



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Gabriel Soares Cruz

**Respostas bioquímicas do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) frente à exposição ao
contaminante emergente benzofenona-3 (BP-3)**

Florianópolis

2022

Gabriel Soares Cruz

Respostas bioquímicas do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) frente à exposição ao contaminante emergente benzofenona-3 (BP-3)

Dissertação submetida ao Programa de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Aquicultura.
Orientador: Profa. Dra. Maria Risoleta Freire Marques

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Cruz, Gabriel Soares

Respostas bioquímicas do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) frente à exposição ao contaminante emergente benzofenona-3 (BP-3) / Gabriel Soares Cruz ; orientadora, Maria Risoleta Freire Marques , 2022.

103 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. benzofenona-3. 3. Contaminantes emergentes. 4. Aquicultura. 5. Biomarcadores. I. Marques , Maria Risoleta Freire . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Gabriel Soares Cruz

**Respostas bioquímicas do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) frente à
exposição ao contaminante emergente benzofenona-3 (BP-3)**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Maria Risoleta Freire Marques
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Karim Hahn Lüchmann
Universidade do Estado de Santa Catarina

Profa. Dra. Camila de Martinez Gaspar Martins
Universidade Federal do Rio Grande

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de mestre em Aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Dra. Maria Risoleta Freire Marques
Orientador(a)

Florianópolis, 2022.

Dedico este trabalho à minha família, minha tia, Elisabete, minha mãe, Elisa e minha avó, Manuella.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família, minha mãe, minha tia e minha avó. Grandes mulheres que fizeram parte da minha educação e me proporcionaram as melhores condições possíveis para que pudesse seguir minha jornada de vida. Sem vocês essa caminhada não seria possível. Serei eternamente grato por toda dedicação e amor oferecidos.

À minha orientadora Maria Risoleta Freire Marques, pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica. Por ter me acolhido desde a primeira tentativa no processo seletivo de mestrado do PPGAQI, durante os momentos mais difíceis e delicados da pandemia do COVID-19 e, por fim, nas etapas de conclusão da minha dissertação. Obrigado pela confiança e apoio oferecidos, de forma tão gentil e cuidadosa, ao longo desse processo desafiador.

Aos meus amigos do LABCAI: Miguel Saldaña-Serrano, Camila Lisarb Velasque Bastolla, Daína de Lima e Jacó Joaquim Mattos. Em especial, Miguel e Camila, pelos conselhos, recomendações, sugestões e suporte oferecidos ao longo de todo esse período. Vocês foram fundamentais em várias etapas importantes para o desenvolvimento desse projeto, principalmente nos momentos mais complexos.

À fazenda marinha Paraíso das Ostras (Florianópolis – SC) por gentilmente doarem os mexilhões utilizados em nosso experimento. Além disso, agradeço ao Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LMM-UFSC), em especial ao Carlos Henrique A. M. Gomes, o professor Tatu, pela desova, manutenção e aclimatação dos animais, bem como, por todo o auxílio prestado durante o período experimental. Muito obrigado pela parceria!

À Dra. Micheli Rosa de Castro e Dra. Sergiane Caldas Barbosa, do grupo de pesquisa ECOBIOTOX, vinculado à Universidade Federal do Rio Grande, pelas análises químicas nas amostras de água. Em especial a Dra. Micheli, pela disponibilidade em participar do projeto, prontidão no esclarecimento das dúvidas, realização das análises químicas de água. Muito obrigado pela parceria!

Aos membros que compõem a banca avaliadora dessa dissertação: Dra. Karim Hahn Lüchmann e Dra. Camila de Martinez Gaspar Martins pela disponibilidade e pelo tempo destinado para revisão e correção deste documento. Também aos membros suplentes: Dra. Flávia Lucena Zacchi e Dr. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque.

Ao Dr. Vinicius Ronzani Cerqueiraes Dra. Débora Machado pelas contribuições no trabalho durante a defesa do projeto de dissertação.

Ao professor Dr. Afonso Celso Dias Bainy, pelo apoio técnico oferecido durante o nosso retorno às atividades presenciais e ao longo do experimento.

Aos amigos do LABCAI que trabalharam comigo durante esse período e que contribuíram, direta ou indiretamente, para o desenvolvimento desse trabalho: Uclédia Roberta dos Santos, Juliana Moser, Lígia Sampaio Lanzarin, Bárbara Pacheco Harrison Righett, Vera Helena Dias Vidal e Flávia Lucena Zacchicomo,

Aos alunos de iniciação científica do LABCAI, Gabriel Santitoli Coutinho, Danielly Santos e Julia Martim, pela prontidão e dedicação nas tarefas durante todo o experimento.

Ao Juliano Valério Luiz, pelo auxílio essencial nas atividades do Bioensaios antes, durante e após o período experimental. Grato pelo auxílio!

Aos meus amigos de infância do Rio de Janeiro: Anna Lara Azeredo, Augusto José, Camilla Santos, Gabriel Baptista, Jefferson Lúcio, Rafaela Pinto e Suellen Labrujó. Bem como, aos amigos de Universidade do Estado do Rio de Janeiro, que se tornaram membros da minha família: Nathalia Mota, Diogo Lannes, Yuri Brasil, Pedro Weissmann, Bruno Sérgio, João Marvila, Felipe Lage, Daniel Cervai, André Grijó e André Facchinei. Muito obrigado pelo apoio em todas as etapas concluídas até aqui. Além das amizades construídas em Florianópolis: Andrew, Heitor, Lucas, Matheus, Rebecca, Thaís, Caio, Luana, Luanna, Hillary e Ísis. Por sempre me oferecerem apoio afetivo e emocional de forma incondicional ao longo dessa jornada.

Agradeço ao Sistema Único de Saúde e as diversas instituições de pesquisa, pelo desenvolvimento, manutenção e aplicação das vacinas contra o vírus da COVID-19. Vocês vêm sendo responsáveis por minimizar os impactos devastadores desta pandemia. Sou muito grato pelo trabalho de vocês!

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, professores e servidores, pela oportunidade de desenvolver este trabalho. Em especial, ao Carlito Klunk, pelo pronto auxílio em todas as questões administrativas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), respectivamente, pela bolsa de estudo.

RESUMO

A presença dos produtos de cuidado pessoal (PCP) nos ambientes aquáticos e seus efeitos sobre a biota têm ganhado crescente relevância. Os PCP ingressam nos ecossistemas aquáticos de forma direta (p.ex. banhistas) ou indireta (p.ex. efluentes domésticos), sendo detectados em baixas concentrações. Dentre os PCP, os filtros ultravioletas são substâncias capazes de absorver, refletir ou dispersar as radiações UVA e UVB, encontrados na composição de tintas e embalagens plásticas, sendo, ainda, componentes fundamentais na composição de protetores solares. A Benzofenona-3 (BP-3) é um filtro UV orgânico amplamente utilizado na formulação de vários protetores solares, porém informações sobre seus efeitos em bivalves marinhos são escassas. O mexilhão *Perna perna* é um molusco bivalve consumido na alimentação humana, cujo cultivo tem importância comercial no Brasil, tornando relevante a investigação de possíveis efeitos tóxicos da BP-3 nesta espécie. Neste trabalho foi avaliado o efeito da BP-3 em *P. perna*, utilizando biomarcadores bioquímicos de defesa antioxidante enzimáticos (glutathiona peroxidase – GPx; glutathiona redutase – GR; glicose 6-fosfato desidrogenase - G6PDH; glutathiona S-transferase - GST), assim como de danos oxidativos (peroxidação de lipídeos - MDA). Os mexilhões (n=54) foram coletados e aclimatados (7 dias) em laboratório sob condições controladas (água do mar filtrada; 21°C; 30 ups; aeração constante e alimentação de manutenção). A exposição foi realizada individualmente em béqueres de vidro (1 mexilhão L⁻¹), envolvendo dois tratamentos (concentrações nominais: 1 e 10 µg L⁻¹ BP-3), e um controle para cada concentração (água do mar + DMSO 0.001%). Os mexilhões foram alimentados a cada 48 h, sendo a troca de água realizada diariamente e a coleta das brânquias foi realizada após 72h e 7 dias de exposição. As amostras de brânquias (n=9) foram pesadas e homogeneizadas. O sobrenadante foi utilizado para a análise dos biomarcadores bioquímicos. Foram realizadas coletas de água nas unidades experimentais sem animais no tempo zero, em 72h e 7 dias. Bem como, duas amostras no período de 24 h, entre o sexto (T_{inicial}, sem animais) e o sétimo dia (T_{final}, com animais). De acordo com as análises químicas da água, as concentrações reais médias de BP-3 foram 0,1 ± 0,04 e 3,0 ± 0,42 µg L⁻¹. Entre o sexto e o sétimo dia de exposição, houve redução significativa da concentração de BP-3 nas unidades expostas a maior concentração de BP-3 (T_{inicial}: 3,19 ± 0,01 µg L⁻¹ e T_{final}: 0,48 ± 0,06 µg L⁻¹). Em relação às respostas enzimáticas, foi observada uma significativa redução (p < 0,05) na atividade da G6PDH e da GPx nos mexilhões expostos a 0,1 µg L⁻¹ em relação ao grupo controle, após 7 dias de exposição. Sugerimos que a diminuição da atividade tanto da G6PDH quanto da GR, esteja comprometendo a reciclagem da GSH. Não foram observadas diferenças significativas na atividade da GST, nem tampouco nos níveis de MDA. Nossos resultados sugerem que as concentrações testadas, similares àquelas encontradas em ecossistemas aquáticos, provocaram uma alteração na reciclagem da GSH. Essa possível alteração, por sua vez, poderia estar relacionada ao desequilíbrio no sistema redox das células branquiais do mexilhão *P. perna*, causada pela BP-3, sob condições controladas em laboratório.

Palavras-chave: benzofenona-3, bivalves, biomarcadores, contaminantes emergentes, Aquicultura.

ABSTRACT

The presence of personal care products (PCPs) in aquatic environments and their effects on biota are gaining increasing relevance. PCPs enter aquatic ecosystems directly (bathers) or indirectly (domestic effluent) and are detected at low concentrations. Among PCPs, ultraviolet filters are substances capable of absorbing, reflecting, or scattering UVA and UVB radiation, found in the composition of paints and plastic packaging, and are key components in the composition of sunscreens. Benzophenone-3 (BP-3) is an organic UV filter widely used in the formulation of various sunscreens, but information on its effects on marine bivalves is scarce. The mussel *Perna perna* is a bivalve mollusk consumed as human food, whose cultivation is commercially important in Brazil, making it relevant the investigation of possible toxic effects of BP-3 on this species. In this work we evaluated the effect of BP-3 in *P. perna*, using biochemical biomarkers of enzymatic antioxidant defense (glutathione peroxidase - GPx; glutathione reductase - GR; glucose 6-phosphate dehydrogenase - G6PDH; glutathione S-transferase - GST), as well as of oxidative damage (lipid peroxidation - MDA). Mussels (n=54) were collected and acclimated (7 days) in the laboratory under controlled conditions (filtered seawater; 21°C; 30 ups; constant aeration and maintenance feeding). Exposure was performed individually in glass beakers (1 mussel L⁻¹), involving two treatments (nominal concentrations: 1 and 10 µg L⁻¹ BP-3), and a control for each concentration (seawater + DMSO 0.001%). Mussels were fed every 48 h, water was changed daily, and gill samples were collected after 72 h and 7 days of exposure. The gill samples (n=9) were weighed and homogenized. The supernatant was used for biochemical biomarker analysis. Water samples were collected from the experimental units without animals at time zero, at 72h and 7 days. Two 24h samples were taken between the sixth (T_{inicial}, without animals) and seventh day (T_{final}, with animals). According to the chemical analyses of the water, the mean actual concentrations of BP-3 were 0.1 ± 0.04 and 3.0 ± 0.42 µg L⁻¹. Between the sixth and seventh day of exposure, there was a significant reduction in BP-3 concentration in the units exposed to the highest concentration of BP-3 (T_{inicial}: 3.19 ± 0.01 µg L⁻¹ and T_{final}: 0.48 ± 0.06 µg L⁻¹). Regarding the enzymatic responses, a significant reduction (p<0.05) in G6PDH and GPx activity was observed in mussels exposed to 0.1 µg L⁻¹ compared to the control group after 7 days of exposure. We suggest that the decreased activity of both G6PDH and GR, is compromising GSH recycling. No significant differences were observed in GST activity, nor in MDA levels. Our results suggest that the tested concentrations, similar to those found in aquatic ecosystems, caused an alteration in GSH recycling. This possible alteration, in turn, could be related to the imbalance in the redox system of the gill cells of the mussel *P. perna* caused by BP-3 under controlled laboratory conditions.

Keywords: benzophenone-3, bivalve, biomarkers, PCP, Aquaculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas dos principais grupos de filtros UV orgânicos.....	17
Figura 2: Estrutura molecular da Benzofenona-3 (C ₁₄ H ₁₂ O ₃).....	20
Figura 3: O mexilhão <i>Perna perna</i> (Linnaeus, 1758).....	42
Figura 4: Atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidante e de biotransformação..	47
Figura 5: Atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e glutathiona s-transferase (GST) em brânquias de mexilhões <i>P. perna</i> expostos à 0,1 e 3 µg L ⁻¹ durante 72 h e 7 dias. Os dados estão apresentados sob a forma de média ± desvio padrão (n = 9). µg L ⁻¹ - micrograma por litro; d – dias; h – horas; * - indica diferença significativa (p < 0,05) em relação ao grupo controle por ANOVA duas vias.....	72
Figura 6: Nível de produtos finais da lipoperoxidação (MDA) em brânquias de mexilhões <i>P.</i> <i>perna</i> expostos à 0,1 e 3 µg L ⁻¹ durante 72 h e 7 dias. Os dados estão apresentados sob a forma de média ± desvio padrão (n = 9). µg L ⁻¹ - micrograma por litro; d – dias; h – horas.....	76
Figura 7: Design experimental do presente estudo adotado para as exposições às concentrações nominais de BP-3 (1 e 10 µg L ⁻¹), dois tempos de exposição (72 h e 7 dias) e dois grupos controles (água do mar + dimetilsulfóxido 0,001% - DMSO). µg L ⁻¹ – micrograma por litro; CTRL – grupos controles; DMSO – dimetilsulfóxido.....	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações ambientais de benzofenona-3 (BP-3) detectadas em matrizes aquáticas de diferentes regiões do mundo e seus respectivos métodos analíticos de quantificação.....	25
Tabela 2: Dados relativos a levantamento bibliográfico acerca de trabalhos toxicológicos envolvendo organismos marinhos expostos à benzofenonas-3 (BP-3).	34
Tabela 3: Concentrações de BP-3 mensuradas nas soluções estoque referentes à preparação, por diluição, das concentrações nominais nas unidades experimentais. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n=3 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	65
Tabela 4: Concentrações de BP-3 mensuradas na água das unidades experimentais sem mexilhões, a partir das diluições das soluções estoque no início do experimento (t 0, primeira diluição), em 72 h (t 72h, terceira diluição) e ao término de 7 dias de exposição (t 7 dias, sexta diluição). Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 2 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$, incluindo a menor ($1 \mu\text{g } \text{L}^{-1}$) e a maior ($10 \mu\text{g } \text{L}^{-1}$) concentração nominal. (nd) - não detectado.....	66
Tabela 5: Concentrações de BP-3 mensuradas na água em 24 h (amostras coletadas entre o sexto e o sétimo dia): T_{inicial} = sem mexilhões, T_{final} = com mexilhões. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n=2 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$, incluindo a menor ($1 \mu\text{g } \text{L}^{-1}$) e a maior ($10 \mu\text{g } \text{L}^{-1}$) concentração nominal. (nd) - não detectado.....	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Contaminantes emergente: Produtos de Cuidado Pessoal (PCP).....	14
1.2	Filtros Ultravioleta.....	16
1.2.1	Benzofenona-3 (BP-3).....	19
1.2.1.1	Presença da BP-3 em matrizes ambientais.....	22
1.2.1.2	Toxicidade e riscos ambientais.....	32
1.3	Panorama da Aquicultura e Produção de moslucos.....	40
1.4	Estresse Oxidativo e Sistema de Defesa Antioxidante.....	43
1.5	Biomarcadores.....	49
1.6	OBJETIVOS.....	51
1.6.1	Objetivo Geral.....	51
1.6.2	Objetivos Específicos.....	51
1.7	ESTRUTURA DO TRABALHO.....	51
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	52
2.1	INTRODUÇÃO.....	54
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	58
2.2.1	Coleta e aclimatação dos mexilhões.....	58
2.2.2	Delineamento Experimental.....	59
2.2.3	Coleta de tecidos.....	60
2.2.4	Preparação das amostras biológicas.....	61
2.2.5	Análises bioquímicas.....	61
2.2.5.1	Atividade enzimática.....	61
2.2.5.2	Determinação de proteínas totais.....	62
2.2.5.3	Determinação de produtos finais da Lipoperoxidação (MDA).....	62
2.2.6	Análises Químicas.....	63
2.2.6.1	Amostras de água.....	63
2.2.6.2	Filtragem e Extração em Fase Sólida (SPE).....	63
2.2.6.3	Eluição.....	64
2.2.6.4	Quantificação da BP-3.....	64
2.2.7	Análise Estatística.....	64
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65

2.3.1	Análises Químicas da água.....	65
2.3.2	Biomarcadores bioquímicos.....	70
2.3.2.1	Atividade das enzimas antioxidantes e de biotransformação.....	70
2.3.2.2	Danos oxidativos: Lipoperoxidação (LPO).....	75
2.4	CONCLUSÃO.....	78
2.3	AGRADECIMENTOS.....	79
	REFERÊNCIAS.....	79
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	88
	APÊNDICE.....	104

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTAMINANTES EMERGENTES: PRODUTOS DE CUIDADOS PESSOAL (PCP)

Historicamente, a intensa ocupação demográfica deu-se a partir das regiões costeiras e litorâneas, em diferentes partes do mundo. Além de concentrar a maior parte da população mundial, a zona costeira abrange parte considerável da biodiversidade e produtividade biológica do planeta, bem como, dos recursos vivos e não vivos; concentrando, portanto, a maior parte das atividades econômicas. Nesta interface dos sistemas costeiros e oceânicos estabeleceu-se uma ampla variedade de atividades, como por exemplo, atividade petrolífera, portuária, agrícola e agroindustrial, pecuária, pesqueira, aquícola, extração mineral e vegetal, além do turismo e da recreação, entre muitas outras (POLETTE; ASMUS, 2015).

A costa litorânea brasileira possui aproximadamente 8 mil quilômetros de extensão, onde concentram-se 47,5 milhões de pessoas, ou seja, cerca de 27% da população reside em municípios localizados na zona costeira (IBGE, 2010). O progressivo crescimento populacional exerce uma intensa pressão sobre esta região, promovendo, diretamente ou indiretamente, diferentes formas de impactos adversos sobre a dinâmica dos seus ecossistemas, afetando a qualidade dos recursos e a biota (POLETTE; ASMUS, 2015). Geralmente, esses impactos estão associados com a habitação e urbanização, atividades portuárias, industrialização e turismo ao redor da zona costeira (NEVES; MUEHE, 2010). Conseqüentemente, os ambientes costeiros e corpos hídricos tornam-se receptores de contaminação oriunda das atividades antrópicas, principalmente do despejo direto de substâncias químicas orgânicas e inorgânicas pelo esgoto industrial e sanitário (FERNANDES et al., 2018).

Neste contexto, o saneamento básico torna-se item fundamental para a manutenção e administração do despejo de contaminantes nos ambientes aquáticos. A estruturação eficiente do sistema de saneamento básico, somada à sua ampla distribuição e ampliação da rede de atendimento (tais como redes de abastecimento de água, esgotamento sanitário, limpeza urbana, drenagem urbana, manejos de resíduos sólidos e de águas pluviais) contribuem positivamente para o desenvolvimento social e econômico da sociedade (VIKAS; DWARAKISH, 2015). Segundo o Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS, 2021), disponibilizado pela Secretaria Nacional de Saneamento do Ministério do Desenvolvimento Regional, até o ano de 2019 o Brasil cobriu 54,1% do atendimento da

demanda requerida de redes de esgoto, ou seja, aproximadamente 100 milhões de brasileiros permanecem ainda sem acesso a redes de captação do esgoto doméstico produzido. Ademais, apenas 49,1% dos efluentes domésticos produzidos no país são tratados (SNIS, 2019), portanto, o restante não tratado ou mesmo não coletado, é lançado *in natura* nos compartimentos hídricos, afetando diretamente a saúde humana e o meio ambiente.

