluições até o FD=32, ou seja, até a diluição de 1,56%, para a amostra LV as diluições foram até o FD=1024 (0,01%).

3.5 *Artemia salina*

3.5.1 *Eclosão dos cistos*

Os ensaios seguiram os parâmetros estabelecidos pela norma ABNT NBR 16530 (2022). Primeiramente foi preparado o meio salino (água do mar reconstituída – anexo 3) que ficou sob agitação por 24 horas e foi submetida a aeração por 15 minutos. Os cistos foram obtidos comercialmente de um produtor local. Com o auxílio de um funil de separação de 1 L, foi adicionado 100 mg de cistos em 500 mL de água do mar reconstituída. O funil foi deixado por 24 horas em incubadora B.O.D. no escuro a temperatura de 25 ± 2 °C sem agitação. Após a eclosão colocou-se uma fonte de luz na parte superior do funil de separação, em que os náuplios aptos foram atraídos pela luz possibilitando a separação das cascas e cistos não eclodidos na parte inferior do funil. Os organismos saudáveis foram incubados por mais 24 horas nas mesmas condições resultando em náuplios nas fases II e III aptos para os ensaios ecotoxicológicos.

3.5.2 Parâmetros para exposição aguda

As técnicas para o manejo e realização dos ensaios com a *A. salina* seguiram as orientações descritas na norma ABNT NBR 16530 (2022). O ensaio agudo acontece em 3 etapas: preparação das diluições, exposição dos organismos e leitura.

a) Preparo das diluições: Foram preparadas a partir da solução/mistura estoque (contendo a substância analisada) diferentes concentrações/porcentagens da amostra, as diluições foram realizadas com água do mar reconstituída (utilizada para a eclosão dos cistos). Para tal, foram utilizados béqueres de 50, 100 e 150 mL, balões volumétricos de 20 e 50 mL, micropipetas de 10, 20, 50, 100, 200, 1000 e 10000 µL e pipeta de pasteur (3 mL).

Para o ensaio agudo definitivo foi necessário um controle de salinidade, para verificar se a diluição com água de osmose não era o fator que estava provocando imobilidade, devido a redução da salinidade causada pela diluição na concentração mais alta analisada, que continha apenas 5% de água reconstituída. O preparo do controle de salinidade foi realizado da mesma forma que as diluições testes, porém apenas foi utilizada água de diluição na mesma proporção que a maior concentração teste.

b) Exposição: O controle negativo (água do mar reconstituída), controle de salinidade (água do mar reconstituída + água de osmose) e as diluições da amostra (concentrações teste) foram transferidas para microplacas de 96 poços, cada poço com volume de 300 µL. Utilizando uma placa de petri e pipeta de Pasteur (3 mL), os náuplios (fases II e III) foram transferidos e distribuídos para uma microplaca de 96 poços, com um neonato por poço, sendo 30 poços para cada concentração da amostra (10 organismos em triplicata). Posteriormente a microplaca foi embrulhada em papel alumínio e incubada a 25°C, no escuro por 48 horas em incubadora B.O.D.

c) Leitura: Após a exposição com o auxílio de um estereoscópio binocular foram contabilizados os organismos imóveis e assim como para as daphnias (seção 3.5.2), foi estabelecido o percentual de imobilidade que são expressos em função da concentração efetiva a 50% dos organismos (CE_{50}) e Fator de toxicidade (FT_{48h}). Os

cálculos estatísticos foram realizados com o auxílio do programa estatístico Microsoft Excel®, BioStat® e GraphPad Prism®.

3.5.3 Sensibilidade

Para verificação da sensibilidade dos náuplios e validação dos resultados, foi utilizada a substância referência dodecilsulfato de sódio padrão analítico ACS científica ($C_{13}H_{25}NaO_4S$). O teste de sensibilidade ocorreu simultaneamente com os ensaios agudos e foi realizado como descrito na seção 3.5.2, no qual preparou-se uma solução estoque de $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ da substância referência e a partir da solução mãe realizou-se 6 diluições com as concentrações de 5, 14, 23, 32, 41 e $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. As diluições foram preparadas com a mesma água reconstituída utilizada para a eclosão dos cistos, portanto o controle negativo foi realizado com a água marinha reconstituída. Após 48 horas de exposição os náuplios imóveis foram contabilizados e calculou-se a CE_{50} .

3.5.4 Ensaio preliminar

Para a determinação da toxicidade das amostras EBV, AM e VD, foram necessários ensaios preliminares para determinar a faixa de concentrações em que se observa efeito para a *A. salina*, ou seja, definir a maior concentração que não se observa imobilidade e a menor que causa imobilidade em todos os organismos.

Os ensaios preliminares são realizados igualmente aos testes de toxicidade aguda conforme descrito na seção 3.5.2, mas foram realizados com uma quantidade reduzida de organismos (8 náuplios por concentração) em monoplicata, sendo avaliada apenas a sobrevivência nas concentrações propostas no tempo de exposição estabelecido (48 horas). As diluições foram realizadas a partir das misturas estoques recém preparadas das amostras EBV, AM e VD com concentrações de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Para as três amostras foi avaliada a mesma faixa de concentrações de 1 a $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.5.5 Ecotoxicidade aguda

Com base nos resultados obtidos no ensaio preliminar foi preciso modificar as concentrações testes e conseqüentemente uma das soluções estoques. A amostra

EVB não foi analisada por não apresentar toxicidade no ensaio preliminar, a solução estoque AM manteve-se com a concentração de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e a VD foi modificada para $25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Para validação do ensaio foi indispensável um controle de salinidade com o mesmo teor salino (5%) da concentração mais alta da amostra AM de $19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. A tabela 3 apresenta as concentrações testes avaliadas para cada amostra. Para a realização do ensaio agudo e determinação da CE_{50} das amostras seguiu-se os parâmetros descritos na seção 3.6.2.

Tabela 3 - Faixa de concentrações testadas (9 diluições) das amostras AM e VD para a determinação da CE_{50} no ensaio agudo utilizando a *A. salina*.

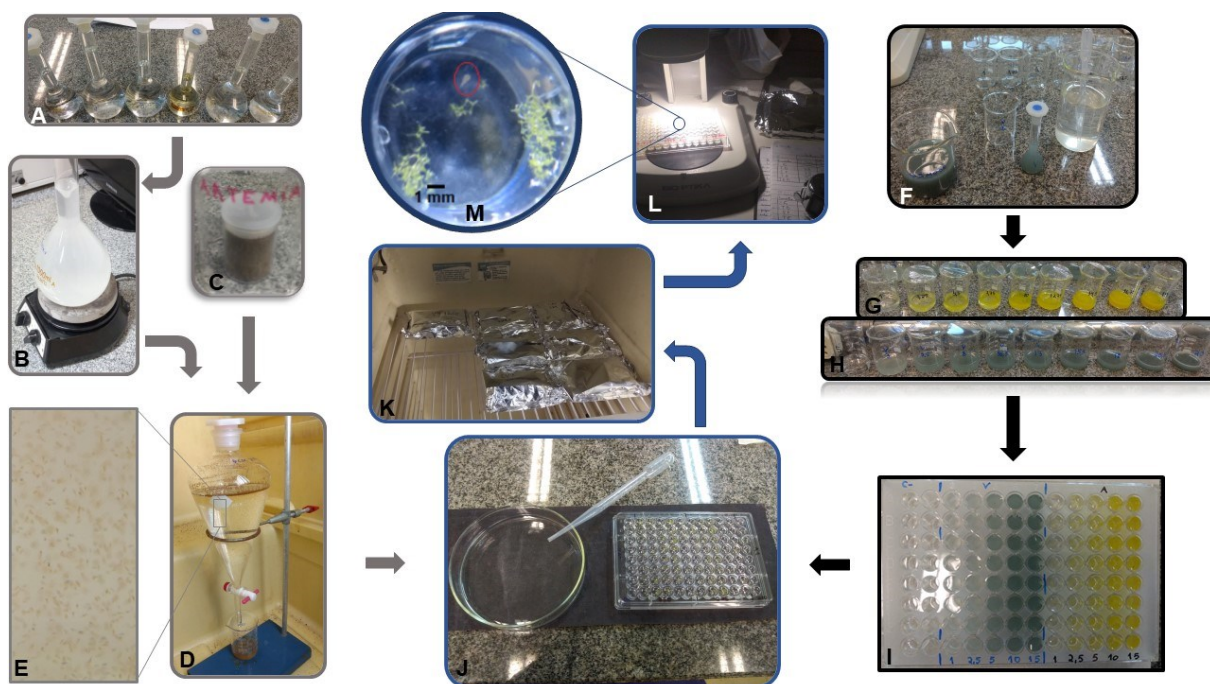
AMOSTRA	CONCENTRAÇÕES TESTADAS								
[AM] / ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1	3,25	5,5	7,75	10	12,25	14,5	16,75	19
[VD] / ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	3	5,5	8	10,5	13	15,5	18	20,5	23

FONTE: O autor.

LEGENDA: Concentrações das diluições testadas para as amostras AM e VD.

O teste agudo para a determinação do fator de toxicidade das amostras LA e LV seguiram os critérios descritos na seção 3.5.2. Para a amostra LA foram feitas diluições até a proporção de 1,56% de amostra (FD=32) e para a amostra LV as diluições foram até 0,01% (FD=1024). A figura 18 ilustra alguns dos procedimentos realizados para os ensaios, desde a preparação da água do mar reconstituída até a leitura do ensaio.

Figura 18 - Ilustração de alguns dos procedimentos realizados no ensaio agudo com *A. salina*.



FONTE: O autor.

LEGENDA: A. Preparo das soluções do meio salino (água do mar reconstituída); B. Meio salino sob agitação por 24 h; C. Cistos de artêmias desidratados; D. Ecloração dos cistos; E. Náuplios eclodidos; F. Preparação das diluições (concentrações teste); G. Concentrações teste da amostra AM (micropartículas de PUF); H. Concentrações teste da amostra VD (microfibras e micropartículas da fibra abrasiva); I. Transferência das diluições das amostras AM e VD para a microplaca; J. Exposição dos náuplios; K. Incubação por 48 h em estufa B.O.D.; L. Leitura do ensaio; M. Poço de microplaca com náuplio exposto a amostra AM.

3.6 *Oreochromis niloticus*

3.6.1 Exposição subcrônica

A aquisição dos peixes e os bioensaios ocorreram após a aprovação do projeto pela Comissão De Ética no Uso de Animais da Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (CEUA-UTFPR), protocolo nº 2021-11 e processo nº 23064.036437/2021-75, parecer apresentado no apêndice 2.

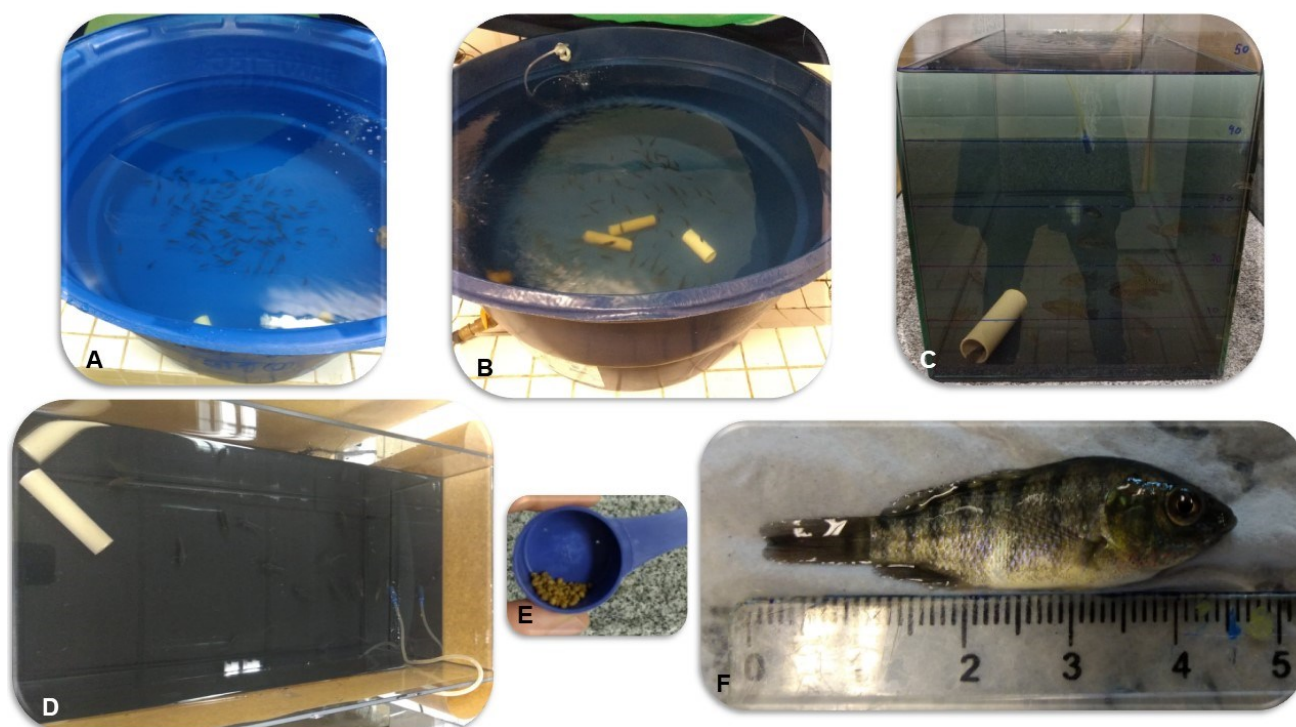
3.6.1.1 Aclimação

Em piscicultura local (Peixes e Peixes) localizada no CEASA em Curitiba, foram adquiridos 200 alevinos (peixes juvenis) da espécie *Oreochromis niloticus*, que foram aclimatados por 31 dias no Laboratório de Ecotoxicologia da UTFPR (figura 19).

Os primeiros 24 dias a aclimação ocorreu em 2 tanques (PE) de 310 L (preenchidos com 250 L), em que se dividiu aproximadamente 100 alevinos por tanque. A higienização dos tanques era realizada diariamente e consistia da renovação da água de aproximadamente 200 L (4/5), em que as sujidades eram retiradas através de sifonação, seguido de limpeza nas bordas dos tanques com etanol (70%) e papel toalha. Nos primeiros 14 dias os alevinos apresentaram fungos, portanto foram tratados com sal grosso (com baixo teor de iodo) na concentração de $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, nos 10 dias posteriores essas concentrações foram reduzidas (aproximadamente $0,05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ por dia) até não ser necessário a utilização de sal. Nos 7 dias precedentes ao início da exposição, os alevinos foram transferidos para aquários de 65 L (preenchidos com 50 L), na proporção de 15 alevinos por aquário, a higienização diária foi mantida, porém com a renovação de 40 L (4/5) de água.

Durante todo o experimento (aclimação e ensaio) manteve-se os mesmos procedimentos de higienização e utilizou-se água filtrada e decolorada, mantida sob aeração constante (bombas de ar), em temperatura ambiente (período de verão entre dezembro de 2021 e janeiro de 2022) e com fotoperíodo natural. As condições do cultivo: temperatura, pH, comportamento e mortalidade foram verificados e acompanhados diariamente. Os peixes eram alimentados 3 vezes ao dia com intervalos de 5 horas (8, 13 e 18 horas) com ração comercial composta de 47% de proteínas. Em todas as fases do experimento priorizou-se pela qualidade de vida dos animais, portanto foram adotadas medidas de enriquecimento e controle ambiental, para tal a densidade de estocagem de organismos foi mantida com densidade inferior a $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, evitava-se a circulação de pessoas no local, foram utilizadas bombas de ar silenciosas e foram adicionados tubos inertes de mesmo material (PVC) das tubulações do laboratório, para promover uma distração e melhora na qualidade de vida dos organismos em concordância das recomendações do CEUA e Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Figura 19 - Tanques, aquários, ração e alevinos durante a aclimação.



FONTE: O autor.

LEGENDA: A. Tanque 1 de aclimação; B. Tanque 2; C. Aquário visão frontal; D. Aquário visão vertical; E. Ração; F. Exemplar de alevino morto após 20 dias de aclimação.

3.6.1.2 Bioensaio

O bioensaio foi classificado como subcrônico (14 dias) com sistema semi-estático (renovações parciais diárias de 4/5), em que foram analisadas as amostras EBV, VD e AM, nas concentrações de 0,2; 1 e 5 mg·L⁻¹. As concentrações avaliadas foram baseadas nas concentrações subletais do ensaio agudo preliminar para *D. magna* e por valores encontrados na literatura de concentrações ambientais e de exposições de MPs em *Oreochromis niloticus*. O tempo de exposição foi estabelecido de acordo com trabalhos avaliando MPs utilizando *Oreochromis niloticus* como organismo teste. A concentração subletal da amostra mais tóxica (VD) para a *D. magna* foi de 25 mg·L⁻¹, para ter uma margem de segurança e garantia de sobrevivência dos alevinos após 14 dias de exposição, optou-se por expor os peixes a partir de uma concentração cinco vezes menor que a subletal para a daphnia, portanto a concentração mais alta de exposição foi definida como 5 mg·L⁻¹, a concentração intermediária (vinte cinco vezes menor) de 1 mg·L⁻¹ e a concentração mais baixa (cento e vinte cinco vezes menor) de 0,2 mg·L⁻¹. Essas concentrações

estão dentro da faixa de concentrações encontradas na literatura de ensaios expondo alevinos *O. niloticus* a MPs, apresentados na tabela 4. Segundo Sun et al. (2021), concentrações de MPs iguais ou inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ são ambientalmente relevantes.

Tabela 4 - Bioensaios utilizando alevinos de *Oreochromis niloticus* expostos a microplásticos.

MP Dimensão / (μm)	Concentração / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Tempo de exposição / (dias)	Referência
PS (0,1)	0,001-0,1	14	(DING et al., 2018)
PS (0,3 – 90)	0,1	14	(DING et al., 2020)
(0,1)	$1\cdot 100$	15	(HAMED et al., 2021)
PS / (5)	0,01-0,05	14	(HUANG et al., 2021)
(0,1)	10	15	(ISMAIL; SALEH; SAYED, 2021)
(0,1)	10	15	(HAMED et al., 2019)

FONTE: O autor.

LEGENDA: Informações (dimensões de partículas, concentrações utilizadas e tempo de exposição) de trabalhos utilizando tilápia do Nilo para exposição a microplásticos.

Foram estabelecidos 10 grupos de exposição: controle negativo (contendo apenas água filtrada – C) e as 3 concentrações (0,2; 1 e $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) para as amostras EBV, VD e AM, totalizando 10 aquários (150 organismos) (figura 20). As diluições foram feitas a partir de misturas estoques de $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (EBV, VD e AM) que eram pipetadas diretamente nos aquários após a renovação da água com auxílio de micropipeta de 10 mL, que foram pipetadas proporcionalmente com o volume inicial (50 L) no primeiro dia e volume renovado (40 L) nos dias subsequentes (tabela 5). As condições de manejo, higienização e alimentação foram mantidas da mesma forma que na aclimação (seção 3.6.1.1), porém juntamente da renovação da água, ocorreu a renovação das amostras mantendo a concentração teste renovada. O início da exposição ocorreu em dias distintos com 24 horas de diferença, separando em dois grupos: A exposição iniciou-se primeiramente com o grupo 1 composto pelo controle negativo e pelas 3 concentrações da amostra EBV e posteriormente com 24 horas de diferença iniciou-se a exposição para o grupo 2 composto pelos aquários contendo as concentrações das amostras VD e AM. A separação em dois grupos foi planejada

devido ao número de alevinos possíveis para a coleta de material em um dia, com a finalidade eutanasiar os animais de modo adequado, garantindo-lhes boas condições durante a eutanásia e para evitar erros, uma vez que as coletas foram realizadas pelo mesmo grupo de pesquisadores nos dois dias, de modo que cada um manteve a mesma função (captura de organismo, coleta de dados ou de material) para todos os organismos.

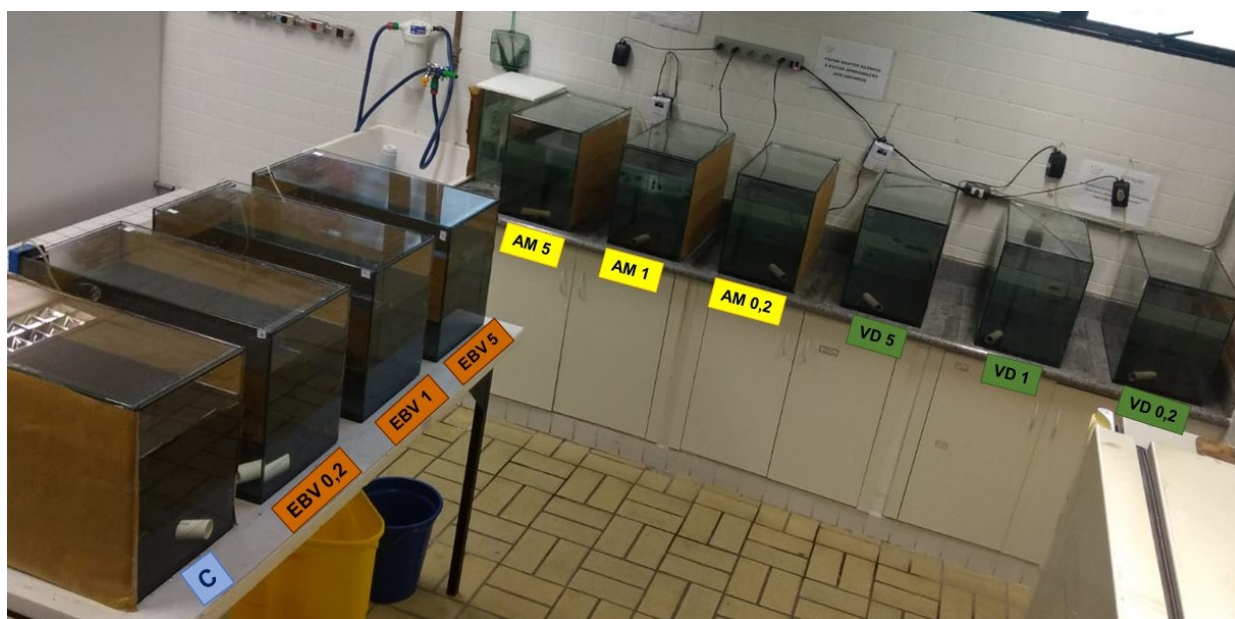
Tabela 5 - Volume das soluções estoques das amostras EBV, VD e AM pipetados proporcionalmente ao volume inicial e renovado.

Grupos experimentais	V_i (1º dia)	V_r (2º ao 14º dia)
[] / (mg·L ⁻¹)	V (50 L) / mL	V (40 L) / mL
0,2	2	1,6
1	10	8
5	50	40

FONTE: O autor.

LEGENDA: V_i – volume inicial das misturas estoques, adicionado no primeiro dia de exposição nos aquários, correspondente a 50 L; V_r – volume da mistura estoque adicionada para renovação parcial nos demais dias de exposição (2º a 14º dia), correspondente a 40 L.

Figura 20 - Disposição dos aquários com suas respectivas concentrações.



FONTE: O autor.

Legenda: C – Controle negativo, EBV – mistura Estoque da Bucha Vegetal, VD – mistura estoque Verde, AM – mistura estoque Amarela, 0,2 – 0,2 mg·L⁻¹, 1 – 1 mg·L⁻¹, 5 – 5 mg·L⁻¹.

Após 14 dias de exposição, realizou-se a coleta dos materiais biológicos, sendo que os peixes foram individualmente pescados com auxílio de uma rede e anestesiados via hídrica em benzocaína 10% (C₉H₁₁NO₂), até observar ausência de movimentos, em seguida foram coletados dados biométricos, em que os alevinos foram pesados (massa corporal) e mensurados (comprimento total). Após foi realizado uma secção entre a boca e papila urogenital, realizando a coleta de sangue através de punção cardíaca com auxílio de um capilar heparinizado, sendo separada uma alíquota de aproximadamente 10 µL, armazenada em ausência de luz, sob refrigeração (4 °C) em um microtubo contendo 1 mL de soro bovino fetal (para análise do biomarcador de genotoxicidade ensaio cometa). Imediatamente após a coleta de sangue os alevinos foram eutanasiados por secção medular, em que se realizou a coleta do cérebro, fígado e músculo que foram acondicionados em microtubos devidamente identificados e mantidos em ultrafreezer (Indrel – IULT335D/368) a - 80 °C (para análise dos biomarcadores bioquímicos: AChE em músculo e cérebro, GST, CAT e LPO em fígado).

3.6.2 Biomarcador somático

Através dos dados biométricos dos alevinos foi possível calcular o fator de condição de Fulton (K_f), que consiste na relação entre a massa [W (g) – *weight*] e o comprimento [L (cm) – *length*] do indivíduo, com a finalidade de descrever a condição de saúde e nutricional dos organismos, calculado através da equação 2 (FULTON, 1902; NASH; VALENCIA; GEFFEN, 2006; RICKER, 1975) :

$$K_f = \frac{W}{L^3} \quad (2)$$

Para a análise foi calculado o fator de condição de Fulton para cada organismo, em que foi analisada a normalidade (Shapiro-Wilk) seguido da análise de variância (ANOVA).

3.6.3 Biomarcador genético

3.6.3.1 Ensaio cometa

O biomarcador ensaio cometa alcalino seguiu a metodologia descrita por Speit e Hartmann (1999) com alterações propostas por Ferraro (2003). A metodologia consiste em 3 etapas: Montagem das lâminas, eletroforese e análise (figura 21).

a) Montagem: As soluções contendo 1 mL de soro bovino fetal (SBF) e 10 μ L de sangue foram armazenadas em microtubos sob refrigeração (4 °C). Durante todos os procedimentos, desde a coleta do material até a finalização da eletroforese os eritrócitos foram mantidos sem o contato de luz direta. Após o término da eutanásia, 10 μ L da solução contendo a suspensão celular foi misturada com 120 μ L de agarose de baixo ponto de fusão 0,5% (LMP), com auxílio de uma micropipeta foi homogeneizada e depositada em lâmina previamente coberta com agarose normal (1,5%). Em seguida adicionou-se lamínulas e as lâminas foram levadas ao refrigerador por 20 minutos. Posteriormente, as lamínulas foram cuidadosamente removidas e as lâminas transferidas para cubetas contendo solução de lise (constituída por: H₂O, NaCl, EDTA, TRIS, NaOH, Lauril Sarcosinato de Sódio, DMSO e Triton X) que foram mantidas em refrigerador (4 °C) por 24 horas.

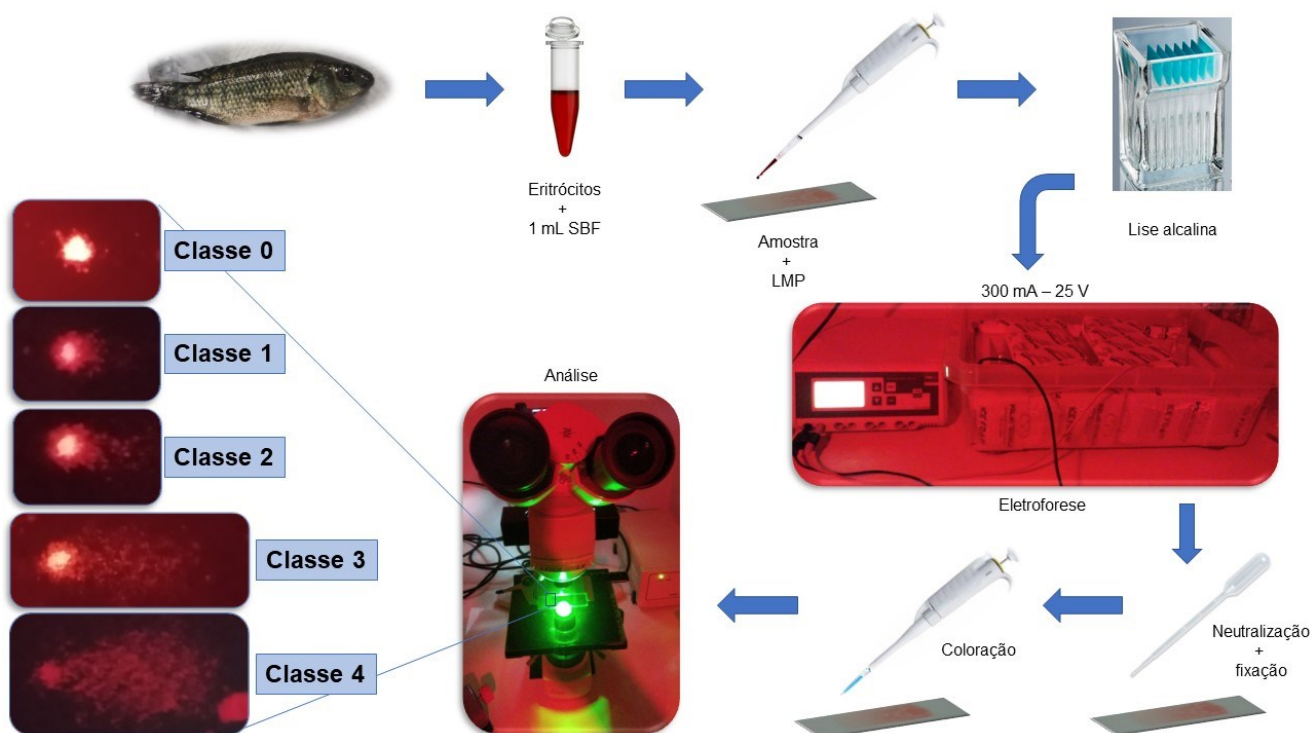
b) Eletroforese: As lâminas foram transferidas para a cuba horizontal de eletroforese e imersas em solução tampão [constituído por: H₂O, EDTA e NaOH (pH>13)], sob refrigeração por 30 minutos. Após a desespiralização do DNA, realizou-se a corrida eletroforética por 25 minutos a 25V e 300 mA. Decorrido o tempo de eletroforese, as lâminas foram neutralizadas com três banhos de tampão de neutralização Tris (pH=7,0) com intervalos de 5 minutos e fixadas com etanol (96%) por 5 minutos, após secas foram estocadas para posterior análise.

c) Análise: As lâminas foram coradas com 25 μ L de brometo de etídeo (20 mg·L⁻¹) e cobertas por lamínula que ficou em repouso por 5 minutos sem luz direta. Posteriormente, foi analisada em microscópio de epifluorescência (LEICA DMLS) no aumento de 400x. Foram avaliados 100 nucleóides por lâmina, em que os nucleóides foram classificados de acordo com os danos entre as classes 0 a 4: 0 (sem danos

observáveis), 1 (dano mínimo), 2 (dano médio), 3 (dano intenso) e 4 (dano máximo). A quantificação dos danos foi feita através do cálculo do escore de cada lâmina, que consiste no número de nucleóides com sua respectiva classificação ($n^{\circ}C$) multiplicado pelo valor do dano (0 a 4) (equação 3).

$$\text{Escore} = (n^{\circ}C0 \cdot 0) + (n^{\circ}C1 \cdot 1) + (n^{\circ}C2 \cdot 2) + (n^{\circ}C3 \cdot 3) + (n^{\circ}C4 \cdot 4) \quad (3)$$

Figura 21 - Esquema da metodologia do cometa com *O. niloticus* e a classificação dos danos no material genético.



FONTE: O autor.

LEGENDA: Nucleóides com ampliação de 400x.

3.6.4 Biomarcadores bioquímicos

Para as análises dos biomarcadores bioquímicos as amostras dos tecidos (músculo, cérebro e fígado) foram pesadas e homogêneas com auxílio de um desagregador de tecidos (ultra-turrax – Meclab), em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) com diferentes pHs e em diferentes proporções massa por volume (m/V): Fígado na proporção 1:3 em tampão com pH 6,5, Cérebro 1:3 e Músculo 1:2 em tampão com pH 7,5. Em seguida o material homogêneo foi submetido a centrifugação a $10\,000 \text{ g}$ (Hitachi – CF-15RN), com temperatura de $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos, no qual o sobrenadante

foi separado em diferentes alíquotas com os volumes específicos a serem utilizados para cada análise posterior, que foram armazenados em ultrafreezer a - 80 °C. As análises das atividades enzimáticas e quantificação de proteínas das amostras foram realizadas em triplicata, em microplacas de 96 poços e a leitura da absorbância ocorreu utilizando o leitor de microplacas (BMG Labtech – FluoStar Omega) (OLSMAN, 2022; RAMSDORF, 2011; REQUE et al., 2021).

3.6.4.1 Concentração de proteínas totais

A determinação da concentração das proteínas totais foi realizada através da metodologia descrita por Bradford (1976), adaptada para microplacas de 96 poços. O princípio desse método se baseia na detecção espectrofotométrica da reação entre o corante reativo de Bradford com proteínas contendo aminoácidos de cadeias laterais ou aromáticas, desta forma esta análise resulta nos valores das atividades enzimáticas em função da quantidade de proteínas, com a finalidade da normalização da concentração de proteínas nas amostras. Para tal foi feita uma curva de calibração utilizando albumina de soro bovino (BSA – P.A. 98%) como substância referência nas concentrações de 0, 125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Numa microplaca de 96 poços em que 10 μL de cada concentração de BSA foi pipetada em triplicata seguido de 250 μL do reativo de Bradford diluído em água osmose na proporção 1:5. A absorbância foi mensurada em leitora de microplacas no comprimento de onda de 595 nm.