No grupo de compostos classificados como poluentes aquáticos estão incluídos produtos químicos diversos, como agrotóxicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, bifenilas policloradas, compostos químicos derivados de efluentes industriais e sanitários diversos, metais, e, mais recentemente, a evolução dos métodos analíticos e a intensificação das investigações sobre agentes químicos potencialmente poluidores, trouxeram à tona uma nova perspectiva sobre contaminantes. Esse grupo de contaminantes ou xenobióticos, pouco estudados até o momento, ou mesmo desconhecidos, ou ainda não reconhecidos, é denominado como contaminantes emergentes (CE) (PATEL et al., 2019).

Os CE são considerados substâncias, principalmente associadas à presença antrópica, sendo encontradas em baixas concentrações no ambiente, na faixa de concentração entre ng L^{-1} até $\mu\text{g L}^{-1}$, e que apresentam uma mobilidade complexa e dinâmica (consumo/disponibilidade) e dadas características químicas podem causar efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente (BALMER et al., 2005, RODIL et al., 2009). A lista dos CE inclui: fármacos (como, diclofenaco, ibuprofeno, paracetamol), drogas ilícitas (metanfetaminas, heroína, cocaína), aditivos sintéticos industriais (2,6-diterc-butil-p-creso; BHT e 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol; BHA), pesticidas (diclorodifeniltricloroetano, DDT; triazinas; rotenona), produtos de cuidado pessoal (*personal care products* – PCP), entre muitos outros (GIL et al., 2012).

Comumente, estes contaminantes são introduzidos nos compartimentos aquáticos em larga escala a partir de diversas vias: efluentes de origem doméstica, industrial, agrícola, hospitalar, não ou parcialmente tratados em estações de tratamento de esgoto (ETE) e estações de tratamento de água (ETA) (RICHARDSON; KIMURA, 2016). A maior parte dos CE ainda não se encontra especificada em legislações e o conhecimento a seu respeito é escasso, devido, principalmente, à complexidade das suas características físico-químicas, ampla distribuição, ocorrência, mobilidade e detecção nos compartimentos ambientais, bem como, a preocupação ainda inicial por parte da comunidade científica (PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015). Além disso, como mencionado acima, grande parte destes compostos não é totalmente removida pelos tratamentos convencionais de água e esgoto,

tonando sua presença praticamente constante no ambiente (ubíquos), o que os torna, ou deveria torná-los preocupação iminente de entidades reguladoras e científicas (RICHARDSON; KIMURA, 2016).

Os efeitos advindos do lançamento destes efluentes podem ser diversos, como decorrentes de sua bioacumulação e biomagnificação, ou de sua presença em concentrações tóxicas, afetando a saúde humana e de outros organismos a eles expostos. Por outro lado, seus efeitos podem estar associados ao aumento da disponibilidade de nutrientes (principalmente, fósforo e nitrogênio), a consequente eutrofização artificial do ambiente, a subsequente anoxia, podendo, conseqüentemente, acarretar mortalidade da biota aeróbica. Assim sendo, esse efeito conjunto sobre os parâmetros físicos e químicos da água, afeta significativamente a qualidade dos recursos e do ambiente hídrico (YILDIRIM; TOPKAYA, 2012).

Os PCP representam uma categoria de contaminantes emergentes que engloba uma variedade de substâncias de uso regular no cotidiano, como fragrâncias, perfumes, pastas de dente, repelentes, sabonetes, cremes e protetores solares/filtros ultravioletas (UV) (BRAUSCH; RAND, 2011). O Brasil ocupa o 4º lugar no ranking dos maiores consumidores globais de PCP, atrás dos EUA, China e Japão, equivalente a 4,9% do mercado mundial; percentual liderado por fragrâncias, desodorantes e produtos masculinos. correspondendo a um total de USD 23,7 bilhões em vendas no ano de 2020 (ABIHPEC, 2021).

Além da via por efluentes, os PCP podem ainda alcançar o ambiente aquático de forma direta, a partir do uso regular dos produtos em áreas recreativas (BU et al., 2013). Por conta do seu uso constante e propriedades físico-químicas, os PCP são comumente detectados nas camadas mais superficiais dos ambientes aquáticos. No entanto, em comparação com os fármacos, sabe-se relativamente pouco sobre a sua mobilidade e toxicidade (RICHARDSON et al., 2009). Apesar disso, é crescente a preocupação científica quanto ao destino, concentrações ambientais e os efeitos potenciais desta categoria de produtos sobre a biota aquática.

1.2 FILTROS ULTRAVIOLETA

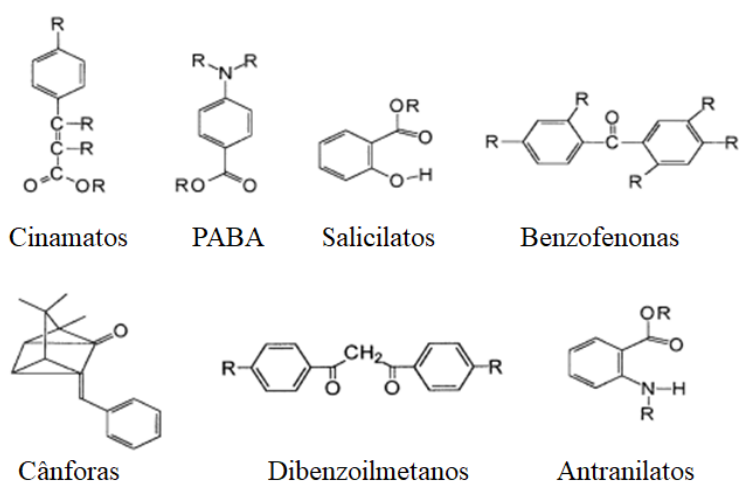
O espectro solar de radiação ultravioleta (UV) compreende os comprimentos de onda que variam entre 200 e 400 nm, sendo a faixa de 290 – 320 nm correspondente à radiação UVB e a faixa 320 – 400 nm à radiação UVA. Ambas as faixas do espectro são capazes de induzir efeitos biológicos adversos de forma direta ou indireta, ao causar estresse oxidativo,

danos à macromoléculas celulares (lipídeos, proteínas e DNA), danos a derme humana, fotoenvelhecimento, múltiplos efeitos sobre o sistema imune e, em casos mais graves, mutações celulares (OSTERWALDER; SOHN; HERZOG, 2014).

Tendo em vista estes efeitos, bem como a crescente incidência de casos de câncer de pele na população, torna-se cada vez mais importante e indispensável o uso de filtros solares, para prevenção e redução dos danos causados pelas longas exposições à radiação UVA e UVB. Dentre estes, os filtros UV são considerados ingredientes ativos, orgânicos ou inorgânicos (minerais), de protetores solares, com propriedades fotoquímicas relevantes.

Os filtros orgânicos atuam absorvendo a radiação solar de alta energia e transformando-a em ondas eletromagnéticas da região do visível ou infravermelho, ou seja, radiações de menor energia. Neste processo as moléculas em seu estado fundamental absorvem a energia da radiação UV, atingem seu nível de mais alta energia (estado excitado) e retomam ao seu estado inicial, após dissiparem esta energia na forma de radiação na faixa do infravermelho, visível ou UV alto. Geralmente, os filtros orgânicos são compostos por substâncias aromáticas conjugadas com um grupo carbonila e são subdivididos quanto ao espectro de atuação: benzofenonas, antranilatos e dibenzoilmetanos, com atuação UVA; salicilatos, cinamatos, derivados do ácido *p*-aminobenzóico (PABA) e cânfora, para UVB (CHISVERT; SALVADOR, 2007).

Figura 1: Estruturas químicas dos principais grupos de filtros UV orgânicos.



Fonte: adaptado de SERPONE et al. (2002).

Letras R indicam as posições de radicais orgânicos específicos, que caracterizam os derivados em cada categoria.

Diferentemente, os filtros inorgânicos têm como mecanismos principais de ação a reflexão e/ou dispersão (ou espalhamento) da radiação incidente. Os filtros UV inorgânicos permitidos para uso comercial são representados principalmente por dois óxidos de uso geral sob forma de nanopartículas: dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO). Atualmente, estes filtros são considerados mais seguros e eficazes na proteção da pele humana, devido à baixa capacidade de irritação e grau de alergenicidade e por fornecerem proteção em espectro mais amplo das radiações UVA e UVB (CHISVERT; SALVADOR, 2007). Além disso, são considerados alternativas com menor potencial de riscos ao meio ambiente (MANAIA et al., 2013).

De forma geral, os filtros orgânicos são considerados mais instáveis que os inorgânicos e esta fotoinstabilidade se dá, principalmente, pelo seu mecanismo de ação, que promove a geração de radicais livres, conseqüentemente, causando danos ao colágeno, elastina e células da derme (SERPONE et al., 2002). Apesar dos pontos positivos apresentados, a aparência cosmética deixada por filtros UV inorgânicos sob a forma de uma película esbranquiçada sobre a pele e o maior custo de comercialização são considerados pontos negativos pelos consumidores, popularizando, portanto, os filtros UV orgânicos, os quais dominam o mercado de produtos de proteção solar (CHAIYABUTR et al., 2021).

Os protetores solares são formulados com dois componentes principais: os filtros UV e os veículos, que podem ser loções hidroalcoólicas, emulsificantes, emolientes e géis. Em termos gerais, os veículos têm como objetivo promover a solubilização de filtros UV cristalinos; auxiliar na fotoestabilização dos agentes protetores foto instáveis, levando, conseqüentemente, à redução da degradação molecular e da produção de subprodutos menos eficientes quanto à fotoproteção, além de promoverem uma sensação agradável e não oleosa à pele (WANG; BALAGULA; OSTERWALDER, 2010).

Em alguns produtos, são ainda incluídos ingredientes de caráter antioxidante, como Vitaminas A, C e E; carotenóides, flavonóides, polifenóis e selênio. Estes componentes são incluídos visando a hidratação e a redução do estresse oxidativo, minimizando os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) em lipídeos, em aminoácidos nas proteínas e nas bases nitrogenadas do DNA, evitando assim a formação de lesões e a perda de integridade celular (CHEN; HU; WANG, 2012).

Normalmente, as formulações tradicionais de protetores solares contam com uma combinação de filtros UV orgânicos e inorgânicos, para a obtenção de um alto desempenho de

proteção UV, manutenção da aparência estética agradável e minimização de reações de sensibilização da pele. Portanto, para a formulação de protetores solares leva-se em consideração as características físico-químicas de cada filtro: incluindo sua fotodegradação, a formação de radicais livres, a transferência de energia e o rearranjo molecular de cada substância (LIM; DRAELOS, 2009).

Além de comporem os protetores solares, essas substâncias também são ingredientes comuns em cosméticos, shampoos, condicionadores, cremes dérmicos e também como agentes fotoprotetores na prevenção da degradação de polímeros e pigmentos em produtos têxteis, tintas e embalagens plásticas (BALMER et al., 2005; XUE; LIU; KANNAN, 2017).

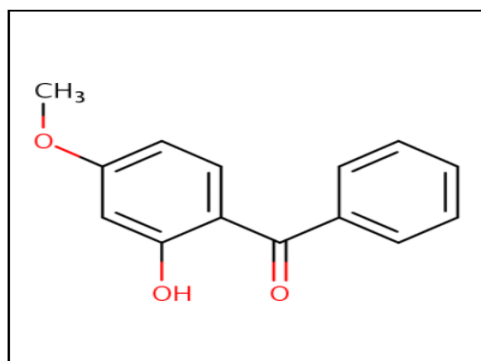
Portanto, os filtros UV estão incorporados nos hábitos cotidianos da população, podendo, conseqüentemente, estar presentes no ambiente aquático, principalmente durante a intensificação das atividades recreativas no verão (EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2017). Na América Latina, o Brasil ocupa o primeiro lugar no mercado consumidor de protetores solares (48,6 % do total do mercado), principalmente no formato de loção, com consumo anual médio de 70 mL *per capita* (ABIHPEC, 2021).

1.2.1 Benzofenona-3 (BP-3)

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável pela regulamentação sobre os filtros UV permitidos em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. A agência autoriza um total de 39 moléculas para uso em formulações de produtos de proteção solar, com concentrações na faixa de 2 a 25% (ANVISA, 2016). Dentre eles, a Benzofenona-3 (BP-3; 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, ou Oxibenzona), uma substância derivada da benzofenona (componente da família das cetonas aromáticas), é considerada um dos principais filtros UV orgânicos utilizado em aplicações tópicas como filtro solar, responsável pela fotoproteção UVA, na região de 300 a 360 nm e UVB, entre 290 a 320 nm, com picos de absorção em 288 nm e 325 nm (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Dentre os filtros UV orgânicos permitidos para uso, a BP-3, o octocrileno, a 4-metilbenzilideno cânfora (4-MBC), o metoxicinamato de octila (OMC) e a avobenzona têm sido os filtros UV mais frequentemente usados em formulações fotoprotetoras nos últimos 40 anos (SCHNEIDER; LIM, 2019).

Figura 2: Estrutura molecular da Benzofenona-3 (C₁₄H₁₂O₃).



Fonte: Adaptado da US EPA (2021).

Em vermelho estão as ligações químicas específicas, que caracterizam a Benzofenona em -3.

Segundo o DrugBank (2021), a BP-3 é ingrediente de um total de 6952 produtos para proteção solar e cosméticos produzidos nos EUA e Canadá. Ainda de acordo com a mesma fonte, a BP-3 tem interação com mais de 600 outras drogas legalizadas, além de 35 formas de uso em produtos amplamente comercializados, como loções, sprays, emulsões, aerossóis, cremes, óleos, shampoo, géis, tecidos, pastas, pomadas, entre outros.

A BP-3 é uma substância de cor amarelo claro, com propriedades lipofílicas consideráveis, apresentando um coeficiente de partição água-octanol mediano ($\log K_{ow} = 3,79$) (US EPA, 2021). O coeficiente de partição é um indicador do destino ambiental dos filtros UV, traduzindo como eles são distribuídos entre o octanol (que representa os lipídios ou gorduras na biota) e a água (fase aquosa). Substâncias que apresentam valores de $\log K_{ow}$ próximos a 4 são consideradas substâncias de caráter hidrofóbico, enquanto valores mais altos (>10) são consideradas não biodisponíveis (RAMOS et al., 2016).

A BP-3 apresenta baixa solubilidade em água (6 mg L^{-1}) e alto peso molecular ($228,24 \text{ g mol}^{-1}$), o que lhe confere um amplo espectro de proteção, pois dificulta a penetração cutânea e conseqüentemente, minimiza reações indesejáveis na pele (US EPA, 2021). De forma geral, os filtros UV orgânicos são considerados fotolábeis. No entanto, a BP-3 apresenta propriedades fotoquímicas relativamente estáveis, sendo considerada, portanto, uma substância fotoestável em meio aquoso sob condições de luz solar natural e artificial (LIU et al., 2011). Vidal-Liñán et al. (2018) observaram quedas de 18,1% da BP-3 após 48 h e 15% após 72 h em condições experimentais específicas (aquários com água do mar filtrada; 34 ups e 16°C). Ademais, Paredes et al. (2014) observaram queda média de 23% em unidades

experimentais incubadas sob 20°C após 48 h. Em ambos estudos, a BP-3 demonstrou notável estabilidade em água do mar filtrada.

A BP-3 apresenta lenta biodegradação, tendência a adsorção em material particulado em suspensão e sedimentos, baixo potencial de volatilização na superfície da água do mar, resistência às variações das condições oceanográficas, persistência considerada maior no inverno em latitudes médias e com grande potencial de bioacumulação, tornando-se, assim, um potencial agente contaminante (ZHANG et al., 2017).

Apesar da exposição humana à BP-3 não ser diretamente associada a efeitos adversos à saúde e a sua toxicidade aguda ser considerada baixa, a absorção cutânea e sistêmica merecem atenção como alvos toxicológicos, devido ao seu carácter lipofílico, que a torna uma molécula com penetrabilidade cutânea razoável, amplamente encontrada em fluidos corporais e excretada principalmente pela urina e fezes (JIANG et al., 1999). No entanto, pouco se sabe sobre os produtos de sua transformação metabólica, decorrentes das vias de biotransformação da BP-3 em humanos.

Após a administração dérmica e oral em camundongos sob condições laboratoriais, a BP-3 foi metabolizada por reações de fase I e fase II, assim como muitos xenobióticos, resultando em formas conjugadas, sendo algumas mais tóxicas (como por exemplo, 2,4-dihidroxibenzofenona), as quais foram, subsequentemente, excretados pela urina (rota prioritária), e, em seguida, pelas fezes (KADRY et al., 1995; OKEREKE et al., 1993). De forma geral, a BP-3 apresenta uma rápida absorção pelas vias dérmica e oral, sendo detectada frequentemente em amostras de urina, apesar da sua biodisponibilidade via pele ser diferente daquela observada por via oral, bem como, apresentar distribuição diferencial entre os tecidos e órgãos (JANJUA et al., 2005).

Calafalt et al. (2008) analisaram amostras de urina de crianças, adolescente e adultos norte-americanos (6–11, 12–19, 20–59 e ≥ 60 anos, respectivamente), gênero masculino e feminino, em três grupos raciais/étnicos distintos (negro não hispânico, branco não hispânico e mexicano-americano). Os pesquisadores detectaram BP-3 em 96,8% das amostras, com média geométrica de 22,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ (variando de 0,4 a 21.700 $\mu\text{g L}^{-1}$), bem como, concentrações médias maiores em mulheres e pessoas brancas não hispânicas, independentemente da idade. Os autores interpretaram os resultados como reflexo de prováveis diferenças no uso de PCP pelos grupos analisados.

Por outro lado, Zhang et al. (2013) em um estudo em população chinesa detectaram concentrações de BP-3 em amostras de urina de adultos (25% das amostras); em amostras de

sangue total de crianças (30%), adultos (83%) e mulheres grávidas (35%), além de amostras de sangue do cordão umbilical (55%). Em termos gerais, as concentrações de BP-3 variaram entre 0,11 e 46,1 ng mL⁻¹, sendo as maiores concentrações encontradas na urina de adultos (mediana = 5,55 ng mL⁻¹), homens e mulheres, principalmente nos usuários frequentes de PCP.

Wang, Kannan (2013) compararam as concentrações de BP-3 detectadas em amostras de urina de crianças e adultos, residentes nos EUA e China. Os resultados mostraram a presença da substância em mais de 99% das amostras, sendo, no geral, a média geométrica da concentração de adultos maior do que aquela observada em crianças. Nos EUA, as concentrações determinadas nas amostras provenientes de crianças (9,97 ng mL⁻¹) e adultos (15,7 ng mL⁻¹) foram significativamente maiores em comparação com os valores encontrados em crianças (0,622 ng mL⁻¹) e adultos (0,977 ng mL⁻¹) na China.

Kunisue et al. (2012) observaram a presença de BP-3 e seus metabólitos em 83,8 % das amostras de urina de mulheres adultas norte-americanas. Foram observadas ainda diferenças regionais e sazonais significativas. Além disso, houve uma tendência de as maiores concentrações estarem associadas a maiores índices econômicos, peso e idade.

Além disso, a exposição humana à filtros UV também se dá pelo leite materno. Um estudo detectou a BP-3 em 13% de amostras de leite humano, sendo a faixa de concentração variável entre 7,30 e 121,40 ng g⁻¹ de lipídeo do leite (SCHLUMPF et al., 2010). Com base em questionários aplicados aos participantes, o estudo, mostrou haver uma correlação significativa entre o uso de PCP contendo filtros UV e a sua detecção nas amostras de leite.

No geral, as pesquisas sugerem uma ampla exposição das populações em termos globais a este contaminante, apesar das diferenças nas frequências e concentrações observadas entre os diferentes grupos étnicos/raciais, classes sociais, gêneros e faixas etárias, indicando também possíveis diferenças na frequência e consumo de PCP (KRAUSE et al., 2012).

1.2.1.1 Presença da BP-3 em matrizes ambientais

Em geral, as fontes de entrada de BP-3 nos compartimentos ambientais podem ocorrer por via direta (pontual), pelo uso de protetores e cosméticos durante atividades recreativas aquáticas (em piscinas, lagoas, praias, reservatórios), ou indireta (difusa), por águas residuais (residenciais, industriais e por escoamento superficial) (GIOKAS; SALVADOR; CHISVERT, 2007).

O esgoto urbano é considerado a principal causa da poluição marinha, especialmente em zonas costeiras, uma vez que estas apresentam uma alta densidade populacional. Além disto, o crescimento do turismo costeiro global e uma maior preocupação com doenças causadas pela exposição aos raios UV intensificaram o uso de protetores solares nos últimos anos, aumentando, conseqüentemente, a presença dos filtros UV nos diferentes compartimentos ambientais (SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015; TOVAR-SÁNCHEZ; SÁNCHEZ-QUILES; RODRÍGUEZ-ROMERO, 2019).

Assim, ao longo dos últimos 20 anos, foi crescente o interesse de pesquisadores na detecção e avaliação da presença de filtros UV nesses compartimentos. Estudos demonstram que há uma relação direta entre o número de banhistas em áreas marinhas recreativas e a concentração de filtros UV na coluna d'água, sendo assim, esta atividade recreativa é considerada uma das principais fontes dessas substâncias no ambiente marinho (SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015). Estima-se que pelo menos 25% da quantidade de protetores solares aplicada é lavada durante o banho e a natação, principalmente no verão, sendo assim responsável por uma liberação de 4000 a 6000 toneladas ano⁻¹ de filtros UV em áreas de recife (DANOVARO et al., 2008).

Além disso, os filtros UV também são agentes fotoprotetores importantes usualmente incorporados em embalagens plásticas, podendo, assim, estar presentes sob a forma de microplásticos e alcançarem os compartimentos aquáticos também por esta via (O'DONOVAN et al., 2020).

Quanto à emissão de efluentes no ambiente, há duas formas tradicionais adotadas para disposição do esgoto urbano: tratamentos primário e secundário em sistemas de tratamento de esgoto e o sistema de emissários submarinos. No entanto, muitos filtros UV não são removidos totalmente nestes processos, devido a insuficiência das tecnologias convencionais utilizadas. Alguns estudos indicam que a eliminação da BP-3 em estações de tratamento de água (ETA) é parcial, na faixa de 68-96%, porém apesar desses valores indicarem uma remoção significativa, geralmente, desconsideram-se a presença dos possíveis metabólitos tóxicos gerados e a infraestrutura das estações de acordo com cada região (DÍAZ-CRUZ; LLORCA; BARCELÓ, 2008; PAI et al., 2020). Em contato com águas cloradas, como em piscinas recreativas e em ETA, a BP-3 e outros filtros UV orgânicos podem produzir subprodutos clorados tóxicos (exemplo, subprodutos de desinfecção bromados), devido à alta reatividade destas substâncias com a molécula de cloro (MANASFI et al., 2015; ZHUANG et al., 2013).

Os filtros UV orgânicos podem ser degradados de diferentes formas: fotoisomerização, fotólise direta e/ou indireta, decomposição em estações de tratamento de esgoto (ETE), ou metabolização, realizada principalmente pelos rins e fígado, após aplicação tópica e assim excreção de metabólitos (DÍAZ-CRUZ; LLORCA; BARCELÓ, 2008). O processo de fotólise promove a decomposição ou dissociação das moléculas em fragmentos reativos, como radicais livres. A fotólise direta é considerada o principal processo de fotodegradação da BP-3, porém este processo é consideravelmente lento para a substância (VIONE et al., 2013). Por outro lado, a fotoisomerização pode gerar subprodutos potencialmente tóxicos e/ou menos eficientes na absorção da radiação UV em comparação aos filtros originais (DÍAZ-CRUZ; LLORCA; BARCELÓ, 2008).

A BP-3 pode sofrer desmetilação e conjugação, por exemplo, com ácido glucurônico e sulfato (KANDRY et al., 1995). Além disso, pode ser convertida em metabólitos fotoquimicamente menos eficazes ou até com maior toxicidade, como BP-1, BP-8, 2,4-dihidroxibenzofenona (DHB), 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (DHMB) e 2,3,4-trihidroxibenzofenona (THB), sendo a via de conjugação com ácido glucurônico considerada uma via importante de eliminação de fase II pela urina (OKEREKE; ABDEL-RHAMAN; FRIEDMAN, 1994). No entanto, apesar dos processos de fotodegradação e formação de metabólitos, a BP-3 é considerada uma substância fotoquimicamente mais estável que outros filtros UV orgânicos em água pura, doce e salgada, apresentando, portanto, razoável estabilidade contra degradação abiótica (LI et al., 2016).

Apesar de os filtros UV não apresentarem tempos de meia vida longos e sofrerem diversas formas de degradação ao longo de sua distribuição e permanência no ambiente, sua entrada contínua nos ambientes aquáticos lhes confere um caráter de substâncias pseudopersistentes. Portanto, a frequência com que são introduzidos no meio é maior do que aquela necessária para sua remoção (KIM; CHOI, 2014).

Em ambientes aquáticos, a presença de BP-3 é relatada em vários níveis, dependendo principalmente da localização da amostra, das características meteo-oceanográficas e da intensidade das atividades turísticas e recreativas. Há relatos da presença de BP-3 em níveis considerado baixos, ou seja, na escala de ng L^{-1} em águas superficiais, até níveis mais elevados na escala de $\mu\text{g L}^{-1}$ em águas balneares, piscinas e águas residuais, como é possível verificar na Tabela 1, onde constam dados referentes ao levantamento bibliográfico realizado, focado em publicações que relatam a detecção e quantificação da BP-3 em amostras advindas de matrizes aquáticas.

Tabela 1: Concentrações ambientais de benzofenona-3 (BP-3) detectadas em matrizes aquáticas de diferentes regiões do mundo e seus respectivos métodos analíticos de quantificação.

LOCAL	AMBIENTE	CONCENTRAÇÃO	MÉTODOS	REFERÊNCIA
Alemanha	ETE	0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$	MSPE	MOEDER et al., 2010
Antártica	Lago	0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS	EMNET et al., 2015
	Água do mar	0,01 – 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE GC-MS	
Ártico	Água do mar	0,01 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	TSUI et al., 2014
Austrália	Estuários	0,004 – 0,007 $\mu\text{g L}^{-1}$	ESI – HPLC-MS/MS SPE	ALLINSON et al., 2018
	<i>input</i> bruto ETE	0,4 – 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS SPE	O'MALLEY et al., 2019
Brasil	Reservatório	0,32 – 2,10 $\mu\text{g L}^{-1}$	ESI – HPLC SPE	POMPEI et al., 2019
	Rios	0,02 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-MS/MS SPE	DA SILVA; EMÍDIO; MARCHI, 2015
China	ETA	0,02 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS/MS	
	Água do mar	0,03 – 5,42 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE ESI – HPLC-MS/MS	TSUI et al., 2014
Eslovênia	Piscinas	0,10 – 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	CUDERMAN; HEATH, 2007
	Lagos	0,03 – 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MSD	
Espanha	Rios	0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	PAREDES et al., 2014
	Água do mar	0,02 – 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$		
	Água do mar	0,03 – 0,24 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC– qTOF-MS DLLME	TOVAR-SÁNCHEZ et al., 2013
	Lençol freático	0,004 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS SPE	GAGO-FERRERO et al., 2013
	Rios	0,004 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-ESI-MS/MS	
	efluente ETE	0,008 – 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$		
	<i>influent</i> ETE	0,07 – 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$		

	Água do mar	0,20 – 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$	DLLME GC-MS	BENEDÉ et al., 2014
	Água de torneira	0,02 – 0,29 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE GC-MS	DÍAZ-CRUZ et al., 2012
	Água do mar	1,34 – 3,30 $\mu\text{g L}^{-1}$	DLLME GC-MS	TARAZONA et al., 2010
EUA	Água do mar	692 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPME	VILA et al., 2016
	Rios	230 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS / MS	
	Estuário	0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE LC-MS/MS	HE et al., 2019a
	Estuário	0,03 – 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE LC-ESI-MS/MS	HE et al., 2019b
	ETE	0,84 – 6,87 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE GC-MS	LORAINE; PETTIGROVE, 2006
	Água do mar	0,02 – 0,60 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE ESI – HPLC-MS/MS	TSUI et al., 2014
	Água do mar	0,01 – 2,01 ng L^{-1}	SPE GC-MS	BRATKOVICS; SAPOZHNIKOVA, 2011.
França	Lago artificial	<0,003 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE LC-MS/MS	FAGERVOLD et al., 2019
Grécia	Rios	2,03 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE HPLC-MS/MS	DÍAZ-CRUZ e al., 2019
	Piscinas	2,40 – 3,30 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPME	LAMBROPOULOU et al., 2002.
Havaí	Esgoto	8,20 – 9,90 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS	
	Água do mar	5 - 19,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE GC-MS e LC-MS	DOWNS et al., 2016
Ilhas Canárias	Água do mar	0,01 – 3,31 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE UPLC-DAD	RODRÍGUEZ; SANZ; RODRÍGUEZ, 2015
Ilhas Virgens Americanas	Água do mar	0,11 - 607 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE GC-MS	BARGAR; ALVAREZ; GARRISON, 2015
	Água do mar	75 – 1.400 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	DOWNS et al., 2016

Itália	Água do mar	0,03 – 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS e LC-MS	NGUYEN et al., 2011	
	Piscina de água salgada	0,02 – 0,21 $\mu\text{g L}^{-1}$	SBSE-LD		
	<i>influent</i> ETE	0,03 – 0,55 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-MS/MS	MAGI et al., 2012	
	efluente ETE	0,005 – 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$	SBSE-LD		
	Rios	0,003 – 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-MS/MS		
Japão	Água do mar	0,003 – 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	KAMEDA; KIMURA; MIYAZAKI, 2011	
	Rios	0,01 – 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$			
	Lagos	0,002 – 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$			GC-MS
	ETE	0,02 – 0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$			
	Água do mar	0,02 – 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$			SPE
Noruega	Água do mar	1,34 $\mu\text{g L}^{-1}$	ESI – HPLC-MS/MS	TASHIRO; KAMEDA, 2013	
	Água do mar	0,005 – 0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	LANGFORD; THOMAS, 2008	
	Água do mar	0,005 – 0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS		
País de Gales	Rios	0,01 – 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	KASPRZYK-HORDERN; DINSDALE; GUWY, 2008	
			UPLC-ESI/MS/MS		
Suíça	Rios	0,05 – 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE	FENT; ZENKER; RAPP, 2010	
	Lagos	0,002 – 0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$	GC-MS e LC-MS	POIGER et al., 2004	
Taiwan	Água do mar	0,003–1,23 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE		KUNG et al., 2018
	ETE	0,01 – 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC – MS/MS	WU; CHEN; DING, 2013	
	Rios	0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$	UA-DLLME		
			GC-MS		

$\mu\text{g L}^{-1}$: microgramas por litro; ng L^{-1} : nanogramas por litro; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; ESI: ionização por electrospray; GC-MSD: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com detector seletivo; GC-MS: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; HPLC-MS: cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas; LC-MS: cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas; LC- qTOF-MS: cromatografia líquida acoplada a espectro de massas quadruplo-tempo de voo; MSPE: extração em fase sólida magnética; SBSE-LD: extração sortiva em barra de agitação-dessorção líquida; SPE: extração em fase sólida; SPME: microextração em fase sólida; UA-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom; UPLC-DAD: cromatografia líquida de ultra performance acoplada a detector de arranjo de diodos.

A maior parte das amostras são coletadas durante o verão, pois espera-se uma maior entrada direta de filtros UV, devido à alta incidência de turistas e banhistas, bem como, uma maior tendência do uso de protetores solares neste período. Variações sazonais foram observadas na Suíça (POIGER et al., 2004), Noruega (LANGFORD; THOMAS, 2008), Japão (SANKODA et al., 2015) e Coréia (KIM et al., 2017), onde as concentrações mais baixas foram observadas no inverno.

Os filtros UV tendem a apresentar maiores concentrações em praias mais abrigadas, devido à circulação de água mais restrita, nas camadas superficiais da coluna de água, devido à sua solubilidade relativamente baixa e em áreas mais próximas à faixa de areia, onde há maior concentração de banhistas (LABILLE et al., 2020).

A concentração mais alta de BP-3 ($1.400 \mu\text{g L}^{-1}$) foi encontrada nos EUA, na Baía de Trunk (Ilhas Virgens dos EUA). As amostras foram coletadas em áreas de recifes de coral aproximadamente ao meio-dia, quando mais de 180 nadadores estavam presentes na baía no momento da amostragem a baía recebe até 2.000 visitantes por dia no pico da temporada turística) (DOWNS et al., 2016). No mesmo estudo, em amostras coletadas no Havaí (EUA), um valor alto foi detectado ($19,2 \mu\text{g L}^{-1}$), especificamente na Baía de Maunaloa. A amostragem foi realizada durante o verão em uma praia com a presença de mais de 500 nadadores por dia no pico da temporada turística. A segunda maior concentração de BP-3 foi registrada na Espanha ($692 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água coletadas durante o verão em diferentes zonas balneares (VILA et al., 2016).

No Brasil, a BP-3 foi quantificada em rios importantes para o abastecimento de municípios do Estado de São Paulo, durante o verão e o inverno, sendo encontrada na faixa de 0,02 a $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ (SILVA; EMÍDIO; MARCHI, 2015). Ainda neste estudo, houve monitoramento da substância em diferentes etapas de ETA e os níveis detectados ficaram na mesma faixa de concentração, tanto na água bruta, quanto na água tratada e clorada, indicando que a BP-3 não foi removida pelo processo de tratamento da água utilizado. Em outro estudo realizado também no Estado de São Paulo, no reservatório do Lobo, a BP-3 foi detectada em praticamente todas as amostras coletadas, estando presente na faixa de 0,32 a $2,10 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses resultados foram atribuídos ao uso recreativo intenso do reservatório e às descargas de efluentes residenciais proximais (POMPEI et al., 2019). Até o momento, não constam trabalhos publicados envolvendo a detecção ou quantificação de BP-3 em matrizes marinhas no Brasil.

O'Malley et al. (2019) detectaram concentrações significativas de filtros UV em ETE na Austrália, onde a coleta de esgoto cobre 48% da população, e estimaram uma carga de 32 kg de 6 filtros UV comerciais distintos lançados diariamente, compreendendo 2,3 kg de BP-3 e uma carga *per capita* média de 0,16 mg d⁻¹ p⁻¹. Outra estimativa de *input* direto de filtros UV foi realizada por Poiger et al. (2004) em lagos recreativos na Suíça. Os resultados indicaram taxa de aplicação por banhistas de 1,3 g d⁻¹ p⁻¹, com aplicação de 107 mg p⁻¹ de BP-3 especificamente, alcançando um *input* de até 77 kg durante o verão.

Apesar deste volume ser significativo, as concentrações ambientais reais da BP-3 ainda podem variar de acordo com a taxa de aplicação pelos banhistas e do tipo de protetor solar utilizado, que variam com aspectos regionais, culturais e socioeconômicos (SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015). No Mar Adriático, Combi et al. (2016) estimaram uma carga de 4 kg de BP-3, calculada para 0,5 cm da camada superior de sedimentos, com um acúmulo anual de 0,2 kg ano⁻¹ de BP-3, sendo os rios locais considerados as principais fontes desta descarga.

As matrizes sedimentares (areia de praia, estuários, complexos lagunares e lamas) constituem um compartimento capaz de reter substâncias consideradas lipofílicas, incluindo filtros UV, bem como, propiciar uma menor fotodegradação destes filtros UV, devido a redução da penetração da luz (AMINE et al., 2012). Apesar das informações para sedimentos de origem marinha serem mais escassas, em comparação aos ambientes dulcícolas, de modo geral, as concentrações de filtros UV nos sedimentos tendem a ser maiores em amostras coletadas em áreas recreativas (fontes diretas) e próximas aos lançamentos de água residuais (fontes indiretas), principalmente os emissários submarinos (TSUI et al., 2015).

Níveis altos de filtros UV são detectados em lamas e lodos ativados recolhidas em ETE. Langford et al. (2015) avaliaram concentrações de BP-3 em amostras de lodo de ETE, aterro sanitário e lagos na Noruega. Os resultados indicaram concentrações significativamente maiores de BP-3 e outros filtros UV orgânicos nas amostras de lodo e aterro sanitário, na faixa de 0,82 a 2,11 µg g⁻¹ em peso seco (dw). Enquanto nos lagos receptores destes efluentes, as concentrações foram consideravelmente menores (<0,005 µg g⁻¹).

A BP-3 é uma substância detectada recorrentemente em amostras de sedimentos de diferentes países ao redor do mundo (ALLINSON et al., 2018; DÍAZ-CRUZ et al., 2019; GAGO-FERRERO; DÍAZ-CRUZ; BARCELÓ, 2011; KAMEDA; KIMURA; MIYAZAKI, 2011; BARÓN et al., 2013; KOTNIK et al., 2014; LANGFORD et al., 2015). No entanto, as concentrações quantificadas são relativamente mais baixas, quando comparadas aos filtros

UV orgânicos de maior lipofilicidade, como octocrileno e metoxicinamato de octila, e que apresentam $\log K_{ow}$ consideravelmente maior (6,88 e 5,80, respectivamente) (COMBI et al., 2016; GAGO-FERRERO; DÍAZ-CRUZ; BARCELÓ, 2011). Combi et al. (2016) detectaram a BP-3 em aproximadamente 50% das amostras de sedimentos de fundo coletadas ao longo do Mar Adriático na faixa de 0,02 a 0,12 ng g^{-1} .

Níveis de BP-3 (expressos por peso seco; dw) foram também detectados em sedimentos marinhos em canais de maré em Hong Kong, na faixa entre 0,05 e 39,8 ng g^{-1} dw (TSUI et al., 2015); em rios que compõem a bacia hidrográfica de Ebro, na Espanha, na faixa entre 4,9 e 27 ng g^{-1} dw (GAGO-FERRERO; DÍAZ-CRUZ; BARCELÓ, 2011); na faixa entre 2,5 e 36 ng g^{-1} dw em sedimentos de lagos e rios receptores de águas residuais tratadas, bem com, em áreas de atividades recreativas, em horários de pico, na Eslovênia e na Croácia (KOTNIK et al., 2014); entre 27 e 3880 ng kg^{-1} em amostras de solo em áreas residenciais e sob influência de efluentes industriais na Coreia (JEON et al., 2006); entre 1,42 e 2,96 ng g^{-1} dw em sedimentos de estuários ao longo de bacia hidrográfica no Chile e na faixa entre 2,52 e 5,38 ng g^{-1} dw em sedimentos costeiros na Colômbia, ambos localizados próximos a regiões altamente urbanizadas e industrializadas (BARÓN et al., 2013); e na faixa entre 5,6 – 67,2 ng g^{-1} dw na bacia hidrográfica do Alto Iguaçu, no Brasil (MIZUKAWA et al., 2017).

De acordo com Jurado et al. (2014), a combinação de $\log K_{ow}$ e pK_a é a abordagem mais adequada para estimar a mobilidade de compostos em compartimentos ambientais. Para a BP-3, os valores de $\log K_{ow}$ e pK_a (3,79 e 9,7, respectivamente), somados ao $\log K_{oc}$ (2,98 - 3,44), sugerem uma baixa mobilidade no solo e em sedimentos (ECHA, 2021). Portanto, a presença de substâncias potencialmente tóxicas no sedimento pode causar riscos aos organismos exclusivamente bentônicos e/ou com ciclo de vida associado ao fundo marinho.

Vários estudos têm relatado concentrações de filtros UV, incluindo BP-3, em diversas matrizes biológicas, principalmente em tecidos de organismos aquáticos, como bivalves (GROZ et al., 2014), crustáceos (HE; TIMM; BLANEY, 2017), enguias (FENT; ZENKER; RAPP, 2010), peixes dulcícolas (ZENKER; SCHMUTZ; FENT, 2008) e marinhos (MOLINS-DELGADO et al., 2018), mamíferos marinhos (GAGO-FERRERO et al., 2013), aves marinhas (MOLINS-DELGADO et al., 2017) e plantas aquáticas (AZNAR et al., 2017).