Para a quantificação de proteínas dos sobrenadantes dos homogenatos das amostras dos tecidos cerebrais, musculares e hepáticos, os sobrenadantes foram diluídos em tampão fosfato com seus respectivos pHs, na proporção 1:20 (50 μL da amostra + 950 μL do tampão) e agitados em vórtex. De forma similar a curva de calibração, 10 μL das amostras diluídas (1:20) foram pipetadas em poços de microplaca em triplicata, seguido de 250 μL do reativo de Bradford diluído (1:5), na sequência a absorbância foi mensurada em 595 nm.

3.6.4.2 Atividade da acetilcolinesterase (AChE)

A determinação da atividade da Acetilcolinesterase (AChE) cerebral e muscular foi baseada na metodologia descrita por Ellman et al. (1961) com adaptação para microplaca proposta por Silva de Assis (1998).

Primeiramente as amostras (sobrenadante dos homogenatos do cérebro e músculo) foram diluídas em tampão fosfato (pH 7,5) na proporção 1:5 (100 μ L de amostra + 400 μ L de tampão) e em seguida agitados com auxílio do vórtex. Na microplaca, foram pipetados na respectiva ordem: 50 μ L da amostra diluída, 200 μ L do reagente de cor 5,5-ditio-bis-2nitrobenzoato (DTNB – 0,75 mM) e 50 μ L do substrato iodeto de acetilcolina (ATC – 9 mM). A densidade ótica foi medida através da absorvância em 405 nm por 9 minutos e 20 segundos em intervalos de 40 segundos. O método se baseia na hidrólise da acetilcolina pela AChE em tiocolina e acetato, em que a tiocolina reage com DTNB originando a coloração amarela podendo ser mensurado. Após o tratamento dos dados da absorvância e normalização, a dimensão dos resultados foram η mol de acetilcolina formada por minuto por mg de proteína.

3.6.4.3 Atividade da glutathiona-S-transferase (GST)

A determinação da atividade global de GST seguiu a metodologia descrita por Keen, Habig e Jakoby (1976). As amostras (sobrenadante dos homogenatos do fígado) foram diluídas em tampão fosfato (pH 6,5) na proporção 1:4 (100 μ L de amostra + 300 μ L de tampão) e agitados no vórtex. Na microplaca, foram adicionados 50 μ L da amostra diluída e 150 μ L da solução de reação constituída por glutathiona reduzida (GSH – 2 mM) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB – 2,5 mM). O crescimento da absorvância em 340 nm foi medida por 2 minutos com ciclos de 20 segundos. A reação de conjugação do CDBN com a enzima GSH é catalisada pela GST, resultando na formação do tio éter que permite a quantificação do aumento da absorvância. Após o tratamento dos dados da absorvância e normalização, a dimensão dos resultados foram η mol de CDBN conjugado por minuto por mg de proteína.

3.6.4.4 Atividade da catalase (CAT)

A determinação da atividade da CAT seguiu a metodologia descrita por Aebi (1984), adaptado para microplacas de 96 poços por Vicentini et al. (2022). Na microplaca de quartzo, foram adicionados 5 μ L da amostra (sobrenadante dos homogenatos do fígado) e 295 μ L da solução de reação com pH 8, constituída por

Tampão Tris (1 M), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA - 5 mM), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 - 2 mM) e água de osmose. A absorbância foi mensurada a 240 nm foi medida por 2 minutos com ciclos de 10 segundos. O método consiste em medir o decréscimo da absorbância, ocasionado pela degradação do H_2O_2 por meio da enzima catalase. Após o tratamento dos dados da absorbância e normalização, a dimensão dos resultados foram η mol de H_2O_2 degradado por minuto por mg de proteína.

3.6.4.5 Determinação da peroxidação lipídica (LPO)

A determinação da peroxidação lipídica seguiu a metodologia descrita por Jiang et al. (2014). As amostras (sobrenadante dos homogenatos do fígado) foram diluídas em metanol (90%) na proporção 1:2 (125 μ L de amostra e metanol) e bradados no vórtex por 30 segundos e centrifugadas a 10 000 g por 20 minutos a 4 °C. Na microplaca, foram adicionados 30 μ L do sobrenadante da amostra diluída e 270 μ L da solução de reação constituída por laranja de xilenol (0,1 mM), ácido sulfúrico (H_2SO_4 - 25 mM), butil hidroxitolueno (BHT - 4 mM) e sulfato ferroso amoniacal ($(NH_4)_2 Fe(SO_4)_2$ - 0,25 mM). Em seguida, as placas foram embrulhadas em papel alumínio e armazenadas por 30 minutos no escuro a temperatura ambiente (24 °C) para posterior leitura da absorbância a 570 nm. O método se baseia na oxidação do Fe^{2+} mediado por peróxidos em condições ácidas e consequente formação do complexo Fe^{3+} com laranja de xilenol e BHT que absorve no comprimento de onda entre 550 a 570 nm. Após o tratamento dos dados da absorbância e normalização, a dimensão dos resultados foram η mol de hidroperóxidos por mg de proteína.

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os tratamentos dos dados foram realizados com auxílio dos programas e softwares: Microsoft Excel®, BioStat®, BioEstat®, GraphPad Prism® e Origin®.

Nos ensaios de ecotoxicidade aguda para a *D. magna* e *A. salina*, o cálculo estatístico paramétrico método probitos foi realizado com auxílio dos programas Microsoft Excel® e BioStat®, em que, a porcentagem de imobilidade dos organismos expostos são convertidos em unidades de probabilidade e as concentrações-testes em logaritmos, sendo possível determinar a concentração de efeito mediano (CE_{50}).

Os valores do fator de condição de Fulton foram calculados utilizando o programa Microsoft Excel®. Para o tratamento dos dados primeiramente avaliou-se a normalidade através do teste de Shapiro-Wilk, a homoscedasticidade mediante o teste de Bartlett e a variância por meio da ANOVA - *one way* com pós teste de Turkey com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Os cálculos estatísticos foram realizados e conferidos em mais de um software com auxílio dos programas estatísticos GraphPad Prism®, Origin® e BioEstat®.

Para o biomarcador ensaio cometa, o cálculo dos escores das lâminas foram realizadas utilizando o programa Microsoft Excel® e a comparação da média entre grupos foi realizada através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunns com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), empregando o programa estatístico BioEstat®.

Os dados dos biomarcadores bioquímicos foram primeiramente tratados no programa Microsoft Excel®, para a transformação dos valores de absorbância e normalização dos dados. Posteriormente a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e homoscedasticidade pelo teste de Bartlett, seguido por ANOVA – *one way* paramétrico com pós teste de Bonferroni, com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), em que foram utilizados os programas estatísticos GraphPad Prism®, Origin® e BioEstat®.

Todos os gráficos relativo às análises ecotoxicológicas foram elaborados através do software GraphPad Prism®.

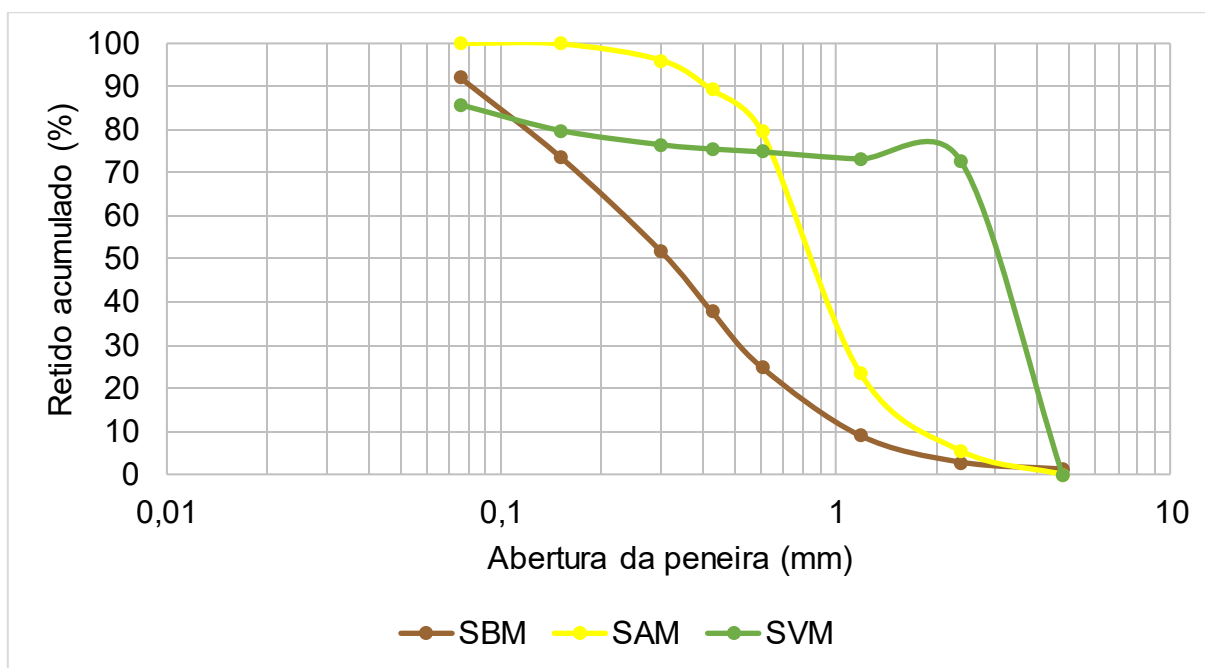
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A análise granulométrica consistiu na determinação da distribuição de partículas de acordo com seu diâmetro, sendo muito útil para conhecer o tamanho dos fragmentos utilizados nas exposições. Os resultados obtidos no ensaio de granulometria foram traçados em um diagrama semi-logarítmico, no qual as abscissas correspondem aos logaritmos das dimensões das partículas e as ordenadas as porcentagens das partículas retidas em cada peneira.

As curvas granulométricas para as amostras SAM, SVM e SBM nas faixas granulométricas entre 4,76 a 0,075 mm correspondem a 100% das partículas da amostra SAM, 85,76% da SVM e 91,99% da SBM, representadas na figura 22.

Figura 22 - Curvas granulométricas (4,76 - 0,075 mm).



FONTE: O autor.

LEGENDA: Curvas granulométricas traçadas em um diagrama semi-logarítmico, em que as abscissas correspondem aos logaritmos das dimensões das partículas e as ordenadas as porcentagens das partículas retidas em cada peneira.

De acordo com o apresentado foi possível observar que a distribuição das dimensões da amostra SBM tende a ser homogênea, uma vez que o gráfico se

aproxima de uma reta, se comparada as outras amostras, isso pode ser confirmado quando se observa os dados apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Percentual retido nas malhas com abertura entre 4,76 a 0,0755 mm.

Abertura / mm	4,76	2,36	1,18	0,60	0,425	0,30	0,15	0,0755	Fundo
SBM / %	1,25	1,60	6,21	15,82	12,96	13,91	21,92	18,32	8,01
SAM / %	0,00	5,49	18,19	55,96	9,61	6,87	3,78	0,10	0,00
SVM / %	0,00	72,85	0,33	1,66	0,66	0,99	3,31	5,96	14,24

FONTE: O autor.

LEGENDA: Percentual de partículas acumuladas nas malhas com aberturas entre 4,76 a 0,0755 mm.

Todas as partículas da amostra SAM tiveram dimensões inferiores a 4,76 mm e superiores a 0,0755 mm, aproximadamente 84% dessas partículas ficaram retidas entre as malhas com abertura de 1,18 a 0,425 mm, sendo possível afirmar que a maior parte dos fragmentos tinham diâmetro entre 0,42 e 1,18 mm. A amostra SVM não apresentou uma distribuição granulométrica homogênea, pois mais de 70% de suas partículas e fibras tinham dimensões superiores a 2,36 mm, isso pode ser explicado pelo fato da amostra ser majoritariamente composta por fibras “longas”, porém com dimensões inferiores a 4,76 mm, mantendo-as na classificação de “microplásticos”. Aproximadamente 83% das partículas da amostra SBM tinham dimensões entre 0,0755 e 0,6 mm. As amostras SBM e SVM tiveram partículas que não foram retidas pela malha de abertura de 0,0755 mm, esses fragmentos foram analisados por granulometria a laser, que gerou uma curva análoga a da análise granulométrica por gravidade, porém a faixa a ser analisada foi de 0,01 a 3500 μm , apresentada na figura 23.

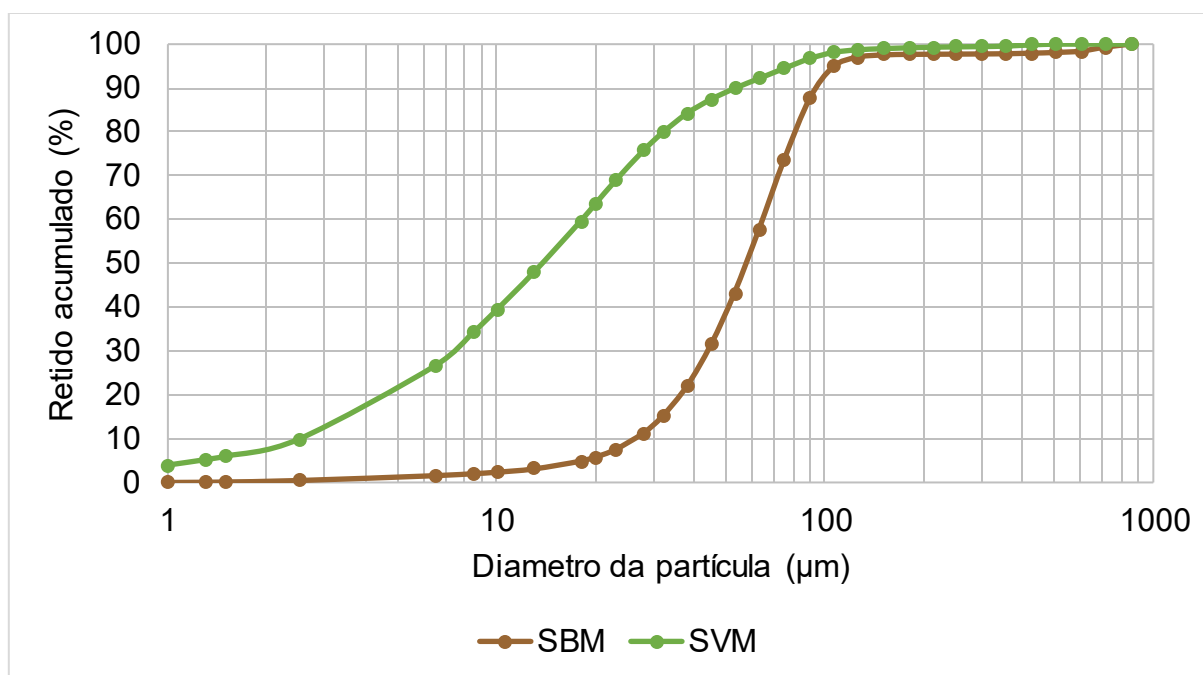
A amostra SBM mostrou dimensões entre 1,3 e 850 μm , sendo que o diâmetro médio de partículas (D 50%) foi de 57,61 μm , ou seja, metade (50%) dos fragmentos finos tinham dimensões inferiores e superiores a esse valor. Para a amostra SVM as partículas finas tiveram dimensões entre 1 e 500 μm e o diâmetro médio foi de 13,82 μm . Dados relevantes resultantes da análise granulométrica a laser estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Dados referentes a análise granulométrica a laser.

Material	SBM			SVM		
	D 10%	D 50%	D 90%	D 10%	D 50%	D 90%
Diâmetro (μm)	26,47	57,61	93,35	2,53	13,82	53,46

FONTE: O autor.

LEGENDA: D 10% - 10% das partículas tinham dimensões inferiores ao valor; D 50% - 50% das partículas tinham dimensões inferiores ao valor; D90% - 90% tinham dimensões inferiores ao valor.

Figura 23 - Curva granulométrica (0,01 - 3500 μm).

FONTE: O autor.

LEGENDA: Curvas granulométricas traçadas em um diagrama semi-logarítmico, em que as abscissas correspondem aos logaritmos das dimensões das partículas e as ordenadas as porcentagens das partículas retidas.

4.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA E MORFOLÓGICA DAS AMOSTRAS POLIMÉRICAS

4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

A análise morfológica das amostras foi realizada por microscopia eletrônica de varredura. As fotomicrografias da espuma de PUF da esponja integral – SAI (figura 24 A), revelam sua estrutura homogênea bem organizada, com células abertas de

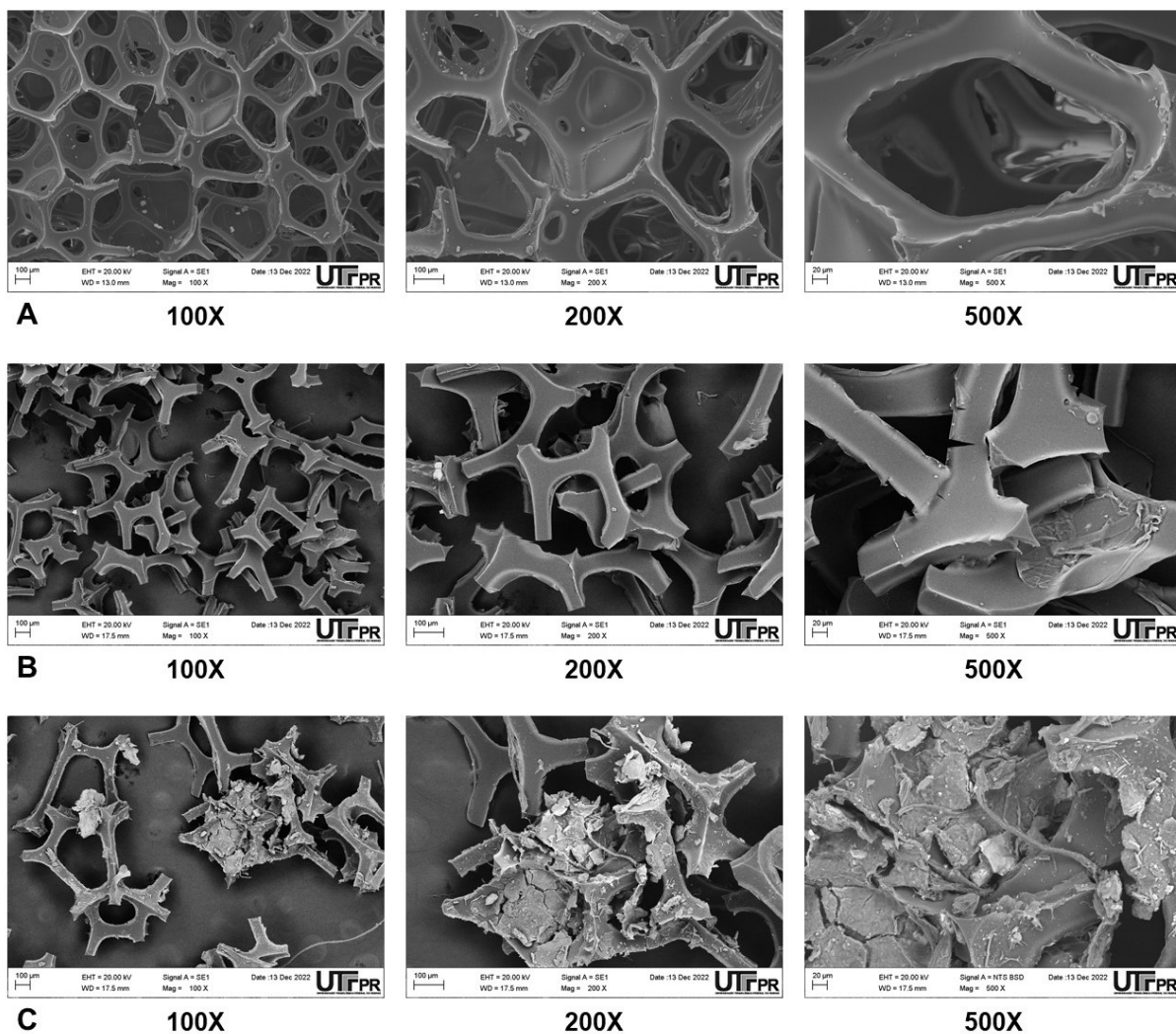
tamanhos similares e bem definidas. A estrutura com células abertas confere a esponja a propriedades de alta absorção, maciez e resistência a deformação. No aumento de 500x foi possível observar uma baixa rugosidade da superfície do material.

Através das fotomicrografias da mesma amostra após o processo de moagem - SAM (figura 24 B) pode-se perceber a ruptura da estrutura tridimensional com diversos fragmentos proporcionais às dimensões das células, porém com formatos irregulares, alguns contendo pontas nas extremidades. No aumento de 500x foi perceptível o aumento na rugosidade da superfície do material e as fissuras geradas no processo de moagem.

A figura 24 C mostra a fotomicrografia da mesma amostra (SAMP) recuperada após a exposição dos organismos (peixes), não foi perceptível mudanças quanto a característica do material. No entanto foi nítida a interação dos fragmentos com o material orgânico particulado gerado pelos animais (excremento), sendo que essa interação pode ter acontecido através da ingestão dessas partículas pelos animais, uma vez que durante a exposição foi observado este tipo de comportamento. No aumento de 500x fica perceptível a forma como o material orgânico recobre os fragmentos da amostra, remetendo que a fixação desse material pode ter acontecido através da digestão.

As fotomicrografias da fibra abrasiva integra - SVI (figura 25 A), revelaram uma estrutura desorganizada, constituída por regiões enoveladas com pontos de cruzamento lotados de filamentos e por regiões muito “vazias”, caracterizando uma distribuição do espaço heterogênea. Foi verificado que a maior parte da superfície da amostra é recoberta por minúsculas partículas, que em aumentos maiores (200 e 500x) pode-se observar o formato que remete a propriedade abrasiva. Observou-se que a espessura das fibras é uniforme, com regiões de aglomeração que são sinais da utilização da resina para agregar os materiais abrasivos (descrito na embalagem do produto). Para essa mesma amostra foi realizada a análise qualitativa de espectroscopia de energia dispersiva (dados apresentados no apêndice 3), indicando a presença dos elementos carbono (C), oxigênio (O), sódio (Na), magnésio (Mg), alumínio (Al), silício (Si), cloro (Cl), cálcio (Ca) e titânio (Ti). No trabalho de Neres (2014), os mesmos elementos foram encontrados através da análise MEV/EDS para os resíduos da decomposição térmica da fibra abrasiva em atmosfera de ar e nitrogênio.

Figura 24 - Fotomicrografias das amostras a) SAI, b) SAM e c) SAMP obtidas por MEV.



FORNE: O autor.

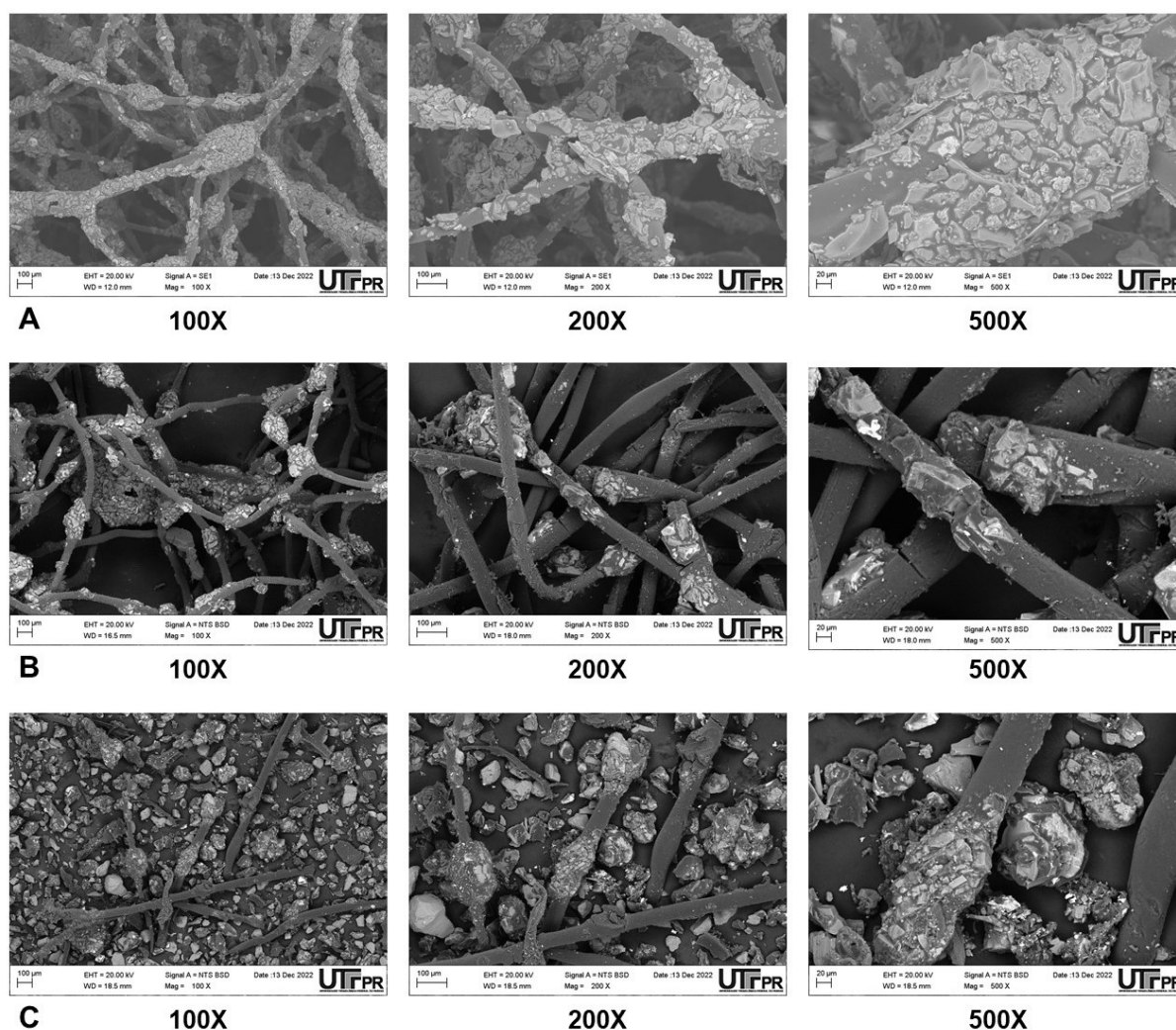
LEGENDA: Fotomicrografias obtidas pela análise de microscopia eletrônica de varredura das amostras originadas a partir da face amarela da esponja multiuso, com magnificação de 100, 200 e 500x.

A figura 25 B mostra as fotomicrografias da mesma amostra após a moagem – SVM, formada majoritariamente por finos filamentos, sendo perceptível a desagregação da maior parte das partículas abrasivas e também, foi notável que o processo de moagem não foi muito eficiente, pois resultou em fibras de maiores dimensões se comparado com a amostra SAM. Nos aumentos foi visualizado a superfície da fibra polimérica, que possui aspecto liso e fissuras provocadas pelo processo de moagem.

As fotomicrografias da figura 25 C apresentam a morfologia das micropartículas da amostra SVM, que corresponde aos fragmentos da fibra abrasiva após trituração, filtração e decantação, portanto, possuem dimensões ínfimas e

compõem o particulado fino da parte verde da esponja. Pode-se especular neste caso, que a maior parte do particulado foi constituído pelo material abrasivo que desprende das fibras em si, outro fator que suporta essa hipótese provem da análise granulométrica (abordada na seção 4.1), na qual mais de 14% das partículas tinham dimensões inferiores a 0,0755 mm. Na magnificação de 500x observou-se que esses pequenos fragmentos possuem formatos e dimensões irregulares.

Figura 25 - Fotomicrografias das amostras a) SVI, b) SVM e c) SVMMD obtidas por MEV.



FONTES: O autor.

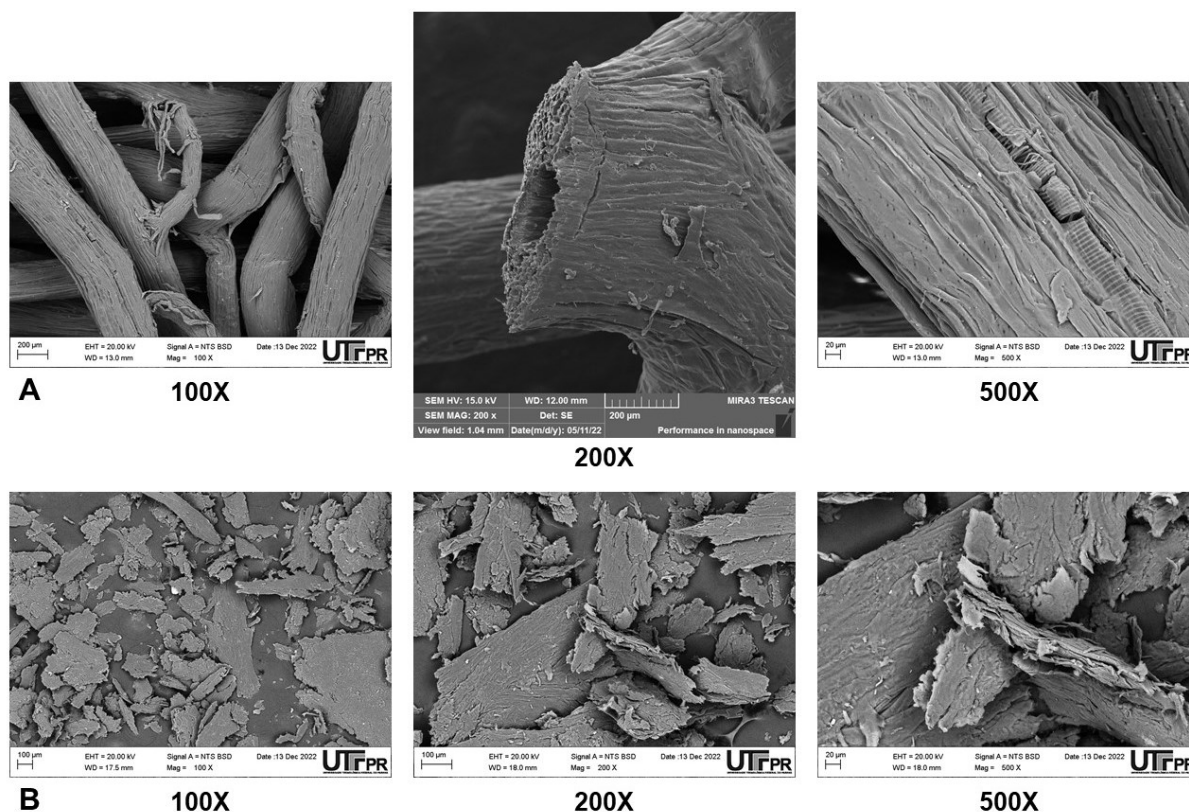
LEGENDA: Fotomicrografias obtidas pela análise de microscopia eletrônica de varredura das amostras originadas a partir da face verde da esponja multiuso, com magnificação de 100, 200 e 500x.

A figura 26 A mostra as fotomicrografias da amostra SBI, em que foi possível verificar o arranjo espacial oriundo do sistema vascular da planta, sendo perceptível os orifícios nos filamentos que provavelmente tinham a funcionalidade de transporte

de fluidos, além disso esses filamentos se entrelaçam criando sítios disponíveis, mostrando o alto potencial de absorção do material. Nas maiores magnificações fica nítido o aspecto rugoso da superfície e é possível observar as fibras que constituem o filamento, no qual existem sulcos ou canais ao longo da superfície da fibra com pequenos fragmentos que penetram esses canais (BAL; BAL, 2004; MAZALI; ALVES, 2005, SCHIO et al., 2021).

As fotomicrografias da amostra SBM estão apresentadas na figura 26 B, sendo possível perceber que a amostra possui formato irregular e tamanhos distintos de partículas, alguns fragmentos com espessura finas como membranas e outras partículas espessas do mesmo material. O aumento de 200X revela o aspecto rugoso, sendo inclusive possível visualizar a morfologia fibrosa típica de materiais lignocelulósicos, porém irregulares e com dimensões distintas, provavelmente, oriundas de fibras danificadas. No aumento de 500X ficam mais evidentes diversos fragmentos devido a coloração mais clara, tamanho e aspecto, podendo ser outras substâncias das estruturas internas da bucha vegetal, segundo Martinez-Pavetti et al. (2021) podem ser compostos cerosos e gomosos que são difundidos por toda a superfície da amostra. Também foi notável o aspecto de desagregamento das estruturas, o que se assemelha a pequenas membranas sobrepostas sendo possível ver fissuras e deformações nas estruturas das fibras.

Figura 26 - Fotomicrografias das amostras a) SBI e b) SBM obtidas por MEV.



FONTES: O autor.

LEGENDA: Fotomicrografias obtidas pela análise de microscopia eletrônica de varredura das amostras originadas a partir da bucha vegetal, com magnificação de 100, 200 e 500x.