Devido às propriedades lipofílicas e relativa estabilidade à degradação biótica, os filtros UV tendem a acumular em tecidos biológicos adiposos e musculares, portanto, pode ocorrer bioacumulação destas substâncias em diferentes níveis tróficos, incluindo humanos

por meio da alimentação (MOLINS-DELGADO et al., 2018). Geralmente, as concentrações detectadas são relatadas em peso seco (dw), peso lipídico (lw) e peso úmido (ww).

BP3 é o filtro UV mais frequentemente encontrado em todos os tipos de biota. Cunha et al. (2015) detectaram a presença de BP-3 em pool de tecidos de peixes *Liza aurata* coletados em região estuarina de Portugal. No entanto, as concentrações mostraram-se abaixo do limite de detecção do método analítico utilizado. He, Tim, Blaney (2017) realizaram coletas de crustáceos (*Orconectes virilis* e *Procambarus clarkii*) e bivalves (*Crassostrea virginica* e *Ischadium recurvum*) nos EUA e detectaram concentrações de BP-3 na faixa entre 23,7 e 51,7 ng g⁻¹ de tecidos liofilizados.

Horricks et al. (2019) identificaram a presença de BP-3 em amostras de músculo e estômago de peixes-leões *Pterois volitans* coletadas nas adjacências das principais áreas recreativas na região de Granada, na Espanha. Os resultados quantitativos apontaram concentrações na faixa de 0.17 a 2.90 µg kg⁻¹.

Em outro estudo, a BP-3 foi detectada (3,1 a 12,4 ng g⁻¹ dw) em tecidos de peixes (*Lutjanus argentimaculatus*, *Lutjanus stellatus*, *Epinephelus lanceolatus*) provenientes de fazendas marinhas, bem como, espécies selvagens de mexilhões (*Perna viridis*) e moluscos de areia (*Macra antiquata* e *Corbicula* sp.) coletados em áreas adjacentes às mariculturas da costa de Hong Kong (SANG; LEUNG, 2016). Neste estudo, dentre todas as espécies investigadas, os bivalves apresentaram as maiores frequências de detecção para os filtros UV analisados, incluindo a BP-3, sugerindo que espécies sésseis e filtradoras podem ter mais contato com essas substâncias no ambiente marinho e assim maior possibilidade de mostrar sua bioconcentração.

Outros níveis de BP-3 foram detectados em ostras *Crassostrea virginica* e mexilhões *Ischadium recurvum* (17,0 a 118,0 ng g⁻¹) coletados na baía de Chesapeake, nos EUA (HE et al., 2019); em espécies de mexilhões (*Mytilus galloprovincialis* e *Mytilus edulis*) (51,2 a 622,1 ng g⁻¹ dw) coletados ao longo de um ano em praias turísticas de Portugal, onde as concentrações totais médias foram maiores no verão e em locais mais densamente povoados (CASTRO et al., 2018); em peixes dulcícolas (*Rutilus rutilus* e *Perca fluviatilis*) (66 a 123 ng g⁻¹ lw) amostrados em lagos recreativos na Suíça (BALMER et al., 2005); em peixes dulcícolas nativos (*Luciobarbus sclateri* e *Cyprinus carpio*) (11,2 a 24,3 ng g⁻¹ dw) capturados em rios localizados ao longo da bacia de Guadalquivir, na Espanha (GAGO-FERRERO; DÍAZ-CRUZ; BARCELÓ, 2013); na faixa de 91 a 151 ng g⁻¹ lw em peixes dulcícolas (*Salmo trutta*) de relevância para pesca e aquicultura, capturados em rios suíços

próximos à ETE (FENT; ZENKER; RAPP, 2010); em peixes marinhos (*Lutjanus campechanus*) cultivados em fazendas marinhas no estuário do Rio das Pérolas, no sul da China, nas concentrações entre 0,59 e 0,80 ng g⁻¹ dw (PENG et al., 2015) e em camarões (*Pandalus borealis*) e bacalhaus (*Gadus morhua*) capturados em fiordes na Noruega, nas concentrações de 68,9 a 1037 ng g⁻¹ (LANGFORD et al., 2015).

No Brasil, a BP-3 foi detectada amplamente (100%) em peixes marinhos (*Mugil liza*) na faixa de 10,8 a 81,4 ng g⁻¹ dw, coletados em praias na porção interna (maior influência da carga de esgoto doméstico e efluentes industriais não tratados) e externa da Baía de Guanabara (Estado do Rio de Janeiro) durante o verão (MOLINS-DELGADO et al., 2018). Neste estudo, as diferenças entre os pontos de coleta não demonstraram diferença nos níveis de BP-3. No entanto, as maiores concentrações foram detectadas no fígado (7,55 – 74,4 ng g⁻¹ dw), em comparação às concentrações determinadas no músculo e brânquias.

Além das matrizes citadas anteriormente, a presença da BP-3 já foi relatada em produtos industrializados de consumo, como água natural engarrafada, refrigerantes, sucos e bebidas proteicas (WU et al., 2019), bem como, em alimentos, poeira urbana (WANG et al., 2013) e produtos têxteis (XUE; LIU; KANNAN, 2017). Portanto, a BP-3 torna-se um alvo potencial para investigações toxicológicas, devido à sua presença ubíqua e, em termos gerais, pela sua ocorrência no ambiente e pela exposição praticamente constante à qual os organismos, incluindo os seres humanos, estão sujeitos.

1.2.1.2 Toxicidade e riscos ambientais

As concentrações seguras e eficazes de filtros UV para formulação de produtos de proteção solar variam de acordo com limites estipulados por regulamentações regionais. As concentrações máximas de BP-3 permitidas na composição total de PCP são: 5% no Japão; 6% nos EUA, Canadá, União Europeia; e 10% na China, Austrália, Nova Zelândia, África do Sul, Brasil e demais países do MERCOSUL (AHMED; LIM; DRAELOS, 2009; ANVISA, 2016)

Os limites de concentração podem refletir a máxima eficácia dos filtros UV, mas, no entanto, não representam necessariamente uma indicação representativa de toxicidade em uma concentração mais alta. Por não haver uniformidade nas regulamentações acerca das concentrações limites, sendo que, por outro lado, a intensa mobilidade de turistas entres diferentes localidades torna-se um fator de atenção, quanto a possíveis riscos associados a

propagação destas substâncias no ambiente (SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015).

Com base no Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (*Globally Harmonized System – GHS*), a BP-3 é considerada uma substância com risco ambiental considerável, tóxica para organismos aquáticos e com efeitos potenciais a longo prazo (NIH, 2021). Apesar desta indicação, as investigações científicas quanto aos riscos potenciais dessa substância no meio ambiente são recentes.

A toxicidade aguda reportada para BP-3 é considerada baixa. Entretanto, estudos mais recentes *in vitro* e *in vivo* sugerem que os filtros UV podem apresentar efeitos adversos, como persistência ambiental relativa, potencial de bioacumulação, genotoxicidade e desregulação endócrina, afetando assim o desenvolvimento dos organismos aquáticos em diferentes fases do ciclo de vida (JEON, et al., 2008; SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015). Abaixo, na Tabela 2 constam dados decorrentes de um levantamento bibliográfico recente sobre ensaios toxicológicos realizados em organismos marinhos expostos à BP-3.

Tabela 2: Dados relativos a levantamento bibliográfico acerca de trabalhos toxicológicos envolvendo organismos marinhos expostos à benz ofenonas-3 (BP-3)

ESPÉCIES	TECIDO	DOSE	DURAÇÃO	BIOMARCADORES	REFERÊNCIA
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Pool	10; 100; 1000 ng L ⁻¹	96 h	Antioxidantes, estresse oxidativo, capacidade metabólica, conteúdo de glicogênio	BORDALO et al., 2020
<i>Galaxea fascicularis</i>	Pólipos	0,31; 0,63; 1,3; 2,5; 5,0; 10 mg L ⁻¹	96 h	Morfofisiologia, níveis de Chl-a, eficiência fotossintética, LC50	CONWAY et al., 2021
<i>Stylophora pistillata</i>	Plânula	2,28; 22,8; 228 mg L ⁻¹ ; 2,28; 22,8; 228 µg L ⁻¹	24 h	Florescência de clorofila, danos ao DNA, morfologia, histopatologia	DOWNS et al., 2016
<i>Amarilladesma mactroides</i>	Brânquias, glândula digestiva, manto	1 µg L ⁻¹	96 h	Antioxidantes, estresse oxidativo	LOPES et al., 2020
Actinobactéria Bacteroidetes Firmicutes α-Proteobactérias γ-Proteobactérias	Unidade Celular	100; 200; 500; 1000; 2000; 4000 µg/L	48 h	48 h	LOZANO et al., 2020
<i>Epibacterium mobile</i>	Unidade Celular	350 µg L ⁻¹	67 h	Taxa de crescimento, proteoma	LOZANO et al., 2021

<i>Scrobicularia plana</i>	Brânquias, glândulas digestivas	1 mg L ⁻¹	14 dias	Índice de condição, biotransformação, antioxidantes, estresse oxidativo, danos ao DNA, IBR, Índice de Saúde	O'DONOVAN et al., 2020
<i>Isochrysis galbana</i>	Unidade celular	5 e 15 µg L ⁻¹	72 h	EC50, EC10, NOEC, LOEC, ERA	PAREDES et al., 2014
<i>Paracentrotus lividus</i>	Larvas	300; 3000; 30000 µg L ⁻¹	48 h		
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Larvas	300; 3000; 30000 µg L ⁻¹	48 h		
<i>Siriella armata</i>	Larvas	345; 750; 1500 µg L ⁻¹	96 h		
<i>Pocillopora damicornis</i>	Fragmentos	5; 50; 300; 1000; 2000 µg L ⁻¹	7 dias	Metabolômica	STIEN et al., 2020
<i>Artemia salina</i>	Larvas	0,02, 0,20, 2, 20, 200, 2000 µg L ⁻¹	48h	LC50	THOREL et al., 2020
<i>Tetraselmis</i> sp.	Unidade Celular	10, 100, 1000 µg L ⁻¹	7 dias	Taxa de crescimento, EC50, dano morfológico, nível de Chl-a e fluorescência, atividade metabólica celular	
<i>Stylophora pistillata</i>	Fragmentos	1 µg L ⁻¹	42 dias	Taxa de crescimento, densidade de zooxantelas, eficiência fotossintética,	WIJGERDE et al., 2020

<i>Acropora tenuis</i>				sobrevivência, microbiomas	
<i>Xenia umbellata</i>		1 μ M	7 dias	Morfofisiologia, comportamento	XIONG et al., 2021
<i>Arthrospira</i> sp.	Unidades Celular	22.8; 114; 228; 2280; 22800; 228000	7 e 20 dias	Taxa de crescimento, conteúdo de clorofila, fotossíntese, respiração, transporte de próton, conteúdo ERO, conteúdo ATP, Morfofisiologia	ZHONG et al., 2019
<i>Chlorella</i> sp.		ng L ⁻¹ ; 0.228; 2.28; 11.4 mg L ⁻¹			

μ g L⁻¹: microgramas por litro; mg L⁻¹: miligramas por litro; ng L⁻¹: nanogramas por litro; ATP: adenosina trifosfato; Chl: clorofila-a; DNA: ácido desoxirribonucleico; EC10: concentração efetiva que causa a imobilidade de 10% dos organismos; EC50: concentração efetiva que causa a imobilidade de 50% dos organismos; ERA: avaliação de risco ambiental; ERO: espécies reativas de oxigênio; IBR: Índice integrado de respostas de biomarcadores; LOEC: menor concentração de efeito observado; NOEC: concentração de efeito não observado.

Apesar das características lipofílicas consideráveis dos filtros UV, o potencial de bioacumulação da BP-3 é controverso. Dados médios de $\log K_{ow}$ e $\log K_{oc}$ (coeficiente de adsorção para matéria orgânica), sugerem baixa mobilidade no solo e em sedimentos, bem como, fatores de bioacumulação moderado a alto em peixes ($BCF = 33-160$), sugerem que a substância tem um potencial baixo a médio de bioacumulação em espécies aquáticas e terrestres (ECHA, 2021).

Vidal-Liñán et al. (2018) avaliaram a cinética de bioacumulação de filtros UV, incluindo a BP-3 em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* expostos com concentrações ambientalmente relevantes ($1 \mu\text{g L}^{-1}$), por 30 dias. Os resultados indicaram concentrações na faixa de <LOQ (em animais antes da exposição) até $80 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ (após 24 h de exposição). Em seguida, após 20 dias de depuração, as concentrações alcançaram <LOQ. Tais resultados indicaram padrões de bioacumulação da BP-3 limitados nas primeiras 48 h de exposição, com subsequente redução, sugerindo a capacidade de biotransformação desta substância por mexilhões.

Olmos-Espejel et al. (2020) investigaram o potencial de bioacumulação de 5 filtros UV orgânicos comercialmente relevantes (BP-3, octocrileno, 4-metilbenzilideno cânfora, 2-etilhexil-4-metoxicinamato e avobenzona) em tilápias (*Oreochromis urolepis hornorum*). Para tal, os animais foram expostos à $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada substância durante 72 h. Os resultados apontaram maior acúmulo de BP-3 nos tecidos no início (1350 ng g^{-1}) até o final (2900 ng g^{-1}) do experimento, sugerindo que mesmo sendo menos lipofílica que os outros filtros UV, a BP-3 pode apresentar maior biodisponibilidade e, portanto, potencial de bioacumulação relativamente maior. No entanto, a bioacumulação dessas substâncias parece variável devido à metabolização e excreção por cada espécie (VIDAL-LIÑÁN et al., 2018).

Estudos *in vitro* indicam que a BP-3 pode exibir atividade estrogênica, antiestrogênica e antiandrogênica em diferentes níveis (KUNZ; FENT, 2006), além de efeitos sobre o sistema reprodutivos e no desenvolvimento de organismos (SCHLECHT et al., 2004; SCHLUMPF et al., 2004). No entanto, a biotransformação das benzofenonas pode ter influência direta nos seus efeitos, como interferentes endócrinos. A BP-3 pode ser metabolizada no corpo humano, gerando vários metabólitos, como BP-1 e/ou BP-8, que podem apresentar maior toxicidade (JEON et al., 2008). *In vivo*, a atividade estrogênica da BP-3 foi confirmada por testes agudos usando como parâmetro o aumento de peso uterino em ratos imaturos (SCHLUMPF et al., 2001). Além disso, uma série de estudos ecotoxicológicos

observou níveis elevados de vitelogenina em peixes, sendo tal característica é comumente utilizada como parâmetro fenotípico de ação estrogênica (KUNZ; FENT, 2006).

Testes de toxicidade aguda e crônica têm sido aplicados para investigar os efeitos da BP-3 em diferentes organismos aquáticos (CALONI et al., 2021), sendo utilizados, quanto à toxicidade aguda, o valor limite relevante como um efeito de 50%, ou concentração letal (ou seja, EC50 e LC50), enquanto que para a exposição crônica, a concentração de efeito não observado (*No observed effect concentration*, NOEC) é considerada mais adequada para determinar a concentração prevista sem efeito para a água do mar (*Predicted no-effect concentration*, PNEC) (OECD, 2006).

Cabe salientar que compostos aromáticos podem apresentar uma toxicidade moderada a alta de acordo com os critérios da EPA (CALOW, 1998), que consideram altamente tóxicos aqueles compostos com um $EC_{50} < 1 \text{ mg L}^{-1}$ e com toxicidade intermediária-baixa aqueles com EC_{50} entre 1 – 100 mg L^{-1} .

Recentemente, a toxicidade da BP-3 foi investigada em diversas espécies. Conway et al. (2021) realizaram testes de toxicidade aguda (LC_{50} em 96 h) em uma espécie de coral rochoso de águas rasas (*Galaxea fascicularis*), usando concentrações de 0,31 a 10 mg L^{-1} . Paredes et al. (2014) observaram a EC_{50} 48 h = 3472,59 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a NOEC = 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ para mexilhões *Mytilus galloprovincialis*, EC_{50} 72 h = 13,87 $\mu\text{g L}^{-1}$ para microalgas *Isochrysis galbana* (espécie marinha mais afetada), EC_{50} 48 h = 3280 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ouriço *Paracentrotus lividus* e EC 96 h = 710,76 $\mu\text{g L}^{-1}$ para camarão *Siriella armata* utilizando concentrações ambientalmente relevantes (5 a 30.000 $\mu\text{g L}^{-1}$). Com base nesses testes de toxicidade para as espécies marinhas, o estudo avaliou como positivo o risco ambiental da BP-3, apresentando níveis de toxicidade moderada a alta.

Entre estes testes, a microalga de água doce *Pseudokirchneriella subcapitata* mostrou ser a espécie mais sensível à BP-3, apresentando $EC_{50} = 670 \mu\text{g L}^{-1}$ e NOEC = 180 $\mu\text{g L}^{-1}$, durante exposição de 3 dias. Ademais, com base nesses dados, foi estimado o valor de PNEC = 67 ng L^{-1} para ambientes marinhos (ECHA, 2021).

Ensaio toxicológicos em corais expostos à filtros UV orgânicos também demonstraram impactos negativos sobre sua sobrevivência e desenvolvimento. Os estudos foram propostos pela primeira vez por Danovaro et al. (2008), e retomados posteriormente por Downs et al. (2016) e McCoshum, Schlarb, Baum (2016), e, mais recentemente, por He et al. (2019b), Conway et al. (2021) e Xiong et al. (2021).

Danovaro et al. (2008) demonstraram que os filtros solares, incluindo BP-3, podem induzir um ciclo viral lítico em zooxantelas simbiótica e destruí-las por meio da reativação viral, bem como, causar branqueamento completo, mesmo em baixas concentrações. Xiong et al. (2021) investigaram os efeitos tóxicos da BP-3 em corais moles *Xenia umbellata* expostos durante 7 dias sob a concentração de 1 μM e observaram danos estruturais significativos, bem como, redução da pulsação do coral tratado até sua total parada, desintegração e morte.

Downs et al. (2016) avaliaram os efeitos da BP-3 sobre a forma larval (plânula) do coral *Stylophora pistillata* e identificaram sua transformação de um estado móvel para um estado sésil, ossificado e deformado, após exposição a concentrações ambientalmente relevantes. Altos níveis de BP-3 (228 $\mu\text{g L}^{-1}$) promoveram efeitos tóxicos sobre zooxantelas, com $\text{LC}_{50} = 17 \mu\text{g L}^{-1}$ em ensaio de 24 h e conseqüentemente causaram seu branqueamento. No mesmo estudo, o aumento das concentrações de BP-3 induziu níveis mais elevados de lesões de sítio abásico do DNA de plânulas, e, portanto, representando um perigo real para a conservação dos recifes de coral.

Os resultados observados em ensaios com corais geraram grande repercussão, motivaram políticas públicas locais e ampliaram a preocupação com os potenciais riscos dos filtros UV no ambiente marinho. Devido à relevância ecológica e econômica de recifes de corais, principalmente nas regiões turísticas, houve um crescente movimento de restrições legais quanto ao uso e comercialização de protetores que contenham BP-3 em sua formulação, inclusive seu banimento, como no Estado do Havaí (HAWAII, 2018); Ilhas Virgens Americanas (US VIRGINS ISLAND, 2019); cidade de Key West, no Estado da Flórida (CITY OF KEY WEST, 2018); Palau (REPUBLIC OF PALAU, 2018); Bonaire (NARLA; LIM, 2020); Aruba (DNM, 2020) e em Unidades de Conservação da Natureza no México (NARLA; LIM, 2020).

No Brasil, tramitam o projeto de lei n° 1129/2019, na Assembleia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro, que proíbe a produção, a importação e comercialização de protetores solares e outros PCP que contenham BP-3 em sua fórmula e, no Senado Federal, o projeto de lei n° 616/2019, que em seu Art. 2° dispõe sobre a proibição do registro, a fabricação, a importação, a exportação, a distribuição, a publicidade, a comercialização, o transporte, o armazenamento, a guarda, a posse e o uso de protetores solares considerados tóxicos para os recifes de corais, incluindo a BP-3 (BRASIL, 2019a; BRASIL, 2019b).