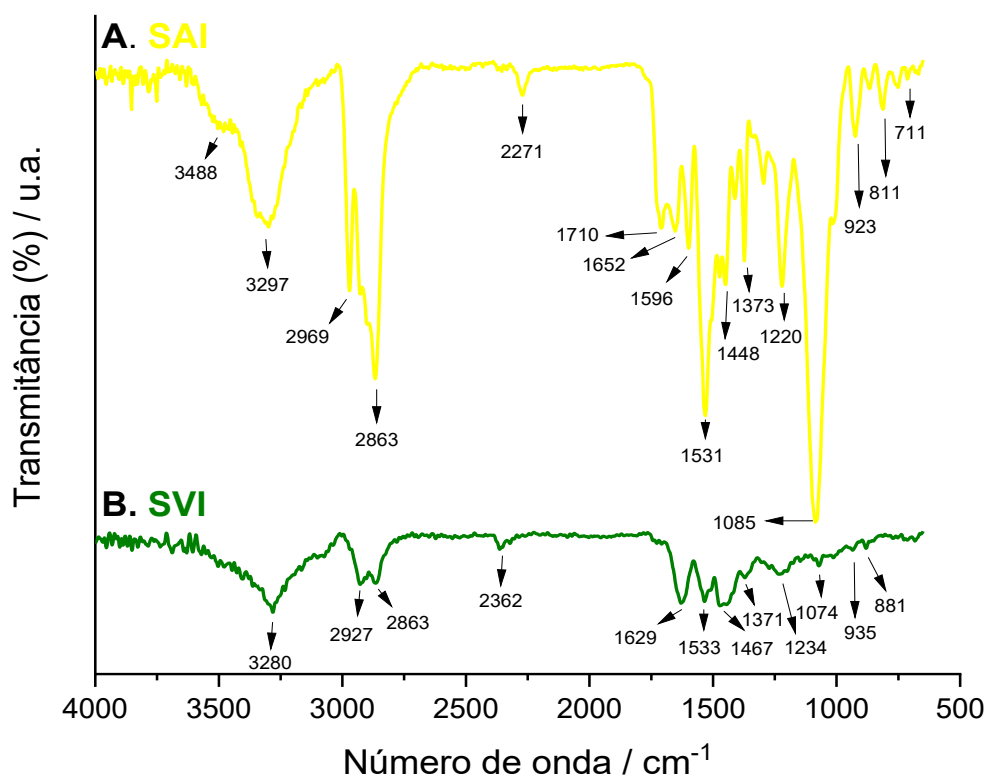
4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A avaliação dos espectros foi realizada através da correlação pico a pico de espectros já conhecidos e tabelas contendo atribuições de grupos funcionais (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Os trabalhos de Gautam, Bassi e Yanful (2007), Luo et al. (2022) e Couto et al. (2004), relatam que as esponjas multiuso podem ser constituídas por PU, PA (nylon® 6), poliéster, poliéter, PE e celulose, podendo variar de acordo com a marca. O espectro da espuma de PUF íntegra, amostra SAI (figura 27 A) corresponde as bandas comumente encontradas para o PU, como a de frequência vibracional ou número de onda (ν) próxima a 3300 cm^{-1} característica do N-H da ligação uretano (WANG et al., 2015), 3488 cm^{-1} relacionada as vibrações dos grupos hidroxila (OH) (DWORAKOWSKA; BOGDAL; PROCIAK, 2012), as bandas em e 1710 e 1652 cm^{-1} são referente as carbonilas uretânicas (TANOBE, 2007). O espectro de absorção da

amostra SVI (figura 27 B) apresentou bandas compatíveis com o observado para a poliamida (PA), como a banda com pico em 3280 cm^{-1} característico do estiramento N-H relativo a amina primária e em 1629 referente a frequência vibracional da carbonila (CAKIR et al., 2015; KHERROUB et al., 2013).

Figura 27 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) das amostras a) SAI e b) SVI.



FONTE: O autor.

A tabela 8 especifica os picos de absorção observados, compatíveis com o espectro da amostra SAI relatado nos trabalhos: (JIAO et al., 2013; KLOSS et al., 2002; LEE et al. 2021; LI et al., 2013; LUO et al., 2019; MCCARTHY et al., 1997; NERES, 2014; OLIVATTO, 2017; TANOBE, 2007; TROVATI et al., 2010; YILGOR et al., 2006).

A tabela 9 especifica os picos de absorção observados, compatíveis com o espectro da amostra SVI relatado nos trabalhos: (CAKIR et al., 2015; DIAS et al., 2022; JAMIESON et al., 2004; KHERROUB et al., 2013; MA et al., 2016; VASANTHAN; SALEM, 2001).

Tabela 8 - Principais picos de absorção da amostra SAI e suas atribuições.

ν / (cm ⁻¹)	Atribuições
3488 – 3297	estiramento simétrico N-H da ligação uretânica
2969 – 2863	estiramento simétrico e assimétrico -CH ₂
2271	ligação N-C-O do isocianato
1710	estiramento simétrico de ésteres C=O
1652	estiramento C=O e N-H em uretanos
1596	vibração C=C de anel benzeno
1531	(estiramento) vibrações de flexão no plano de ligação N-H
1448	estiramento da ligação C-C
1373	estiramento simétrico CH ₃
1220	estiramento assimétrico C-O (do N-CO-O)
1085	estiramento C-O-C
923	estiramento simétrico de N-CO-O
811 – 711	deformações simétricas e assimétrica C-H fora do plano do anel aromático

FONTE: O autor.

Tabela 9 - Principais picos de absorção da amostra SVI e suas atribuições.

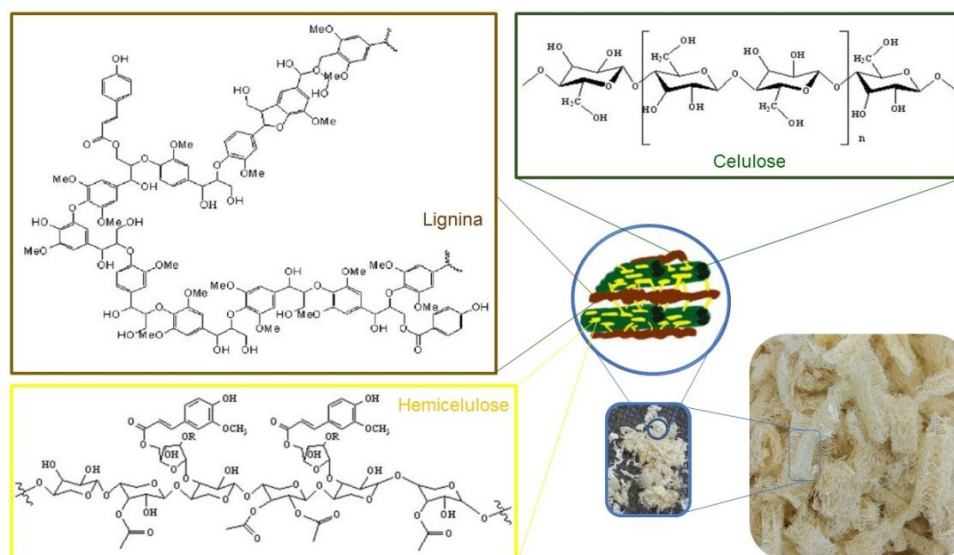
ν / (cm ⁻¹)	Atribuições
3280	estiramento N-H relativo a amina primária
2927	estiramento assimétrico C-H
2863	estiramento simétrico C-H
1629	estiramento C=O da amida
1533	estiramentos N-H e C-N da amida
1510	deformação angular dos grupos N-H
1473	deformação angular simétrica no plano CH ₂ próximo aos grupos NH
1371	deformação angular simétrica fora do plano CH ₂
1234	deformação angular simétrica fora do plano CH ₂ relativo a amida
1074	estiramento C-C e C-N
935	deformação angular CO-NH associada a fase cristalina
881	deformação angular assimétrica no plano CH ₂

FONTE: O autor.

Na literatura trabalhos abordando a caracterização de esponjas multiuso são escassos. Luo et al. (2022) afirmam desconhecer a formulação exata da esponja, porém através da caracterização por espectroscopia Raman há evidências de que a fibra abrasiva é constituída por PET devido a maior parte dos picos corresponderem a esse material e areia. Já a face amarela foi capaz de liberar micropartículas constituídas majoritariamente por poliamida (PA) (nylon® 6) e também, foram detectados sinais de PE. No trabalho de Neres (2014) foi comparado o comportamento da degradação da esponja sintética dupla face com a palha de aço, para tal foi necessário a caracterização no espectro de infravermelho da face amarela e verde, ambas constituídas por PU, sendo possível observar uma redução na intensidade de todas as bandas de absorção da parte verde, que foi justificada pela interferência da matriz inorgânica componente da fibra abrasiva.

As fibras da bucha vegetal são constituídas por 62% celulose, 11,2% lignina e 20% hemicelulose (SATYANARAYANA; GUIMARÃES; WYPYCH, 2007), estruturas químicas da composição são apresentadas na figura 28.

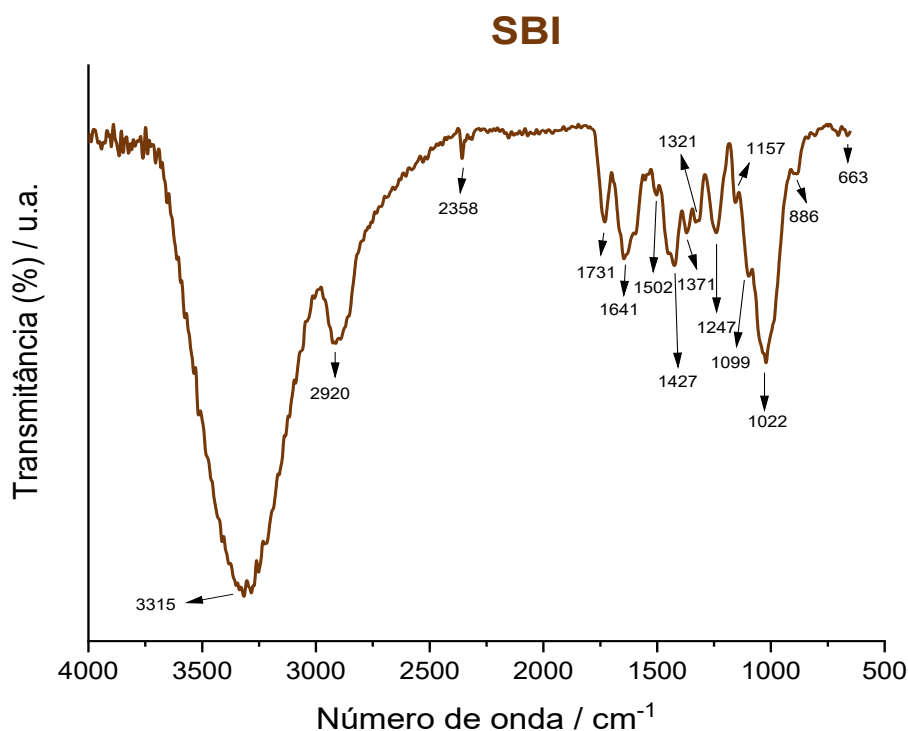
Figura 28 - Composição e estrutura das fibras da BV (amostra SBI)



FONTE: Adaptado (KARIMAH et al., 2021).

O espectro da amostra SBI (figura 29) apresentou bandas de absorção características das observadas no espectro da celulose, hemicelulose e lignina, com número de onda entre 3000 e 3600 cm^{-1} , atribuído as vibrações de estiramento do hidrogênio ligado ao grupo hidroxila que estão presentes na celulose, hemicelulose e lignina.

Figura 29 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) da amostra SBI.



FONTE: O autor.

A tabela 10 especifica os picos de absorção observados, compatíveis com espectros da bucha vegetal e celulose relatados nos trabalhos: (ALI et al., 2001; GUPTA et al., 2013; LAIDANI et al., 2020; MARTINEZ-PAVETTI et al., 2021; MAZALI; ALVES, 2004; SATYANARAYANA; GUIMARÃES; WYPYCH, 2007; TANOBE et al., 2005).

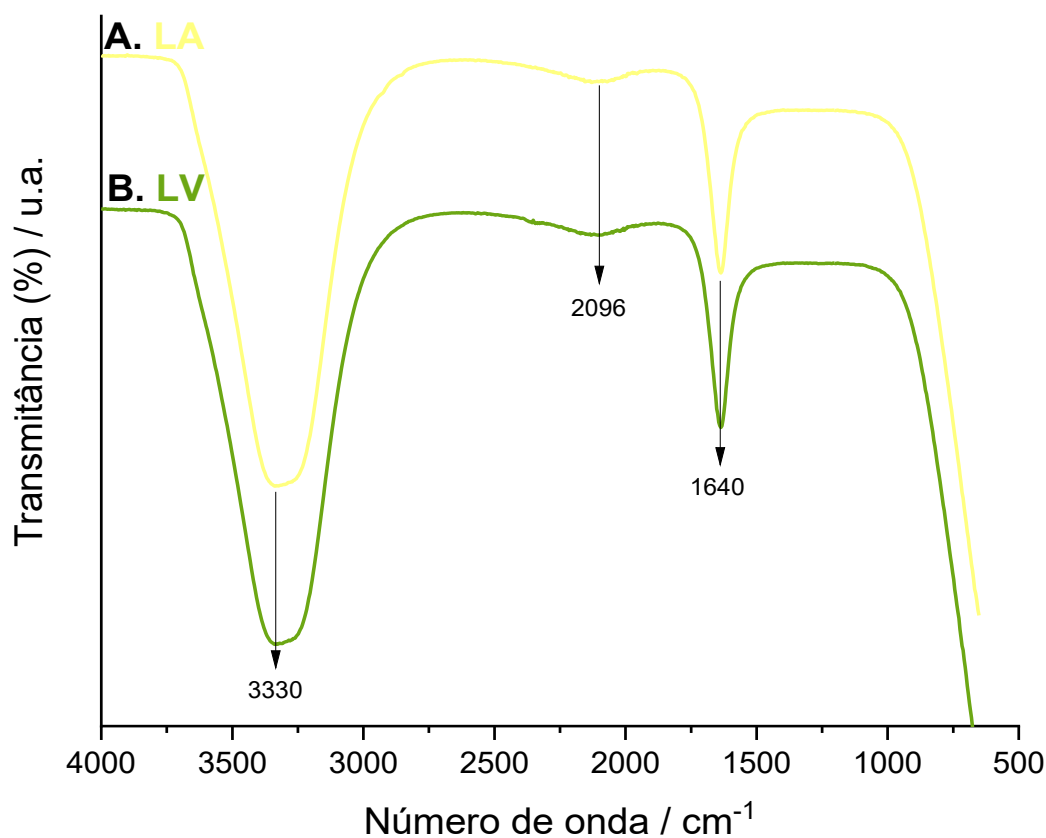
Tabela 10 – Principais picos de absorção da amostra SBI e suas atribuições.

ν / (cm ⁻¹)	Atribuições
3315	estiramento OH da celulose, hemicelulose e lignina
2920	estiramento assimétrico (CH ₂) e simétrico (CH ₃) associados a estrutura da celulose
2358	estiramento e deformação C-H referente a celulose
1731	estiramento (C=O) da hemicelulose
1641	água absorvida na fase cristalina da celulose
1502	deformação angular (OH) da celulose
1427	estiramento C=C e C=O do anel aromático referente a lignina
1371	deformação angular de CH ₃ e CH ₂ referente ao anel pirano da celulose
1157	deformação angular plano O-H referente a celulose
1022	estiramento assimétrico da ponte C-OR-C referente a celulose
886	estiramento C-O e deformação axial C-OH estiramento assimétrico fora de fase dos hidrogênios do anel aromático e estiramento simétrico em fase na estrutura da lignina. região amorfa da celulose.

FONTE: O autor.

Os espectros dos lixiviados oriundos da espuma de PUF, amostra LA (figura 30 A) e da fibra sintética abrasiva, amostra LV (figura 30 B) correspondem às bandas comumente encontradas para a água, com frequência vibracional próximo 3300 cm⁻¹ atribuído ao estiramento O-H e 1640 cm⁻¹ referente a deformação angular simétrica no plano O-H-O (MOJET; EBBESE; LEFFERTS, 2010; FERREIRA; FILHO, 2009). Portanto, a caracterização através da espectroscopia na região do infravermelho, não foi sensível para detectar frequências de vibração de outros componentes do lixiviado. O mesmo espectro foi observado por Luo et al. (2019), que caracterizaram o lixiviado liberado pela espuma de PUF da esponja multiuso, após 48 horas de lixiviação, utilizando a espectroscopia no infravermelho e Raman. Através da espectroscopia Raman foi possível detectar a 3,3'-diaminobenzidina.

Figura 30 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) das amostras a) LA e b) LV.



FONTE: O autor.

4.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) consiste no monitoramento e mensuração da massa da amostra em função da temperatura, desta forma é possível avaliar a estabilidade térmica do material e verificar a existência de algum processo de degradação.

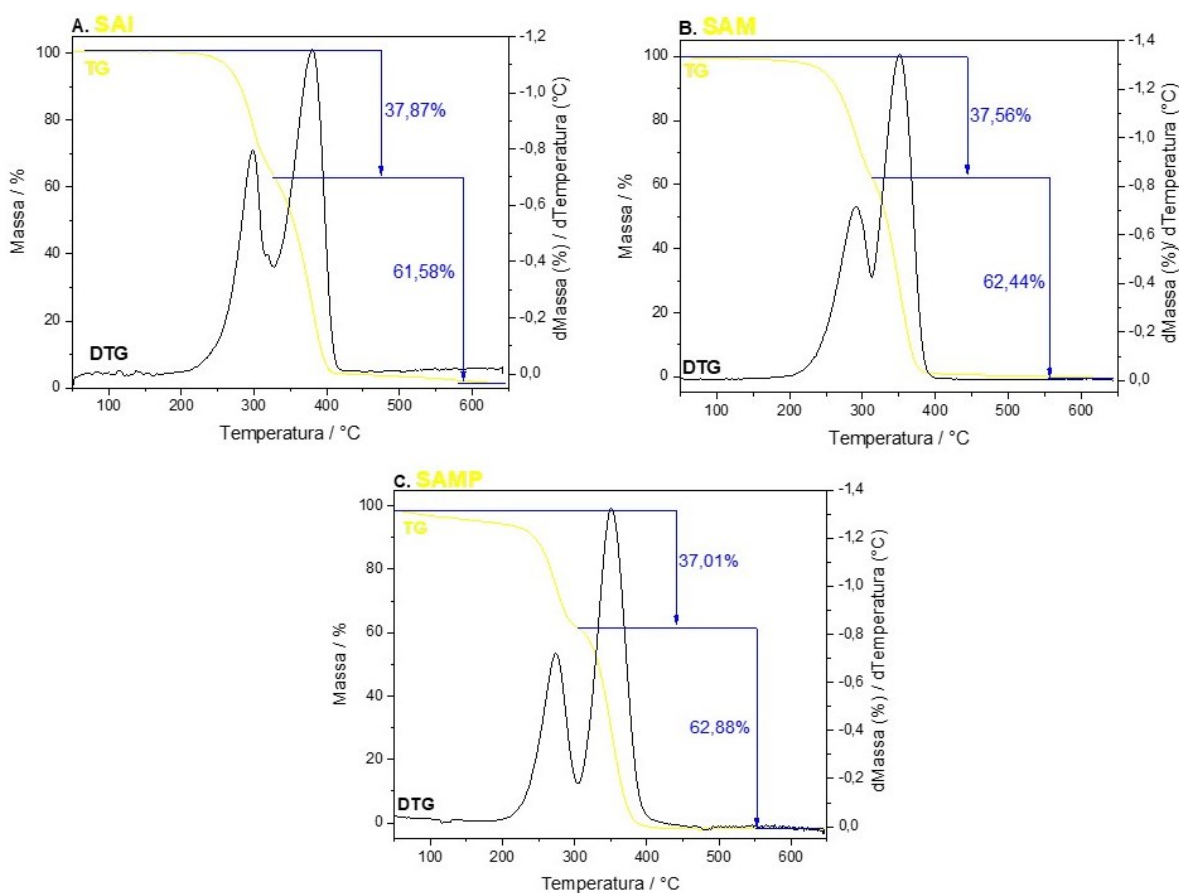
Os termogramas obtidos para as amostras SAI (sólido seco da face amarela da esponja multiuso íntegra), SAM (sólido seco da face amarela moído) e SAM (sólido seco da face amarela moído pós exposição) estão apresentados na figura 31. Avaliando-se a DTG fica evidente que a degradação térmica para as três amostras ocorre em duas etapas.

No primeiro evento observou-se uma redução próxima de 37% da massa, relativo a degradação das ligações uretano, originando dióxido de carbono e produtos voláteis, segundo já mencionado no trabalho de Allan, Daly e Liggat, (2013), em que foi realizada a análise de volatilização térmica comparada com a TGA para PUF.

No segundo evento observou-se uma redução próxima de 62% da massa, podendo ser atribuída a degradações secundárias relacionadas ao poliálcool regenerado após a degradação da ligação uretânica, resultando em uma mistura de monóxido de carbono, metano e hidrogênio (ALLAN; DALY; LIGGAT, 2013).

Comparando as três amostras (SAI, SAM e SAMP) observa-se reduções de massas muito próximas nos dois eventos de degradação, porém para as amostras moídas, os eventos começam e terminam precocemente (T_{onset} , T_{endset} e $T_{máx}$, apresentadas na tabela 11), indicativo da perda de estabilidade térmica ocasionada pelo processo de moagem. Quando se compara as amostras moídas antes (SAM) e pós (SAMP) a exposição com os peixes, fica notável a redução na estabilidade devido a menores valores T_{onset} e $T_{máx}$, sendo uma evidência de que houve degradação do polímero durante a exposição, permitindo a relação indireta com a potencial liberação de aditivos.

Figura 31 - Curva de TGA e DTG das amostras a) SAI, b) SAM e c) SAMP.

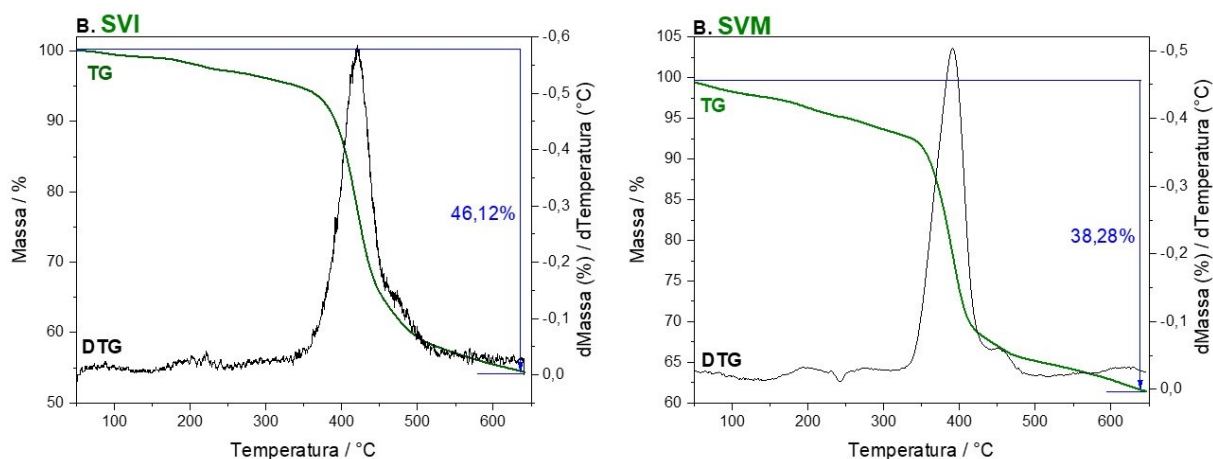


FONTE: O autor.

Os termogramas obtidos para as amostras SVI (fração de fibras abrasivas da esponja íntegra) e SVM (fração das fibras abrasivas após a moagem) estão apresentados na figura 32. Foi possível observar que o comportamento de degradação térmica da fibra abrasiva, antes e pós moagem, foi diferente do observado para os termogramas da face amarela, com apenas um evento de degradação térmica que resultou na redução de 46,12 % da massa para a amostra íntegra (SVI) e de 38,28 % para a amostra triturada (SVM). As temperaturas de onset, endset e máx estão apresentadas na tabela 11, sendo notável a redução da estabilidade térmica para a amostra moída, comprovada por menores temperaturas de onset, endset e máxima. Provavelmente a menor estabilidade térmica da amostra SVM foi causada pelo desprendimento da matriz inorgânica da superfície polimérica e pelo aumento da área superficial das fibras de poliamida, ocasionadas pelo processo de moagem.

Para ambas as amostras o aquecimento se deu até 650 °C, em que menos de 50% das amostras foram degradadas, podendo ser atribuída a fração polimérica que as constitui. No trabalho de Neres (2014) foi observado um comportamento de degradação térmica similar até 650 °C, com T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ próximos a 350 °C e 500°C respectivamente, foi relatado que em temperaturas acima de 800°C a porcentagem de resíduo inorgânico foi de 52%, provavelmente constituído por óxidos e silicatos.

Figura 32 - Curva de TGA e DTG das amostras a) SVI e b) SVM.



FONTE: O autor.

Os termogramas obtidos para as amostras SBI (bucha vegetal íntegra) e SBM (bucha vegetal moída) estão apresentados na figura 33. Foi possível verificar através dos dados a perda de 88,16 % da massa para amostra SBI e 83,58 % para a amostra

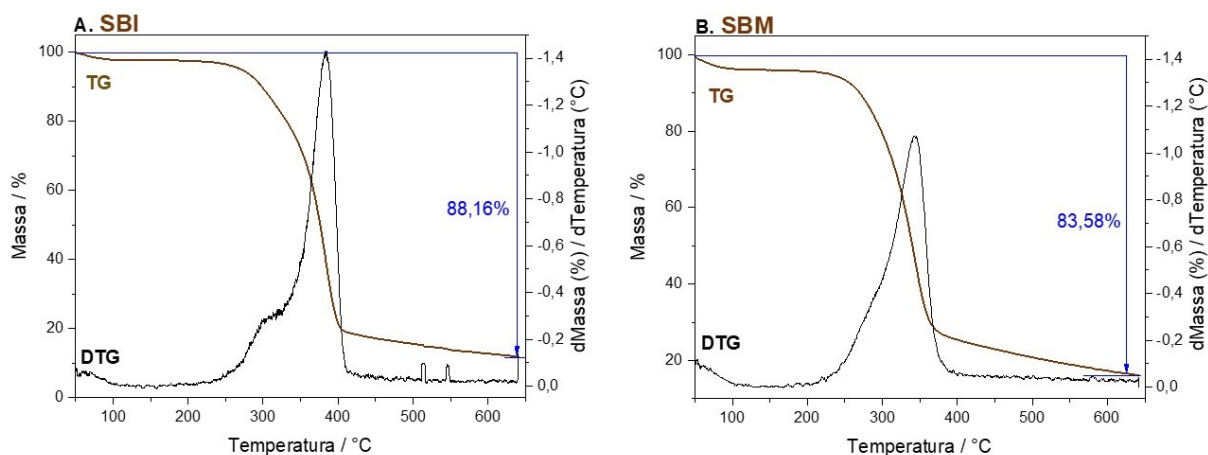
SBM. Os valores de T_{onset} , T_{endset} e $T_{m\acute{a}x}$ para todas as amostras estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Valores de temperatura onset, endset e máxima de perda de massa das amostras SAI, SAM, SAMP, SVI, SVM, SBI e SBM.

Amostra	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$T_{endset} / ^\circ\text{C}$	$T_{m\acute{a}x} / ^\circ\text{C}$
SAI	242	402	298 e 380
SAM	237	375	290 e 371
SAMP	209	376	274 e 350
SVI	378	472	420
SVM	342	430	390
SBI	268	405	384
SBM	262	376	344

FONTE: O autor.

Figura 33 - Curvas de TGA e DTG para as amostras a)SBI e b)SBM.



FONTE: O autor.

As fibras que constituem a bucha vegetal são compostas majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, muito importantes na questão da estrutura da fibra, porém afetam a estabilidade térmica. Nos trabalhos de Seki et al. (2012) e Tanobe et al. (2005), relata-se que a degradação ocorre em três fases indistinguíveis no termograma, a primeira ocorre entre 200 a 260°C relativo a degradação da hemicelulose, a segunda entre 240 a 350 °C devido a degradação da celulose e a terceira entre 280 a 500°C associado a degradação da lignina.

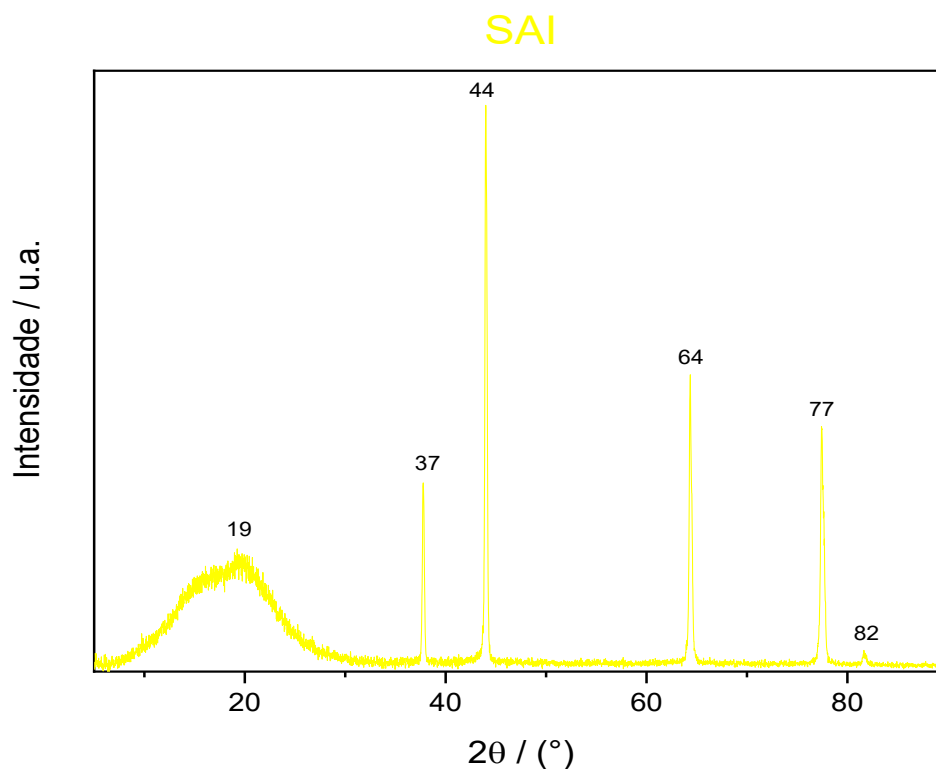
Quando se compara os termogramas obtidos da bucha vegetal pode se observar uma estabilidade térmica similar das amostras antes e após a moagem. No entanto na amostra moída o evento de degradação começa e termina em menores temperaturas, podendo ser justificado pela maior área de contato superficial da amostra e pelo desarranjo estrutural das fibras, que pode facilitar no processo de degradação térmica, uma vez que diversos componentes internos das fibras ficam mais expostos, alguns deles cerosos que na bucha vegetal íntegra são expostos após a degradação da celulose (BAL; BAL, 2004; GHALI et al., 2009; TANOBE et al., 2004).

4.2.4 Difração de raios X (DRX)

Esta técnica foi utilizada com o propósito de determinação do grau de cristalinidade das amostras avaliadas.

A figura 34 mostra o difratograma de DRX da amostra SAI (sólido seco da face amarela da esponja multiuso íntegra). Nas amostras do PUF foi possível verificar regiões amorfas (desorganizadas) e cristalinas (organizadas), devido a separação de fases observada na estrutura dos PUs flexíveis. Nos ângulos entre 7 e 30° fica evidente o halo amorfo atribuído as regiões desorganizadas da cadeia polimérica, compatível com o observado nos trabalhos de Trovati et al. (2010), Lee et al. (2021) e Jayakumar, Nanjundan e Prabakaran (2006). Os picos de 19° e 82° podem ser atribuídos aos segmentos rígidos desse polímero, com um percentual cristalino de 40,01% (JAYAKUMAR; NANJUNDAN; PRABAHARAN, 2006; LEE et al., 2021; TROVATI et al., 2010). Os picos observados em 37, 44, 64 e 77° correspondem aos relatados para nanopartículas de prata, geralmente empregadas com o papel antibacteriano, podendo ser um dos componentes aditivos (ZHANG; WANG; YU, 2018).

Figura 34 - Difratoograma de raios X da amostra SAI.

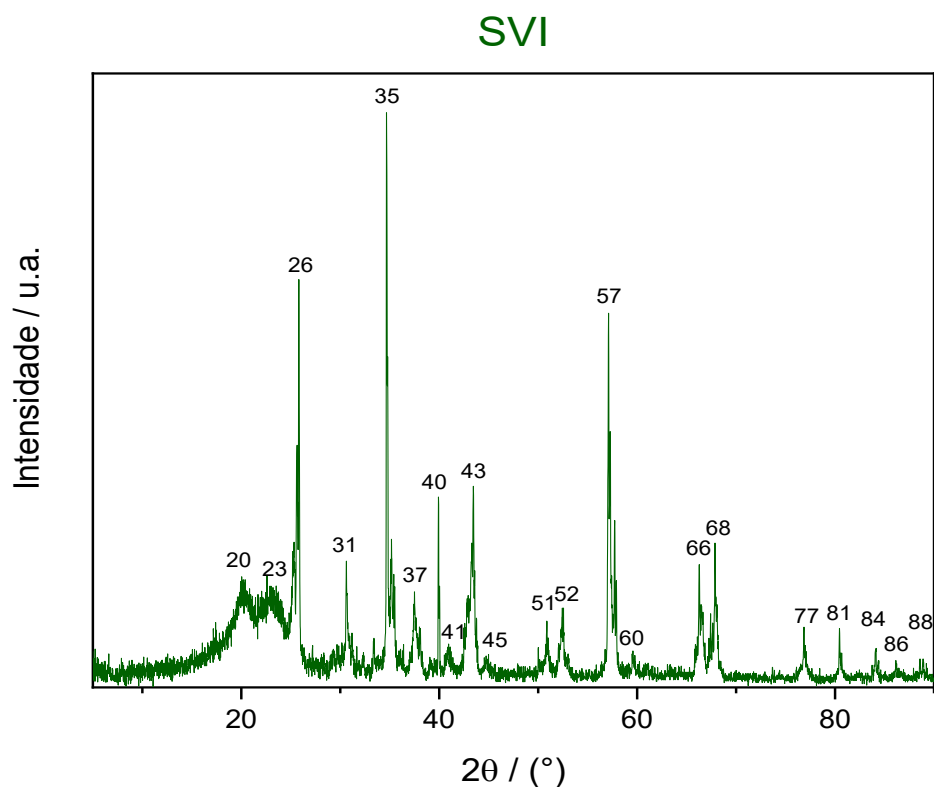


FONTE: O autor.

O espectro de DRX da fibra abrasiva (SVI) apresentado na figura 35 possui vários picos e um percentual cristalino de 65,08%, sendo esse alto grau de cristalinidade da face verde da esponja atribuído aos minerais abrasivos presentes na superfície do polímero, esses picos são característicos de óxidos de minerais e silicatos. Através da análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foi detectada a presença de Mg, Al, Si, Ti, Na, Ca Cl, C e O, elementos que compõem a estrutura de silicatos e óxidos de minerais encontrados na areia como quartzo, do qual os picos em 26, 35, 40, 43 e 45° são característicos desse mineral (ZOUAOUID; GHERIANI, 2018). Luo et al. (2022) através da espectroscopia Raman detectaram a presença de areia como um aditivo de função abrasiva.

O halo amorfo entre 10 e 35° é atribuído a porção polimérica, assim como os picos em 20 e 24° correspondentes a fase cristalina observada para o polímero PA (nylon® 6) (SHANG; LI; WANG, 2013; ZHOU et al., 2014).

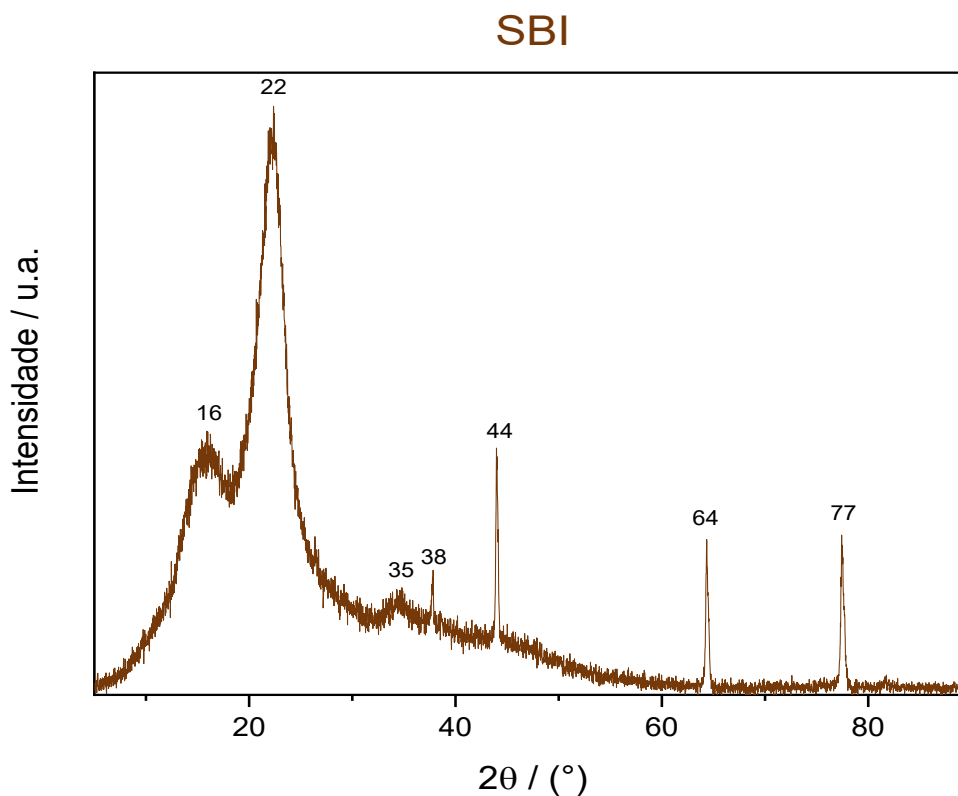
Figura 35 - Difratograma de raios X da amostra SVI.



FONTE: O autor.

O difratograma de raios X da bucha vegetal (figura 36) apresentou grau de cristalinidade de 35,02% e contém picos em 16, 22, 35, 38, 44, 64 e 77 ° e um halo amorfo entre 5 e 60°, sendo característicos de materiais constituídos por celulose, que já foram observados pelos autores (ADEWUYI; PEREIRA, 2017b; GHALI et al., 2009; MARTINEZ-PAVETTI et al., 2021; TANOBE et al., 2005). Tanobe et al. (2005) observaram o halo amorfo entre 5 e 60°, Ghali et al. (2009), Martinez-Pavetti et al. (2021) e Adewuyi e Pereira (2017) observaram picos em 15, 16, 22, e 34°.

Figura 36 - Difratoograma de raios X da amostra SBI.



FONTE: O autor.

4.3 *Daphnia magna*

4.3.1 *Ecotoxicidade aguda*

Os ensaios de sensibilidade têm como propósito verificar a viabilidade dos organismos empregados nos ensaios de ecotoxicidade, sendo capaz de detectar influências externas e boas condições de manejo no laboratório, sendo possível garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos ensaios (KNIE; LOPES, 2004). A sensibilidade dos organismos foi monitorada semanalmente em paralelo com os ensaios agudos, através desses resultados foi construída a carta controle (apêndice 1) que confirma a uniformidade dos valores de $CE_{50(48h)}$ para a substância referência (sulfato de zinco), que foram próximos da média ($11,23 \pm 1,84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) calculada no período de realização dos ensaios agudos, validando a viabilidade dos organismos e confiabilidade dos resultados.

Os ensaios preliminares objetivam a determinação das concentrações que abrangem a faixa de ação de um xenobiótico, ou seja, a menor concentração que

causa imobilidade de todos os organismos e a maior concentração que não causa imobilidade (concentração subletal). No primeiro ensaio preliminar verificou-se que a amostra EBV não apresentou toxicidade aguda em 48 horas de exposição para a *D. magna* até a concentração de $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, tendo sido observado que a amostra tende a decantar no fundo, reduzindo a interação com o organismo. Já as amostras VD e AM apresentaram toxicidade aguda, que foram confirmadas no segundo ensaio preliminar. A amostra VD apresentou toxicidade na faixa de concentrações entre 25 a $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e a amostra AM apresentou imobilidade nas concentrações entre 50 a $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Através desses dados foi possível determinar as faixas de concentrações a serem utilizadas nos ensaios definitivos e as concentrações subletais, VD = $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e AM = $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Para melhor compreensão da natureza e do envelhecimento das amostras, optou-se por realizar testes definitivos de ecotoxicidade aguda utilizando a amostra recém preparada e após 91 dias (vedadas e armazenadas a 4°C , na ausência de luz). Uma vez que na natureza os fragmentos e fibras microplásticas podem entrar em contato imediato com os organismos dos corpos hídricos ou podem ficar retidas nas tubulações por meses e depois serem liberadas no ambiente, sendo este um recurso para tentar elucidar tais efeitos com o passar do tempo. Para a determinação da concentração efetiva foram necessárias modificação nas faixas de concentrações após 91 dias, devido a ausência de toxicidade aguda nas maiores concentrações. Foram realizados no mínimo 2 ensaios na mesma semana para a confiabilidade do resultado e redução do erro estatístico. Em todos os ensaios realizados não se observou imobilidade superior a 10% nos controles (contendo água de diluição) e nas concentrações subletais. Os resultados dos testes foram expressos em função da $\text{CE}_{50(48\text{h})}$: AM(0d) = $89,06 \pm 13,38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, AM(91d) = $113,35 \pm 13,82 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, VD(0d) = $54,54 \pm 4,71 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e VD(91d) = $112,38 \pm 15,62 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Os gráficos da curva de efeito para as duas amostras estão apresentados na figura 37. Pode observar uma redução na toxicidade para ambas as amostras após 91 dias, sendo indicativo da redução na toxicidade, sem a geração de subprodutos mais tóxicos.

Valores encontrados de $\text{CE}_{50(48\text{h})}$ de outras formulações de microplásticos para *D. magna* foram: CE_{50} de $3,90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para microesferas de PE (diâmetro de $40 \mu\text{m}$) e de $323,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para micropartículas irregulares ($37 \mu\text{m}$) (NA et al., 2021); CE_{50} de $65 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para micropartículas irregulares de PE (10 a $75 \mu\text{m}$) de $5000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para microesferas (10 a $106 \mu\text{m}$) (FRYDKJAER; IVERSEN; ROSLEV, 2017); CE_{50} de

66,97 mg·L⁻¹ para micropartículas de PS (1µm) e de 199,94 mg·L⁻¹ para micropartículas (10 µm) (ZHANG et al., 2019) e CE₅₀ de 1,34 mg·L⁻¹ para microfibras de PET (62 a 1400 µm) (JAMEC et al., 2016). Os valores de CE₅₀ para as amostras AM e VD estão dentro da faixa de concentrações efetivas encontradas na literatura para outros polímeros.

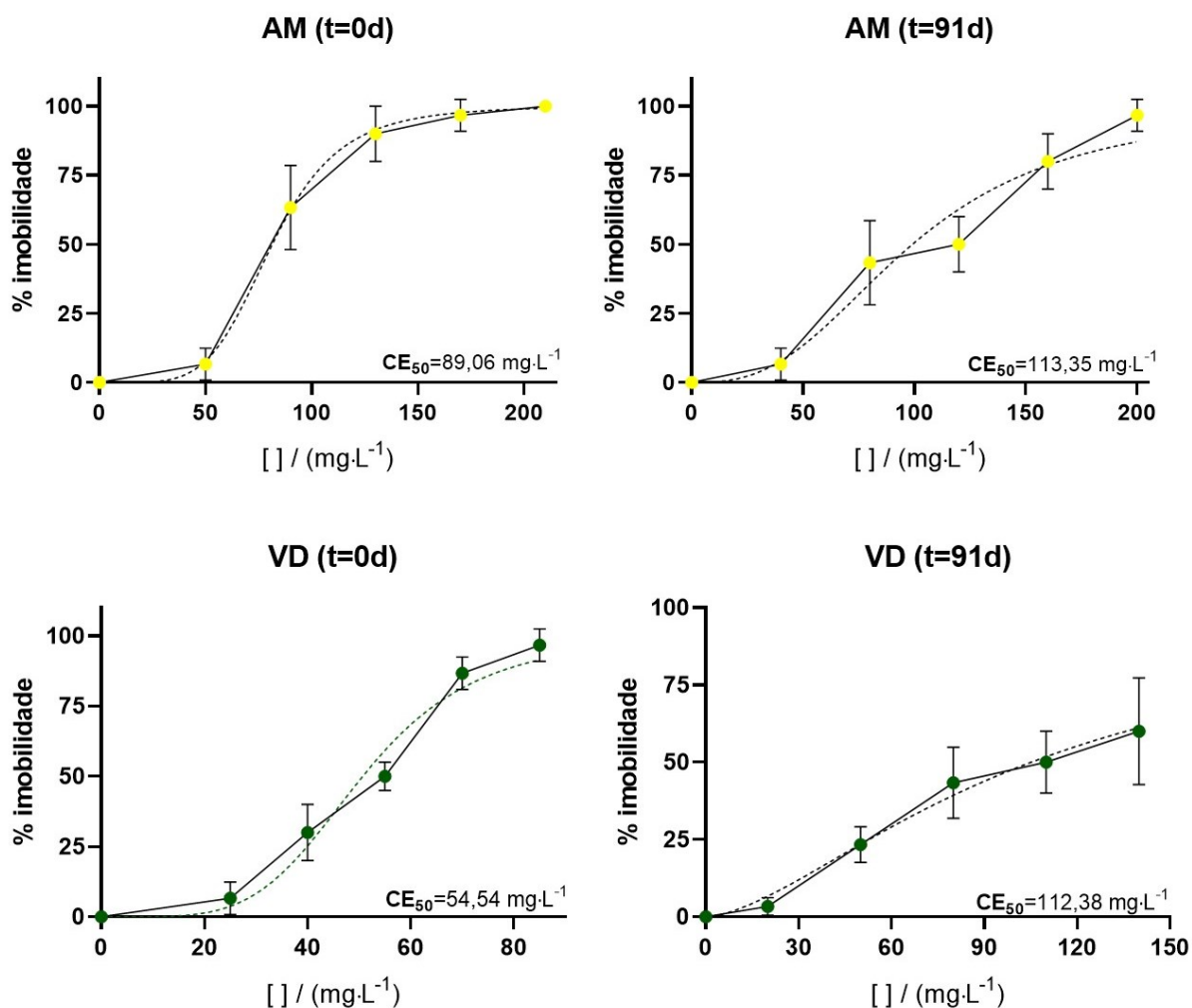
Os trabalhos relatados (FRYDKJAER; IVERSEN; ROSLEV, 2017; NA et al., 2021; ZHANG et al., 2019) fazem uma relação entre as dimensões das partículas e formatos com a toxicidade, no qual fragmentos com dimensões menores ou de formatos irregulares geralmente possuem uma toxicidade maior do que os com dimensões maiores e esféricos. Portanto, pode-se relacionar a maior toxicidade da amostra VD (microfibras e MPs da fibra abrasiva) com a análise granulométrica. A amostra VD era constituída por um maior teor de particulado fino, pois mais de 14% das partículas tinham dimensões entre 1 e 75,5 µm. Além disso, através da MEV foi possível observar que o particulado fino possuía dimensões irregulares, sendo essas características condizentes com a maior toxicidade. Já a amostra AM (micropartículas de PUF), 84% dos fragmentos tinham granulometria entre 0,425 e 1,18 mm com formatos irregulares e as menores partículas (0,1%) tinham dimensões superiores a 75,5 µm.

Existem outros trabalhos que relacionam a toxicidade dos microplásticos com as dimensões das partículas. As daphnias são capazes de ingerir algas com dimensões entre 0,7 a 70 µm, portanto partículas próximas a essas dimensões tem o potencial de serem ingeridas e acumuladas no intestino (BURNS, 1968; GOPHEN; GELLER, 1984; REHSE; KLOAS; ZARF, 2016). Rehse, Kloas e Zarf (2016), expuseram daphnias a microesferas de PE com dimensões de 1 e 100 µm. Observaram que em 24 h as daphnias foram capazes de ingerir micropartículas com dimensões de 1 µm, sendo este fator atribuído a maior toxicidade das amostras com menor dimensão. Frydkjaer, Iversen e Roslev (2017), constataram que as daphnias ingeriram micropartículas de PE em formatos esféricos (dimensões 10 a 106 µm) e irregulares (10 a 75 µm) em 24 horas. Rosenkranz et al. (2009), verificaram que a daphnia foi capaz de ingerir micropartículas de PS com dimensões de 20 e maiores que 1000 nm, em que se observou um acúmulo no trato gastrointestinal. Jamec et al. (2016) expuseram as daphnias em fibras têxteis de PVC com comprimentos que variavam de 62 a 1400 µm. Observaram que a maioria das fibras ingeridas tinham o

comprimento de 300 μm , mas também detectaram fibras torcidas com comprimento de 1400 μm .

Schrank et al. (2019) avaliaram o efeito de micropartículas (PVC) e dos aditivos lixiviados em *D. magna*, durante 31 dias. Os autores concluíram que os organismos podem ser afetados diretamente pelas micropartículas, devido a ingestão, e indiretamente pela lixiviação de aditivos. Observaram que o processo de lixiviação depende do tempo, devido as concentrações dos aditivos aumentarem no final do experimento. Para as amostras AM e VD foi observado um efeito diferente, pois com o passar do tempo a toxicidade reduziu. Esse fato pode estar relacionado com o processo de moagem, que num primeiro momento devido ao aumento da energia cinética e da temperatura, propicia que as substâncias aditivas solubilizem na água, com o passar do tempo essas substâncias podem ter uma maior afinidade com as micropartículas reduzindo a concentração dessas substâncias no meio líquido, o que justificaria a redução na toxicidade.

Uma dúvida que os trabalhos atuais vêm tentando responder é: se a toxicidade de microplásticos se deve a própria partícula ou as substâncias químicas liberadas por eles (ZIMMERMANN, et al. 2020). Para melhor entendimento das amostras também foi verificado a toxicidade dos lixiviados filtrados das amostras AM e VD recém preparadas, ou seja, os compostos solúveis em água sem as micropartículas ou microfibras plásticas LA e LV. A tabela 12 apresenta os dados das diluições com a respectiva porcentagem de imobilidade para as amostras LV e LA. O LV apresentou $FT_{48h} = 512$ e para o LA obteve-se o $FT_{48h} = 16$, evidenciando que o lixiviado da parte verde é mais tóxico do que o da parte amarela, desta forma é possível afirmar que o lixiviado da fibra abrasiva da esponja tem maior potencial tóxico do que o lixiviado da parte constituída por poliuretano, provavelmente devido as substâncias químicas liberadas.

Figura 37 - Gráfico da curva de efeito das amostras AM e VD para *D. magna*

FONTE: O autor.

Tabela 12 - Fator de toxicidade (48 h) do LV e LA para *D. magna*.

%	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,19	0,01
FD	1	2	4	8	16 ^a	32	64	128	256	512 ^v	1024
LA / %	100	93,33	73,33	46,67	3,33	0	0	-	-	-	-
LV / %	100	100	100	100	100	100	80	43,33	13,33	3,33	0

FONTE: O autor.

LEGENDA: O fator de toxicidade (FT) corresponde ao fator de diluição (FD) no qual se observa imobilidade inferior a 10% dos organismos expostos.

As letras "a" e "v" indicam o fator de diluição no qual se observou imobilidade inferior a 10%, em que "a" se refere a amostra LA e "v" a amostra LV.

Alguns estudos atribuem a toxicidade dos microplásticos aos próprios fragmentos, outros indicam que a toxicidade dos microplásticos estão associados com

as substâncias lixiviadas. Jamec et al. (2016) avaliaram a toxicidade de fibras têxteis de PET em *D. magna*, no qual foi observado toxicidade aguda para as amostras contendo microfibras, mas não causou imobilidade para a solução aquosa de lixiviação do PET. Zimmermann et al. (2020) comparou a toxicidade de diferentes micropartículas (PU, PVC, ácido polilático e caulim) com seus lixiviados. Os autores demonstraram que as substâncias químicas lixiviadas do PVC são o principal fator de toxicidade desse material. Os efeitos das outras micropartículas de PU, PLA e caulim foram induzidos pela própria partícula.

Para que seja possível comparar a toxicidade dos lixiviados com a das amostras contendo micropartículas, calculou-se a porcentagem da mistura estoque utilizada para as réplicas na exposição aguda: Para a amostra VD a menor concentração (subletal) foi de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, que corresponde a 0,099% da mistura estoque, já a maior concentração (que causou imobilidade a todos os organismos), foi de $85 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ com 0,35% da mistura estoque. A amostra AM na concentração de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, corresponde a 0,25% e a maior concentração de $210 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, corresponde a 1,05%.

Nas menores porcentagens da mistura estoque (AM e VD) contendo MPs observa-se um maior efeito tóxico se comparado com as diluições dos lixiviados (LA e LV). Por exemplo: para a amostra LV a porcentagem de 3,125% causava imobilidade total, já para a amostra contendo as micropartículas 0,35% foi suficiente para causar o mesmo efeito, ou seja, a amostra contendo micropartículas foi quase 10 vezes mais tóxica do que o lixiviado. Isso pode ser explicado devido ao efeito sinérgico entre as micropartículas com os aditivos. No trabalho de Na et al. (2021) foi observado um efeito sinérgico na exposição de micropartículas (PE) e aditivos (benzofenona-3), apenas a benzofenona-3 apresentou uma CE_{50} de $2,29 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, as micropartículas de PE em formato esférico de $323,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mas quando expuseram as microesferas e aditivos juntos, a CE_{50} caiu para $0,99 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, indicando um aumento na toxicidade.

4.4 *Artemia salina*

4.4.1 *Ecotoxicidade aguda*

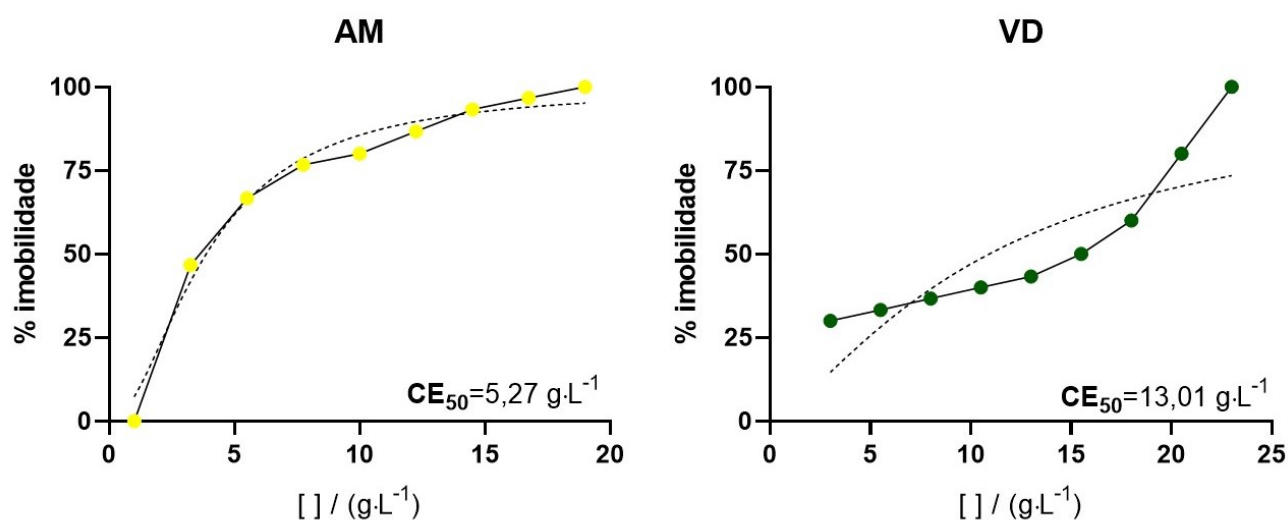
O ensaio de sensibilidade foi realizado ao mesmo tempo que a exposição aguda preliminar. Ao final do ensaio foram contabilizados os organismos imóveis e calculada a CE_{48h} , os cálculos foram feitos com intervalo de confiança de 95%. O teste de sensibilidade resultou numa CE_{50} de $24,29 \pm 2,67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para a substância referência Dodecilsulfato de sódio (apêndice 4), que está dentro dos valores encontrados na literatura com $CE_{50(48h)}$ entre 13,1 e 30,9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (PETROBRAS, 1996). Sendo uma comprovação de que os organismos estavam viáveis para os ensaios de ecotoxicidade, assegurando resultados confiáveis.

Após o ensaio preliminar foi possível verificar ausência de toxicidade na amostra EBV, em que a porcentagem de imobilidade em altas concentrações ($15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) foram similares ao controle negativo, não excedendo 10%. Para as amostras AM e VD foi observada toxicidade aguda na faixa de 2,5 a $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, porém não o suficiente para causar imobilidade a 100% dos organismos expostos, portanto para o ensaio definitivo foi necessário o aumento das concentrações de exposição. Devido ao limite de solubilidade das misturas mães foi indispensável um controle de salinidade contendo o mesmo teor salino da maior concentração teste, ou seja, da mistura teste mais diluída, para verificar se a imobilidade não estava ocorrendo em virtude da baixa salinidade. Tanto para o controle negativo, quanto para o controle de salinidade não foi observado imobilidade superior a 10%, portanto não teve influência do teor salino nas amostras mais diluídas. O resultado da toxicidade aguda das amostras AM e VD foi expresso em função da $CE_{50(48h)}$ em que para a amostra AM (0d) obteve-se uma $CE_{50(48h)}$ de $5,27 \pm 1,22 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e VD (0d) $13,01 \pm 1,96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (figura 38).

Existem diversos trabalhos que estudaram efeitos agudos após a exposição da *A. salina* a microplásticos, porém em sua maioria não relataram imobilidade, mas foram observados efeitos subletais. Jeyavani et al. (2022) expuseram as artêmias a microesferas de PP com diâmetro entre 11,86 a 44,62 μm , obtendo uma $CE_{50(48h)}$ de 40,95 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Os autores observaram que os microcrustáceos foram capazes de ingerir e acumular micropartículas no trato digestivo, causando danos na camada epitelial intestinal. Também observaram perturbações nos biomarcadores antioxidantes (superóxido dismutase (SOD), CAT, glutathiona reduzida (GSH), GST) e

de neurotransmissores (AChE). Suman et al. (2020) observou a deformação epitelial e desarranjo celular após a exposição aguda a MPs de PS, em concentrações subletais de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Albano et al. (2021) estudou os efeitos de MPs de PE com dimensões de $10 \text{ }\mu\text{m}$, que foram expostos na presença e ausência de alimento (microalga), os autores somente observaram acúmulo de MPs nos organismos expostos na ausência de alimento.

Figura 38 - Gráfico de curva de efeito das amostras AM e VD para *A. salina*.



FONTE: O autor.

Com a finalidade de maior compreensão a respeito do efeito das amostras para a *A. salina* e comparação com a *D. magna*, também foi realizado o ensaio de toxicidade aguda com os lixiviados filtrados das amostras AM e VD, uma vez que para as amostras contendo microfibras e micropartículas as artêmias mostraram maior resistência, pois as concentrações que afetam as daphnias estavam na escala de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e as que afetaram as artêmias em $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. A tabela 13 contém os dados das diluições com a respectiva porcentagem de imobilidade pertinentes as amostras LV e LA, em que o lixiviado filtrado da fibra abrasiva (LV) apresentou $\text{FT}_{48\text{h}} = 128$ e para o lixiviado da parte polimérica constituída de PU (LA) obteve-se $\text{FT}_{48\text{h}} = 16$. Sendo possível concluir que a *A. salina* é mais resistente que a *D. magna* para as amostras VD, AM e LV e apresenta sensibilidade similar a amostra LA, remetendo a hipótese de que a dimensão dos organismos pode influenciar na interação com a amostra, uma vez que as artêmias são menores que as daphnias.

No estudo realizado por Kokalj, Kunej e Skalar (2018), daphnias e artêmias foram expostas a MPs com diferentes origens (lã de PE, saco plástico e 2 produtos de limpeza facial), as partículas tinham dimensões entre 0,02 a 250 µm. Em todas as exposições foram encontradas MPs no intestino dos dois organismos. Nas exposições em que a maior parte dos particulados tinham dimensões inferiores a 100 µm, as daphnias apresentaram maior índice de ingestão de MPs. Essa maior interação das daphnias com micropartículas de menores dimensões pode explicar o motivo da amostra VD ter sido mais tóxica que a AM para os daphnideos, pois a mostra VD é composta por uma maior proporção de fragmentos com dimensões inferiores a 75,5 µm (cerca de 14% da amostra total), já a amostra AM era composta majoritariamente (99,9%) por partículas com dimensões superiores a 150 µm. De acordo com a literatura (ALBANO et al., 2021; BERGAMI et al., 2017; GIANNANTONIO et al., 2022; KOKALJ; KUNEJ; SKALAR, 2018; SUMAN et al., 2020; WANG et al., 2019), pode-se observar que as artêmias são menos suscetíveis a exposição com MPs, em sua maioria não apresentam toxicidade aguda e as concentrações subletais são mais altas, se comparado com as daphnias para MPs de mesma composição.

Tabela 13 - Fator de toxicidade (48h) do LV e LA para *A. salina*.

%	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,19	0,01
FD	1	2	4	8	16 ^a	32	64	128 ^v	256	512	1024
LA / %	100	83,33	30	13,33	6,67	0	0	-	-	-	-
LV / %	96,67	20	20	16,67	13,33	13,33	13,33	6,67	3,33	3,33	3,33

FONTE: O autor.

LEGENDA: O fator de toxicidade (FT) corresponde ao fator de diluição (FD) no qual se observa imobilidade inferior a 10% dos organismos expostos.

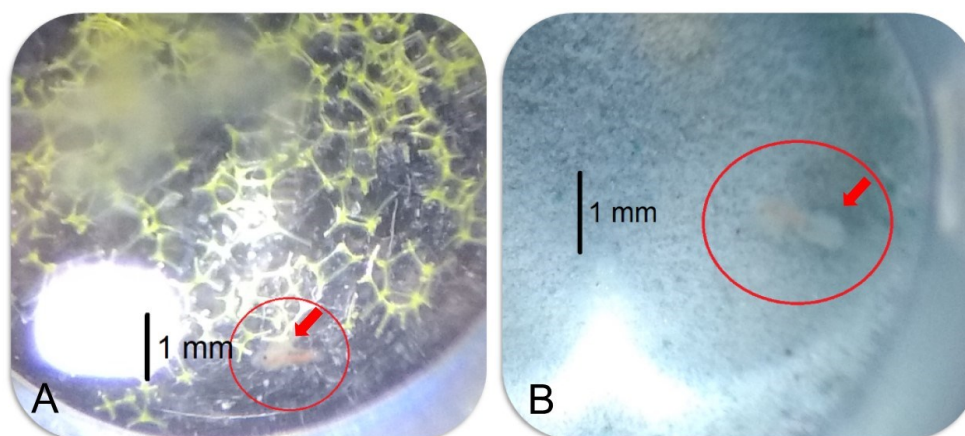
As letras "a" e "v" indicam o fator de diluição no qual se observou imobilidade inferior a 10%, em que "a" se refere a amostra LA e "v" a amostra LV.

Outro fator a ser observado durante os ensaios foi a interação entre as partículas analisadas com o organismo. Foi observado que muitas vezes a partícula se mostra deletéria por ações físicas como a restrição natatória por meio de aprisionamento (figura 39). Nas análises morfológicas foi possível observar as células abertas da parte polimérica do fragmento, que se agarra ao organismo impedindo a locomoção. Isso foi observado para ambos os organismos *D. magna* e *A. salina*,

porém com um efeito mais pronunciado para as artêmias devido a menor dimensão do organismo. Desta forma é possível fazer uma relação entre a dimensão e formato das partículas (ou fibras) com a toxicidade aguda, na qual através da análise granulométrica foi possível observar que a amostra VD que se mostrou mais tóxica por sua composição ter uma maior proporção de particulados finos (inferiores a 75 μm). A amostra AM era composta por partículas com dimensões e formatos compatíveis com a artêmia, sendo propícia a interação física que pode causar imobilidade.

Além dos fatores físicos como formatos e dimensões das partículas, também existem os lixiviados das amostras, que atuam em conjunto com as micropartículas e microfibras. Devido aos altos volumes de soluções estoques (AM e VD) utilizados no preparo das diluições, as porcentagens dos volumes das misturas estoques foram proporcionais ao dos lixiviados, portanto a toxicidade para *A. salina*, remete as interações químicas do lixiviado.

Figura 39 - *A. salina* aprisionada por fragmentos.



Fonte: O autor.

LEGENDA: A. Náuplio preso a fragmento da amostra AM; B. Náuplio com capacidade natatória comprometida por partículas da amostra VD.

4.5 *Oreochromis niloticus*

Desde o período de aclimação dos alevinos, até o término da exposição foram controlados parâmetros de temperatura, pH e fotoperíodo. Em que a média de temperatura e pH da água durante a aclimação foi respectivamente de $23,5 \pm 1,0$ °C e de $7,74 \pm 0,15$. As médias de temperatura e pH nos aquários durante o bioensaio foram de $23,8 \pm 1,0$ e $7,85 \pm 0,12$, respectivamente (dados apresentados no apêndice 5). Durante a exposição foram contabilizadas 18 mortes (tabela 14), em que se observou maior letalidade nas concentrações mais elevadas para todas as amostras, sendo mais nocivo nas amostras VD e AM. Isso pode estar relacionado ao fato de ter sido observado a ingestão de micropartículas durante o bioensaio, pois nas concentrações mais altas tinha maior disponibilidade de partículas. A letalidade também pode estar associada ao aumento da toxicidade do lixiviado nas maiores concentrações. A maior parte das mortalidades se concentraram durante a segunda metade do experimento, as mortes com suas respectivas datas e grupos de exposição estão apresentadas no apêndice 6.

Tabela 14 - Número de mortes durante o bioensaio.