Apesar de ser considerada uma categoria com potencial de contaminação, ainda pouco se conhece sobre os mecanismos de ação dos filtros UV e seus metabólitos sobre os

sistemas biológicos. No entanto, recentemente surgiram dúvidas quanto a validade da preocupação de órgãos legislativos e cientistas, devido ao receio que tais medidas possam gerar no uso de protetores solares pela população, já que estes são fundamentais na proteção ao câncer de pele. Ademais, alguns grupos de pesquisa alegaram possíveis falhas nos experimentos, que embasaram tais medidas legislativas, bem como, resultados recentes sugerem toxicidades menores àquelas relatadas anteriormente (BURNS; DAVIES, 2020; SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2015).

Nesse contexto, torna-se crucial a ampliação dos estudos referentes aos efeitos toxicológicos dos filtros UV sobre diferentes compartimentos ecológicos, utilizando organismos sentinelas de relevância ambiental, em paralelo ao desenvolvimento de novos ingredientes e formulações ambientalmente amigáveis por parte da indústria, sem que haja redução nos cuidados contra a ação nociva dos raios UV.

1.3 PANORAMA DA AQUICULTURA E PRODUÇÃO DE MOLUSCOS

O relatório mais recente produzido pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2020), denominado “*The State of World Fisheries and Aquaculture*”, estima que a produção aquícola mundial em 2018 alcançou 114,5 milhões de toneladas de peso vivo, com um valor total em vendas de 263,6 milhões de dólares. Deste total de toneladas, 82,1 milhões perfazem a produção de animais aquáticos, enquanto 32,4 milhões se referem à produção de algas aquáticas.

Do total de animais aquáticos, 37,47% são produzidos em ambientes marinhos e costeiros, com destaque para a maior produção alcançada por moluscos, principalmente bivalves (17,3 milhões de toneladas). A Ásia destaca-se entre os demais continentes na liderança do ranking da produção aquícola mundial, alcançando 72,8 milhões de toneladas do volume total de produção (88,7% da produção mundial). A China segue sendo o maior produtor aquícola mundial e alcançou 35% do volume total de pescado produzido em 2018 (FAO, 2020).

A produção aquícola brasileira encontra-se em ritmo de expansão, motivada principalmente por políticas estruturais voltadas para aquicultura continental e o desenvolvimento mais brando, porém progressivo, da maricultura. Assim, alcançou em 2019 a posição de terceiro maior produtor aquícola da América Latina, somente atrás do Chile e Equador (FAO, 2020).

O censo agropecuário realizado pelo IBGE no ano de 2019 indicou que moluscos bivalves em tamanho comercial constituíram o terceiro tipo de produto mais cultivado no Brasil (15,2 mil toneladas), seguidos por peixes de água doce (principalmente tilápias e tambaquis, que juntas correspondem à 424,8 mil toneladas) e camarões (54,3 mil toneladas) (IBGE, 2021).

O Estado de Santa Catarina é o maior produtor de moluscos do país e um dos principais da América Latina, sendo responsável por mais de 90% da produção nacional (IBGE, 2021). No caso da mitilicultura catarinense, o início da atividade data do final da década de 80, sendo que já na década seguinte foi registrado o fortalecimento da atividade, a qual atingiu altos patamares nos últimos 20 anos (EPAGRI, 2017; MARENZI, 2006; SUPPLY, 2017). No ano de 2019, a malacocultura possibilitou a comercialização de aproximadamente 15,1 mil toneladas de moluscos em Santa Catarina, sendo que deste total, 12,2 mil toneladas perfizeram a produção do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758). Do montante restante, 2,7 mil toneladas foram referentes a ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), e 5,8 toneladas a vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (EPAGRI, 2021). No mesmo ano, a produção de moluscos no estado envolveu uma movimentação financeira bruta de 63,9 milhões de reais (IBGE, 2021), evidenciando o potencial socioeconômico da atividade.

O mexilhão *P. perna* apresenta uma ampla distribuição geográfica. São encontrados em regiões tropicais e subtropicais costeiras, distribuídas pelos oceanos Atlântico (costa da América do Sul e África) e Índico (África), além do Mar Mediterrâneo (costa africana). É abundante no litoral brasileiro, entre os Estados do Espírito Santo e Santa Catarina. Neste último, apresenta grande importância econômica, uma vez que contribui de forma relevante para a maricultura Catarina (RIOS, 2009; KLAPPENBACH, 1965).

O mexilhão *P. perna* é o molusco bivalve pertencente à família Mytilidae de maior importância no Brasil. Apresenta corpo mole, recoberto por duas valvas calcárias simétricas unidas por um ligamento no ápice da concha, na porção da extremidade anterior, denominada umbo (NARCHI; GALVÃO-BUENO, 1997). O mexilhão adulto pode atingir um comprimento médio de 5 a 8 cm, podendo alcançar 14 cm, sendo, portanto, considerado o maior mitilídeo brasileiro (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004).

O *P. perna* se relaciona ecologicamente com os domínios bentônico e planctônico, principalmente nos processos de alimentação e reprodução, nas diferentes fases do seu ciclo de vida. Na fase larval, tem sua vida associada à coluna d'água, mobilidade limitada e

alimenta-se primordialmente de nutrientes e plâncton disponíveis, enquanto na fase adulta, encontra-se fixado ao substrato e a filtração é o principal mecanismo de alimentação (GOSLING, 2013).

Em termos abióticos, o mexilhão *P. perna* é considerado uma espécie eurialina e euritérmica, ou seja, apresentam amplas faixas de tolerância à salinidade e temperatura, respectivamente. Quanto a temperatura, esses organismos são capazes de sobreviver entre 5°C e 30°C, sendo a faixa ótima para crescimento entre 21°C e 28°C (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004). Quanto à salinidade toleram variações entre 19 até 49, mas a faixa ótima se apresenta entre 34 e 36 ups, de acordo com Ferreira, Magalhães (2004).

A classificação taxonômica da espécie de acordo com o sistema integrado de informação taxonômica (ITIS) é mostrada abaixo, enquanto a Figura 3 apresenta uma foto ilustrativa de espécimes de mexilhão *P. perna*.

Filo: Mollusca;
Classe: Bivalvia (Linnaeus, 1758);
Subclasse: Pteriomorphia (Beurlen, 1944);
Ordem: Mytiloidea (Ferussac, 1822);
Família: Mytilidae (Rafinesque, 1815);
Gêneros: *Perna* (Philipsson, 1788);
Espécie: *Perna perna* (Linnaeus, 1758)

Figura 3: O mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758)



Fonte: Registro do autor.
Utilizada escala em centímetros (cm).

Na América Latina, a espécie assume grande importância econômica por se estabelecer facilmente em costões rochosos em águas mais quentes, apresentando, como mencionado anteriormente, ampla distribuição geográfica, concentrada em regiões tropicais e subtropicais costeiras (KLAPPENBACH, 1965).

A escolha do mexilhão *P. perna* na mitilicultura brasileira se deve ao fato da espécie apresentar altos níveis de crescimento, bem como, resistência às variações nos parâmetros físico-químicos da água, como salinidade e temperatura (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004).

Em geral, seu cultivo é favorável econômica e ambientalmente por não necessitar de arreamento, ser uma espécie que apresenta fácil reprodução, intensa liberação de gametas, ampla tolerância das larvas às condições ambientais, requerimentos nutricionais facilmente satisfeitos em seu ambiente natural e rápida taxa de crescimento até o alcance do tamanho comercial (WEBER; DA CONCEIÇÃO, 2008). Apesar da variedade de aspectos positivos que envolvem a sua produção, a manutenção da qualidade da água na área de cultivo torna-se um fator fundamental para o desenvolvimento da espécie e da atividade sob condições sanitárias adequadas (PEREIRA; ROCHA, 2015; VALENTI, 2002).

1.4 ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE

Alterações ambientais causadas por algum estresse, como a exposição a contaminantes, podem afetar significativamente a saúde dos moluscos, desencadeando uma série de respostas bioquímicas, como por exemplo, aquelas associadas às vias de biotransformação de xenobióticos, às defesas antioxidantes, enzimáticas e não enzimáticas, e à diversas proteínas, como as metalotioneínas, entre outras (VALAVANIDIS, 2006).

Dentre essas respostas, as defesas antioxidantes representam uma categoria de processos fundamentais para o funcionamento normal e a manutenção da homeostase dos organismos aeróbicos, na manutenção do equilíbrio entre a produção e o consumo de radicais livres, evitando, assim, o efeito deletério das espécies reativas de oxigênio (ERO). Assim, o estresse oxidativo é um processo resultante do desequilíbrio entre a taxa de produção e de degradação de ERO, ocorrendo, portanto, quando a produção de radicais está acelerada, ou quando os mecanismos de defesa são insuficientes, ou estão deteriorados (SIES et al., 1993).

As ERO são agentes instáveis e altamente reativos derivados do oxigênio, que podem ou não apresentar elétrons desemparelhados na última camada orbital atômica ou molecular. Estão presentes em diferentes processos biológicos naturais, como subprodutos do

metabolismo na cadeia de reações da respiração mitocondrial e sendo produzidas como defesa durante processos inflamatórios. No entanto, também tem sua formação desencadeada por diferentes agentes exógenos geradores de estresse (MOREL; BAROUKI, 1999).

O estresse oxidativo promovido por ERO pode afetar diversas macromoléculas de funções essenciais, como peroxidação de lipídeos, danos aos aminoácidos presentes nas proteínas e às bases nitrogenadas do DNA, podendo, conseqüentemente, provocar perda de integridade celular e causar reações destrutivas em cadeia sobre um tecido (SIES et al., 1993; SIES, 2015). Estudos recentes demonstram o potencial de estresse oxidativo em organismos aquáticos resultante da exposição à filtros UV (BORDALO et al., 2020; RODRÍGUEZ-FUENTES et al., 2015; SUREDA et al., 2018).

Um antioxidante é definido como qualquer molécula que, em baixas concentrações, é capaz de minimizar danos oxidativos do substrato pró-oxidante de maneira eficaz. Os agentes antioxidantes apresentem diferentes mecanismos de ação, sendo alguns capazes de interceptar radicais livres gerados pelo metabolismo celular, ou por fontes exógenas e, em geral, ao reagirem com ERO, os antioxidantes cedem um elétron, sofrendo oxidação e se convertendo em um radical livre menos potente, com menor, ou nenhum efeito tóxico (STAHL; SIES, 2001).

O sistema de defesa antioxidante responsável pela proteção celular contra a ação de radicais livres, ERO, bem como, de espécies reativas de nitrogênio (ERN), é formado por um conjunto de agentes citoprotetores, como, por exemplo, as enzimas de defesa antioxidante: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), e aquelas associadas ao ciclo catalítico do peptídeo glutationa (a glutationa peroxidase (GPx), glutationa redutase (GR) e glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH)), bem como, as enzimas de biotransformação de fase II, como a Glutationa-S-Transferase (GST), a qual pode atuar em conjunto com as enzimas antioxidantes (Figura 4). À estas defesas enzimáticas se somam as defesas antioxidantes não-enzimáticas, incluindo: o L-ácido ascórbico (Vitamina C), o retinol (Vitamina A), o α -tocoferol (Vitamina E), carotenoides, flavonoides e outros compostos endógenos como a própria glutationa (GSH), ácido úrico, bilirrubina e albumina (SIES; STAHL, 1995; BIANCHI; ANTUNES, 1999).

A enzima SOD (EC 1.15.1.11) pertence ao grupo de metaloenzimas, que possuem diferentes distribuições no meio celular e podem apresentar Cu, Zn e Mn, sendo a sua isoforma (CuZn-SOD) considerada a principal enzima citosólica presente em sistemas

eucarióticos (MILLER, 2012). Atuam neutralizando ânions superóxido, através da sua dismutação e conversão em peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

A CAT (EC 1.11.1.6) é uma enzima clássica biomarcadora de peroxissomos e apresenta um grupo heme-funcional no seu sítio ativo. Sua atividade é dependente de NADPH e, em conjunto com a SOD, atua na eliminação de ERO geradas durante a biotransformação, através da degradação de H_2O_2 , obtendo como resultado água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2) (BIRBEN et al., 2012; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

A glutatona é um tripeptídeo que compõe as células eucarióticas, representa o tiol mais abundante do meio intracelular, e desempenha papel fundamental no sistema de defesa antioxidante enzimático e não-enzimático. Na sua forma reduzida (GSH) atua como agente radioprotetor e pode estar envolvida no fornecimento de cobre para isoforma CuZn-SOD. Alterações quanto à produção e utilização deste tripeptídeo podem resultar em estresse oxidativo e, a longo prazo, seus efeitos incluem alterações fisiológicas, desregulação endócrina, carcinogenicidade e morte (HELLOU; ROSS; MOON, 2012). A glutatona também é cofator para a atuação de outras enzimas envolvidas no sistema de defesa antioxidante e em reações de detoxificação de compostos endógenos e xenobióticos (HELLOU; ROSS; MOON, 2012).

Hellou, Ross, Moon (2012) sugeriram que o mecanismo de desintoxicação envolvendo GSH pode ocorrer através de três vias distintas: 1) Formação de dímeros de GSSG, através da doação do hidrogênio para uma molécula receptora, 2) Formação de conjugados, através da reação catalisada pela glutatona-S-transferase (GST) (EC 2.5.1.18), e 3) Ligação direta no caso de alguns metais e compostos reativos. A conjugação de xenobióticos eletrofilicos a glutatona confere menor toxicidade e maior hidrossolubilidade a estes, de forma que sua eliminação para o meio extracelular é facilitada (STEGEMAN; LECH, 1991).

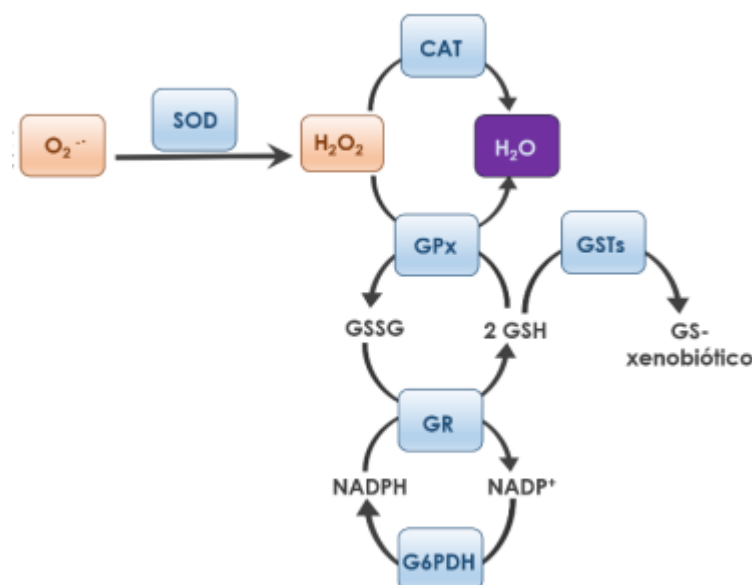
A glutatona peroxidase (GPx) (EC 1.11.1.9), apresenta atividade peroxidase, assim como a catalase. É encontrada principalmente nas formas selênio dependente (Se-GPx) no citosol e nas mitocôndrias de todos os animais. É responsável por catalisar a degradação de peróxidos através da reação dependente da doação de elétrons da GSH, transformando-a em glutatona oxidada (GSSG). Por sua vez, a GSSG assim formada é convertida em GSH pela glutatona redutase (GR) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). A deficiência de selênio pode levar à diminuição da atividade da GPx e tem sido associada a severas alterações no metabolismo celular (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008).

Por sua vez, para manter a integridade do sistema de proteção celular, a manutenção da glutatona no seu estado reduzido (GSH) no meio celular é realizada pela GR (EC 1.8.1.7) que catalisa a reação de oxidação de NADPH em NADP⁺ resultante da transformação de GSSG em GSH. Os intermediários redutores (NADPH) necessários para a manutenção do equilíbrio celular de glutatona são fornecidos, entre outras formas, pela enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) (EC 1.1.1.49), envolvida na via das pentoses, que atua como enzima auxiliar na regulação da relação GSH/GSSG celular (BAINY et al., 1996; BIRBEN et al., 2012). A G6PDH é uma enzima citosólica que catalisa a conversão da glicose-6-fosfato (G6P) em 6-fosfogliconato na primeira etapa da via das pentoses-fosfato, sendo essa via a maior fonte de NADPH necessário em processos anabólicos (SHAN; JONES, 1990).

O sistema de defesa antioxidante enzimática conta principalmente com a atuação conjunta da SOD, CAT, GPx, GR e G6PDH, de forma manter um equilíbrio entre a produção e o consumo de ERO. A SOD é uma metaloenzima que age sobre o radical O₂• dismutando-o a H₂O₂ e protegendo em até 97% os alvos do ataque do ânion superóxido. Paralelamente, a CAT tem como função dismutar diretamente o H₂O₂ em H₂O e O₂, e está localizada em maior abundância em peroxissomos. Seguida pela GPx com atividade peroxidásica contra peróxido de hidrogênio e peróxidos orgânicos está relacionada à função antioxidante da GSH. Ademais, processos oxidativos celulares e a atividade GPx geram o dissulfeto da glutatona ou glutatona oxidada (GSSG) e para evitar a depleção da GSH e aumento da GSSG, a GR reduz a GSSG à custa de NADPH, regenerando a GSH e mantendo desta forma o estado redox intracelular. Além disso, a G6PDH não deixa de estar envolvida com as defesas antioxidantes, pois fornece os equivalentes redutores (NADPH) para regeneração de GSSG. Quando o fornecimento de NADPH fica prejudicado, a função antioxidante da glutatona também fica afetada, pois a GSSG não pode ser regenerada, causando danos ao metabolismo celular. Neste sentido, dentro do sistema das defesas antioxidantes, a G6PDH pode ser considerada uma enzima antioxidante coadjuvante (SLEKAR; KOSMAN; CULOTTA, 1996).

As enzimas antioxidantes têm papel fundamental nas análises ecotoxicológicas, pois conseguem expressar o grau de contaminação de determinados ambientes e organismos. A indução destas enzimas pode ocorrer pelo o aumento da produção de ERRO, de forma que estas tenham que agir para combater os efeitos deletérios das espécies reativas, enquanto a inibição enzimática pode estar associada com compostos inibidores ou em função de ambientes excessivamente contaminados, onde estas defesas entram em desequilíbrio, promovendo danos aos organismos (REGOLI; GIULIANI, 2014).

Figura 4: Atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidante e de biotransformação.



Fonte: adaptado de BASTOLLA (2019).

Como exemplo, o ânion superóxido exemplifica a presença de ERO nos organismos aquáticos e a atuação das enzimas de defesa antioxidante e auxiliares: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutaciona Peroxidase (GPx), Glutaciona Redutase (GR), Glicose 6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH) e Glutaciona S-transferase (GST)

Dentre as reações oxidativas que podem ocorrer no meio intracelular, a peroxidação lipídica (LPO) tem relevância e engloba uma cascata de processos bioquímicos resultante da ação de ERO sobre lipídeos insaturados presentes nas membranas celulares e lipoproteínas, promovendo danos estruturais, falência do mecanismo de troca de metabólitos, e, em condições extremas, acarretando a morte celular (LIMA; ABDALLA, 2001). A LPO é considerada um dos principais eventos citotóxicos primários que desencadeiam uma série de lesões celulares, causando alterações na permeabilidade e subsequentemente no transporte iônico e de substâncias, reduzindo a seletividade na troca iônica e a liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas, formação de produtos citotóxicos (como o malonaldeído e hidroxinonal), alterações no DNA e comprometimento das matrizes extracelulares (LIMA; ABDALLA, 2001).