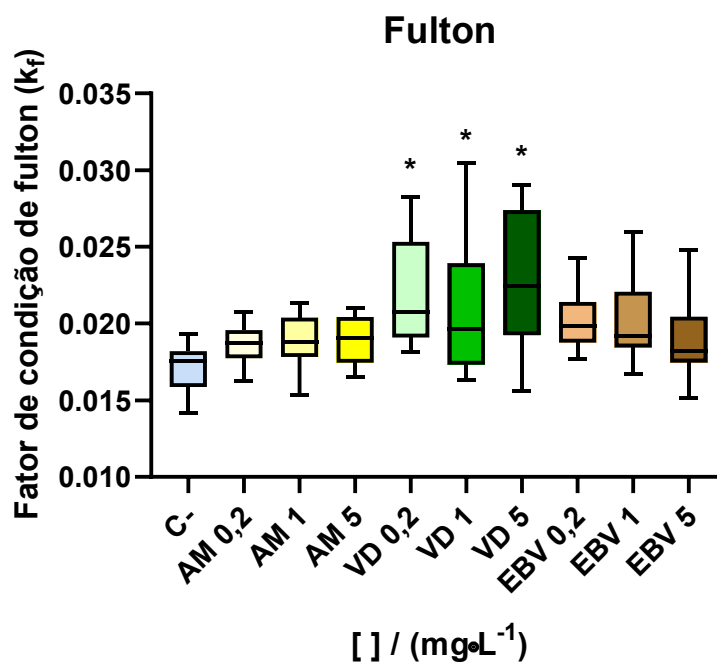
Amostra [] / (mg·L ⁻¹)	C			AM			VD			EBV		
	-	0,2	1	5	0,2	1	5	0,2	1	5		
Nº de mortes	1	2	2	4	1	0	5	0	1	2		

FONTE: O autor.

LEGENDA: C – Controle negativo; AM – Grupos de exposição contendo micropartículas constituídas por PUF; VD – Grupos de exposição contendo micropartículas e microfibras da fibra abrasiva; EBV – Grupos de exposição contendo micropartículas da bucha vegetal.

4.5.1 Biomarcador somático

Para a avaliação das condições nutricionais e saúde dos alevinos foi utilizado o biomarcador somático, no qual foram calculados para cada indivíduo o fator de condição de Fulton (K_f). Posteriormente foi analisada a normalidade (Shapiro-Wilk) seguido da ANOVA, com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), que estão representados graficamente na figura 40.

Figura 40 - Valores do fator de condição de Fulton (K_f) para *O. niloticus*.

FONTE: O autor.

LEGENDA: O símbolo “*” indica diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao controle, após ANOVA – one way com pós teste de Turkey. N= 10 a 16.

Através da análise dos valores de K_f foi possível concluir que houve interferência nas condições fisiológicas dos organismos expostos em todas as concentrações da amostra VD. Levando em consideração o que foi visto na análise granulométrica e MEV, é possível fazer uma relação entre os formatos e as dimensões das fibras com sua toxicidade. A amostra VD era constituída majoritariamente (73%) por micropartículas e microfibras, com dimensões entre 2,36 e 4,76 μm , possuía coloração esverdeada e as fibras tendiam a se agrupar formando emaranhados. A tilápia é um organismo onívoro portanto, também se alimenta de algas (BOSCOLO et al., 2001; ZHOU et al., 1998). As dimensões, cores e formatos das fibras (amostra VD) se assemelham a algumas algas, sendo propício a ingestão desses fragmentos pelos alevinos. Além disso, foi observado durante o experimento a ingestão desses aglomerados de fibras pelos peixes e não foi possível recuperar as amostras pós exposição.

Outros estudos que avaliaram a toxicidade de microplásticos para *O. niloticus* não aplicaram o fator de condição de Fulton. Porém, Mbugani et al. (2022) estudou o efeito de MPs de PE após 65 dias de exposição em alevinos de *Oreochromis urolepis* nas concentrações de 1, 10 e 100 partículas $\cdot\text{mL}^{-1}$. Os autores verificaram que o índice

de lesões histomorfológicas do intestino delgado tinha efeito dose-dependente. Essas lesões afetaram a função digestiva e absorptiva do intestino delgado, conseqüentemente dificultou na absorção de nutrientes e levou ao prejuízo no crescimento e saúde dos peixes, portanto foi observada uma redução do K_f em relação ao controle.

Substâncias químicas presentes em materiais poliméricos também tem o potencial de afetar a saúde e o estado nutricional dos organismos exposto. Leão-Buchir et al. (2021), avaliou os efeitos do 2,2',4,4'-tetrabromofenílico, um retardante de chama aplicado em uma ampla gama de polímeros sintéticos. Os autores expuseram alevinos de *O. niloticus* durante 80 dias e observaram efeito (aumento dos índices K_f) nas condições nutricionais dos organismos expostos nas concentrações intermediárias. Portanto, o efeito observado no estado nutricional dos peixes expostos a amostra VD, podem estar relacionados com os aditivos lixiviados das microfibras e micropartículas da face verde da esponja.

Pode-se afirmar que as micropartículas e microfibras (amostra VD) possuem o potencial de interferir na reserva energética de organismos, impedindo o crescimento e aumento de massa que pode ter sido ocasionada pela ingestão de fibras, atuação de micropartículas e/ou pela toxicidade do lixiviado. Devido ser observado um aumento nos índices de condição de Fulton, esse efeito pode estar relacionado com a presença anormal de adipócitos e esteatose (LEÃO-BUCHIR et al., 2021).

4.5.2 Biomarcador genético

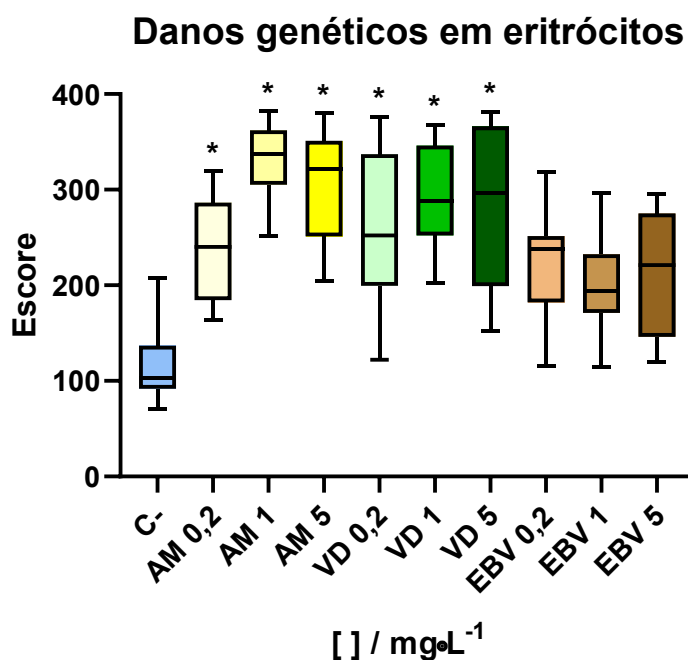
4.5.2.1 Ensaio cometa alcalino

As lesões no material genético em eritrócitos foram avaliadas através do ensaio cometa alcalino. O biomarcador ensaio cometa é muito útil na análise do potencial genotóxico de substâncias xenobióticas, sendo possível detectar danos e quebras no DNA (COLLINS et al., 1997; SPEIT; HARTMANN, 2006). Após a atribuição dos escores por lâmina, foi realizada a análise estatística de Kruskal-Wallis, com significância de 5%, os resultados de danos genéticos em células sanguíneas estão apresentados na figura 41.

Não foi observada diferença estatística entre o grupo controle e os grupos expostos as MPs da bucha vegetal (EBV), porém é possível observar maiores escores para essas amostras do que para o controle. Os grupos expostos as amostras oriundas da esponja multiuso AM e VD apresentaram diferença estatística significativa com relação ao controle negativo, evidenciando o potencial genotóxico em todas as concentrações testadas. Para a amostra constituída pelas microfibras e micropartículas abrasivas (VD) não foi possível relacionar os escores com a concentração de exposição, porém a amostra constituída por MPs de PUF (AM) foi verificado maiores scores nas maiores concentrações (1 e 5 mg·L⁻¹), sendo uma evidencia da relação do efeito com a dose.

O potencial genotóxico das amostras AM e VD são condizentes com os relatos para microplásticos. Existem estudos que relatam a capacidade de nano e microplásticos induzirem a fragmentação do DNA em diferentes organismos: Peixes *Ctenopharyngodon idella* (GUIMARÃES et al., 2021), *Danio rerio* (QIAO et al., 2019), *Ctenopharyngodon idella* (ESTRELA et al., 2021), *Oncorhynchus mykiss* (BUSSOLARO et al., 2019); Mexilhões *Mytilus galloprovincialis* (ALNAJAR; JHA; TURNER, 2021; Revel et al., 2019); Crustáceo *Neocaridina davidi* (BERBER, 2019); Microcrustáceo *Daphnia magna* (IMHOF et al., 2017); Células intestinais humanas *Homo sapiens* (VISALLI et al., 2021). Hamed et al. (2020) estudaram os efeitos genotóxicos de MPs em tecido hepático em alevinos de *O. niloticus*, expostos por 15 dias nas concentrações de 1, 10 e 100 mg·L⁻¹. Os autores observaram um aumento na porcentagem de fragmentação do DNA com o aumento das concentrações. Também foi avaliado o percentual de fragmentação do material genético após um período de 15 dias de recuperação, em que houve uma redução dos danos em todas as concentrações e na menor concentração testada não houve diferença estatística com o controle negativo.

A genotoxicidade de nano e microplásticos podem ser ocasionadas pela ação direta com o material genético ou através da indução de radicais livres, resultando no estresse oxidativo. Na maioria dos trabalhos em que foram detectados danos genotóxicos por microplásticos, também foi observada alteração nos níveis de lipoperoxidação ou de outros biomarcadores de estresse oxidativo (ESTRELA et al., 2021; GUIMARÃES et al., 2021; HAMED et al., 2020; MANKE; WANG; ROJANASAKUL, 2013; TAGORTI; KAYA, 2022; XU et al. 2021; ZHENG; YUAN; LIU, 2019).

Figura 41 - Escores de danos genéticos utilizando eritrócitos de *O. niloticus*.

FONTE: O autor.

LEGENDA: O símbolo “*” indica diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao controle, após teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunns. N=10 a 16.

As substâncias lixiviadas dos microplásticos também podem induzir danos no material genético. No estudo de Khali, Elhakin e El-Murr (2016), foram verificados danos no DNA e estresse oxidativo em alevinos *O. nilóticos*, após exposição de 96 horas em um plastificante comumente aplicado em materiais poliméricos (Di-n-butil ftalato). Deste modo, as substâncias lixiviadas das micropartículas nas amostras AM e VD podem ter exercido influência na genotoxicidade das amostras oriundas de polímeros.

Embora os peixes expostos as micropartículas da bucha vegetal não tenham mostrado danos estatisticamente significativos, percebe-se maiores escores em todas as concentrações em comparação ao controle, indicativo de que a amostra tem uma tendência a ser genotóxica. O particulado fino dos fragmentos da bucha vegetal, tinham dimensões entre 1,3 a 75,5 μm . Uma hipótese baseada no trabalho de Manke, Wang e Rojanasakul (2013), é de que esses danos podem ter sido causados pelas partículas em si, uma vez que nanopartículas tem o potencial de interagir com o material genético ocasionando lesões. Outro fator que pode ser levado em consideração, consiste no fato de que a célula possui mecanismos de reparo do DNA,

podendo serem reestabelecidos parcialmente ou por completo (BEEDANAGARI et al., 2014; ESPINA; WEIS, 1995).

4.5.3 Biomarcadores bioquímicos

4.5.3.1 Atividade da acetilcolinesterase (AChE)

O biomarcador de neurotoxicidade (AChE) foi avaliado nos tecidos muscular e cerebral, em que para todas as amostras testadas a atividade da acetilcolinesterase foi diferente em ambos os tecidos (figura 42). No tecido muscular foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao controle, na qual todas as concentrações das diferentes amostras promoveram efeito de inibição da atividade da AChE, podendo-se concluir que todas as amostras nas concentrações testadas possuem o potencial de interferir no sistema nervoso. Ao longo do experimento, foi possível verificar mudanças no comportamento dos alevinos, sendo mais pronunciado nas maiores concentrações da amostra VD, em que foi notável uma redução na locomoção dos peixes, atividade natatória disfuncional e uma tendência a se manterem no fundo do aquário.

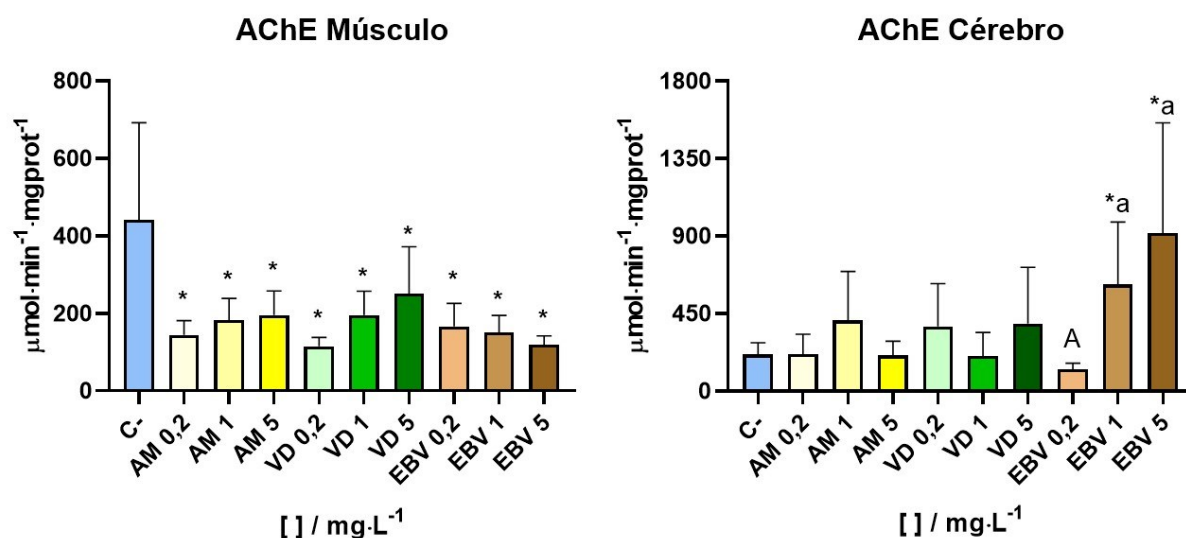
A inibição da AChE compromete a transmissão neural colinérgica, devido ao aumento do neurotransmissor acetilcolina, podendo impossibilitar a contração muscular, resultando na alteração dos mecanismos de natação e paralisia (FULTON; KEY, 2001; SANTOS et al., 2021). Na literatura há relatos de que a exposição a microplásticos possui um efeito anticolinesterástico para diferentes organismos: Microcrustáceos *Artemia salina* (JEYAVANI et al. 2022), Peixes *Danio rerio* (SANTOS et al. 2021), *Pomatoschistus microps* (FONTE et al., 2016); Crustáceo *Eriocheir sinensis* (YU et al., 2018); Mexilhões *Mytilus galloprovincialis* (AVIO et al., 2015). Ding et al. (2018) expuseram alevinos da espécie *O. niloticus* por 14 dias a MPs de PS e observaram uma inibição da AChE cerebral, além disso detectaram acúmulo de partículas no tecido cerebral. Huang et al. (2021), estudaram o efeito de MPs em peixes juvenis (*O. niloticus*) e após 14 dias de exposição houve a inibição atividade da AChE. No trabalho de Ding et al. (2020), alevinos da espécie *O. niloticus* foram expostos a MPs de PS, com dimensões de 0,3 a 90 μm . Após a avaliação da atividade enzimática AChE cerebral, os autores observaram que em 6 dias de exposição houve

estímulo da AChE e após 14 dias de exposição apresentou inibição. A inibição da enzima foi atribuída a adsorção direta da AChE em MPs.

O efeito de inibição da AChE por micropartículas pode ser explicado pela interação direta (observada em nanoplasticos) ou através de substâncias liberadas por essas partículas. Chen et al. (2017) consideram que a inibição da AChE em larvas da espécie *D. rerio* pode ser causada pela adsorção direta da enzima AChE na superfície de nanopartículas de PS. Wang et al. (2018) avaliaram os efeitos de retardantes de chamas, comumente empregado em formulações de polímeros (2,2',4,4'-*tetrabromodiphenyl eter*) e concluíram que essas substâncias se ligam através de interação hidrofóbica e eletrostática com as enzimas AChE, que pode resultar na alteração da conformação da enzima, causando inibição ou redução da atividade nos tecidos cerebrais e musculares.

Já no tecido cerebral não foi observada diferença estatística para a atividade da AChE nas concentrações testadas para as amostras VD e AM, porém foi observado que a amostra EBV tem o potencial de estimulação da atividade da AChE cerebral que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao controle e outros grupos testados para as duas maiores concentrações (1 e 5 mg·L⁻¹) sendo evidente o efeito de estímulo concentração-dependente, uma vez que o aumento da concentração teste propiciou o aumento da atividade enzimática AChE cerebral.

Uma hipótese que justifica o efeito de estímulo, é de que o aumento da atividade da AChE pode estar associado ao estresse oxidativo, uma vez que o neurotransmissor acetilcolina é envolvido por uma barreira lipídica e quando rompida pode liberar o neurotransmissor em excesso, sendo a indução da AChE uma estratégia compensatória (BARBOSA et al. 2020). No trabalho de Barbosa et al. (2020) avaliaram os danos oxidativos e neurotóxicos de três espécies de peixes selvagens (*Dicentrarchus labrax*, *Trachurus trachurus* e *Scomber colias*). Nos peixes que continham microplásticos os autores observaram um estímulo da atividade da AChE cerebral e maiores níveis de lipoperoxidação do que para os peixes sem MPs. Os pesquisadores concluíram que o aumento da atividade da AChE estava relacionado a LPO. Os danos oxidativos lipídicos resultaram na ruptura das membranas das vesículas pré-sinápticas que comportam os neurotransmissores, ocasionando a liberação da acetilcolina nas fendas sinápticas colinérgicas, conseqüentemente houve indução na produção de AChE.

Figura 42 - Atividade da actilcolinesterase (AChE) nos tecidos muscular e cerebral de *O. niloticus*.

FONTE: O autor.

LEGENDA: O símbolo "*" indica diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao controle e os grupos marcados com a letra maiúscula "A" indica diferença estatística entre os grupos com letra minúscula "a".

ANOVA - one way com pós teste de Bonferroni. N=9 a 15.

4.5.3.2 Atividade da glutiona-S-transferase (GST)

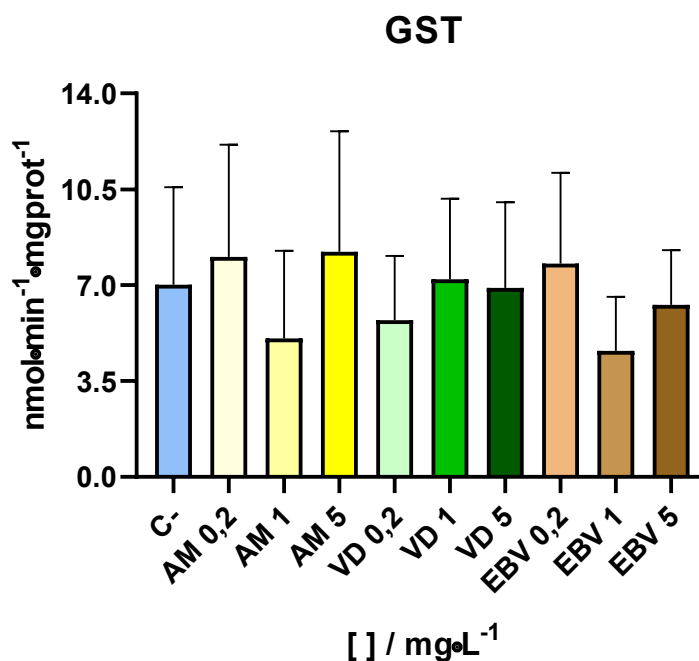
O biomarcador de biotransformação glutiona-S-transferase (GST) hepático (figura 43) não apresentou alteração após a exposição das amostras (EBV, VD e AM) nas concentrações testadas. Sendo uma evidência de que tanto o lixiviado e as partículas geradas a partir da bucha vegetal quanto as das duas faces da esponja multiuso não promoveram efeitos significativos no sistema de detoxificação através da biotransformação relacionado a GST.

No entanto, na literatura há relatos da capacidade de outras composições de microplásticos causarem alteração na atividade da Glutona-S-transferase para diferentes organismos: Microcrustáceos *Artemia salina* (JEYAVANI et al., 2022), *Daphnia magna* (ZHANG et al., 2019); Peixes *Mullus surmuletus* (ALOMAR et al., 2017), *Sparus aurata* (RIOS-FUSTER et al., 2021), *Danio rerio* (RANGASAMY; MALAFAIA; MAHESWARAN, 2022), *Carassius auratus* (ROMANO et al. 2020).

Dong et al. (2022) avaliou a capacidade de probióticos em restaurar os efeitos causados por micropartículas de PS. Peixes da espécie *O. niloticus* foram expostos a MPs de PS com dimensões de $0,5 \mu\text{m}$, na concentração de $1 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, os autores verificaram que as MPs tiveram o potencial de estimular a atividade da GST após 2

semanas de exposição, porém a alimentação com probióticos restaurou as atividades da GST.

Figura 43 - Atividade da glutiona-S-transferase (GST) em *O. niloticus*.



FONTE: O autor.

LEGENDA: ANOVA – one way com pós teste de Bonferroni. N= 8 a 12.

4.5.3.3 Atividade da catalase (CAT)

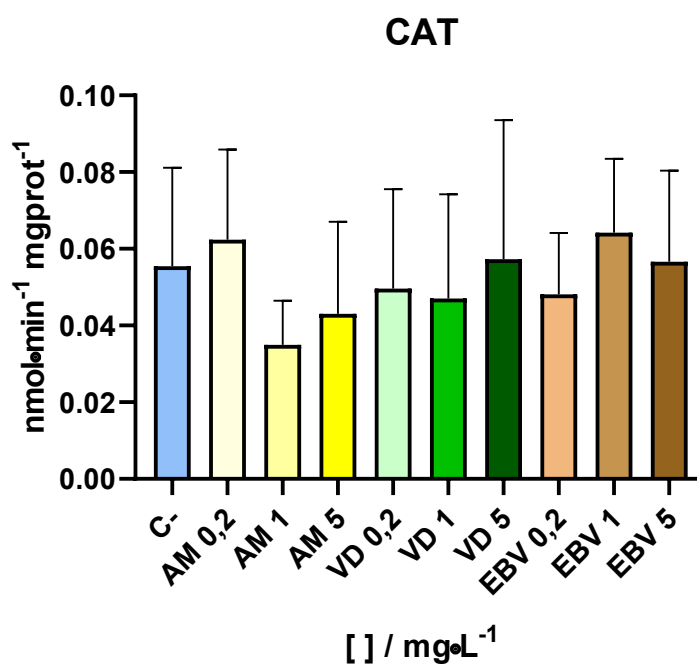
A atividade do biomarcador de estresse oxidativo catalase (CAT) no tecido hepático (figura 44) não foi influenciada após a exposição de todas as amostras nas concentrações testadas.

Embora não se tenha observado alterações na atividade da catalase para micropartículas e microfibras oriundas das duas faces da esponja multiuso e da bucha vegetal, na literatura existem trabalhos relatando alterações na atividade da catalase para organismos expostos a microplásticos: Microcrustáceos *Daphnia magna* (ZHANG et al. 2019), *Artemia salina* (JEYAVANI et al., 2022), *Artemia franciscana* (GAMBARDELLA et al., 2017; PEIXOTO et al. 2021); Peixes *Danio rerio* (LU et al. 2016), *Cyprinodon variegatus* (CHOI et al. 2018); Crustáceos *Eriocheir sinensis* (YU et al., 2018).

Hamed et al. 2020, estudou os efeitos biológicos em alevinos da espécie *O. niloticus* ocasionados por microplásticos com dimensões de 100 nm nas

concentrações de 1, 10 e 100 mg·L⁻¹. Após 15 dias de exposição foi observado um aumento significativo da atividade da CAT, porém após um período de recuperação de 15 dias observou que a atividade da CAT retornou à normalidade. Ismail, Saleh e Sayed (2021) realizaram a exposição de peixes juvenis (*O. niloticus*) a MPs (dimensões próximas a 100 nm) na concentração de 10 mg·L⁻¹ por 15 dias, na qual observaram um aumento significativo na atividade da CAT. Ahmadifar et al. (2020) expuseram alevinos (*O. niloticus*) a MPs de PS com dimensões 0,35 a 9 µm, após 28 dias de exposição observaram um crescimento da atividade enzimática CAT. Dong et al. (2022), observaram que MPs de PS (dimensões de 0,5 µm) na concentração de 1 mg·L⁻¹ tem o potencial de estimular a atividade enzimática CAT em alevinos da espécie *O. niloticus* após duas semanas de exposição, mas esses efeitos foram revertidos devido a administração de probióticos.

Figura 44 - Atividade da catalase (CAT) em *O. niloticus*.



FONTE: O autor.

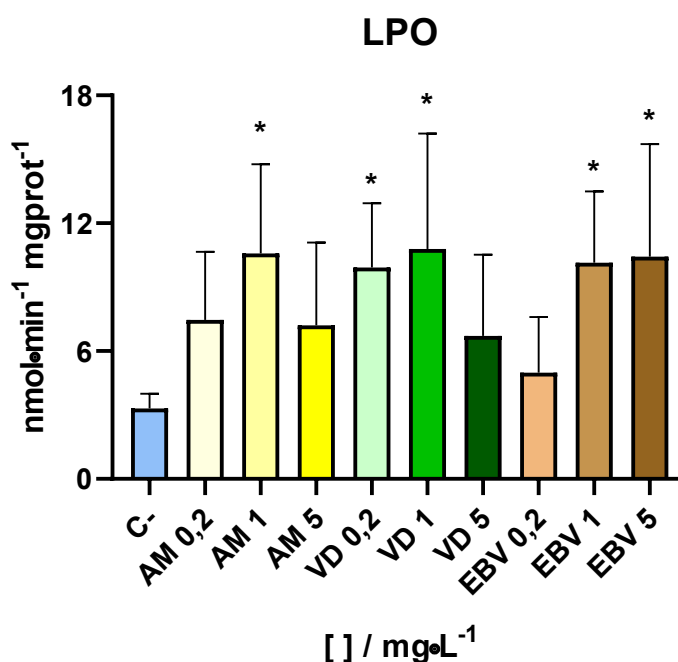
LEGENDA: ANOVA – one way com pós teste de Bonferroni. N=10 a 15.

4.5.3.4 Determinação da peroxidação lipídica (LPO)

O biomarcador de estresse oxidativo de lipoperoxidação, apresentou diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) para todas as amostras com relação ao

controle. Embora não seja evidente, os dados apresentados na figura 45 mostram efeito de concentração-dependente para a primeira e segunda concentrações testadas (0,2 e 1 mg·L⁻¹) para todas as amostras, mas se observa uma redução nos níveis de peroxidação lipídica nas maiores concentrações testadas (5 mg·L⁻¹) das amostras AM e VD. Uma hipótese que justificaria este efeito seria de que em concentrações mais altas as células acionaram mecanismos de defesa antioxidantes de forma precoce reduzindo os efeitos do estresse oxidativo para essas concentrações, provavelmente os mecanismos antioxidantes utilizados pela célula foram realizados por outras rotas que não sejam pela biotransformação catalisada pela GST e que não geram o peróxido de hidrogênio como subproduto, não interferindo na atividade da CAT.

Figura 45 - Peroxidação lipídica (LPO) em *O. niloticus*.



FONTE: O autor.

LEGENDA: O símbolo "*" indica diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao controle, após ANOVA – one way com pós teste de Bonferroni. N= 7 a 12.

Os resultados dos níveis de lipoperoxidação são compatíveis com os encontrados na literatura para exposições utilizando MPs. Microcrustáceos *Daphnia magna* (LU et al., 2016; NA et al., 2021), Molusco *Corbicula fluminea* (OLIVEIRA et al., 2018), Peixe *Pomatoschistus micros* (FERREIRA et al., 2016; MIRANDA; VIEIRA;

GUILHERMINO, 2019), *Dicentrarchus labrax*, *Trachurus trachurus* e *Scomber colias* (BARBOZA et al., 2020).

A capacidade de MPs em promover danos na membrana celular, pode ser explicada pelo fato das micropartículas e seus lixiviados induzirem a geração de espécies reativas de oxigênio acima do normal, portanto altos níveis de LPO e índices de danos no DNA são indicativos de que há um desequilíbrio no estado redox e que os mecanismos antioxidantes e de metabolização não são suficientes, podendo resultar em efeitos deletérios para os organismos (LEE et al., 2017; MANKE; WANG; ROJANASAKUL, 2013). Hamed et al. (2020), constataram que alevinos (*O. niloticus*) expostos por 15 dias nas concentrações de 1, 10 e 100 mg·L⁻¹ de MPs com diâmetro próximo a 100 µm foram capazes de induzir um aumento nos níveis de LPO. Os autores observaram uma relação entre os danos no material genético com os níveis de LPO e também foram constatados crescimento no índice de estresse oxidativo e nas atividades da SOD, CAT e peróxidos totais.

Entretanto, as substâncias aditivas lixiviadas dos microplásticos também podem ser o motivo do aumento dos índices de LPO. Ribeiro et al. (2022) estudaram os efeitos de retardantes de chamas aplicados em polímeros (2,4,6-tribromofenol e decabromodifenil) em alevinos (*O. niloticus*) e foi constatado que ambos os compostos promoveram danos nas membranas lipídicas após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição.

Por outro lado, a amostra EBV seguiu uma tendência lógica para as concentrações testadas, embora as duas maiores concentrações tenham tido diferença significativa com relação ao controle e apresentem uma diferença imperceptível estatisticamente, observa-se uma tendência de aumento nos níveis de LPO de acordo com a concentração.

Os resultados da lipoperoxidação para a amostra EBV, são mais uma evidência que sustenta a hipótese que explica o estímulo da AChE. Pois o estímulo da AChE pode ser provocado pelo estresse oxidativo, evidenciado pelos níveis de LPO que correspondem ao observado no biomarcador ensaio cometa (BARBOSA et al. 2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através das caracterizações realizadas foi possível concluir que a face amarela da esponja multiuso doméstica é constituída por poliuretano flexível, a face verde é constituída por poliamida, revestida com partículas abrasivas (óxidos minerais e silicatos) e a bucha vegetal é constituída por celulose, hemicelulose e lignina. Não foi possível determinar a composição dos lixiviados, entretanto na composição de espumas de PU flexível são empregadas resinas, plastificantes, corantes e bactericidas (possivelmente nanopartículas de prata).

Foi possível observar toxicidade aguda para *A. salina* e *D. magna*, para as micropartículas geradas a partir das duas faces da esponja de uso doméstico (AM e VD) e do lixiviado liberado (LA e LV). A *A. salina* se mostrou mais resistente às amostras com $CE_{50(48h)}$ (AM) = $5270 \pm 1220 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e (VD) = $13010 \pm 1960 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e FT_{48h} (LA) = 16 e (LV) = 128, a *D. magna* foi mais sensível com $CE_{50(48h)}$ (AM) = $89,06 \pm 13,38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e (VD) = $54,54 \pm 4,71 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e FT_{48h} (LA) = 16 e (LV) = 512. A amostra EBV não apresentou toxicidade até a concentração de $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

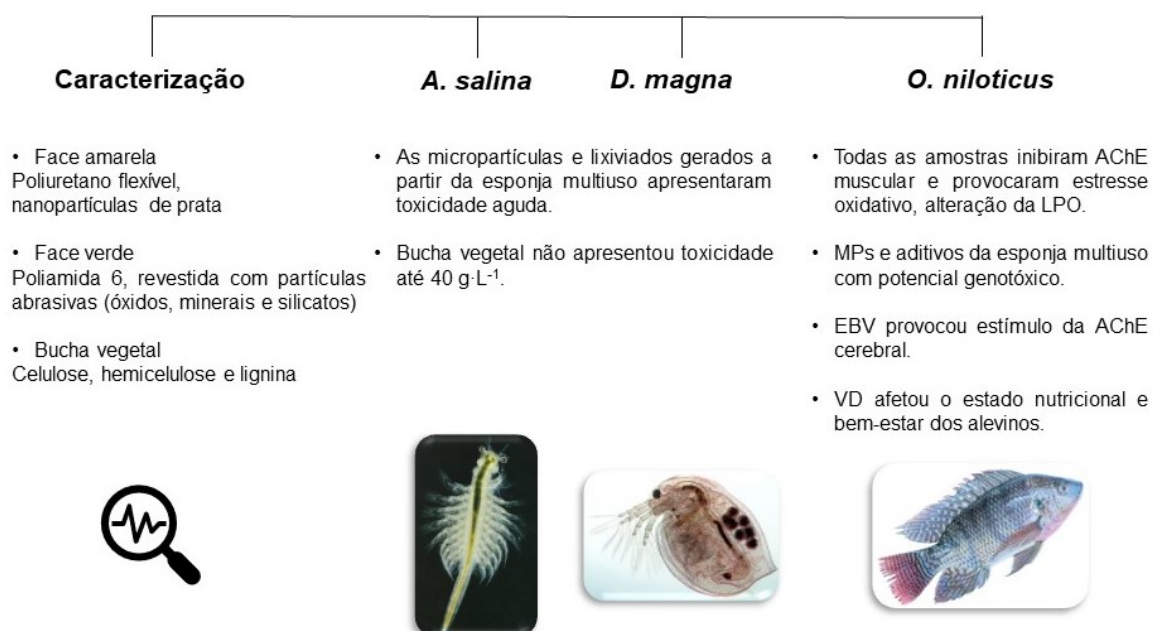
Após a exposição subcrônica com alevinos de *O. niloticus*, foi possível observar evidências de estresse oxidativo para todas as amostras testadas (EBV, AM e VD), pois na análise da lipoperoxidação a integridade da membrana foi afetada na concentração intermediária ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) para as amostras AM e VD e nas duas maiores concentrações (1 e $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) da amostra EBV. Também foi analisado biomarcador de neurotoxicidade em que todas as amostras apresentaram o efeito de inibição da atividade da AChE muscular e a amostra EBV apresentou efeito de estímulo da atividade AChE cerebral. Por meio do biomarcador de genotoxicidade, constatou-se que as amostras AM e VD tem potencial genotóxico e a amostra BV não apresentou efeito genotóxico estatisticamente significativo, mas foi possível verificar maiores scores do que no grupo controle. Com relação ao biomarcador somático, fator de condição de Fulton, a amostra VD foi a única que afetou o estado nutricional e bem-estar dos alevinos em todas as concentrações, indicativo de que as microfibras e particulados finos da fibra abrasiva têm o potencial de afetar as reservas energéticas dos organismos.