A LPO é uma reação em cadeia, representada por 3 etapas principais: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação, há sequestro de um átomo de hidrogênio da estrutura lipídica, mediado, principalmente, pelo radical hidroxila (em outros casos, pelo radical alcóxil), resultando na formação de um radical lipídico (L•). Em seguida, este último

reage rapidamente com O_2 , gerando um radical peroxil que, por sua vez, sequestra novo hidrogênio, formando novamente $L\cdot$ na etapa de propagação. Por fim, a etapa de terminação ocorre quando os radicais produzidos nas etapas anteriores se aniquilam. Durante a LPO, os radicais peroxila e alcoxila podem sofrer ainda rearranjos de modo a formar produtos secundários (HALLIWELL; CHIRICO, 1993).

Os processos que envolvem a LPO não são necessariamente prejudiciais, pois certos produtos resultantes são importantes, como na reação em cascata a partir do ácido araquidônico (formação de prostaglandinas) e, portanto, envolvida na resposta contra processos inflamatórios. Entretanto, o excesso destes produtos pode ser prejudicial (NIKI et al., 2005). Além de ser resultante de processos biológicos endógenos, a LPO também pode estar associada à exposição por xenobióticos tóxicos.

Portanto, a ocorrência de um estresse oxidativo, geralmente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, uma vez que a alta produção de ERO pode causar danos moleculares e celulares significativos (ANDERSON, 1996). Assim, as atividades enzimáticas são ferramentas bioquímicas sensíveis e relevantes usualmente utilizadas em análises toxicológicas e programas de biomonitoramento para avaliação de possíveis efeitos de xenobióticos/contaminantes em organismos, como em invertebrados (JEMEC et al., 2010).

Estudos indicaram que alguns filtros UV sob exposição à radiação UV podem gerar ERO ($O_2\cdot$, OH, H_2O_2 , etc) sobre a pele humana e em meio aquoso (LI et al., 2016; SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2014; VIONE et al., 2013). Neste contexto, benzofenonas (particularmente, BP-3 e BP-8), por outro lado, parecem formar pouco ou nenhum oxigênio *singlet* ou mesmo outras ERO quando expostas à luz (ALLEN; GOSSETT; ALLEN, 1996; HANSON; GRATTON; BARDEEN, 2006; SÁNCHEZ-QUILES; TOVAR-SÁNCHEZ, 2014).

Estudos avaliaram efeitos de estresse oxidativo, bem como, danos oxidativos estruturais utilizando os marcadores bioquímico moleculares em diversas espécies expostas a diferentes concentrações ambientais e nominais de BP-3, como em (BORDALO et al., 2020; LIU et al., 2015; LOPES et al., 2020; O'DONOVAN et al., 2020; RODRÍGUEZ-FUENTES et al., 2015).

Sánchez-Quiles, Tovar-Sánchez (2014) realizaram uma estimativa conservadora sobre o lançamento diário de filtros UV em praias do Mediterrâneo com intensa atividade turística (Espanha) na ordem de 4 kg, carga que poderia aumentar a concentração de H_2O_2 em

até 270 nM dia⁻¹ nas águas das praias daquela região. Os autores associaram ainda essa estimativa com a observação de um estresse oxidativo significativo sobre a comunidade fitoplanctônica local.

1.5 BIOMARCADORES

Os biomarcadores buscam estabelecer uma relação entre a exposição a agentes químicos (xenobióticos) e os efeitos sobre a homeostase e a saúde dos organismos expostos. Portanto, seu uso torna-se uma estratégia apropriada para avaliar a intensidade do impacto de contaminantes ambientais sobre organismos vivos, particularmente sobre os organismos aquáticos, bem como suas vias e rotas de exposição (WALKER; SIBLY; PEAKALL, 2005). Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando biomarcadores bioquímicos e moleculares, além de alterações fisiológicas e comportamentais em moluscos bivalves, incluindo mexilhões *P. perna*, expostos à xenobióticos, visando detectar e avaliar os impactos ambientais de origem antrópica (BAINY, et al., 2000; GROZ et al., 2014; SÁENZ et al., 2010).

Comumente, espécies de moluscos bivalves, como ostras e mexilhões, são consideradas como organismos sentinelas para análises ecotoxicológicas no ambiente aquático empregando biomarcadores, devido, principalmente, ao estilo de vida sésil desses organismos durante a maior parte do seu ciclo de vida, e por serem filtradores. Essas espécies apresentam baixa cinética de descontaminação, são facilmente manuseados e coletados, robustos. No caso ainda das espécies de mexilhões soma-se o fato de serem de fácil identificação taxonômica e fornecem quantidade de tecidos suficientes para análises químicas (SÁENZ et al., 2010).

Diversos estudos investigaram os efeitos tóxicos de contaminantes emergentes em mexilhões *P. perna*, espécie considerada como importante bioindicador, expostos principalmente a concentrações ambientalmente relevantes de fármacos, derivados de pesticidas e, mais recentemente, drogas ilícitas e alguns de seus metabólitos (FONTES et al., 2018; ORTEGA et al., 2019; SOUZA et al., 2016; VIDAL-LIÑÁN et al., 2015).

Possíveis efeitos subletais/nocivos sobre os organismos podem ser avaliados ao se utilizar um conjunto de biomarcadores que varia desde análises moleculares a respostas comportamentais relacionadas à exposição ou aos efeitos de contaminantes químicos. Portanto, o uso de biomarcadores em diferentes níveis de organização celular, tem sido eficaz

na detecção dos primeiros sinais de efeitos biológicos na avaliação ambiental (BAINY, et al., 2000; VERLECAR et al., 2006), podendo servir de alerta precoce para impactos sob uma população ou comunidade (LIONETTO; CARICATO; GIORDANO, 2019; SCHETTINO et al., 2012).

A capacidade dos bivalves de bioacumular nas brânquias (substâncias dissolvidas) e no trato digestivo (substâncias absorvidas via partículas) contaminantes a valores passíveis de quantificação, bem como responder rapidamente à presença destes contaminantes também lhes confere potencial como sinalizadores de alterações ambientais, sendo bastante empregados como organismos sentinela em estudos de biomonitoramento ambiental (MATOZZO; GAGNÉ, 2016).

Neste sentido, as brânquias desses organismos são consideradas como a via de primeiro contato do animal com contaminantes ambientais e/ou antrópicos, sendo por este motivo amplamente utilizadas como tecido-alvo em estudos ecotoxicológicos. Nesse contexto, estudos apontam respostas frequentemente mais proeminentes envolvendo enzimas antioxidantes nas brânquias, em comparação com glândulas digestivas (BASTOLLA et al., 2019; PEREIRA et al., 2011; PIAZZA, et al., 2016; SÁENZ et al., 2010; SIEBERT et al., 2017).

Sabe-se que a presença de um contaminante ambiental per si não necessariamente pode ser considerada como um parâmetro que sugira diretamente sua toxicidade sobre um dado organismo, ou o nível do seu impacto em um dado ambiente. Para tanto, faz-se necessária a avaliação dos efeitos desse contaminante em um ou mais organismo sentinela. O uso de um conjunto de biomarcadores como ferramenta aplicada ao biomonitoramento ambiental, utilizando organismo(s) sentinela(s), permite uma avaliação, ou um diagnóstico precoce do grau de toxicidade de um dado composto (e/ou de misturas de compostos potencialmente tóxicos), antes que níveis tróficos superiores da biota sejam impactados, como apontado anteriormente.

Neste contexto, o presente estudo avaliou o efeito da exposição à BP-3, presente em filtros UV, sobre respostas bioquímicas em mexilhões *P. perna*, uma espécie relevante na maricultura.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo Geral

Avaliar respostas bioquímicas em mexilhões *P. perna*, frente à exposição a um contaminante emergente, a benzofenona-3 (BP-3), visando contribuir para o delineamento de estratégias de gestão do ambiente costeiro.

1.6.2 Objetivos Específicos

a) Avaliar as respostas enzimáticas de defesa antioxidante em brânquias de mexilhões *P. perna* expostos à BP-3 em laboratório: glutaciona redutase (GRx), glutaciona peroxidase (GPx), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), e glutaciona-S-transferase (GST).

b) Avaliar o nível de lipoperoxidação (MDA) em brânquias de mexilhões *P. perna* expostos à BP-3 em laboratório.

c) Detectar os níveis de BP-3 em amostras de água das unidades experimentais, a partir de análises químicas.

1.7 ESTRUTURA DO TRABALHO

O delineamento experimental, a metodologia e os resultados aqui apresentados estão formatados para serem submetidos para publicação na revista *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology and Pharmacology* (ISSN: 1532-0456, IF: 3,228, Qualis B1 - Área Zootecnia e Recursos Pesqueiros).

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Respostas bioquímicas no mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) frente à exposição ao contaminante emergente benzofenona-3 (BP-3)

Gabriel S. Cruz¹; Miguel Saldaña-Serrano¹; Camila L. V. Bastolla¹; Daína Lima¹; Juliana R. Moser¹; Uclédia R. A. dos Santos¹; Gabriel S. Coutinho¹; Carlos H. A. M. Gomes³; Claudio C. M. R. Melo³; Jacó J. Mattos¹; Micheli R. de Castro²; Maria R. F. Marques¹.

¹Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica - LABCAI, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brasil.

²Laboratório de Toxicologia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Brasil.

³Laboratório de Moluscos Marinhos - LMM, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brasil.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos de duas concentrações nominais ambientalmente relevantes de BP-3 (1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$) nas brânquias de mexilhões *Perna perna*, sobre biomarcadores bioquímicos enzimáticos de defesa antioxidante (glutathiona peroxidase – GPx; glutathiona redutase – GR; glicose 6-fosfato desidrogenase - G6PDH; glutathiona S-transferase - GST), assim como de danos oxidativos (peroxidação de lipídeos - MDA). Um total de 54 mexilhões foram expostos individualmente em béqueres de vidro (1 mexilhão L^{-1}). Foram realizadas coletas de água nas unidades experimentais sem animais no tempo zero, em 72h e 7 dias. Bem como, duas amostras no período de 24 h, entre o sexto (T_{inicial} , sem animais) e o sétimo dia (T_{final} , com animais). De acordo com as análises químicas da água, as concentrações reais médias de BP-3 foram $0,1 \pm 0,04$ e $3,0 \pm 0,42 \mu\text{g L}^{-1}$. Entre o sexto e o sétimo dia de exposição, houve redução significativa da concentração de BP-3 nas unidades expostas a maior concentração de BP-3 (T_{inicial} : $3,19 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ e T_{final} : $0,48 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$). Em relação às respostas enzimáticas, foi observada uma significativa redução ($p < 0,05$) na atividade da G6PDH e da GPx nos mexilhões expostos a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em relação ao grupo controle, após 7 dias de exposição. Sugerimos que a diminuição destas atividades enzimáticas, estejam comprometendo a reciclagem da GSH. Não foram observadas diferenças significativas na atividade da GST, nem tampouco nos níveis de MDA. Nossos resultados sugerem que as concentrações testadas, similares àquelas encontradas em ecossistemas aquáticos, provocaram uma alteração na reciclagem da GSH nos mexilhões. Essa possível alteração, por sua vez, poderia estar relacionada ao desequilíbrio no sistema redox das células branquiais do mexilhão *P. perna*, causada pela BP-3, sob condições controladas em laboratório.

Palavras-chave: benzofenona-3, biomarcadores, bivalve, estresse oxidativo, PCP.

2.1 INTRODUÇÃO

Entre os compostos e substâncias presentes no esgoto industrial e sanitário, estão os contaminantes emergentes (CE). Os CE são substâncias, principalmente associadas à atividades antrópicas, encontradas em baixas concentrações no ambiente (ng L^{-1} até $\mu\text{g L}^{-1}$), que apresentam uma mobilidade complexa e dinâmica (consumo/disponibilidade) e dadas características químicas podem causar efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente (Balmer et al., 2005, Rodil et al., 2009). A lista dos CE inclui: fármacos (como, diclofenaco, ibuprofeno, paracetamol), drogas ilícitas (metanfetaminas, heroína, cocaína), aditivos sintéticos industriais (BHT e BHA), pesticidas (DDT, triazinas, rotenona), produtos de cuidado pessoal (*personal care products* – PCP), entre muitos outros (Gil et al., 2012).

Os PCP englobam uma variedade de substâncias de uso regular no cotidiano, como fragrâncias, perfumes, pastas de dente, repelentes, sabonetes, cremes e protetores solares/filtros ultravioletas (UV) (Brausch; Rand, 2011). Dentre estes, os filtros UV são ingredientes ativos, orgânicos ou inorgânicos, de protetores solares, com propriedades fotoquímicas relevantes. Além de comporem os protetores solares, essas substâncias também são ingredientes de cosméticos, shampoos, condicionadores, cremes dérmicos e também como agentes fotoprotetores na prevenção da degradação de polímeros e pigmentos em produtos têxteis, tintas e embalagens plásticas (Balmer et al., 2005; Xue; Liu; Kannan, 2017).

Os filtros orgânicos possuem como mecanismos de ação absorção a radiação solar de alta energia e transformação desta em radiações de menor energia. Dentre os filtros orgânicos, a Benzofenona-3 (BP-3; 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, Oxibenzona), uma substância derivada da benzofenona (componente da família das cetonas aromáticas), é considerada um dos principais filtros UV orgânicos presentes na indústria cosmética e em protetores solares (Flor; Davolos; Correa, 2007).

A BP-3 apresenta lenta biodegradação, tendência a adsorção em material particulado em suspensão e sedimentos, baixo potencial de volatilização na superfície da água do mar, resistência às variações das condições oceanográficas, persistência considerada maior no inverno em latitudes médias e com grande potencial de bioacumulação, tornando-se, assim, um potencial agente contaminante (Zhang et al., 2017).

Em geral, as fontes de entrada de BP-3 nos compartimentos ambientais podem ocorrer por via direta (pontual), pelo uso de protetores e cosméticos durante atividades recreativas aquáticas (em piscinas, lagoas, praias, reservatórios), ou indireta (difusa), por

águas residuais (residenciais, industriais e por escoamento superficial) (Giokas; Salvador; Chisvert, 2007).

A BP-3 é considerada uma substância fotoquimicamente mais estável que outros filtros UV orgânicos em água pura, doce e salgada, apresentando, portanto, razoável estabilidade contra degradação abiótica (Li et al., 2016). Ademais, sua entrada contínua nos ambientes aquáticos lhes conferem um caráter de substâncias pseudopersistentes (Kim; Choi, 2014).

Em ambientes aquáticos, a presença de BP-3 é relatada em vários níveis, dependendo principalmente da localização da amostra, das características meteo-oceanográficas e da intensidade das atividades turísticas e recreativas (Sánchez-Quiles; Tovar-Sánchez, 2015). Há relatos da presença de BP-3 em níveis considerados baixos, ou seja, na escala de ng L^{-1} em águas superficiais, até níveis mais elevados na escala de $\mu\text{g L}^{-1}$ em águas balneares, residuais e piscinas.

A concentração mais alta de BP-3 ($1,4 \text{ mg L}^{-1}$) foi encontrada nos EUA, na Baía de Trunk (Ilhas Virgens dos EUA) (Downs et al., 2016). No mesmo estudo, em amostras do Havaí (EUA), um valor alto foi detectado ($19,2 \mu\text{g L}^{-1}$), na Baía de Maunaloa. A amostragem foi realizada durante o verão em uma praia com a presença de mais de 500 nadadores por dia no pico da temporada turística). A segunda maior concentração de BP-3 foi registrada na Espanha ($692 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água coletadas durante o verão em diferentes zonas balneares (Vila et al., 2016).

No Brasil, a BP-3 foi quantificada em rios importantes para o abastecimento hídrico no Estado de São Paulo, sendo encontrada na faixa de 24 a 33 ng L^{-1} (Silva; Emídio; Marchi, 2015). Em outro estudo no Estado de São Paulo, no reservatório do Lobo, a BP-3 foi detectada em praticamente todas as amostras coletadas ($0,32$ a $2,10 \mu\text{g L}^{-1}$) (Pompei et al., 2019). Até o momento, não constam trabalhos publicados envolvendo a detecção ou quantificação de BP-3 em matrizes marinhas no Brasil.

Vários estudos têm relatado concentrações de filtros UV, incluindo BP-3, em diversas matrizes biológicas, principalmente em tecidos de organismos aquáticos, como bivalves (Groz et al., 2014), crustáceos (He; Timm; Blaney, 2017), enguias (Fent; Zenker; Rapp, 2010), peixes dulcícolas (Zenker; Schmutz; Fent, 2008) e marinhos (Molins-Delgado et al., 2018), mamíferos marinhos (Gago-Ferreiro et al., 2013), aves marinhas (Molins-Delgado et al., 2017) e plantas aquáticas (Aznar et al., 2017).

Devido às propriedades lipofílicas ($\text{Log } K_{ow} = 4,79$) e relativa estabilidade à degradação biótica, os filtros UV tendem a acumular em tecidos biológicos adiposos e musculares. Assim sendo, é possível que a BP-3 sofra bioacumulação em diferentes níveis tróficos, alcançando humanos por meio da alimentação (Molins-Delgado et al., 2018).

A toxicidade aguda reportada para BP3 é considerada baixa. Entretanto, estudos mais recentes *in vitro* e *in vivo* sugerem que os filtros UV podem apresentar efeitos adversos, como persistência ambiental relativa, potencial de bioacumulação, genotoxicidade e desregulação endócrina, afetando assim o desenvolvimento dos organismos aquáticos em diferentes fases do ciclo de vida (Jeon et al., 2008; Sánchez-Quiles; Tovar-Sánchez, 2015).

Estudos *in vitro* indicam que a BP-3 pode exibir atividade estrogênica, antiestrogênica e antiandrogênica em diferentes níveis (Kunz; Fent, 2006), além de apresentar efeitos sobre o sistema reprodutivo e o desenvolvimento de organismos (Schlecht et al., 2004; Schlumpf et al., 2004).

Resultados recentes de ensaios toxicológicos com corais geraram grande repercussão, motivaram políticas públicas locais e ampliaram a preocupação com os potenciais riscos dos filtros UV no ambiente marinho. Devido à relevância ecológica e econômica de recifes de corais, principalmente nas regiões turísticas, houve um crescente movimento de restrições legais quanto ao uso e comercialização de protetores que contenham BP-3 em sua formulação, inclusive seu banimento, como no caso do Estado do Havá (Hawaii, 2018); das Ilhas Virgens Americanas (US Virgins Island, 2019), da cidade de Key West, no Estado da Flórida (City of Key West, 2018), além de Palau (Republic of Palau, 2018), Bonaire (Narla; Lim, 2020), Aruba (DNM, 2020) e em Unidades de Conservação da Natureza no México (Narla; Lim, 2020).

No Brasil, tramitam o projeto de lei nº 1129/2019, na Assembleia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro, que proíbe a produção, a importação e comercialização de protetores solares e outros PCP que contenham BP-3 em sua fórmula e, no Senado Federal, o projeto de lei nº 616/2019, que em seu Art. 2º dispõe sobre a proibição do registro, a fabricação, a importação, a exportação, a distribuição, a publicidade, a comercialização, o transporte, o armazenamento, a guarda, a posse e o uso de protetores solares considerados tóxicos para os recifes de corais, incluindo a BP-3 (Alerj, 2019; Brasil, 2019).

Entre os moluscos bivalves, o mexilhão *P. perna*, pertencente à família Mytilidae, apresenta grande relevância no Brasil. É abundante no litoral brasileiro, entre os Estados do Espírito Santo e Santa Catarina. Neste último, apresenta grande importância econômica, uma

vez que contribui de forma relevante para a maricultura catarinense (Marenzi, 2006; Suplicy, 2017).

Alterações e impactos ambientais decorrentes, por exemplo, da exposição a contaminantes, podem afetar significativamente a saúde dos moluscos, desencadeando uma série de respostas bioquímicas, como por exemplo, aquelas associadas às vias de biotransformação de xenobióticos, às defesas antioxidantes, enzimáticas e não enzimáticas, e aos níveis de diversas proteínas, como as metalotioneínas, as proteínas de choque térmico, entre outras (Valavanidis, 2006).