Diante dos resultados obtidos pode-se indicar que ambas as alternativas (bucha vegetal e esponja multiuso doméstica) são nocivas ao meio ambiente, pois apresentaram efeitos tóxicos em concentrações subletais para alevinos. Dentre todas

as amostras, as fibras abrasivas apresentaram um maior potencial tóxico, seguido da face constituída de poliuretano, porque as micropartículas e lixiviados apresentaram toxicidade aguda para microcrustáceos e a amostra constituída por microfibras e micropartículas foi capaz de afetar o estado nutricional de alevinos. Além disso, as duas faces da esponja são utilizadas em conjunto e mesmo antes de descartadas iniciamos o processo de degradação, no qual supostamente liberam substâncias aditivas com potencial tóxico. Em relação as micropartículas originadas a partir da bucha vegetal, verificou-se que não apresentam toxicidade aguda para microcrustáceos, sendo, portanto, uma alternativa viável, pois é biodegradável e facilmente cultivada no ambiente doméstico. A figura 46 apresenta um esquema visual simplificado das conclusões obtidas nesse trabalho.

Este estudo contribui para elucidação dos efeitos tóxicos causados por esponjas multiuso utilizadas rotineiramente para limpeza geral, distinguindo o potencial de toxicidade de cada face relacionado a um parâmetro agudo ou subletal. Este trabalho também traz evidências de que a bucha vegetal é uma alternativa viável, porém não inerte.

Figura 46 - Esquema visual simplificado das conclusões.



FONTE: O autor.

LEGENDA: AChE – acetilcolinesterase; LPO – lipoperoxidação; MPs – micropelásticos; EBV – Mistura estoque constituída por micropartículas oriundas da bucha vegetal; VD – Mistura estoque constituída por microfibras e micropartículas oriundas da fibra sintética abrasiva da esponja multiuso.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Caracterização dos lixiviados provenientes da esponja multiuso doméstico por métodos mais sensíveis (cromatografia);
- Avaliar biomarcadores para os lixiviados da esponja multiuso doméstico;
- Avaliar biomarcadores e ecotoxicidade aguda e crônica para micropartículas e lixiviados provenientes de esponja multiuso envelhecida;
- Realizar o ensaio crônico multigeracional para *D. magna*;
- Avaliar os biomarcadores bioquímicos para *D. magna*;
- Avaliar o potencial tóxico de todas as amostras para microalga (*D. subspicatus*);
- Avaliar o potencial tóxico em plantas (alterações de crescimento, efeitos genotóxicos e mutagênicos).

REFERÊNCIAS

- ABIPLAST. **Perfil 2019 Abiplast.** Disponível em: <http://www.abiplast.org.br/wp-content/uploads/2020/09/Perfil_2019_web_abiplast.pdf>. Acesso em: 16 set. 2022.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 7181:** Solo - Análise Granulométrica. NBR 7181. São Paulo, 2016.a
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12.713:** Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Cladocera, Crustacea): NBR 12.713. Rio de Janeiro, 2022.a
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12648.** Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica- Método de ensaio com algas (Clorophyceae). Rio de Janeiro, 2018.
- ABNT - Associação Brasileira De Normas Técnicas. **NBR 16530.** Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Artemia spp* (Crustacea, Brachiopoda). Rio de Janeiro, 2016.b
- ABNT - Associação Brasileira De Normas Técnicas. **NBR 16530.** Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Artemia spp* (Crustacea, Brachiopoda). Rio de Janeiro, 2022.b
- ADEME, Angers. **Panorama du marché du polyuréthane et état de l'art de ses techniques de recyclage.** Rapport Final. Direction Consommation Durable et Déchets. Contrato n° 1202C0079. Febrero 2014. Disponível em: <<https://docplayer.fr/8638051-Panorama-du-marche-du-polyurethane-et-etat-de-l-art-de-ses-techniques-de-recyclage.html>>. Acesso em: 21 abr. 2023.
- ADEWUYI, A.; PEREIRA, F. V. Underutilized *Luffa cylindrica* sponge: A local bio-adsorbent for the removal of Pb(II) pollutant from water system. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, n. 2, p. 118–126, 2017a.
- ADEWUYI, A.; PEREIRA, F. V. Isolation and surface modification of cellulose from underutilized *Luffa cylindrica* sponge: A potential feed stock for local polymer industry in Africa. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 24, p. 39–45, 2017b.
- AEBI, H. Catalase in Vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, n. C, p. 121–126, 1984.
- AHMAD, S.; ZAMAN, K.; MACGILL, R.S.; BATCABE, J.P.; PARDINI, R.S. Dichlone-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 442–448, 1995.
- AHMADIFAR, E.; KALHOR, N.; DAWOOD, M. A.O.; AHMADIFAR, M.; MOGHADAM, M. S.; ABARGHOUEI, S.; HEDAYATI, A.. Effects of polystyrene microparticles on inflammation, antioxidant enzyme activities, and related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Environmental Science And Pollution Research**, v. 28, n.

12, p. 14909-14916, 21 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

AHMED, M. K., HABIBULLAH-AL-MAMUN, M., HOSSAIN, M. A., ARIF, M., PARVIN, E., AKTER, M. S., ISLAM, M. M. Assessing the genotoxic potentials of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) using alkaline comet assay and micronucleus test. **Chemosphere**, 84(1), 143–149. (2011). doi:10.1016/j.chemosphere.2011.02

AL-GHANIM, K. A. Acute toxicity and effects of sub-lethal malathion exposure on biochemical and haematological parameters of *Oreochromis niloticus*. **Scientific Research and Essays**, v. 7, n. 16, p. 1674–1680, 2012.

ALBANO, M.; PANARELLO, G.; PAOLA, D. D.; CAPPARUCCI, F.; CRUPI, R.; GUGLIANDOLO, E.; SPANÒ, N.; CAPILLO, G.; SAVOCA, S.. The Influence of Polystyrene Microspheres Abundance on Development and Feeding Behavior of *Artemia salina* (Linnaeus, 1758). **Applied Sciences**, v. 11, n. 8, p. 3352, 8 abr. 2021. MDPI AG.

ALI, M.; EMSLEY, A.; HERMAN, H.; HEYWOOD, R.. Spectroscopic studies of the ageing of cellulosic paper. **Polymer**, v. 42, n. 7, p. 2893–2900, 2001.

ALLAN, D.; DALY, J.; LIGGAT, J. J. Thermal volatilisation analysis of TDI-based flexible polyurethane foam. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 2, p. 535–541, 2013.

ALLEN, S., ALLEN, D., PHOENIX, V.R.; ROUX, G. L.; JIMÉNEZ, P. D.; SIMONNEAU, A.; BINET, S.; GALOP, D.. Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. **Nature Geoscience**. 12, 339–344 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>.

ALMEIDA, J.A; DINIZ, Y.S; MARQUES, S.F.G; FAINE, L.A; RIBAS, B.O; BURNEIKO, R.C; NOVELLI, E.L.B.. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. **Environment International**, v. 27, n. 8, p. 673–679, 2002.

ALNAJAR, N.; JHA, A. N.; TURNER, A.. Impacts of microplastic fibres on the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*. **Chemosphere**, v. 262, p. 128290, jan. 2021. Elsevier BV.

ALOMAR, C.; SUREDA, A.; CAPÓ, X.; GUIJARRO, B.; TEJADA, S.; DEUDERO, S.. Microplastic ingestion by *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758 fish and its potential for causing oxidative stress. **Environmental Research**, v. 159, p. 135-142, nov. 2017. Elsevier BV.

ALVES, A. C. B.; SILVANO, J. Avaliação da sensibilidade de *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladóceras, Crustácea) ao dicromato de potássio. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 59–61, 2006.

AMATO-LOURENÇO, L. F.; COSTA, N. S. X.; DANTAS, K. C.; GALVÃO, L. S.; MORALLES, F. N.; LOMBARDI, S. C. F. S.; MENDRONI JÚNIOR, A.; LINDOSO, J. A. L.; ANDO, R. A.; LIMA, F. G.. Airborne microplastics and SARS-CoV-2 in total

suspended particles in the area surrounding the largest medical centre in Latin America. **Environmental Pollution**, v. 292, n. October 2021, 2022.

ANDERSON, P. J.; WARRACK, S.; LANGEN, V.; CHALLIS, J. K.; HANSON, M. L.; RENNIE, M. D.. Microplastic contamination in Lake Winnipeg, Canada. **Environmental Pollution**, v. 225, p. 223–231, 2017.

ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596–1605, 2011.

ANDRADY, A. L.; NEAL, M. A. Applications and societal benefits of plastics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 1977–1984, 2009.

ANNUNCIADO, T. R. **Estudo da *Chorisia Speciosa* e Outras Fibras Vegetais Como Sorventes para o Setor De Petróleo**. Universidade Federal do Paraná, 2005.

ANTUNES, A.; ANTUNES, A.; MELLO, F. T.; ARPINI, C. A. A.; PIASSON, J.; MOREIRA, A. M.; DALLAGO, R. M.; VENQUIARUTO, L. D.. Avaliação da potencialidade de adsorção da bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) para remoção de corante de meios aquosos. **Tecno-Lógica**, v. 20, n. 2, p. 72, 2016.

ARREOLA-ALARCÓN, I. M.; REYES-BONILLA, H.; SAKTHI, J.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, F.; JONATHAN, M.P.. Seasonal tendencies of microplastics around coral reefs in selected Marine Protected National Parks of Gulf of California, Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, v. 175, n. December 2021, 2022.

AVIO, C. G.; GORBI, S.; MILAN, M.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; D'ERRICO, G.; PAULETTO, M.; BARGELLONI, L.; REGOLI, F.. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. **Environmental Pollution**, v. 198, p. 211-222, mar. 2015. Elsevier BV.

AZEEZ, M. A.; BELLO, O. S.; ADEDEJI, A. O. Traditional and medicinal uses of *Luffa cylindrica* : a Review. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 1, n. 5, p. 102–111, 2013.

AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. D. M. **As bases toxicológica da ecotoxicologia**. 1. ed. São Carlos, SP: RiMa, 2004.

BAL, K. E.; BAL, Y.; LALLAM, A.. Gross Morphology and Absorption Capacity of Cell-Fibers from the Fibrous Vascular System of Loofah (*Luffa cylindrica*). **Textile Research Journal**, v. 74, n. 3, p. 241-247, mar. 2004. SAGE Publications.

BALSEMÃO, M. M. **Guia Técnico De Espumas Flexíveis**. Univar Polyurethane, 2017. Disponível em: <www.univar.com/brazil>

BAO, M.; HUANG, Q.; LU, Z.; COLLARD, F.; CAI, M.; HUANG, P.; YU, Y.; CHENG, S.; AN, L.; WOLD, A.. Investigation of microplastic pollution in Arctic fjord water: a case study of Rijpfjorden, Northern Svalbard. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 37, p. 56525–56534, 2022.

BARBIERI, E.; FERREIRA, L. A. A. Effects of the organophosphate pesticide Folidol 600® on the freshwater fish, Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 3, p. 209–214, 2011.

BARBOZA, L. G. A.; VETHAAK, A. D.; LAVORANTE, B. R.B.O.; LUNDEBYE, A. K.; GUILHERMINO, L.. Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. **Marine Pollution Bulletin**, v. 133, n. June, p. 336–348, 2018.

BARBOZA, L. G. A.; LOPES, C.; OLIVEIRA, P.; BESSA, F.; OTERO, V.; HENRIQUES, B.; RAIMUNDO, J.; CAETANO, M.; VALE, C.; GUILHERMINO, L.. Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. **Science Of The Total Environment**, v. 717, p. 134625, maio 2020. Elsevier BV.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.

BARRERA, G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. **ISRN Oncology**, v. 2012, p. 1–21, 2012.

BARRETT, J.; CHASE, Z.; ZHANG, J.; HOLL, M. M. B.; WILLIS, K.; WILLIAMS, A.; WILCOX, C.. Microplastic Pollution in Deep-Sea Sediments From the Great Australian Bight. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, n. October, p. 1–10, 2020.

BATEL, A.; LINTI, F.; SCHERER, M.; ERDINGER, L.; BRAUNBECK, T.. Transfer of benzo a pyrene from microplastics to *Artemia nauplii* and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 7, p. 1656–1666, 11 jul. 2016.

BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A. G.; DEBONA, TIAGO; FRANA, V. A.. **Peixes do baixo rio Iguaçu**. Maringá: Eduem, 2012. 245 p.

BECERRA, A. F. C. **Caracterização De PEAD Antes E Após Envelhecimento Em Diferentes Meios E Condições**. Pontifícia Universidade Católica Do Rio De Janeiro, 2015.

BEEDANAGARI, S.; VULIMIRI, S.; BHATIA, S. V; MAHADEVAN B. Genotoxicity biomarkers: Molecular basis of genetic variability and susceptibility. In: **Biomarkers in toxicology**. Academic Press, 2014. p. 729-742.

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

BELPAEME, K.; COOREMAN, K.; KIRSCH-VOLDERS, M. Development and

validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. **Mutation Research**, 415 (3): 167-84, 1998.

BERBER, Ahmet Ali. GENOTOXIC EVALUATION OF POLYSTYRENE MICROPLASTIC. **Sakarya University Journal Of Science**, p. 1-1, 1 jun. 2019. Sakarya University Journal of Science.

BERGAMI, E.; PUGNALINI, S.; VANNUCCINI, M.L.; MANFRA, L.; FALERI, C.; SAVORELLI, F.; DAWSON, K.A.; CORSI, I.. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana*. **Aquatic Toxicology**, v. 189, p. 159-169, ago. 2017.

BERNO, L. I.; POETA, P. T.; MARÓSTICA, M. R. J. Efeitos do selenio oriundo da torta de castanha-do-brasil sobre a concentraçao de glutationa reduzida (GSH) em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 21, p. 231, 2010.

BERTOLDI, C.; LARA, L. Z.; MIZUSHIMA, F. A. L.; MARTINS, F. C.G.; BATTISTI, M. A.; HINRICHS, R.; FERNANDES, A. N.. First evidence of microplastic contamination in the freshwater of Lake Guaíba, Porto Alegre, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 759, p. 143503, 10 mar. 2021.

BEYER, J.; SANDVIK, M.; HYLLAND, K.; FJELD, E.; EGAAS, E.; AAS, E.; SKÅRE, J. U.; GOKSØYR, A.. Contaminant accumulation and biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) exposed by caging to polluted sediments in Sør fjorden, Norway. **Aquatic Toxicology**, v. 36, n. 1–2, p. 75–98, nov. 1996.

BISOGNIN, D. A. Origin and evolution of cultivated cucurbits. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 715–723, 2002.

BITENCOURT, F. O.; FRIGHETTO, R. T. S.; QUEIROZ, J. F.; LOSEKANN, M. E.; LUIZ, A. J. B.; ALMEIDA, E. A.; PALHARES, J. C. P.. **Enzimas de biotransformação em tilápia (*Oreochromis niloticus*) exposta ao hormônio natural 17β-estradiol**. Jaguariúna, SPEmbrapa, 2011.

BOELSTERLI, U. A. **Mechanistic Toxicology**. CRC Press, 2002.

BOLGER, T.; CONNOLLY, P. L. The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. **Journal of Fish Biology**, v. 34, n. 2, p. 171–182, 1989.

BOLSONI, E. **Estudo do reaproveitamento e reutilização das espumas rígidas de poliuretano pós-consumo**. Universidade Federal do Paraná, 2008.

BORDIN, E. R. **Avaliação Ecotoxicológica De Concentrações Ambientais De Atrazina E Glifosato, Isolados E Em Mistura, Em Diferentes Organismos-Teste**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná., 2021.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F.. Desempenho e Características de Carcaça de Machos Revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagens Tailandesa e Comum, nas Fases Inicial e de

Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391–1396, 2001.

BOUCHER, J.; FRIOT, D.. **Primary microplastics in the oceans**: a global evaluation of sources. Switzerland: lucn, 2017. 43 p.

BOUCHET, P. **WoRMS World Register of Marine Species**. Disponível em: <<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=480245>>. Acesso em: 3 out. 2022.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Crop Journal**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.

BROWNE, M. A.; CRUMP, P.; NIVEN, S. J.; TEUTEN, E.; TONKIN, A.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R.. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: Sources and sinks. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 21, p. 9175–9179, 2011.

BROWNE, M. A.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R. Learned Discourses 3(4). **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. preprint, n. 2008, p. 1, 2007.

BRUM, A.; PEREIRA, S. A.; CARDOSO, L.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; MOURIÑO, J. L. P.; MARTINS, M. L. Blood biochemical parameters and melanomacrophage centers in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 74, n. January, p. 444–449, 2018.

BRÜNNICH et al. **Integrated Taxonomic Information System - Report**. Disponível em: <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=83884#null>. Acesso em: 21 nov. 2022.

BUCHELI, T. D.; FENT, K. Induction of Cytochrome P450 as a Biomarker for Environmental Contamination in Aquatic Ecosystems. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 201–268, 1995.

BUCHIR, J. L.; FOLLE, N. M. T.; SOUZA, T. L.; BRITO, P. M.; OLIVEIRA, E. C.; ROQUE, A. A.; RAMSDORF, W. A.; FÁVARO, L. F.; GARCIA, J. R. E.; ESQUIVEL, L.. Effects of trophic 2,2', 4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) exposure in *Oreochromis niloticus*: A multiple biomarkers analysis. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 87, n. January, 2021.

BURNS, C. W.. THE RELATIONSHIP BETWEEN BODY SIZE OF FILTER-FEEDING CLADOCERA AND THE MAXIMUM SIZE OF PARTICLE INGESTED. **Limnology And Oceanography**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 675-678, out. 1968. Wiley.

CAKIR, S. CAKIR, S.; JASINSKA-WALC, L.; VILLANI, M.; HANSEN, M. R.; KONING, C. E.. Morphology and local chain structure of polyamide 6 modified in the solid state with a semi-aromatic nylon salt. **Materials Today Communications**, v. 2, n. July 2018, p. e62–e69, 2015.

CALLISTER, J.; WILLIAN, D. **Materials Science and Engineering an Introduction**. 4th ed. New York. 1996.

CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos Polímeros – Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2002.

CANEVAROLO JR, S. V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2007.

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M. DOS; NETO, S. C. Poliuretano: de travesseiros a preservativos, um polímero versátil. **Química Nova na Escola**, v. 31, n. 3, p. 159–164, 2009.

CARVALHO, J. D. V. **Dossiê técnico**. 2007.

CHEN, Q.; SHI, Q.; GORB, S. N.; LI, Z.. A multiscale study on the structural and mechanical properties of the luffa sponge from *Luffa cylindrica* plant. **Journal of Biomechanics**, v. 47, n. 6, p. 1332–1339, 2014.

CHEN, Q.; LI, Y.; LI, B. Is color a matter of concern during microplastic exposure to *Scenedesmus obliquus* and *Daphnia magna*? **Journal of Hazardous Materials**, v. 383, p. 121224, 5 fev. 2020.

CHENG, M. L. H.; LIPPMANN, T. C.; DIJKSTRA, J. A.; BRADT, G.; COOK, S.; CHOI, J. G.; BROWN, B. L.. A baseline for microplastic particle occurrence and distribution in Great Bay Estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 170, n. June, p. 112653, 2021.

CHEN, Q.; GUNDLACH, M.; YANG, S.; JIANG, J.; VELKI, M.; YIN, D.; HOLLERT, H.. Quantitative investigation of the mechanisms of microplastics and nanoplastics toward zebrafish larvae locomotor activity. **Science Of The Total Environment**, v. 584-585, p. 1022-1031, abr. 2017. Elsevier BV.

CHOI, J. S.; JUNG, Y. J.; HONG, N. H.; HONG, S. H.; PARK, J. W.. Toxicological effects of irregularly shaped and spherical microplastics in a marine teleost, the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, n. 1, p. 231-240, abr. 2018. Elsevier BV.

CISNEROS, R. Producción semi-intensiva de biomasa de *Artemia franciscana* utilizando diferentes dietas. **Bach**, p. 1–67, 2002.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T. S.. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588–2597, 2011.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T. S.. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 1130–1137, 20 jan. 2015.

COLLINS A., DUSINSKÁ M., FRANKLIN M., SOMOROVSKÁ M., PETROVSKÁ H., DUTHIE S., FILLION L., PANAYIOTIDIS M., RASLOVÁ K., VAUGHAN N. Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications, **Environmental and Molecular Mutagenesis**. Vol. 30 (2), P139–146, 1997.

COLOVIC, M. B.; KRSTIC, D. Z.; LAZAREVIC-PASTI, T. D.; BONDZIC, A. M.; VASIC, V. M.. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315–335, 2013.

COMPA, M.; VENTERO, A.; IGLESIAS, M.; DEUDERO, S.. Ingestion of microplastics and natural fibres in *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) and *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) along the Spanish Mediterranean coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 128, n. October 2017, p. 89–96, 2018.

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Seção I, Resolução Normativa nº 34, de 27 de julho de 2017. Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica para fins de estudo biológico ou biomédico I - Lambari (*Astyanax*), Tilápia (*Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*) e Zebrafish (*Danio rerio*)" do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. 2017.

CONTI, G. O.; FERRANTE, M.; BANNI, M.; FAVARA, C.; NICOLOSI, I.; CRISTALDI, A.; FIORE, M.; ZUCCARELLO, P.. Micro- and nano-plastics in edible fruit and vegetables. The first diet risks assessment for the general population. **Environmental Research**, v. 187, n. April, p. 109677, 2020.

COSTA, D. C. W. **ESTUDO DA LUFFA CYLINDRICA EM ASSENTO E ENCOSTO**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2018.

COUTO, S RODRÍGUEZ; SANROMÁN, M.A; HOFER, D; GÜBITZ, G.M. Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 1, p. 67-72, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2003.05.002>.

CUTLER, R. G. Oxidative Stress and Aging: Catalase Is a Longevity Determinant Enzyme. **Rejuvenation Research**, v. 8, n. 3, p. 138–140, set. 2005.

D'ALMEIDA, A. L. F. S.; CALADO, V.; BARRETO, D. W.; D'ALMEIDA, J. R. M.. Acetilação da fibra de bucha (*Luffa cylindrica*). **Polímeros**, v. 15, n. 1, p. 59–62, 2005.

DA SILVA SPINACÉ, M. A.; DE PAOLI, M. A. A tecnologia da reciclagem de polímeros. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 65–72, 2005.

DAS, A.; MAHANWAR, P. A brief discussion on advances in polyurethane applications. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 3, p. 93–101, 2020.

DE ANDRADE BRITO, I.; FREIRE, C. A.; YAMAMOTO, F. Y.; ASSIS, H. C. S.; SOUZA-BASTOS, L. R.; CESTARI, M. M.; GHISI, N. C.; PRODOCIMO, V.; FILIPAK NETO, F.; RIBEIRO, C. A. O.. Monitoring water quality in reservoirs for human supply

through multi-biomarker evaluation in tropical fish. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, n. 2, p. 615–625, 2012.

DEAN, B. Y.; CORCORAN, P. L.; HELM, P. A. Factors influencing microplastic abundances in nearshore, tributary and beach sediments along the Ontario shoreline of Lake Erie. **Journal of Great Lakes Research**, v. 44, n. 5, p. 1002–1009, 2018.

DEMHARTER, A. Polyurethane rigid foam, a proven thermal insulating material for applications between +130°C and -196°C. **Cryogenics**, v. 38, n. 1, p. 113–117, 1998.

DERRAIK, J. G. B. The pollution of the marine environment by plastic debris: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 9, p. 842–852, 2002.

DEY, T. K.; UDDIN, M. E.; JAMAL, M. Detection and removal of microplastics in wastewater: evolution and impact. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 14, p. 16925–16947, 2021.

DIALLO, I. et al. *Oreochromis niloticus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, p. 11, 2020.

DIAS, F. G. A.; VEIGA, A. G.; GOMES, A. P. A. C. P.; COSTA, M. F. DA; ROCCO, M. L. M.. Using XPS and FTIR spectroscopies to investigate polyamide 11 degradation on aging flexible risers. **Polymer Degradation And Stability**, v. 195, p. 109787, jan. 2022. Elsevier BV.

DINANI, F. S. H.; BARADARAN, A.; EBRAHIMPOUR, K. Acute toxic effects of polyurethane microplastics on adult Zebra fish (*Danio rerio*). **Int J Env Health Eng**, v. 10, n. 9, 2021.

DING, J.; ZHANG, S.; RAZANAJATOVO, R. M.; ZOU, H.; ZHU, W.. Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Environmental Pollution**, v. 238, p. 1–9, jul. 2018.

DING, J.; HUANG, Y.; LIU, S.; ZHANG, S.; ZOU, H.; WANG, Z.; ZHU, W.; GENG, J.. Toxicological effects of nano- and micro-polystyrene plastics on red tilapia: Are larger plastic particles more harmless? **Journal of Hazardous Materials**, v. 396, n. February, p. 122693, 2020.

DIONÍSIO, A. P.; GOES, T. S.; ABREU, F. A. P.; VIANA, A. C. S.; GALVÃO, A. M. M. T.; BASTOS, M. S. R.; BORGES, M. F.; PONTES, D. F.. **Extrato Concentrado de Carotenoides Obtido da Fibra do Pedúnculo de Caju**. Disponível em: <www.embrapa.br/agroindustria-tropical>.

DOWARAH, K.; DEVIPRIYA, S. P. Microplastic prevalence in the beaches of Puducherry, India and its correlation with fishing and tourism/recreational activities. **Marine Pollution Bulletin**, v. 148, n. June, p. 123–133, 2019.

DONG, R.; ZHOU, C.; WANG, S.; YAN, Y.; JIANG, Q. Probiotics ameliorate polyethylene microplastics-induced liver injury by inhibition of oxidative stress in Nile

tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Shellfish Immunol.** 2022.

DRIS, R.; GASPERI, J.; ROCHER, V.; SAAD, M.; RENAULT, N.; TASSIN, B.. Microplastic contamination in an urban area: A case study in Greater Paris. **Environmental Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 592–599, 2015.

DRIS, R.; GASPERI, J.; SAAD, M.; MIRANDE, C.; TASSIN, B.. Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, n. 1–2, p. 290–293, 2016.

DUAN, Z.; DUAN, X.; ZHAO, S.; WANG, X.; WANG, J.; LIU, Y.; PENG, Y.; GONG, Z.; WANG, L.. Barrier function of zebrafish embryonic chorions against microplastics and nanoplastics and its impact on embryo development. **Journal of Hazardous Materials**, v. 395, p. 122621, 5 ago. 2020.

DUARTE, J. P.. **Caracterização de microplástico suspenso no ar na unidade de separação de resíduos, LIPOR**. Porto: Universidade do Porto, 2019.

DWORAKOWSKA, S.; BOGDAL, D.; PROCIAK, A.. Microwave-Assisted Synthesis of Polyols from Rapeseed Oil and Properties of Flexible Polyurethane Foams. **Polymers**, 4(4), 1462–1477. 2012.

EBERT, D. A genome for the environment. **Science**, v. 331, n. 6017, p. 539–540, 2011.

EDDLESTON, M.; SZINICZ, L.; EYER, P.; BUCKLEY, N.. Oximes in acute organophosphorus pesticide poisoning: A systematic review of clinical trials. **QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians**, v. 95, n. 5, p. 275–283, 2002.

EKANAYAKA, A. H.; TIBPROMMA, S.; DAI, D.; XU, R.; SUWANNARACH, N.; STEPHENSON, S. L.; DAO, C.; KARUNARATHNA, S. C.. A Review of the Fungi That Degrade Plastic. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 8, p. 1–27, 2022.

ELLMAN, G. L.; ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M.. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961.

ELTEMSAH, Y. S.; BØHN, T. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on juvenile and adult *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 112919, 2019.

ENCINA, L.; GRANADO-LORENCIO, C.. Seasonal changes in condition, nutrition, gonad maturation and energy content in barbel, *Barbus sclateri*, inhabiting a fluctuating river. **Environmental Biology of Fishes**, v. 50, n. 1, p. 75–84, 1997.

ENGLER, R. E. The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 22, p. 12302–12315, 2012.

ESQUINAS-ALCAZAR, J. T.; GULICK, P. J. Genetic resources of *Cucurbitaceae*: A Global Report. **International Board for Plant Genetic Research, Rome, Italy**, p. 101,

1983.

ESPINA, N. G.; WEISS, P. DNA repair in fish from polluted estuaries. **Marine Environmental Research**, v. 39, p. 309-312, 1995.

ESTEVEZ, F., A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: FINEP, 1998.

ESTRELA, F. N.; GUIMARÃES, A. T. B.; SILVA, F. G.; LUZ, T. M.; SILVA, A. M.; PEREIRA, P. S.; MALAFAIA, G.. Effects of polystyrene nanoplastics on *Ctenopharyngodon idella* (grass carp) after individual and combined exposure with zinc oxide nanoparticles. **Journal Of Hazardous Materials**, [S.L.], v. 403, p. 123879, fev. 2021.

EUROPEAN ASSOCIATION OF PLASTICS RECYCLING & RECOVERY. **Plastics - the Facts 2021, Plastics Europe**. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/>>. Acesso em: 28 set. 2022.

FELISMINO, M. E. L.; HELM, P. A.; ROCHMAN, C. M. Microplastic and other anthropogenic microparticles in water and sediments of Lake Simcoe. **Journal of Great Lakes Research**, v. 47, n. 1, p. 180–189, 2021.

FERNANDO, F.; MAGNABOSCO, A. L.; IWANICKI, L.; ZAMBONI, A.. **O mercado de delivery de refeições e a poluição plástica**. Brasília: Oceana, 2022.

FERRARO, M. V. M. **Avaliação do efeito mutagênico do tributilestanho (TBT) e do chumbo inorgânico (PbII) em *Hoplias malabaricus* (Pisces) através dos ensaios: Cometa, Micronúcleo e de Aberrações Cromossômicas**. Universidade Federal do Paraná, 2003.

FERRARO, M. V. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103–107, 2004.

FERREIRA, P.; FONTE, E.; SOARES, M. E.; CARVALHO, F.; GUILHERMINO, L.. Effects of multi-stressors on juveniles of the marine fish *Pomatoschistus microps*: gold nanoparticles, microplastics and temperature. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 89-103, jan. 2016. Elsevier BV.

FONTE, E.; FERREIRA, P.; GUILHERMINO, L.. Temperature rise and microplastics interact with the toxicity of the antibiotic cefalexin to juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): post-exposure predatory behaviour, acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. **Aquatic Toxicology**, v. 180, p. 173-185, nov. 2016. Elsevier BV.

FRANÇA. **Lei n. 1087, de 8 de agosto de 2016**. Relativa à reabilitação da biodiversidade, da natureza e da paisagem (artigo 124), publicada em 9 de agosto de 2016 no Jornal Oficial n° 0184 da República Francesa. Paris, 2016. Disponível em: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000033016237>. Acesso em: 04

janeiro 2023.

FRYDKJÆR, C. K.; IVERSEN, N.; ROSLEV, P.. Ingestion and Egestion of Microplastics by the Cladoceran *Daphnia magna*: effects of regular and irregular shaped plastic and sorbed phenanthrene. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, v. 99, n. 6, p. 655-661, 13 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC.

FREITAS, G. C.; CARREGARO, A. B. Aplicabilidade da extrapolação alométrica em protocolos terapêuticos para animais selvagens. **Ciencia Rural**, v. 43, n. 2, p. 297–304, 2013.

FULTON, M. H.; KEY, P. B.. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 37-45, jan. 2001. Wiley.

FULTON, T. W. The rate of growth of fishes. **20th Annual Report of the Fishery Board of Scotland 1902**, v. 3, p. 326–446, 1902.

GAMBARDELLA, C.; MORGANA, S.; FERRANDO, S.; BRAMINI, M.; PIAZZA, V.; COSTA, E.; GARAVENTA, F.; FAIMALI, M.. Effects of polystyrene microbeads in marine planktonic crustaceans. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 145, p. 250-257, nov. 2017. Elsevier BV.

GASPERI, J.; GASPERI, J.; WRIGHT, S. L.; DRIS, R.; COLLARD, F.; MANDIN, C.; GUERROUACHE, M.; LANGLOIS, V.; KELLY, F. J.; TASSIN, B.. Microplastics in air: Are we breathing it in? **Current Opinion in Environmental Science and Health**, v. 1, p. 1–5, 2018.

GAUTAM, R.; BASSI, A. S.; YANFUL, E. K. A review of biodegradation of synthetic plastic and foams. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 141, n. 1, p. 85–108, abr. 2007.