Dentre essas respostas bioquímicas, as defesas antioxidantes representam uma categoria de processos fundamentais para o funcionamento normal e a manutenção da homeostase dos organismos aeróbicos, na manutenção do equilíbrio entre a produção e a neutralização de radicais livres, evitando, assim, o efeito deletério das espécies reativas de oxigênio (ERO). Assim, o desequilíbrio entre esse balanço produção/neutralização pode gerar o estresse oxidativo promovido por ERO, o qual pode afetar diversas macromoléculas de funções essenciais para a célula, causando a peroxidação de lipídeos, danos aos aminoácidos presentes nas proteínas, danos às bases nitrogenadas do DNA, provocando, conseqüentemente, a perda de integridade celular e causando reações destrutivas em cadeia sobre um dado tecido (Sies et al., 1993; Sies, 2015). Estudos recentes demonstram a potencial ocorrência de estresse oxidativo em organismos aquáticos, resultante da exposição à filtros UV (Bordalo et al., 2020; Gal et al., 2013; Rodríguez-Fuentes et al., 2015; Sureda et al., 2018).

O sistema de defesa antioxidante responsável pela proteção celular contra a ação de radicais livres, ERO é formado por um conjunto de agentes citoprotetores, como, por exemplo, as enzimas de defesa antioxidante: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), e aquelas associadas ao ciclo catalítico do peptídeo glutationa (a glutationa peroxidase (GPx), a glutationa redutase (GR), e a glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH)). Ademais, as enzimas de biotransformação de fase II, como a Glutationa-S-Transferase (GST), podem atuar em conjunto com as enzimas antioxidantes.

Dentre as reações oxidativas no meio intracelular, a peroxidação lipídica (LPO) tem relevância e engloba uma cascata de processos bioquímicos resultante da ação de ERO sobre lipídeos insaturados presentes nas membranas celulares e lipoproteínas, promovendo danos estruturais, falência do mecanismo de troca de metabólitos, e, em condições extremas, acarretando a morte celular (Lima; Abdalla, 2001).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando biomarcadores bioquímicos e moleculares, além de alterações fisiológicas e comportamentais em moluscos bivalves, incluindo mexilhões *P. perna*, expostos à xenobióticos, visando detectar e avaliar os impactos ambientais de origem antrópica (Bainy, et al., 2000; Groz et al., 2014; Sáenz et al., 2010). A capacidade dos bivalves em geral de bioacumular nas brânquias (substâncias dissolvidas) e no trato digestivo (substâncias absorvidas via partículas) contaminantes em níveis passíveis de quantificação, bem como responder rapidamente à presença destes contaminantes também lhes confere potencial como sinalizadores de alterações e impactos ambientais, sendo bastante empregados como organismos sentinela em estudos e programas de biomonitoramento ambiental (Beyer et al., 2017; Matozzo; Gagné, 2016; Melwani et al., 2013; Schöne; Krause, 2016).

Sabe-se que a presença de um contaminante ambiental per si só não pode ser necessariamente considerada como um parâmetro que sugira diretamente sua toxicidade sobre um dado organismo, ou mesmo o nível do seu impacto em um dado ambiente. Para tanto, faz-se necessária a avaliação dos efeitos desse contaminante em um ou mais organismo sentinela.

O uso de um conjunto de biomarcadores como ferramenta aplicada ao biomonitoramento ambiental, utilizando organismo(s) sentinela(s), permite uma avaliação, ou um diagnóstico precoce do grau de toxicidade de um dado composto (e/ou de misturas de compostos potencialmente tóxicos), e de seus efeitos potenciais, antes que níveis tróficos superiores da biota sejam impactados, como apontado anteriormente.

Neste contexto, o presente estudo avaliou os efeitos da exposição às concentrações ambientalmente relevantes de BP-3, sobre respostas bioquímicas enzimáticas (glutaciona redutase (GRx), glutaciona peroxidase (GPx), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), e glutaciona-S-transferase (GST)) e níveis de lipoperoxidação em brânquias de mexilhões *P. perna*, uma espécie relevante na maricultura nacional.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coleta e aclimação dos mexilhões

Os mexilhões *P. perna* (n = 54; 5,63 ± 0,3 cm; 14,23 ± 2,6 g) foram cedidos pela fazenda marinha Paraíso das Ostras, localizada no Ribeirão da Ilha, Florianópolis, Santa Catarina.

Após a coleta, os animais passaram por um período de aclimação no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde permaneceram por um período de 7 dias, sob condições controladas: água do mar filtrada (0,45µm e filtro UV), temperatura (21°C), salinidade (35 ups), aeração constante, fotoperíodo (12:12), alimentação (50% - 8×10^4 cél mL⁻¹ *Isochrysis galbana*; 50% - 8×10^4 cél mL⁻¹ *Chaetoceros muelleri*). Ao longo desse período, foram realizados dois estímulos térmicos visando minimizar possíveis desovas durante o período de exposição ao contaminante, BP-3.

Após este período de aclimação, os mexilhões foram transportados para a sala de bioensaios do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica (LABCAI/NEPAQ/UFSC) e mantidos durante 24 h nas mesmas condições descritas acima, no entanto, já estando devidamente alocados nas unidades experimentais (béqueres) antes da realização da exposição.

2.2.2 Delineamento experimental

O experimento de exposição foi realizado em 54 béqueres de vidro (n = 54 mexilhões) com capacidade de 1 L (1 mexilhão/béquer), na proporção de 1 animal:1 L de água. Um total de três unidades experimentais (3 béqueres) foram alocadas por aquário de 15 L (18 aquários com 3 béqueres cada um). Os aquários onde os béqueres foram alocados permaneceram preenchidos com água natural até o nível em que não entrasse em contato com a água do mar contida nos béqueres e com a finalidade de minimizar variações de temperatura nas unidades experimentais.

O experimento contou com quatro tratamentos utilizando-se duas concentrações nominais de BP-3 (1 e 10 µg L⁻¹), dois tempos de exposição (72 h e 7 dias) e dois respectivos grupos controles (água do mar + dimetilsulfóxido 0,001% - DMSO) (Figura 7, Apêndice). As concentrações nominais foram selecionadas com base nas faixas mais reportadas em ecossistemas marinhos em diferentes regiões do mundo (Bargar; Alvarez; Garrison, 2015; Benedé et al., 2014; Bratkovics; Sapozhnikova, 2011; Downs et al., 2016; Emnet et al., 2015; Kung et al., 2018; Paredes et al., 2014; Tarazona et al., 2010; Tovar-Sánchez et al., 2013; Tsui et al., 2014; Vila et al., 2016). O solvente DMSO foi utilizado devido à baixa solubilidade da BP-3 em água (6 mg L⁻¹) (US EPA, 2021). Este solvente é amplamente utilizado em baixas concentrações como veículo em experimentos *in vivo* e *in vitro*, inclusive em muitos estudos que avaliaram os efeitos de BP-3 em organismos aquáticos (Bordalo et al., 2020; Conway et

al., 2021; Downs et al., 2016; Lopes et al., 2020; Meng et al., 2020; Stien et al., 2020; Zhang et al., 2021). A concentração de 0,01% de solvente é a concentração máxima recomendada nas diretrizes para testes de toxicidade de produtos químicos (OECD, 2010).

Foram preparadas soluções-estoque de BP-3 (CAS: 131-57-7, Sigma Aldrich Brasil LTDA, pureza >99%) nas concentrações de 1 e 0,1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ em DMSO (Sigma Aldrich Brasil LTDA, 100%), de forma que as concentrações nominais finais selecionadas foram preparadas a partir dessas soluções estoque em aquários de 30 L. Em seguida, prontamente, foi realizada a transferência do volume de água necessário para cada unidade experimental.

Durante a exposição, os mexilhões foram mantidos sob as mesmas condições da aclimatação, com renovação diária de água e sendo alimentados uma vez a cada 48hr (por 1hr e 30 min), seguindo a seguinte sequência: retirada de 100% da água dos béqueres, limpeza com água do mar das paredes internas e valvas dos mexilhões e adição de água com mistura de microalgas sem o contaminante. Depois de 1h e 30 min, era realizada nova limpeza das paredes internas dos béqueres e das valvas. Por fim, os béqueres eram preenchidos novamente com 1 L de água contendo BP-3 nas respectivas concentrações e os controles com DMSO (0,001%). As soluções contendo microalgas foram preparadas em galões de 60 L e transferidas individualmente para cada unidade experimental. Durante o período de alimentação, foram utilizados béqueres diferentes àqueles utilizados na exposição, visando minimizar possíveis captações da BP-3 e pelas microalgas, de modo que, após este procedimento, os mexilhões foram realocados nos béqueres de exposição com as concentrações nominais e seus respectivos controles.

2.2.3 Coleta de tecidos

Grupos de 9 mexilhões de cada tratamento (1 e 10 $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$) e dos respectivos controles foram coletados após 72h (T1) e ao final de 7 dias (T2) de exposição. Os animais foram medidos, pesados, identificados quanto ao gênero macroscopicamente com base na coloração das gônadas e dissecados para a retirada das brânquias.

As brânquias foram acondicionadas em microtubos de plásticos (2 mL), congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e, em seguida armazenados em freezer -80°C para a realização posterior das análises bioquímicas.

2.2.4 Preparação das amostras biológicas

As amostras de brânquias de cada mexilhão foram descongeladas, prontamente pesadas e homogeneizadas individualmente na proporção de 100 mg de tecido para 500 μ L (1:5) de tampão (Tris-HCl 20 mM; EDTA 1 mM; DTT 1 mM; Sacarose 0,5 M; KCl 0,15 M; PMSF 0,1 M; pH 7,6) utilizando um homogeneizador de tecidos Tissue-Teasor™. O homogenato foi centrifugado a 9.000xg, 4°C, por 30 minutos. O sobrenadante resultante foi aliquotado e estocado em freezer -80°C para análises dos biomarcadores bioquímicos.

2.2.5 Análises bioquímicas

2.2.5.1 Atividade enzimática

A avaliação da atividade da glutathiona redutase (GR) foi realizada de acordo com Carlberg e Mannervick (1995), baseada na reação catalisada pela GR que utiliza elétrons da NADPH para reduzir o substrato, glutathiona oxidada (GSSG). O decréscimo da absorvância no comprimento de onda de 340 nm foi utilizado como medida indireta da atividade da GR. A reação foi realizada em meio contendo tampão fosfato 0,1 M pH 7,0, EDTA 5 mM, GSSG 2 mM, GSH 0,15 mM e NADPH 0,1 mM. A atividade da GR está apresentada em mU mg^{-1} de proteína.

A metodologia está baseada no fato de que a atividade da glutathiona peroxidase (GPx) leva à decomposição um peróxido orgânico, através da oxidação de glutathiona (GSH), originando GSSG no final da reação. Posteriormente, a GSSG é reduzida pela enzima glutathiona redutase (GR), a partir de elétrons doados pelo NADPH. Portanto, a atividade da GPx foi monitorada através da taxa de oxidação da NADPH ($\epsilon = 6,22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) por espectrofotometria (detectada em absorvância de 340 nm), utilizando hidroperóxido de cumeno (CuOOH) (Wendel, 1981). O meio de reação foi composto por tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0, EDTA 5mM pH 7,0, NADPH 0,2mM, GR 0,2 U/mL e GSH 0,1 M. A atividade enzimática está apresentada em mU mg^{-1} de proteína.

A determinação da atividade da GST foi realizada segundo o ensaio descrito por Keen, Habig e Jakoby (1976), baseado na velocidade de formação do conjugado 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (na concentração de 10 mM) (CDNB)–GSH ($\epsilon = 9,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$), registrado por espectrofotometria a 340 nm, durante 2 minutos. A reação foi realizada em meio contendo

tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0, EDTA 1 mM e GSH 0,1 mM. A atividade enzimática está apresentada em um mg^{-1} de proteína.

A atividade da G6PDH foi determinada através do aumento de absorbância provocado pela redução de NADP^+ a NADPH, no comprimento de onda de 340 nm ($\epsilon = 6,22 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Glock; Mclean, 1953). O ensaio utilizou meio de reação composto por tampão Tris HCl 0,1 M pH 7,4, MgCl_2 0,2 M, NADP^+ 0,2 mM, Glicose 6-fosfato registrado durante 5 minutos a 25°C . A atividade está apresentada em mU mg^{-1} de proteína.

2.2.5.2 Determinação de proteínas totais

A concentração de proteínas totais presentes na fração celular citoplasmática (amostras homogeneizadas) foi calculada de acordo com o protocolo de Bradford (1976), utilizando soro de albumina bovina como padrão. As concentrações (mg mL^{-1}) foram investigadas em 9 indivíduos por tratamento, por tempo de amostragem (72 h e 7 dias), e foram usadas para normalizar as atividades enzimáticas e os níveis de Lipoperoxidação (LPO).

2.2.5.3 Determinação de produtos finais da Lipoperoxidação (MDA)

Amostras (100mg) de brânquias de cada indivíduo foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl 0,1M, pH 8,0 (1:3; peso/volume), acrescido de 300 μL de TBA (ácido tiobarbitúrico 0,4%) diluído em HCl 0,2M. A mistura foi aquecida em banho seco a 90°C por 40 minutos. Em seguida, foi acrescentado 1 mL n-Butanol às amostras, as quais, em seguida, foram submetidas à centrifugação a 5000g por 5 min e 4°C . O sobrenadante foi imediatamente transferido para placas de 96 poços para determinação em espectrofotômetro a 532 nm, nas condições descritas em Zanette et al., (2011). O nível de lipoperoxidação está representado em n mol g^{-1} de tecido (TBARS).

2.2.6 Análises Químicas da água

2.2.6.1 Amostras de água

No momento da coleta dos mexilhões, na fazenda marinha Paraíso das Ostras no Ribeirão da Ilha, foram coletados 250 mL de água do mar na área de cultivo. Amostras de água foram também coletadas ao final do período de aclimação do Laboratório de Moluscos Marinhos - LMM.

Durante o experimento de exposição dos mexilhões foram coletadas amostras de 250 mL de água do tanque de abastecimento da sala de bioensaio, 250 mL de água de cada tratamento (1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), bem como das soluções dos respectivos controles (CTRL+DMSO), nos tempos 0, 72 h e 7 dias, momentos antes das exposições, para verificar as concentrações aplicadas em cada tratamento. Após o período de 24 h de exposição, também foram coletadas amostras de água de cada um dos tratamentos, para avaliar o eventual consumo neste período. Esta amostragem foi realizada uma única vez entre o sexto e o sétimo dia do experimento.

2.2.6.2 Filtragem e Extração em Fase Sólida (SPE)

O método analítico utilizado para a quantificação da BP-3 foi aquele descrito em Lopes et al., (2020), com algumas modificações.

Inicialmente, as amostras coletadas foram imediatamente filtradas (filtro de acetato de celulose, 0,45 μm) e transferidas para um balão volumétrico de 200 mL.

Para a extração em fase sólida, cartuchos SPE (Discovery DSC-18, Supelco®) foram acoplados a um sistema manifold (Supelco®), e condicionados com 5 mL de metanol, 5 mL de acetonitrila e 5 mL de água ultrapura, com uma taxa de vazão de 10 mL.min⁻¹. Em seguida, o volume total de cada uma das amostras (200 mL) foi percolado individualmente em um dos cartuchos previamente condicionados. Ao final, os cartuchos foram lavados com um volume de 10 mL de água ultrapura, embalados em Parafilm (Parafilm®, Sigma Aldrich) e mantidos em nitrogênio líquido até a etapa de eluição.

2.2.6.3 Eluição

Para a eluição, os cartuchos SPE foram percolados sequencialmente com 1 mL de metanol e 1 mL de acetonitrila. O eluato de cada amostra foi armazenado em frascos vials de 4 mL para análise posterior.

2.2.6.4 Quantificação da BP-3

A quantificação da BP-3 nos eluatos obtidos a partir das amostras de água foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).

O sistema de HPLC utilizado foi composto por uma bomba Waters modelo 600, associada a um detector de matriz de fotodiodo Waters 2996, sendo o injetor em loop Rheodyne com a capacidade de 20 μ L. A aquisição de dados ao longo da cromatografia foi feita através da conexão do sistema a um software PDA Empower. A coluna analítica utilizada foi uma Synergi Fusion 4 μ m (250 \times 4,6 mm). A fase móvel foi composta por acetonitrila e água ultrapura em pH 3 (70:30, v / v).

O limite de detecção instrumental (LOD) foi igual a 0,008 mg L⁻¹, enquanto o limite de quantificação instrumental (LOQ) foi de 0,25 μ g L⁻¹. A curva de calibração foi realizada com BP-3, grau de pureza > 99%) (Sigma Aldrich®, Brasil) na faixa de 0,025 a 10 mg L⁻¹.

2.2.7 Análise Estatística

Os resultados foram calculados como média (\pm desvio padrão - DP). Os dados obtidos foram submetidos à verificação de outlier (teste de Grubbs), enquanto a normalidade e homocedasticidade foram verificadas usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. ANOVA de duas vias foi realizada nos parâmetros de atividade enzimática para investigar possíveis relações tempo e dose-efeito, usando os tempos de exposição e as concentrações como fatores. As análises por ANOVA foram seguidas pelo teste *post hoc* de Tukey para avaliar quaisquer diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas Statística 7.0 e GraphPad Prism 8.0.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Análises químicas da água

As concentrações de BP-3 foram mensuradas nas soluções estoque (0,1 e 1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$), utilizadas para a preparação das soluções de exposição antes das exposições (sem animais), a partir de diluição das mesmas (0,1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ para a concentração nominal de 1 $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$ e 1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ para a concentração nominal de 10 $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$) (Tabela 1); nos seguintes tempos: no início do experimento (t 0, primeira diluição), em 72 h (t 72h, terceira diluição) e ao término de 7 dias de exposição (t 7 dias, sexta diluição) (Tabela 2); nos aquários contendo mexilhões, após um período de 24 h de exposição, de cada um dos tratamentos. As amostras referentes ao monitoramento do período de 24 h de exposição foram coletadas entre o sexto (T_{inicial}) e sétimo dia (T_{final}) do experimento, visando avaliar eventuais alterações nos níveis de BP-3 na água das unidades com animais (Tabela 3). Ademais, foram coletadas amostras na área de cultivo, onde os mexilhões foram coletados; no LMM, no início da aclimatação dos mexilhões e no tanque de abastecimento do LABCAI, no início do experimento.

Tabela 3: Concentrações de BP-3 mensuradas nas soluções estoque referentes à preparação, por diluição, das concentrações nominais nas unidades experimentais. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n=3 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$.

Concentrações nominais das soluções estoque	Concentrações reais mensuradas (média \pm desvio padrão, $\mu\text{g } \text{L}^{-1}$)
0,1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	0,113 \pm 0,007
1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	1,440 \pm 0,005

Tabela 4: Concentrações de BP-3 mensuradas na água das unidades experimentais sem mexilhões, a partir das diluições das soluções estoque no início do experimento (t 0, primeira diluição), em 72 h (t 72h, terceira diluição) e ao término de 7 dias de exposição (t 7 dias, sexta diluição). Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 2 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$, incluindo a menor ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) e a maior ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) concentração nominal. (nd) - não detectado.

Concentrações nominais	Concentrações reais mensuradas (média \pm desvio padrão, $\mu\text{g L}^{-1}$)		
	1ª diluição t 0	3ª diluição t 72h	6ª diluição t 7dias
CTRL+DMSO	nd	nd	nd
1 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,04	0,07 \pm 0,02
10 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,41 \pm 0,11	3,36 \pm 0,12	3,19 \pm 0,01

Tabela 5: Concentrações de BP-3 mensuradas na água em 24 h (amostras coletadas entre o sexto e o sétimo dia): T_{inicial} = sem mexilhões, T_{final} = com mexilhões. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n=2 determinações por amostra) e expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$, incluindo a menor ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) e a maior ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) concentração nominal. (nd) - não detectado.

Concentrações nominais	Concentrações reais mensuradas (média \pm desvio padrão, $\mu\text{g L}^{-1}$)	
	T _{inicial}	T _{final}
CTRL+DMSO	nd	nd
1 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,07 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02
10 $\mu\text{g L}^{-1}$	3,19 \pm 0,01	0,48 \pm 0,06

A BP-3 não foi detectada nas amostras de água dos grupos controle (CTRL+DMSO) nos tempos de amostragem, assim como, não foi registrada nas amostragens de água no local de coleta dos mexilhões (na fazenda marinha) e no LMM, no período da aclimação inicial. Nas soluções estoque, a BP-3 foi detectada em concentrações muito semelhantes às nominais. Nas amostras de água dos béqueres sem animais, a menor concentração média real (C1) foi $0,1 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto a maior (C2) foi $3,0 \pm 0,42 \mu\text{g L}^{-1}$. A razão entre as concentrações nominais e reais foi 10% e 30%, respectivamente. Nossos resultados de quantificação da BP-3 foram similares aos observados por Lopes et al., (2020), utilizando o mesmo método analítico.