GAUTO, M. A.; ROSA, G. R. **Química Industrial**. 1. ed. Grupo A, Bookman, 2013.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, 5 jul. 2017.

GHALI, L.; MSAHLI, S.; ZIDI, M.; SAKLI, F. Effect of pre-treatment of Luffa fibres on the structural properties. **Materials Letters**, 63(1), 61–63, 2009.

GIANNANTONIO, M.; GAMBARDELLA, C.; MIROGLIO, R.; COSTA, E.; SBRANA, F.; SMERIERI, M.; CARRARO, G.; UTZERI, R.; FAIMALI, M.; GARAVENTA, F.. Ecotoxicity of Polyvinylidene Difluoride (PVDF) and Polylactic Acid (PLA) Microplastics in Marine Zooplankton. **Toxics**, v. 10, n. 8, p. 479, 17 ago. 2022. MDPI AG.

GIROTTI, A. W. Introduction to serial reviews on regulatory and cytoprotective aspects of lipid hydroperoxide metabolism¹ This article is part of a series of reviews on “Regulatory and Cytoprotective Aspects of Lipid Hydroperoxide Metabolism.” The full

list of papers m. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 2, p. 153, jul. 2002.

GOKSØYR, A.; HUSØY, A.-M. Immunochemical approaches to studies of CYP1A localization and induction by xenobiotics in fish. In: **Fish Ecotoxicology**. Basel: Birkhäuser Basel, 1998. v. 4p. 165–202.

GOLDSTEIN, B. et al. Biological markers in environmental health research. **Environmental Health Perspectives**, v. 74, n. 1, p. 3–9, 1987.

GOPHEN, M.; GELLER, W.. Filter mesh size and food particle uptake by *Daphnia*. **Oecologia**, v. 64, n. 3, p. 408-412, nov. 1984. Springer Science and Business Media LLC.

GOUIN, T. **Use of micro-plastic beads in cosmetic products in Europe and their estimated emissions to the North Sea environment Safety Assessment of Cosmetics** [View project..](https://www.researchgate.net/publication/291326701) Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/291326701>>.

GRACA, W. J.; PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes**. Editora da ed. Maringá:.

GRÖNER, F.; GRÖNER, F.; HÖHNE, C.; KLEINER, W.; KLOAS, W.. Chronic diclofenac exposure affects gill integrity and pituitary gene expression and displays estrogenic activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Chemosphere**, v. 166, p. 473–481, 2017.

GUIMARÃES, A. T. B.; ESTRELA, F. N.; PEREIRA, P. S.; VIEIRA, J. E. A.; RODRIGUES, A. S. L.; SILVA, F. G.; MALAFAIA, G.. Toxicity of polystyrene nanoplastics in *Ctenopharyngodon idella juveniles*: a genotoxic, mutagenic and cytotoxic perspective. **Science Of The Total Environment**, v. 752, p. 141937, jan. 2021. Elsevier BV.

GUIMARÃES, J. L.; FROLLINI, E.; SILVA, C.G.; WYPYCH, F.; SATYANARAYANA, K.G.. Characterization of banana, sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 3, p. 407–415, 2009.

GUPTA, V. K.; AGARWAL, S.; SINGH, P.; PATHANIA, D.. Acrylic acid grafted cellulosic *Luffa cylindrical* fiber for the removal of dye and metal ions. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1214–1221, 2013.

HAHLADAKIS, J. N.; VELIS, C. A.; WEBER, R.; IACOVIDOU, E.; PURNELL, P.. An overview of chemical additives present in plastics: migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 344, p. 179-199, fev. 2018.

HALDEN, R. U. Epistemology of contaminants of emerging concern and literature meta-analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 282, p. 2–9, 2015.

HAMED, M.; SOLIMAN, H. A. M.; OSMAN, A. G. M.; SAYED, A. E.D. H.. Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early

juvenile : I . blood biomarkers. **Chemosphere**, v. 228, p. 345–350, 2019.

HAMED, M.; SOLIMAN, H. A. M.; OSMAN, A. G. M.; SAYED, A. E.D. H.. Antioxidants and molecular damage in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) after exposure to microplastics. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 27, n. 13, p. 14581-14588, 11 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

HAMED, M.; SOLIMAN, H. A. M.; BADREY, A. E. A.; OSMAN, A. G. M.. Microplastics induced histopathological lesions in some tissues of tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juveniles. **Tissue and Cell**, v. 71, n. January, p. 101512, ago. 2021.

HAMLIN, H. J.; MARCIANO, K.; DOWNS, C. A. Migration of nonylphenol from food-grade plastic is toxic to the coral reef fish species *Pseudochromis fridmani*. **Chemosphere**, v. 139, p. 223–228, 2015.

HEINRICH, S. **ATLAS DO PLÁSTICO Fatos e número sobre o mundo dos polímeros sintéticos**. 1. ed. Berlim.

HERMABESSIERE, L.; DEHAUT, A.; PAUL-PONT, I.; LACROIX, C.; JEZEQUEL, R.; SOUDANT, P.; DUFLOS, G.. Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: a review. **Chemosphere**, v. 182, p. 781-793, set. 2017.

HOLMSTRUP, M.; BINDESBØL, A.M.; OOSTINGH, G. J.; DUSCHL, A.; SCHEIL, V.; KÖHLER, H.R.; LOUREIRO, S.; SOARES, A. M. V. M.; FERREIRA, A. L. G.; KIENLE, C.. Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 18, p. 3746–3762, 2010.

HOWARD, G. T. Biodegradation of polyurethane: A review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 49, n. 4, p. 245–252, 2002.

HUANG, Y.; DING, J.; ZHANG, G.; LIU, S.; ZOU, H.; WANG, Z.; ZHU, W.; GENG, J.. Interactive effects of microplastics and selected pharmaceuticals on red tilapia: Role of microplastic aging. **Science of The Total Environment**, v. 752, p. 142256, jan. 2021.

IMHOF, H. K.; RUSEK, J.; THIEL, M.; WOLINSKA, J.; LAFORSCH, C. Do microplastic particles affect *Daphnia magna* at the morphological, life history and molecular level? **PLOS ONE**, 12(11), e0187590. (2017).

IONESCU, M. **Chemistry and Technology of Polyols for Polyurethanes**. 2. ed. Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, UK: Smithers Rapra Technology Ltd., 2016. v. 2

ISMAIL, R. F.; SALEH, N. E.; SAYED, A. E. H. Impacts of microplastics on reproductive performance of male tilapia (*Oreochromis niloticus*) pre-fed on *Amphora coffeaeformis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 48, p. 68732–68744, 19 dez. 2021.

ISO - International Organization For Standardization. **ISO 13320**: Particle size analysis — Laser diffraction methods. Switzerland, 2020.

JAMIESON, M. J.; COOPER, S. J.; MILLER, A. F.; HOLT, S. A. Neutron Reflectivity and External Reflection FTIR Studies of dl-Aspartic Acid Crystallization beneath Nylon 6 Spread Films. **Langmuir**, 20(9), 3593–3600, 2004.

JAYAKUMAR, R.; NANJUNDAN, S.; PRABAHARAN, M. Metal-containing polyurethanes, poly(urethane-urea)s and poly(urethane-ether)s: A review. **Reactive and Functional Polymers**, v. 66, n. 3, p. 299–314, 2006.

JEMEC, A.; HORVAT, P.; KUNEJ, U.; BELE, M.; KRŽAN, A.. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 201–209, 2016.

JEYAVANI, J.; SIBIYA, A.; BHAVANIRAMYA, S.; MAHBOOB, S.; AL-GHANIM, K. A.; NISA, Z.U.; RIAZ, M. N.; NICOLETTI, M.; GOVINDARAJAN, M.; VASEEHARAN, B.. Toxicity evaluation of polypropylene microplastic on marine microcrustacean *Artemia salina*: an analysis of implications and vulnerability. **Chemosphere**, v. 296, p. 133990, jun. 2022.

JIANG, J.; WU, S.; WU, C.; AN, X.; CAI, L.; ZHAO, X.. Embryonic exposure to carbendazim induces the transcription of genes related to apoptosis, immunotoxicity and endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 41, n. 2, p. 493–500, 2014.

JIAO, L.; XIAO, H.; WANG, Q.; SUN, J.. Thermal degradation characteristics of rigid polyurethane foam and the volatile products analysis with TG-FTIR-MS. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 12, p. 2687–2696, 2013.

JONES, D. P. Redefining Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, n. 9–10, p. 1865–1879, set. 2006.

JORDAN, R. A. et al. Caracterização granulométrica de biomassa polidispersa pelo método de peneiramento mecânico. **Engenharia Agrícola**, v. 36, n. 1, p. 102–113, 2016.

KABIR, A. H. M. E.; SEKINE, M.; IMAI, T.; YAMAMOTO, K.; KANNO, A.; HIGUCHI, T.. Microplastics in the sediments of small-scale Japanese rivers: Abundance and distribution, characterization, sources-to-sink, and ecological risks. **Science of the Total Environment**, v. 812, p. 152590, 2022.

KARIMAH, A.; RIDHO, M. R.; MUNAWAR, S. S.; ISMADI; AMIN, Y.; DAMAYANTI, R.; LUBIS, M. A. R.; WULANDARI, A. P.; NURINDAH; ISWANTO, A. H.. A comprehensive review on natural fibers: Technological and socio-economical aspects. **Polymers**, v. 13, n. 24, 2021.

KARTHIK, R.; ROBIN, R.S.; PURVAJA, R.; GANGULY, D.; ANANDAVELU, I.; RAGHURAMAN, R.; HARIHARAN, G.; RAMAKRISHNA, A.; RAMESH, R.. Microplastics along the beaches of southeast coast of India. **Science of the Total Environment**, v. 645, p. 1388–1399, 2018.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of

the glutathione S transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183–6188, 1976.

KEMONA, A.; PIOTROWSKA, M. Microorganisms potentially useful in the management of polyurethane foam waste. **Infrastructure and ecology of rural areas**, v. 4, n. 2, p. 1297–1308, 2016.

KESARI, K. K.; JHA, N. K. **Free Radical Biology and Environmental Toxicity**. Cham: Springer International Publishing, 2021. v. 1st ed. 20.

KHALIL, S.R.; ABD, ELHAKIM, Y.; EL-MURR, A.E. Sublethal concentrations of di-n-butyl phthalate promote biochemical changes and DNA damage in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jpn J Vet Res*. 2016 Feb;64(1):67-80. PMID: 27348890.

KHERROUB, D. E.; BELBACHIR, M.; LAMOURI, S.; BOUHADJAR, L.; CHIKH, K. K.. Synthesis of polyamide-6/montmorillonite nanocomposites by direct in-situ polymerization catalysed by exchanged clay. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 1429–1436, 2013.

KLAASSEN, C. D. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 7. ed. Kansas: MEDICAL PUBLISHING DIVISION, 2008.

KLOSS, J.; MUNARO, M.; SOUZA, G. P.; GULMINE, J. V.; WANG, S. H.; ZAWADZKI, S.; AKCELRUD, L.. Poly(ester urethane)s with polycaprolactone soft segments: A morphological study. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 40, n. 23, p. 4117–4130, 2002.

KLOSS, J. R. **Síntese e Caracterização de Poliuretanos Biodegradáveis à Base de Poli(e-Caprolactona) Diol**. Universidade Federal do Paraná, 2007.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. FATMA/GTZ ed. Florianópolis (SC).

KOELMANS, A. A.; BESSELING, E.; FOEKEMA, E. M. Leaching of plastic additives to marine organisms. **Environmental Pollution**, v. 187, p. 49–54, 2014.

KOKALJ, A. J.; KUNEJ, U.; SKALAR, T.. Screening study of four environmentally relevant microplastic pollutants: uptake and effects on *Daphnia magna* and artemia franciscana. **Chemosphere**, v. 208, p. 522-529, out. 2018. Elsevier BV.

LACERDA, A. L. D. F.; LACERDA, A. L. D. F.; RODRIGUES, L. S.; VAN SEBILLE, E.; RODRIGUES, F. L.; RIBEIRO, L.; SECCHI, E. R.; PROIETTI, M. C.. Plastics in sea surface waters around the Antarctic Peninsula. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.

LACKNER, R. "Oxidative stress" in fish by environmental pollutants. **Fish Ecotoxicology**, p. 203–224, 1998.

L Aidani, Y.; Henini, G.; Hanini, S.; Fekrouni, A.. Study of the Kinetics and Thermodynamics of Adsorption of Hexavalent Chromium on the *Luffa Cylindrica*

Cords. **Iranian journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 39, n. 4, p. 137–151, 13 fev. 2020.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. **Manual of the production and use of live food for aquaculture**. Rome: Food ed..

LEE, D. N.; GWON, K.; NAM, Y.; LEE, S. J.; TRAN, N. M.; YOO, H.. Polyurethane foam incorporated with nanosized copper-based metal-organic framework: Its antibacterial properties and biocompatibility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 15–19, 2021.

LEI, K.; QIAO, F.; LIU, Q.; WEI, Z.; QI, H.; CUI, S.; YUE, X.; DENG, Y.; AN, L.. Microplastics releasing from personal care and cosmetic products in China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 123, n. 1–2, p. 122–126, 2017.

LI, S.; LI, C.; LI, C.; YAN, M.; WU, Y.; CAO, J.; HE, S.. Fabrication of nano-crystalline cellulose with phosphoric acid and its full application in a modified polyurethane foam. **Polymer Degradation And Stability**, v. 98, n. 9, p. 1940–1944, set. 2013. Elsevier BV.

LIBRALATO, G.; PRATO, E.; MIGLIORE, L.; CICERO, A. M.; MANFRA, L.. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia spp.* **Ecological Indicators**, v. 69, p. 35–49, 1 out. 2016.

LIEBMANN, B.; KÖPPEL, S.; KÖNIGSHOFER, P.; REIBERGER, T.; BUCICS, T.; SCHWABL, P.. Assessment of microplastic concentrations in human stool final results of a prospective study. **Conference on Nano and microplastics in technical and freshwater systems, Microplastics**, n. November, p. 28–31, 2018.

LIMA, C. J. DE. **POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE NÉCTAR DE (*Luffa cylindrica Roemer*) EM CULTIVO CONVENCIONAL NA CIDADE DE SOUSA-PB. UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**, 2014.

LINDE, A. V. D.; HENDRIKS, A. J.; SIJM, D. T. H. M. Estimating biotransformation rate constants of organic chemicals from modeled and measured elimination rates. **Chemosphere**, v. 44, n. 3, p. 423–435, 2001.

LINDINO, C. A.; MARCINIAK, A. A.; GONÇALVES JUNIOR, A. C.; STREY, L.. Adsorption of cadmium in vegetable sponge (*Luffa cylindrica*). **Ambiente e Água**, v. 9, 2014.

LIONG, R. M. Y.; LIONG, R. M. Y.; HADIBARATA, T.; YUNIARTO, A.; TANG, K. H. D.; KHAMIDUN, M. H.. Microplastic Occurrence in the Water and Sediment of Miri River Estuary, Borneo Island. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 232, n. 8, 2021.

LITHNER, D. et al. Leachates from plastic consumer products - Screening for toxicity with *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 74, n. 9, p. 1195–1200, 2009.

LITHNER, D.; LARSSON, A.; DAVE, G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 18, p. 3309–3324, 2011.

LIU, M.; LU, S.; SONG, Y.; LEI, L.; HU, J.; LV, W.; ZHOU, W.; CAO, C.; SHI, H.; YANG, X.. Microplastic and mesoplastic pollution in farmland soils in suburbs of Shanghai, China. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 855–862, 2018.

LIU, S.; GUO, J.; LIU, X.; YANG, R.; WANG, H.; SUN, Y.; CHEN, B.; DONG, R.. Detection of various microplastics in placentas, meconium, infant feces, breastmilk and infant formula: A pilot prospective study. **Science of the Total Environment**, v. 854, n. July 2022, p. 158699, 2023.

LIVINGSTONE, D. R. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: Quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 120, n. 1, p. 43–49, 1998.

LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated Reactive Oxygen Species Production and Oxidative Damage in Aquatic Organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 656–666, ago. 2001.

LOUREIRO-ELMOOR, L. M. A. **Manual de Identificação de Cladóceros Límnicos do Brasil**. Universa ed. Brasília: Universidade Católica de Brasília, 1997.

LOVSHIN, L. L. **Tilapia farming: a growing worldwide aquaculture industry**: In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES. Piracicaba: Anais Piracicaba: CBNA, 1997.

LU, Y.; ZHANG, Y.; DENG, Y.; JIANG, W.; ZHAO, Y.; GENG, J.; DING, L.; REN, H.. Uptake and Accumulation of Polystyrene Microplastics in Zebrafish (*Danio rerio*) and Toxic Effects in Liver. **Environmental Science & Technology**, [S.L.], v. 50, n. 7, p. 4054–4060, 17 mar. 2016. American Chemical Society (ACS).

LUO, H.; XIANG, Y.; HE, D.; LI, Y.; ZHAO, Y.; WANG, S.; PAN, X.. Leaching behavior of fluorescent additives from microplastics and the toxicity of leachate to *Chlorella vulgaris*. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 1–9, 2019.

LUO, Y.; QI, F.; GIBSON, C. T.; LEI, Y.; FANG, C.. Investigating kitchen sponge-derived microplastics and nanoplastics with Raman imaging and multivariate analysis. **Science of the Total Environment**, v. 824, p. 153963, 2022.

MA, Y.; ZHOU, T.; SU, G.; LI, Y.; ZHANG, A. Understanding the crystallization behavior of polyamide 6/polyamide 66 alloys from the perspective of hydrogen bonds: projection moving-window 2D correlation FTIR spectroscopy and the enthalpy. **RSC Advances**, 6(90), 87405–87415, 2016.

MAGALHÃES, D. DE P.; FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 137, 2008.

MALINS, D. C. **Aquatic Toxicology**. CRC Press, 2018.

MANKE, A.; WANG, L.; ROJANASAKUL, Y.. Mechanisms of Nanoparticle-Induced Oxidative Stress and Toxicity. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2013, p. 1-15, 2013.

MANNES, Y. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CARBENDAZIM EM DIFERENTES BIOINDICADORES**. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, 2019.

MARTINEZ-PAVETTI, M. B.; MEDINA, L.; ESPÍNOLA, M.; MONTEIRO, M.. Study on two eco-friendly surface treatments on *Luffa cylindrica* for development of reinforcement and processing materials. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 14, n. 1c, p. 2420–2427, 2021.

MASON, R. P.; WALTER, M. F.; MASON, P. E. Effect of Oxidative Stress on Membrane Structure: Small-Angle X-Ray Diffraction Analysis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, n. 3, p. 419–425, 1997.

MATHI, C. **MICROPLÁSTICOS: OS CONTAMINANTES EMERGENTES NO CONTEXTO DA ECOTOXICOLOGIA**. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2018.

MAZALI, I. O.; ALVES, O. L. Morphosynthesis: High fidelity inorganic replica of the fibrous network of loofa sponge (*Luffa cylindrica*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 1, p. 25–31, 2005.

MBUGANI, J. J.; MACHIWA, J. F.; SHILLA, D. A.; JOSEPH, D.; KIMARO, W. H.; KHAN, F. R.. Impaired Growth Performance of Wami Tilapia Juveniles (*Oreochromis urolepis*) (Norman, 1922) Due to Microplastic Induced Degeneration of the Small Intestine. **Microplastics**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 334-345, 28 jun. 2022. MDPI AG.

MCCARTHY, S. J.; MEIJS, G. F.; MITCHELL, N.; GUNATILLAKE, P. A.; HEATH, G.; BRANDWOOD, A.; SCHINDHELM, K.. In-vivo degradation of polyurethanes: Transmission-FTIR microscopic characterization of polyurethanes sectioned by cryomicrotomy. **Biomaterials**, v. 18, n. 21, p. 1387–1409, 1997.

MEIJER, L. J. J.; VAN EMMERIK, T.; VAN DER ENT, R.; SCHMIDT, C.; LEBRETON, L.. More than 1000 rivers account for 80% of global riverine plastic emissions into the ocean. **Science Advances**, v. 7, n. 18, 1 abr. 2021.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N.; PUTNAM, J.; JACOBSEN, L.; NICHOLS, D.; MCLAUGHLIN, J.. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 1, p. 31–34, 1982.

MISTRI, M.; SCOPONI, M.; GRANATA, T.; MORUZZI, L.; MASSARA, F.; MUNARI, C.. Types, occurrence and distribution of microplastics in sediments from the northern Tyrrhenian Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, n. February, p. 111016, 2020.

MOJET, B. L.; EBBESEN, S. D.; LEFFERTS, L.. Light at the interface: the potential of attenuated total reflection infrared spectroscopy for understanding heterogeneous catalysis in water. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 12, p.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MOREIRA, A. C. C. **MICROPLÁSTICOS: IMPACTO AMBIENTAL DE POLÍMEROS FOTODEGRADADOS**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, 2020.

MOREIRA, F. J. C.; SILVA, M. A. P.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.. Emergência e crescimento inicial de plântulas de bucha (*Luffa* Emergency and initial growth of seedlings of *Luffa* (*Luffa cylindrica* Roemer) Material e Métodos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 38, p. 169–175, 2007.

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, p. 123845, jan. 2021.

NADAROGLU, H.; CICEK, S.; GUNGOR, A. A. Removing Trypan blue dye using nano-Zn modified *Luffa* sponge. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 172, p. 2–8, 2017.

NASH, R. D. M.; VALENCIA, A. H.; GEFFEN, A. J. The origin of Fulton's condition factor - setting the record straight. **Fisheries**, v. 31, n. 5, p. 236–238, 2006.

NERES, R. A. **Caracterização Térmica de Amostras de Esponja Sintética Dupla Face e Palha de Aço**. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2014.

NG, T. J. **New opportunities in the Cucurbitaceae**. New Crops. **Anais...New York**: 1993. Disponível em: <<https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-538.html>>. Acesso em: 10 out. 2022

NGUYEN, T. H.; TANG, F. H. M.; MAGGI, F. Sinking of microbial-associated microplastics in natural waters. **PLoS ONE**, v. 15, n. 2, p. 1–16, 2020.

NIKUNEN, E.; MIETTINEN, V. *Daphnia magna* as an indicator of the acute toxicity of waste waters. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 35, n. 1, p. 368–374, 1985.

NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; VAN STAPPEN, G.. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 2, p. 453–462, 1 nov. 2006.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. Editora Sã ed. São Paulo: Grupo Zanini.Oga, 2008. v. 3^a ed.

OGBONNA, J. C.; MASHIMA, H.; TANAKA, H. Scale up of fuel ethanol production from sugar beet juice using loofa sponge immobilized bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 76, n. 1, p. 1–8, 2001.

OLIVATTO, G. P. **Estudo Sobre Microplásticos Em Águas Superficiais Na Porção Oeste Da Baía De Guanabara**. Pontifícia Universidade Católica Do Rio De Janeiro,

2017.

OLIVATTO, G. P.; CARREIRA, R.; TORNISIELO, V. L.; MONTAGNER, C. C.. Microplastics: Contaminants of global concern in the Anthropocene | Microplásticos: Contaminantes de Preocupação Global no Antropoceno. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 6, p. 1968–1989, 2018.

OLIVEIRA, P.; BARBOZA, L. G. A.; BRANCO, V.; FIGUEIREDO, N.; CARVALHO, C.; GUILHERMINO, L.. Effects of microplastics and mercury in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774): filtration rate, biochemical biomarkers and mercury bioconcentration. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 164, p. 155–163, nov. 2018. Elsevier BV.

OLSMAN, I. B. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO FOTOPROTETOR 2-ETILHEXIL 4-METOXICINAMATO EM OREOCHROMIS NILOTICUS E ASTYANAX ALTIPARANAЕ**. UNIVERSIDADE TECNÓLOGICA FEDERAL DO PARANÁ, 2022.

OSÓRIO, F. H. T.; SILVA, L. F. O.; PIANCINI, L. D. S.; AZEVEDO, A. C. B.; LIEBEL, S.; YAMAMOTO, F. Y.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.. Water quality assessment of the Tubarão River through chemical analysis and biomarkers in the Neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 15, p. 9145–9160, 2014.

OSSMANN, B. E.; SARAU, G.; HOLTSMANNSPÖTTER, H.; PISCHETSRIEDER, M.; CHRISTIANSEN, S. H.; DICKE, W.. Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water. **Water Research**, v. 141, p. 307–316, 2018.

OTA, R. R.; DEPRÁ, G. C.; GRAÇA, W. J.; PAVANELLI, C. S.. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: Revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, p. 1–111, 2018.

PANDRANGI, R.; PETRAS, M.; RALPH, S. V. M.. Alkaline single cell gel comet assay and genotoxicity monitoring using bulheads and carp Environmental Molecular Mutagenesis. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 356, n. 1 995, p. 345–356, 1995.

PAPANICOLAOU, G. C.; PSARRA, E.; ANASTASIOU, D. Manufacturing and mechanical response optimization of epoxy resin/*Luffa Cylindrica* composite. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 22, p. 1–12, 2015.

PARTAP, S.; KUMAR, A.; SHARMA, N. K.; JHA, K. K.. *Luffa Cylindrica*: An important medicinal plant. **J. Nat. Prod. Plant Resour**, v. 2012, n. 1, p. 127–134, 2012.

PATRO, R. **Bucha – *Luffa cylindrica***. Disponível em: <<https://www.jardineiro.net/plantas/bucha-luffa-cylindrica.html>>. Acesso em: 5 out. 2022.

PAYNE, J. F.; MATHIEU, A.; MELVIN, W.; FANCEY, L.L.. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, n. 2, p. 225–231, 1996.

PEAKALL, D. . B. **Animal biomarkers as pollution indicators**. Ecotoxicol ed. London: Chapman & Hall, 1992.

PEIXOTO, D.; TORREBLANCA, A.; PEREIRA, S.; VIEIRA, M. N.; VARÓ, I.. Effect of short-term exposure to fluorescent red polymer microspheres on *Artemia franciscana* nauplii and juveniles. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 29, n. 4, p. 6080-6092, 25 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC.

PENG, Y. H.; SHIH, Y.H.; LAI, Y.C.; LIU, Y.Z.; LIU, Y.T.; LIN, N.C.. Degradation of polyurethane by bacterium isolated from soil and assessment of polyurethanolytic activity of a *Pseudomonas putida* strain. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 16, p. 9529–9537, 2014.

PERSOONE, G.; WELLS, P. Artêmia in aquatic toxicology: a review. **Artêmia Research and its Application**, v. 1, p. 259–275, 1987.

PETROBRAS. **Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemia sp.*** Norma técnica N-2588, , 1996.

PETRONILHOA, E. D. C.; PINTOB, A. C.; VILLARA, J. D. F. Acetilcolinesterase: Alzheimer e guerra química. **Ciência e Tecnologia**, p. 3–14, 2011.

PHILIPP, P.; D' ALMEIDA, M. L. O. **Celulose e Papel: Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2ª ed. São Paulo: SENAI “Theobaldo De Nigris”, 1988. v. 1

PHUONG, N. N.; ZALOUK-VERGNOUX, A.; POIRIER, L.; KAMARI, A.; CHÂTEL, A.; MOUNEYRAC, C.; LAGARDE, F.. Is there any consistency between the microplastics found in the field and those used in laboratory experiments? **Environmental Pollution**, v. 211, p. 111–123, 2016.

PIKULA, K. S.; ZAKHARENKO, A.M.; ARUOJA, V.; GOLOKHAVAST, K.s.; TSATSAKIS, A.M.. Oxidative stress and its biomarkers in microalgal ecotoxicology. **Current Opinion in Toxicology**, v. 13, p. 8–15, 2019.

PIMENTEL, M. P.; SILVA-JUNIOR, F.C.G.; SANTAELLA, S.T.; LOTUFO, L.V.C.. O Uso de *Artemia sp.* como Organismo-Teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias do Beneficiamento da Castanha de Caju Antes e Após Tratamento em Reator Biológico Experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 15–22, 2011.

PINHEIRO, S. K. D. P. **INTERACTION OF NANOSTRUCTURED MATERIALS IN BIOLOGICAL SYSTEMS: TOXICITY OF SILVER NANOPARTICLES (AgNPs) AND TITANIUM DIOXIDE (TiO₂) IN LETTUCE (*Lactuca sativa*) AND *Artemia salina***. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2021.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

PORTERFIELD, W. M. Loofah-The sponge gourd. **Economic Botany**, v. 9, n. 3, p.

211–223, 1955.

QIAO, R.; DENG, Y.; ZHANG, S.; WOLOSKER, M. B.; ZHU, Q.; REN, H.; ZHANG, Y. Accumulation of different shapes of microplastics initiates intestinal injury and gut microbiota dysbiosis in the gut of zebrafish. **Chemosphere**, 236, 124334. (2019).

RAMSDORF, W. A.; GUIMARÃES, F. S. F.; FERRARO, M. V. M.; GABARDO, J.; TRINDADE, E. S.; CESTARI, M. M.. Establishment of experimental conditions for preserving samples of fish blood for analysis with both comet assay and flow cytometry. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 673, n. 1, p. 78–81, 2009.

RAMSDORF, W. A. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS COMPOSTOS FIPRONIL, NITRATO DE CHUMBO E NAFTALENO EM PEIXES**. Universidade Federal do Paraná, 2011.

RAND, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. 2. ed. Florida: CRC Press, 1995.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications. **Hemisphere Publishing Corporation**, v. 37, p. 181–182, 1985.

RANGASAMY, B.; MALAFAIA, G.; MAHESWARAN, R.. Evaluation of antioxidant response and Na⁺-K⁺-ATPase activity in zebrafish exposed to polyethylene microplastics: shedding light on a physiological adaptation. **Journal Of Hazardous Materials**, [S.L.], v. 426, p. 127789, mar. 2022. Elsevier BV.

REGINATTO, V. **Avaliação do ensaio de toxicidade com a alga *Scenedesmus subspicatus* para o estudo de efluentes industriais**. Universidade Estadual de Campinas, 1998.

REHSE, S.; KLOAS, W.; ZARFL, C.. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 153, p. 91-99, jun. 2016. Elsevier BV.

REQUE, R.; CARNEIRO, R. D.; YAMAMOTO, F. Y.; RAMSDORF, W. A.; MARTINS, L. R.; GUILOSKI, I. C.; FREITAS, A. M.. Ecotoxicity of losartan potassium in aquatic organisms of different trophic levels. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 87, n. April, 2021.

REVEL, M.; LAGARDE, F.; PERREIN-ETTAJANI, H.; BRUNEAU, M.; AKCHA, F.; SUSSARELLU, R.; MOUNEYRAC, C.. Tissue-Specific Biomarker Responses in the Blue Mussel *Mytilus spp.* Exposed to a Mixture of Microplastics at Environmentally Relevant Concentrations. **Frontiers in Environmental Science**, 7. (2019).

RIBAS, E. L. A. **AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA DIPIRONA SÓDICA EM *Oreochromis niloticus* ATRAVÉS DE BIOMARCADORES**. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, 2022.

RIBEIRO, C. A. O.; BOZZA, D. A.; ESQUIVEL, L.; OLIVEIRA, E. C.; NETO, F.. Comparative effects of oral exposure to 2, 4, 6-tribromophenol and decabromodiphenyl

ether in Nile tilapia. **Environ Sci Pollut Res** 29, 17087–17102 (2022).

RICKER, W. E. **Computation and interpretation of biological statistics of fish populations**. Ottawa: Bulletin 191, 1975.

RILLIG, M. C.; KIM, S. W.; KIM, T.Y.; WALDMAN, W. R.. The global plastic toxicity debt. **Environmental Science and Technology**, v. 55, n. 5, p. 2717–2719, 2 mar. 2021.

RILLIG, M. C.; ZIERSCH, L.; HEMPEL, S. Microplastic transport in soil by earthworms. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–6, 2017.

RIOS-FUSTER, B.; ARECHAVALA-LOPEZ, P.; GARCÍA-MARCOS, K.; ALOMAR, C.; COMPA, M.; ÁLVAREZ, E.; JULIÀ, M. M.; MARTÍ, A. S.; SUREDA, A.; DEUDERO, S.. Experimental evidence of physiological and behavioral effects of microplastic ingestion in *Sparus aurata*. **Aquatic Toxicology**, v. 231, p. 105737, fev. 2021. Elsevier BV.

RIOS, L. M.; MOORE, C.; JONES, P. R. Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, n. 8, p. 1230–1237, 2007.

ROCHMAN, C. M.; ROCHMAN, C. M.; HOH, E.; KUROBE, T.; TEH, S. J.. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1–7, 2013.

RODRÍGUEZ COUTO, S.; SANROMÁN, M. A.; HOFER, D.; GÜBITZ, G. M.. Stainless steel sponge: A novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 1, p. 67–72, 2004.

ROMANO, N.; RENUKDAS, N.; FISCHER, H.; SHRIVASTAVA, J.; BARUAH, K.; EGNEW, N.; SINHA, A. K.. Differential modulation of oxidative stress, antioxidant defense, histomorphology, ion-regulation and growth marker gene expression in goldfish (*Carassius auratus*) following exposure to different dose of virgin microplastics. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 238, p. 108862, dez. 2020. Elsevier BV.

ROSENKRANZ, P.; CHAUDHRY, Q.; STONE, V.; FERNANDES, T. F.. A COMPARISON OF NANOPARTICLE AND FINE PARTICLE UPTAKE BY *DAPHNIA MAGNA*. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 2142, 2009. Wiley

SANTOS, J. **La artemia, el alimento favorito de los flamencos**. Disponível em: <<https://nautilusalpajes.blogspot.com/2019/04/la-artemia-el-alimento-favorito-de-los.html>>. Acesso em: 3 out. 2022.

SANTOS, D.; LUZIO, A.; MATOS, C.; BELLAS, J.; MONTEIRO, S. M.; FÉLIX, L. Microplastics alone or co-exposed with copper induce neurotoxicity and behavioral alterations on zebrafish larvae after a subchronic exposure. **Aquatic Toxicology**, 235, 105814. (2021).

SANTOS, S. G.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A.. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 376–381, 2007.

SATYANARAYANA, K. G.; ARIZAGA, G. G. C.; WYPYCH, F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers-An overview. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 9, p. 982–1021, 2009.

SATYANARAYANA, K. G.; GUIMARÃES, J. L.; WYPYCH, F. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and applications. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 38, n. 7, p. 1694–1709, 1 jul. 2007.

SCHIO, R. R.; GONÇALVES, J. O.; MALLMANN, E. S.; PINTO, D.; DOTTO, G. L.. Development of a biosponge based on *Luffa cylindrica* and crosslinked chitosan for Allura red AC adsorption. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 1117-122, dez. 2021.

SCHRANK, I.; TROTTER, B.; DUMMERT, J.; SCHOLZ-BÖTTCHER, B. M.; LÖDER, M. G.J.; LAFORSCH, C.. Effects of microplastic particles and leaching additive on the life history and morphology of *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113233, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113233>.

SCHÜR, C.; ZIPP, S.; THALAU, T.; WAGNER, M.. Microplastics but not natural particles induce multigenerational effects in *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 113904, 1 maio 2020.

SEKI, Y.; SEVER, K.; ERDEN, S.; SARIKANAT, M.; NESER, G.; OZES, C.. Characterization of *Luffa cylindrica* fibers and the effect of water aging on the mechanical properties of its composite with polyester. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 123, n. 4, p. 2330–2337, 15 fev. 2012.

SHANG, L.; LI, X.; WANG, Y. Application of high-resolution transmission electron microscopy and electron energy-loss spectroscopy in the characterization of polymer nanotubes. **E-Polymers**, n. 008, p. 1–8, 2013.

SIGHICELLI, M.; PIETRELLI, L.; LECCE, F.; IANNILLI, V.; FALCONIERI, M.; COSCIA, L.; VITO, S.; NUGLIO, S.; ZAMPETTI, G.. Microplastic pollution in the surface waters of Italian Subalpine Lakes. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 645–651, 2018.

SILVA DE ASSIS, H. C. **O uso de biomarcadores para avaliação de poluição aquática**. Universidade Técnica de Berlim, 1998.

SILVA, R. C.; BARROS, K. A.; PAVÃO, A. C. Carcinogenicity of Carbendazim and Its Metabolites. **Química Nova**, v. 37, n. 8, p. 1329–1334, 2014.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Gen LTC, 2006.

SIMÕES, M. I. S. **Efeitos tóxicos de micropartículas de parafina em *Mytilus spp.*** Aveiro: Universidade de Aveiro, 2017.

SIMÓN, D.; BORREGUERO, A.M.; LUCAS, A. de; RODRÍGUEZ, J.F.. Recycling of polyurethanes from laboratory to industry, a journey towards the sustainability. **Waste Management**, v. 76, p. 147–171, 2018.

SINGH, I.; SAMAL, S. K.; MOHANTY, S.; NAYAK, S. K.. Recent Advancement in Plant Oil Derived Polyol-Based Polyurethane Foam for Future Perspective: A Review. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 122, n. 3, p. 1–23, 2020.

SKLENIČKOVÁ, K. ABBRENT, S.; HALECKÝ, M.; KOČÍ, V.; BENEŽ, H.. Biodegradability and ecotoxicity of polyurethane foams: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. Taylor and Francis Ltd. v. 52, n. 2, p. 157–202, 16 set. 2020.

SONG, S. B.; XU, Y.; ZHOU, B. S. Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*). **Chemosphere**, v. 65, n. 4, p. 699–706, 2006.

SORGELOOS, P.; WIELEN, C. R.-V. DER; PERSOONE, G. The use of *Artemia* nauplii for toxicity tests-A critical analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 2, n. 3–4, p. 249–255, 1 dez. 1978.

SOUZA, I. D. C. **Planejamento Computacional de Derivados de Fullerenos Captadores de Pesticidas**. INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, 2018.

SPEIT, G.; HARTMANN, A. The comet assay (single-cell gel test). A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 113, p. 203–212, 1999.

SPEIT, G.; HARTMANN, A.. The comet assay. In: DNA Repair Protocols. **Human Press**, 2006. p. 275-286.

SPENCER, H. **The principles of biology**. 1. ed. London: Williams and Norgate, 1884.

STATISTA. **Statista Research Department**. Disponível em: <[STOREY, K. B. Oxidative stress: Animal adaptations in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, n. 12, p. 1715–1733, 1996.](https://www.statista.com/statistics/720341/global-polyurethane-market-size-forecast/#:~:text=The%20global%20market%20volume%20of,tons%20in%20the%20year%202029.>>. Acesso em: 21 abr. 2023.</p>
</div>
<div data-bbox=)

SUMAN, T. Y.; JIA, P.P.; LI, W.G.; JUNAID, M.; XIN, G.Y.; WANG, Y.; PEI, D.S.. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on brine shrimp: first evidence highlighting the molecular mechanism through transcriptome analysis. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123220, dez. 2020. Elsevier BV.

SUN, C.; WANG, Z.; CHEN, L.; LI, F.. Fabrication of robust and compressive chitin and graphene oxide sponges for removal of microplastics with different functional groups. **Chemical Engineering Journal**, v. 393, n. March, p. 124796, 2020.

TAGG, A. S.; IVAR DO SUL, J. A. Is this your glitter? An overlooked but potentially environmentally-valuable microplastic. **Marine Pollution Bulletin**, v. 146, n. May, p. 50–53, 2019.

TANOBE, V. A. O. A. **Desenvolvimento de Sorventes à Base de Espumas de Poliuretanos Flexíveis para o Setor do Petróleo**. Universidade Federal do Paraná, 2007.

TANOBE, V. O. A.; SYDENSTRICKER, T. H. D.; MUNARO, M.; AMICO, S. C.. A comprehensive characterization of chemically treated Brazilian sponge-gourds (*Luffa cylindrica*). **Polymer Testing**, v. 24, n. 4, p. 474–482, 1 jun. 2005.

THE GUARDIAN. Plastic microbeads ban enters force in UK. **Damian Carrington Environment editor**. 9 Janeiro de 2018. Disponível em: https://www.theguardian.com/environment/2018/jan/09/plastic-microbeads-ban-enters-force-in-k?fbclid=IwAR3W4Oz1jZLC3Q-ORzWzsjApMpqR6Q5ZR3ZHNSGVLwKQrZb0j_0DHMoS2bg. Acesso em: 04 Janeiro 2023.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; SAAL, F. S. V.; SWAN, S. H.. Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2153–2166, 2009.

TIMBRELL, J. A.. **Principles of Biochemical Toxicology**. 4. ed. London: CRC Press, 2008.

TOCHER, D. R.; MOURENTE, G.; EECKEN, A. V. D.; EVJEMO, J.O.; DIAZ, E.; BELL, J. G.; GEURDEN, I.; LAVENS, P.; OLSEN, Y.. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*), halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) and sea bream (*Sparus aurata L.*). **Aquaculture Nutrition**, v. 8, n. 3, p. 195–207, 2002.

TORRES, G. H. E. **COMPARAÇÃO DA NANNOCHLOROPSIS SP E DO FARELO DE SOJA PARA A PRODUÇÃO DE ARTEMIA SP**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2017.

TROVATI, G.; SANCHES, E. A.; CLARO NETO, S.; MASCARENHAS, Y. P.; CHIERICE, G. O.. Characterization of polyurethane resins by FTIR, TGA, and XRD. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, n. 1, p. 263–268, 5 jan. 2010.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J.. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

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, p. 57–149, 2003.

VANDEPUT, M.; PARSAJOO, C.; VANHEUVERZWIJN, J.; PATRIS, S.; YARDIM, Y.; JEUNE, A. L.; SARAQBI, A.; MERTENS, D.; KAUFFMANN, J.M.. Flow-through enzyme immobilized amperometric detector for the rapid screening of acetylcholinesterase inhibitors by flow injection analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 267–275, 2015.

VANHACKE, P.; SORGELOOS, P. International study on *Artemia*: 4. The biometrics of *Artemia strains* from different geographical origin. **Ecology**, v. 2, n. Culturing, Use in Aquaculture, p. 393–405, 1980.

VASANTHAN, N.; SALEM, D. R. FTIR spectroscopic characterization of structural changes in polyamide-6 fibers during annealing and drawing. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, 39(5), 536–547, 2001.

VICENTINI, M.; FERNANDES, L. S. P.; MARQUES, A. E. M. L.; OSÓRIO, Flávio H. T.; BAIKA, L. M.; RISSO, W. E.; MARTINEZ, C. B. R.; GRASSI, M. T.; FÁVARO, L. F.; MELA, M.. Effects of cadmium on the female reproductive axis of a Neotropical fish. **Chemosphere**, v. 286, n. July 2021, 2022.

VIGNOLI, J. A.; CELLIGOI, M. A. P. C.; SILVA, R. S. F. Development of a statistical model for sorbitol production by free and immobilized *Zymomonas mobilis* in loofa sponge *Luffa cylindrica*. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 240–243, 2006.

VIJAYAN, M. M.; MORGAN, J. D.; SAKAMOTO, T.; GRAU, E. G.; IWAMA, G. K.. Food-deprivation affects seawater acclimation in tilapia: Hormonal and metabolic changes. **Journal of Experimental Biology**, v. 199, n. 11, p. 2467–2475, 1996.

VILAR, W. **PÁGINA INICIAL**. 3. ed. Rio de Janeiro: Vilar Consultoria, 2004.

VISALLI, G.; FACCIOLÀ, A.; CIARELLO, M. P.; MARCO, G.; MAISANO, M.; PIETRO, A.. Acute and Sub-Chronic Effects of Microplastics (3 and 10 μm) on the Human Intestinal Cells HT-29. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, v. 18, n. 11, p. 5833, 28 maio 2021. MDPI AG.

VIZCAYA, C. D. **Estudio Del Proceso De Crecimiento Lento De Grieta En El Polietileno De Alta Densidad Para Su Aplicación En Tubería**. Universidad Rey Juan Carlos, 2009.

VON MOOS, N.; BURKHARDT-HOLM, P.; KÖHLER, A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis L.* after an experimental exposure. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 20, p. 11327–11335, 2012.

WALDMAN, W. R.; RILLIG, M. C. Microplastic Research Should Embrace the Complexity of Secondary Particles. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 7751–7753, 2020.

WALKER, C. H.; SIBLY, R. M.; HOPKIN, S. P.; PEAKALL, D. B.. **Principles of Ecotoxicology**. 2. ed. London: Taylor and Francis Ltd., 2005.

WALKINSHAW, C.; LINDEQUE, P. K.; THOMPSON, R.; TOLHURST, T.; COLE, M.. Microplastics and seafood: lower trophic organisms at highest risk of contamination. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 190, n. August 2019, p. 110066, 2020.

WANG, C. et al. Synthesis of bio-castor oil polyurethane flexible foams and the influence of biotic component on their performance. **Journal of Polymer Research**, v. 22, n. 8, 2015.

WANG, C.; ZHENG, Y.; XIE, Y.; QIAO, K.; SUN, Y.; YUE, L.. The behaviors of microplastics in the marine environment. **Marine Environmental Research**, v. 113, p. 7–17, 2016.

WANG, S.; WU, C.; LIU, Z.; YOU, H. Studies on the interaction of BDE-47 and BDE-209 with acetylcholinesterase (AChE) based on the neurotoxicity through fluorescence, UV–vis spectra, and molecular docking. **Toxicology Letters**, 287, 42–48. (2018).

WANG, Y.; ZHANG, D.; ZHANG, M.; MU, J.; DING, G.; MAO, Z.; CAO, Y.; JIN, F.; CONG, Y.; WANG, L.. Effects of ingested polystyrene microplastics on *brine shrimp*, *Artemia parthenogenetica*. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 715-722, jan. 2019. Elsevier BV.

WARDROP, P.; SHIMETA, J.; NUGEGODA, D.; MORRISON, P. D.; MIRANDA, A.; TANG, M.; CLARKE, B. O.. Chemical Pollutants Sorbed to Ingested Microbeads from Personal Care Products Accumulate in Fish. **Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 7, p. 4037–4044, 2016.

WIK, A.; DAVE, G. Acute toxicity of leachates of tire wear material to *Daphnia magna*-Variability and toxic components. **Chemosphere**, v. 64, n. 10, p. 1777–1784, 2006.

WRIGHT, S. L.; ROWE, D.; THOMPSON, R. C.; GALLOWAY, T. S.. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. R1031–R1033, 2013.

XIONG, Q.; SHI, Y.; LU, Y.; PAN, K.; DAKHIL, M. A.; ZHANG, L.; XIAO, Y.. Sublethal or not? Responses of multiple biomarkers in *Daphnia magna* to single and joint effects of BDE-47 and BDE-209. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, n. August, p. 164–171, 2018.

YAMAMOTO, F. Y. **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA E DETECÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM CINCO RESERVATÓRIOS DO RIO IGUAÇU**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2016.

YANG, S.; XU, W.; ZHANG, K.; HU, J.; GAO, Y.; CUI, G.; GROSSART, H.P.; LUO, Z.. Fungal communities differ with microplastic types in deep sea sediment enrichments of the Eastern Pacific. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 173,

n. April, p. 105461, 2022.

YILGOR, I.; YILGOR, E.; GULER, I. G.; WARD, T. C.; WILKES, G. L.. FTIR investigation of the influence of diisocyanate symmetry on the morphology development in model segmented polyurethanes. **Polymer**, v. 47, n. 11, p. 4105–4114, 2006.

YIN, H.; XU, L.; PORTER, N. A. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 5944–5972, 12 out. 2011.

YOCKTENG, J. F. **Biología de la Artemia sp. – Bioartemia**. Disponível em: <<http://www.bioartemia.com/2017/03/03/biologia-de-la-artemia-sp/>>. Acesso em: 3 out. 2022.

YU, P.; LIU, Z.; WU, D.; CHEN, M.; L. V., W.; ZHAO, Y.. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. **Aquatic Toxicology**, v. 200, p. 28-36, jul. 2018. Elsevier BV.

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

YURTSEVER, M. Tiny, shiny, and colorful microplastics: Are regular glitters a significant source of microplastics? **Marine Pollution Bulletin**, v. 146, n. March, p. 678–682, 2019.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2. ed. São Carlos, SP: RiMa, 2008.

ZHANG, S.; DING, J.; RAZANAJATOVO, R. M.; JIANG, H.; ZOU, H.; ZHU, W.. Interactive effects of polystyrene microplastics and roxithromycin on bioaccumulation and biochemical status in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Science of the Total Environment**, v. 648, p. 1431–1439, 2019.

ZHANG, P.; YAN, Z.; LU, G.; JI, Y.. Single and combined effects of microplastics and roxithromycin on *Daphnia magna*. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 26, n. 17, p. 17010-17020, 10 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC.

ZHANG, W.; ZHANG, S.; WANG, J.; WANG, Y.; MU, J.; WANG, P.; LIN, X.; MA, D.. Microplastic pollution in the surface waters of the Bohai Sea, China. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 541–548, 2017.

ZHANG, X.; WANG, W.; YU, D. Synthesis of waterborne polyurethane–silver nanoparticle antibacterial coating for synthetic leather. **J Coat Technol Res** 15, 415–423 (2018).

ZHENG, T.; YUAN, D.; LIU, C. Molecular toxicity of nanoplastics involving in oxidative stress and desoxyribonucleic acid damage. **Journal of Molecular Recognition**, 32(11). (2019).

ZHOU, H. Y.; CHEUNG, R. Y. H.; CHAN, K. M.; WONG, M. H.. Metal concentrations in sediments and Tilapia collected from inland waters of Hong Kong. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3331–3340, 1998.

ZHOU, S.; ZHANG, Q.; HUANG, J.; DING, D.. Friction and wear behaviors of polyamide-based composites blended with polyphenylene sulfide. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, v. 27, n. 7, p. 977–991, 2014.

ZHU, D.; BI, Q.F.; XIANG, Q.; CHEN, Q.L.; CHRISTIE, P.; KE, X.; WU, L.H.; ZHU, Y.G.. Trophic predator-prey relationships promote transport of microplastics compared with the single *Hypoaspis aculeifer* and *Folsomia candida*. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 150–154, 2018.

ZHU, F.; ZHU, C.; WANG, C.; GU, C.. Occurrence and Ecological Impacts of Microplastics in Soil Systems: A Review. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 6, p. 741–749, 2019.

ZIMMERMANN, L.; GÖTTLICH, S.; OEHLMANN, J.; WAGNER, M.; VÖLKER, C.. What are the drivers of microplastic toxicity? Comparing the toxicity of plastic chemicals and particles to *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 267, p. 115392, dez. 2020. Elsevier BV.

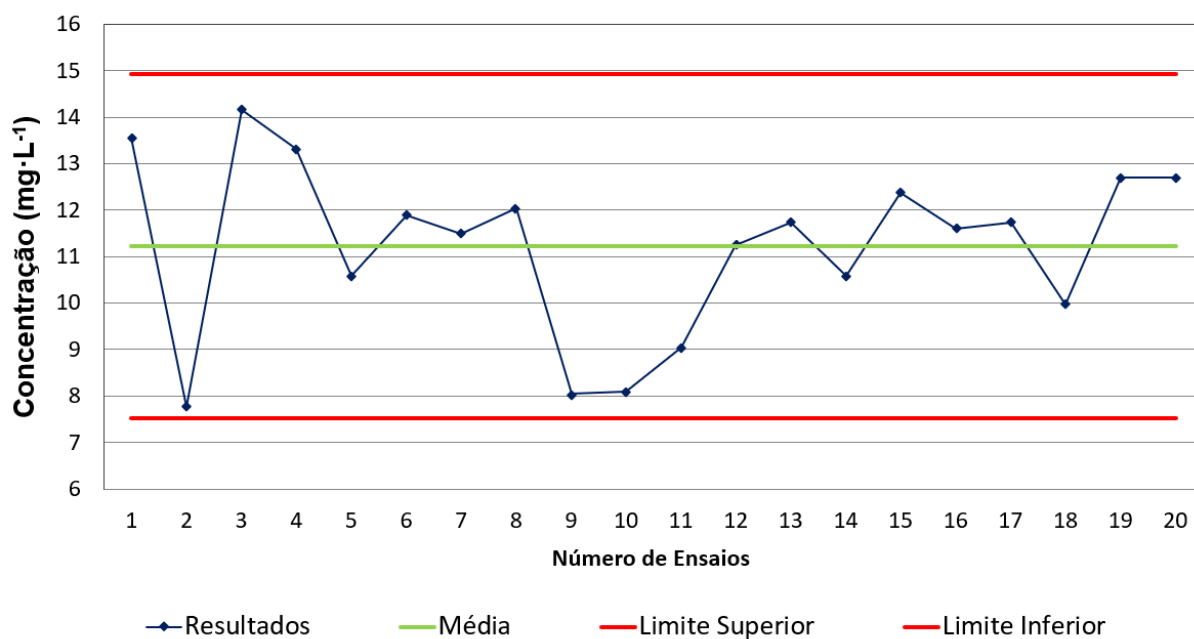
ZITKO, V.; HANLON, M. Another source of pollution by plastics: Skin cleaners with plastic scrubbers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 22, n. 1, p. 41–42, 1991.

ZOUAOUID, K., GHERIANI, R. Mineralogical Analysis of Sand Roses and Sand Dunes Samples from Two Regions of South Algeria. **Silicon** 11, 1537–1545, 2019.

APÊNDICE 1 – CARTA CONTROLE

Carta controle de sensibilidade da *Daphnia magna* ao sulfato de zinco (ZnSO_4) elaborada no período de outubro de 2021 a abril de 2022. Fonte: O autor.

Carta Controle de sensibilidade ZnSO_4



Ensaio	Data	CE _{50(48h)} / (mg·L ⁻¹)
1	28/10/2021	13,55
2	11/11/2021	7,77
3	18/11/2021	14,15
4	02/12/2021	13,31
5	11/12/2021	10,58
6	23/12/2021	11,89
7	31/12/2021	11,49
8	06/01/2022	12,04
9	07/01/2022	8,04
10	09/01/2022	8,09
11	13/01/2022	9,03
12	14/01/2022	11,25
13	03/02/2022	11,74
14	04/02/2022	10,58
15	10/02/2022	12,37
16	18/02/2022	11,60
17	25/02/2022	11,74
18	10/03/2022	9,96
19	11/03/2022	12,69
20	19/04/2022	12,69

APÊNDICE 2 – PARECER EMITIDO PELO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR)

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado " Caracterização e avaliação ecotoxicológica de micropartículas de espuma de poliuretano e *Luffa cylindrica* para uso doméstico. ", protocolo nº 2021-11, sob a responsabilidade de Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata. - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR) da UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, em reunião de 21/09/2021.

CERTIFICATE

The Ethics Commission on Animal Use (CEUA) of Federal University of Technology – Paraná (UTFPR), CERTIFIES that the request herein identified by the protocol number 2021/ 11 (Caracterização e avaliação ecotoxicológica de micropartículas de espuma de poliuretano e *Luffa cylindrica* para uso doméstico), coordinated and under the responsibility of Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata., which involves the production, maintenance and / or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub-phylum Vertebrata (except human species), for the purposes of scientific research (or teaching), is in accordance with provisions of the Brazilian Law no. 11794 (October 8th, 2008), the Decree nº 6.899 (July 15th, 2009) and with further regulations published by the Brazilian National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

Dois Vizinhos, 21 de SETEMBRO de 2021.

Valter Oshiro Vilela

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná



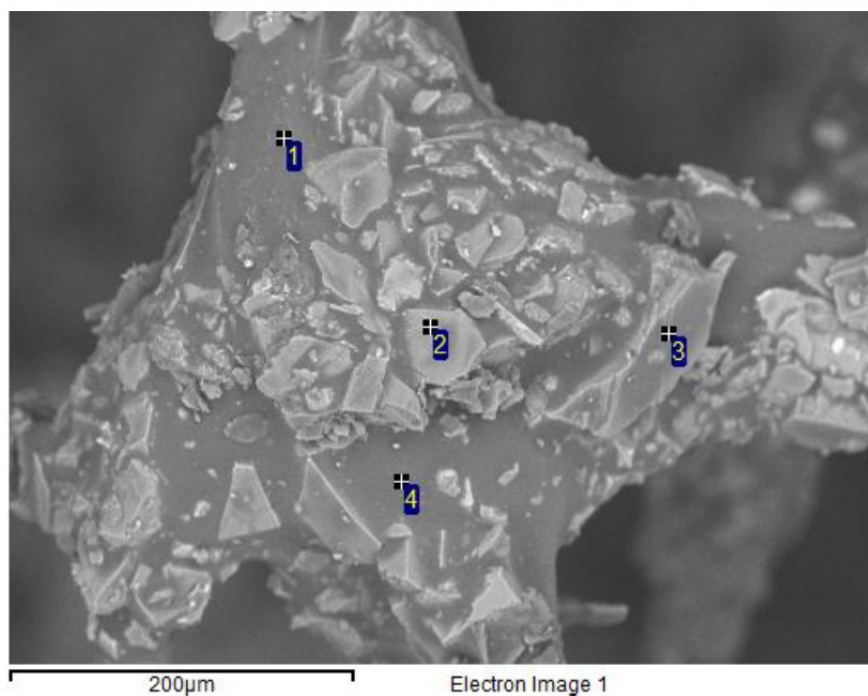
Documento assinado eletronicamente por (Document electronically signed by) **VALTER OSHIRO VILELA, PRESIDENTE DE COMISSÃO**, em (at) 21/09/2021, às 15:26, conforme horário oficial de Brasília (according to official Brasilia-Brazil time), com fundamento no (with legal based on) art. 4º, § 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site (The authenticity of this document can be checked on the website) https://sei.utfpr.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador (informing the verification code) **2268161** e o código CRC (and the CRC code) **10738541**.

APÊNDICE 3 – DADOS DA ANÁLISE MEV/EDS PARA A AMOSTRA SVI

Project 1 12/13/2022 9:46:23 AM



Too many elements to fit on page (8 max.) Please consider using the copy to clipboard function.



Project 1 12/13/2022 9:46:27 AM

Project: Project 1
Owner: Operator

Sample: Sample 2
Type: Default

Processing option : All elements analysed (Normalised)

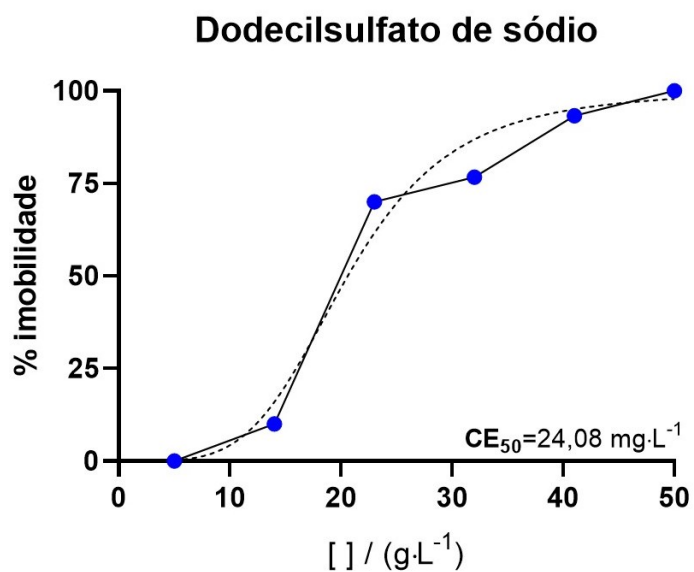
Spectrum	In stats.	C	O	Na	Mg	Al	Si	Cl	Ca	Ti	Total
1	Yes	71.44	27.14	0.70		0.47				0.24	100.00
2	Yes	18.38	43.86		24.71		13.04				100.00
3	Yes	52.49	38.51		0.51	7.09	0.45		0.95		100.00
4	Yes	64.46	32.40			1.45	0.53	1.16			100.00
Max.		71.44	43.86	0.70	24.71	7.09	13.04	1.16	0.95	0.24	
Min.		18.38	27.14	0.70	0.51	0.47	0.45	1.16	0.95	0.24	

All results in weight%



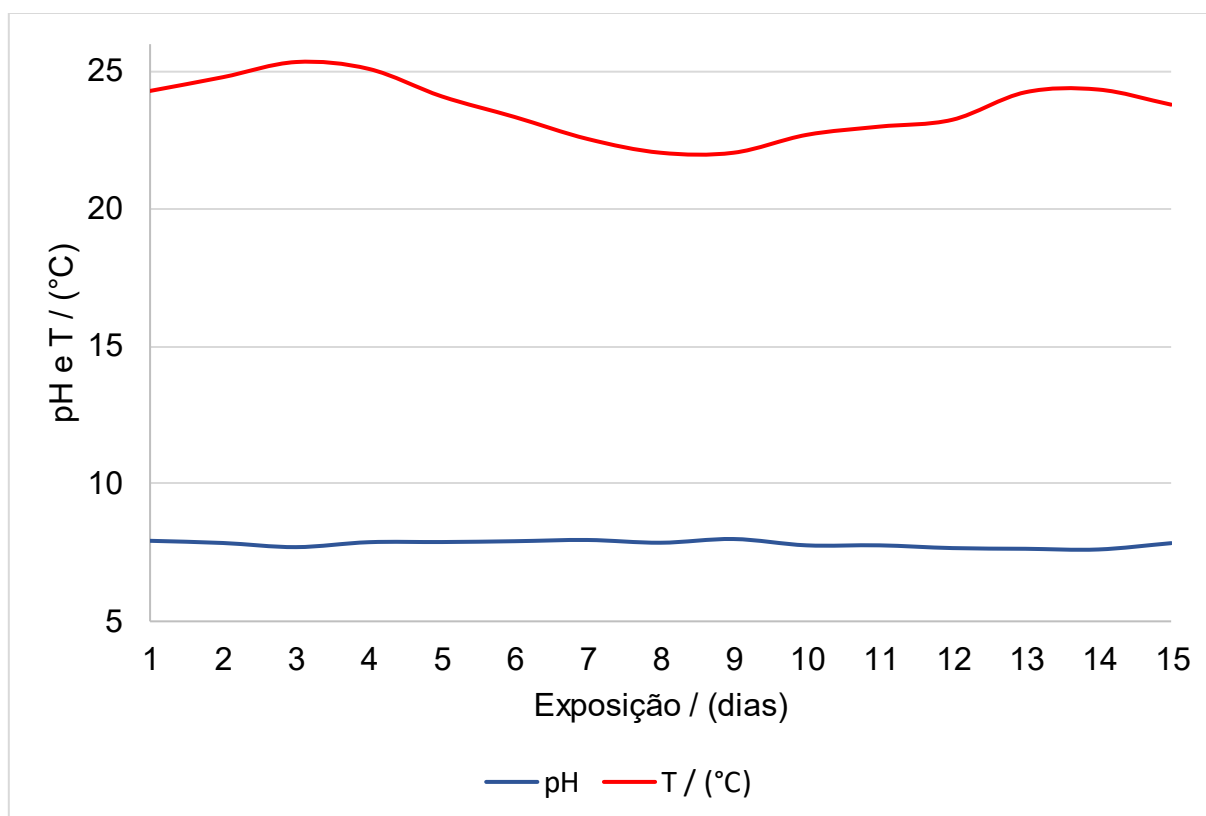
APÊNDICE 4 – GRÁFICO DA CURVA DE EFEITO DO DODECILSULFATO DE SÓDIO PARA *A. salina*

Gráfico da curva de efeito da substância referência (dodecilsulfato de sódio) para a verificação da sensibilidade para a *A. salina*. Fonte: O autor.



APÊNDICE 5 – DADOS RELATIVOS AO CONTROLE DE TEMPERATURA E PH DURANTE A ACLIMATAÇÃO E BIOENSAIO COM *O. niloticus*.

Varição dos parâmetros de temperatura e pH durante o bioensaio. Fonte: O autor.



APÊNDICE 6 – DADOS DAS MORTES DURANTE BIOENSAIO COM *O. niloticus*.

Número de mortes com suas respectivas datas e grupo de exposição durante o bioensaio. Fonte: O autor.

Amostra	C	AM / (mg·L ⁻¹)			VD / (mg·L ⁻¹)			BV / (mg·L ⁻¹)					
		Concentração	-	0,2	1	5	0,2	1	5	0,2		1	5
DIA DE EXPOSIÇÃO	1												NÚMERO DE MORTES
	2												
	3												
	4			1									
	5				1		1					1	
	6										1		
	7												
	8												
	9											2	
	10	1			1							1	
	11											1	
	12											2	
	13				1							2	
	14											1	
TOTAL	1	2	2	4	1	0	5	0	1	2			

ANEXO 1 – MEIO DE CULTIVO (M4)

Soluções e reagentes utilizados para a preparação do meio de cultivo da *Daphnia magna*. Fonte: Adaptado ABNT NBR 12713:2022.

Solução	Reagente	Concentração / (g·L ⁻¹)
1	CaCl ₂ ·2H ₂ O	73,5
2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	123,3
3	KCl	5,8
4	NaHCO ₃	64,8
5	MnCl ₂ ·4H ₂ O	7,21
	LiCl	6,12
	RbCl	1,42
	SrCl ₂ ·6H ₂ O	3,04
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,335
	ZnCl ₂	0,260
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,200
	6	NaNO ₃
H ₃ BO ₃		5,719
NaBr		0,032
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O		0,126
NH ₄ VO ₃		0,00115
KI		0,0065
Na ₂ SeO ₃		0,00438
7	NaSiO ₃	21,465
	Na ₂ EDTA·7H ₂ O	0,500
8	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,1991
9	KH ₂ PO ₄	0,286
	K ₂ HPO ₄	0,368
	Hidrocloreto de tiamina	0,750
10	Cianocobalamina (vitamina B12)	0,010
	D (+) Biotina	0,0075

ANEXO 2 – MEIO BÁSICO

Composição do meio básico para a diluição das amostras nos testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna*. Fonte: Adaptado da ABNT NBR 12713:2022.

Solução	Reagente	Concentração / (g·L⁻¹)
1	CaCl ₂ ·2H ₂ O	8
2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	8,7
3	KCl	28,4
4	NaHCO ₃	18,6

ANEXO 3 – ÁGUA DO MAR RECONSTITUÍDA

Soluções e reagentes utilizados para a preparação da água do mar reconstituída para a *Artêmia salina*. Fonte: Adaptado ABNT NBR 16530:2022.

Solução	Reagente	Concentração / (g·L ⁻¹)
1	NaF	0,003
	SrCl ₂ .6H ₂ O	0,02
	H ₃ BO ₃	0,03
	KBr	0,1
	KCl	0,7
2	CaCl ₂ .2H ₂ O	1,47
3	Na ₂ SO ₄	4
4	MgCl ₂ .6H ₂ O	10,78
5	NaCl	23,50
6	Na ₂ SiO ₃ .H ₂ O	0,2
	NaHCO ₃	0,2