Nas amostras de água, sem animais, com concentração nominal de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ houve uma redução na concentração de BP-3 detectada no t 7dias ($0,07 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), em comparação às concentrações detectadas em t 0 ($0,14 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) e t 72h ($0,13 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$). Quanto as amostras de água relativas à concentração nominal de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, não houve diferença significativa nas concentrações em t 0 ($2,41 \pm 0,11 \mu\text{g L}^{-1}$), t 72h ($3,36 \pm 0,12 \mu\text{g L}^{-1}$) e t 7dias ($3,19 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$). Apesar disto, em termos gerais, as variações observadas nas amostras de água sem animais não foram consideradas significativas, indicando um bom grau de estabilidade na sua manutenção sob a forma de solução estoque, ao longo dos tempos de exposição.

Os parâmetros físico-químicos da água mensurados nos grupos controle e nos grupos expostos (temperatura: $20,5 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$; salinidade: $35,0 \pm 0,3 \text{ ups}$; pH: $8,14 \pm 0,09$) apresentaram variações desprezíveis ao longo do experimento, portanto, sugere-se que, *a priori*, a BP-3 não deva ter sofrido degradação ao longo do experimento, dado o seu comportamento em água, decorrente de suas propriedades físico-químicas, como fotoestabilidade considerável sob condições de luz solar natural e artificial, baixo potencial de volatilização e caráter lipofílico (Liu et al., 2011; Pestotnik; Kosjek; Heath, 2014; Zhang et al., 2017).

As concentrações reais detectadas no presente estudo enquadraram-se entre as faixas mais reportadas em ecossistemas costeiros marinhos (Bargar; Alvarez; Garrison, 2015; Benedé et al., 2014; Bratkovics; Sapozhnikova, 2011; Downs et al., 2016; Emnet et al., 2015; Kung et al., 2018; Paredes et al. 2014; Tarazona et al., 2010; Tovar-Sánchez et al. 2013; Tsui et al. 2014; Vila et al., 2016). Além da relevância ambiental, as concentrações reais no presente estudo foram semelhantes às testadas em diferentes espécies sentinelas para avaliação de contaminação marinha, como, por exemplo, microalgas (Paredes et al. 2014; Zhong et al. 2019), bivalves (Bordalo et al. 2020; Lopes et al. 2020;), microcrustáceos (Thorel et al. 2020) e corais (Downs et al. 2016; Wijgerde et al. 2020).

Tal resultado pode estar associado ao fato que a BP-3, dentre os filtros UV orgânicos, apresenta propriedades fotoquímicas relativamente estáveis, portanto, é considerada fotoestável em meio aquoso sob condições de radiação solar natural e artificial (Liu et al, 2011).

Mao, He, Gin, (2020) indicaram perdas desprezíveis da BP-3 em culturas da cianobactéria dulcícola *Microcystis aeruginosa* sob 28°C após 7 dias, devido a fatores abióticos, como sorção, fotólise e volatilização. Vidal-Liñán et al., (2018) observaram quedas

de 18,1% da BP-3 após 48 h e 15% após 72 h em condições experimentais semelhantes (aquários com água do mar filtrada; 34 ups e 16°C) com *Mytilus galloprovincialis* expostos a o 1 µg L⁻¹ de BP-3. Ademais, Paredes et al., (2014) observaram queda média de 23% em unidades experimentais incubadas sob 20°C após 48 h nas concentrações de 300, 3000 e 30000 µg L⁻¹. Nestes estudos, a BP-3 demonstrou notável estabilidade em água do mar filtrada.

Comparativamente, após 24h, a concentração nominal de 10 µg L⁻¹ de BP-3 diminuiu acentuadamente na água com mexilhões (T_{final}) em comparação com a os valores determinados na água sem animais (T_{inicial}), ou seja, de 3,19 ± 0,01 µg L⁻¹ para 0,48 ± 0,06 µg L⁻¹, respectivamente. Esses resultados após 24h de exposição a BP-3, sugerem que a BP-3 pode ter sido incorporada nos tecidos dos mexilhões expostos à concentração nominal de 10 µg L⁻¹, ou até mesmo biotransformada ao longo do tempo experimental. Por outro lado, caso da concentração nominal de 1 µg L⁻¹, não houve diferença significativa entre as concentrações nas unidades experimentais sem e com animais, ou seja, 0,07 ± 0,02 µg L⁻¹ determinado nas unidades sem animas, e 0,11 ± 0,02 µg L⁻¹ determinado nas unidades com animais.

Tal padrão aparentemente não acumulativo, também foi observado por Lee et al., (2020) em microalgas de água doce *Scenedesmus obliquus* expostas à BP-3 em duas concentrações (0,5 e 2 mg L⁻¹) por 10 dias. A bioacumulação foi significativamente maior em organismos expostos à maior concentração (2 mg L⁻¹), o que pode estar associado a uma maior biodisponibilidade da substância em maiores concentrações.

Cabe ressaltar que estudos mostraram que a BP-3 tem a capacidade de ativar processos de biotransformação em invertebrados e peixes, levando à sua eliminação, com produção de metabólitos, como BP-1 e BP-8 (ambos não quantificados nesse estudo) (Jeon et al., 2008; Kim et al., 2014). Outros estudos detectaram a presença da BP-3 em tecidos de moluscos marinhos em áreas expostas à mesma substância, demonstrando assim certo potencial de bioacumulação, principalmente em espécies sésseis e filtradoras (Castro et al., 2018; He et al., 2019; He; Timm; Blaney, 2017; Sang; Leung, 2016; Vidal-Liñán et al. 2018).

Olmos-Espejel et al. (2020) investigaram o potencial de bioacumulação de 5 filtros UV orgânicos comerciais, incluindo BP-3, em tilápias (*Oreochromis urolepis hornorum*). Os animais foram expostos à 100 µg L⁻¹ durante 72 h. Os resultados apontaram maior acúmulo de BP-3 nos tecidos no início (1350 ng g⁻¹) até o final (2900 ng g⁻¹) do experimento, sugerindo que mesmo sendo menos lipofílica que os outros filtros UV, a BP-3 pode apresentar maior biodisponibilidade e, portanto, apresentar potencial de bioacumulação relativamente

maior. No entanto, a incorporação dessas substâncias parece variável em função de diferenças quanto à metabolização e excreção por cada espécie (Vidal-Liñán et al. 2018).

Vidal-Liñán et al., (2018) avaliaram a cinética de bioacumulação de filtros UV orgânicos em mexilhões *Mytilus galloprovincialis*. A BP-3 e o OD-PABA apresentaram uma rápida captação pelos mexilhões em 24 e 48 h. Esses resultados sugerem uma capacidade de biotransformação relativamente rápida desses animais. Portanto, os padrões de bioacumulação encontrados para BP-3 e OD-PABA, com máximos entre 1-2 dias após a exposição e níveis decrescentes em seguida, estão alinhados com a resposta esperada para substâncias biotransformáveis, onde a síntese de enzimas de biotransformação é induzida logo após a exposição (Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

Inicialmente, a biotransformação de xenobióticos se dá por processos de fase I, principalmente através de enzimas da família do citocromo P450, que catalisam reações de oxidação, redução e de hidrólise. Essas alterações químicas nos grupos funcionais dos xenobióticos visam a geração de metabólitos com maior potencial de excretabilidade. ou de interação, através de reações de conjugação a moléculas eletrofilicas endógenas, via reações catalisadas pelas enzimas de fase II de biotransformação. Assim, a fase II de biotransformação envolve a conjugação de um composto parental ou metabólito resultante da fase I com moléculas eletrofilicas endógenas, portanto, desempenham papel fundamental na desintoxicação e eliminação de xenobióticos Os produtos resultantes da fase I e II de biotransformação, com maior solubilidade em água, portanto, podem ser transportados mais facilmente para o meio extracelular através de proteínas de membrana que compõem o sistema de resistência à múltiplos xenobióticos (Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

Nos moluscos bivalves, as brânquias são órgãos envolvidos diretamente nos processos de respiração, alimentação e absorção, estabelecendo, conseqüentemente, o primeiro contato com os contaminantes presentes nos ambientes aquáticos (Gosling, 2003). Nesse contexto, é factível inferir que a diminuição da concentração de BP-3 ($0,48 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$) observada na água dos aquários com mexilhões após 24h de exposição à concentração mais elevada, em comparação com aquela observada na água dos aquários sem mexilhões ($3,19 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) após o mesmo intervalo de tempo, seja um reflexo da bioconcentração deste contaminante nos animais. Por outro lado, resultado semelhante não foi observado no caso das amostras relativas à exposição, igualmente por 24h, à menor concentração de BP-3. Essa observação pode estar relacionada à menor concentração do contaminante utilizada no

experimento, sendo assim, uma menor quantidade passível de ser incorporada, bem como, pode como.

Por outro lado, não se pode descartar eventuais diferenças na capacidade de incorporação e biotransformação entre os indivíduos expostos. Em geral, bivalves apresentam a capacidade de alterar determinados comportamentos frente a um estressor ambiental, tal como, abertura ou fechamento das valvas, alteração na frequência e no padrão de batimento ciliar, aumento ou redução na área do sifão exalante e na distância interfilamentar das brânquias (Cranford; Ward; Shumway, 2011). Outros parâmetros fisiológicos, como taxa de filtração e de clareamento, também podem variar em bivalves, seja entre espécies, seja entre indivíduos da mesma espécie, e refletir, ainda, um panorama do estado de saúde desses organismos, além de indicar possíveis efeitos de longo prazo resultante de exposição a agentes estressores e químicos ambientais (Bayne et al., 1979).

Apesar dos resultados aqui obtidos sugerirem que a exposição à maior concentração de BP-3 pode ter promovido incorporação da substância nos mexilhões, faz-se necessário a realização de análises químicas nos tecidos dos animais expostos, e/ou a identificação de possíveis metabólitos gerados para permitir análises mais robustas dos processos de bioacumulação e biotransformação. A literatura sobre o metabolismo de contaminantes emergentes em bivalves, e de filtros UV em particular, é ainda bastante escassa, e este tópico merece mais investigação.

2.3.2 Biomarcadores bioquímicos

Após a exposição à BP-3 nas concentrações reais médias de 0,1 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante 72 h e 7 dias, nove mexilhões *P. perna* e seus respectivos grupos controle (n = 9/grupo) foram utilizados para a análise de biomarcadores bioquímicos. As atividades das enzimas GPx, GR, G6PDH e GST, bem como os níveis de lipoperoxidação de lipídeos foram analisados nas brânquias.

2.3.2.1 Atividade das enzimas antioxidantes e de biotransformação

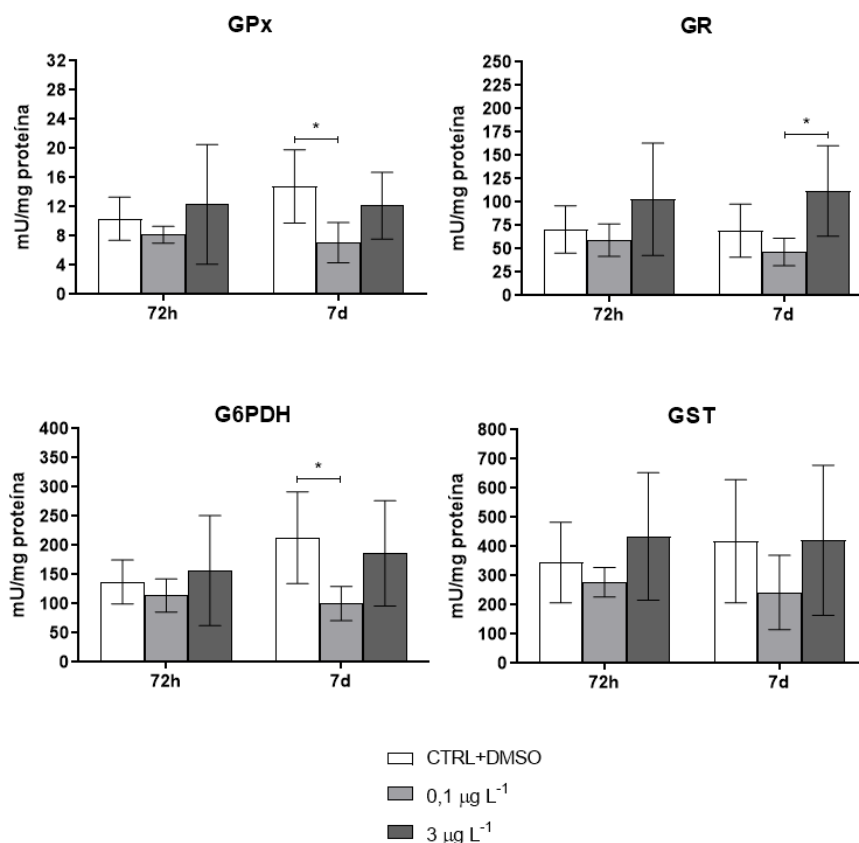
Em uma visão geral das respostas bioquímicas, por tratamento em relação aos respectivos grupos controles é possível observar diferenças nas atividades das enzimas do

sistema de defesa antioxidante nas brânquias dos mexilhões *P. perna* avaliadas neste estudo (Figura 5).

Para as enzimas avaliadas em nossas condições experimentais, não foram observados efeitos nos mexilhões expostos às concentrações ambientalmente relevantes após 72 h. Por outro lado, na exposição de 7 dias, foram observadas alterações nas atividades da GPx e da G6PDH, em relação ao grupo controle. A atividade de ambas as enzimas apresentou decréscimos significativos nas brânquias de mexilhões expostos à concentração $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3, enquanto os animais expostos à maior concentração ($3 \mu\text{g L}^{-1}$) apresentaram níveis semelhantes ao grupo controle. A atividade da GPx foi 2 vezes menor, enquanto a G6PDH foi 2,2 vezes menor que a observada no grupo controle.

A atividade da GR foi significativamente maior nos animais expostos a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3 em comparação aos expostos a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ durante o tratamento de 7 dias. Apesar da atividade enzimática na exposição a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ ser duas vezes maior que $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, não houve diferença significativa entre elas e o respectivo grupo controle. Não foram observadas diferenças significativas em relação a enzima de conjugação GST (fase II de biotransformação) entre os tratamentos e grupos controle nas brânquias dos mexilhões.

Figura 5: Atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e glutathiona s-transferase (GST) em brânquias de mexilhões *P. perna* expostos à 0,1 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante 72 h e 7 dias. Os dados estão apresentados sob a forma de média \pm desvio padrão ($n = 9$). $\mu\text{g L}^{-1}$ - micrograma por litro; d – dias; h – horas; * - indica diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle por ANOVA duas vias.



Diversos estudos evidenciaram a capacidade da BP-3 na ativação de processos de biotransformação e do sistema de defesa antioxidante em diferentes organismos, incluindo efeitos na atividade de enzimas como a GPx, GST, GR, dentre outras não investigadas em nosso estudo (por exemplo, SOD e CAT) (Bordalo et al., 2020; Campos et al., 2017; Gao et al., 2013; Lopes et al., 2020; Mao; He; Gin et al., 2020; Rodríguez-Fuentes et al., 2015; Vidal-Liñán et al., 2018). No entanto, o painel de defesas antioxidantes enzimáticas abordado nesses estudos é variado. Bordalo et al. (2020), investigando o efeito da BP-3 em *Mytilus galloprovincialis*, avaliaram a atividade da CAT e GPx, além da GST, enquanto Mao, He, Gin et al., (2020) também avaliaram a atividade das enzimas descritas, além da SOD e GR. Neste contexto, nosso estudo é pioneiro na inclusão da atividade da G6PDH no conjunto das atividades enzimáticas como ferramenta para a avaliação das respostas de defesa antioxidantes de bivalves expostos à BP-3, utilizando o mexilhão *P. perna*.

A GPx compõe uma família de enzimas antioxidantes que catalisam a transformação do peróxido de hidrogênio, H_2O_2 produzido metabolicamente, em H_2O , com a oxidação de glutathiona reduzida (GSH), evitando, assim, danos oxidativos nas células. O H_2O_2 é considerado um dos principais precursores celulares das EROs mais tóxicas, principalmente o radical hidroxila. A atividade desta enzima provou ser um biomarcador sensível ao revelar efeitos pró-oxidantes em organismos marinhos, mesmo em baixos níveis de contaminação ambiental (Regoli; Giuliani, 2014).

As enzimas de conjugação Glutathiona-S-Transferases (GSTs) englobam uma superfamília de enzimas de biotransformação de fase II diméricas que têm capacidade de conjugar o tripeptídeo glutathiona (GSH) com uma variedade de compostos contendo centros eletrofilicos, produzidos, primariamente, pela biotransformação de xenobióticos, mas que também podem ser oriundos de substâncias endógenas. Esses conjugados, por sua vez, são mais solúveis em água, podendo assim ser mais facilmente excretados.

As GSTs apresentam grande variedade de classes que conferem às suas diferentes isoformas a habilidade de conjugação, mediada pela GSH, com diferentes substratos durante a biotransformação de xenobióticos. Portanto, podem aumentar significativamente sua atividade, conseqüentemente, desempenhando assim um papel essencial na proteção celular contra vários xenobióticos e/ou substâncias endógenas tóxicas (Hellou; Ross; Moon, 2012; Hoarau et al., 2002).

Em termos de atividade da GST nos mexilhões *P. perna* nesse estudo, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e seus respectivos controles, o que pode indicar que as concentrações testadas podem não ter sido altas o suficiente para induzir uma atividade significativa dessa enzima de conjugação, e/ou o período de exposição não foi longo o suficiente para induzir um grau de estresse oxidativo nos mexilhões, suficiente para ativar sua capacidade de defesa antioxidante. Por outro lado, não se pode deixar de considerar a possibilidade de incorporação de BP-3 nos mexilhões, observada durante 24h de exposição à maior concentração (Tabela 3).

Estes resultados estão de acordo com Bordalo et al. (2020), que não detectaram alterações significativas da atividade da GPx e GST em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* expostos a concentrações de 10, 100 e 1000 ng L⁻¹ de BP-3 durante 96 h. Além disso, Lopes et al. (2020) não observaram diferença significativa na modulação da atividade da GST em brânquias do bivalve *Amarilladesma mactroides* expostos à 1 µg L⁻¹ de BP-3 durante 96 h sob mesmas condições de pH (pH = 8.1) da água marinha. No entanto, esse mesmo estudo

demonstrou que a BP-3 aumentou significativamente a atividade do GST nas brânquias em condições acidificantes (pH = 7,6), sugerindo ter havido um estímulo na resposta de proteção geral deste tecido-alvo sob condições de estresse. Mao, He, Gin et al. (2020) observaram que a atividade da GPx foi significativamente reduzida na cianobactéria *Microcystis aeruginosa* nos grupos tratados com BP-3 em concentrações semelhantes ao presente estudo (0,01 e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$), após 4 e 7 dias de exposição.

Em contrapartida, O'Donovan et al., (2020) detectaram um aumento significativo da atividade da GPx e GST nas brânquias do molusco de areia *Scrobicularia plana* expostos a microplásticos contaminados com BP-3 (82 ng g^{-1}) durante 14 dias, tendo sido observado um pico de atividade no sétimo dia exposição.

O peptídeo glutationa apresenta papel fundamental como co-substrato na reação catalítica de algumas enzimas antioxidantes e de biotransformação de xenobióticos, como a GPx, GR e GST (Hellou; Ross; Moon, 2012; Sheehan et al., 2001). A GR possui papel fundamental na manutenção da glutationa reduzida intracelular, através utilização de elétrons oriundos da oxidação de NADPH, oxidação essa associada e necessária à regeneração de GSSG em GSH (Oost; Beyer; Vermeulen, 2003). Diferentemente da atividade das outras enzimas aqui analisadas, a atividade da GR foi maior nos animais expostos à 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3 (maior concentração testada) ao término da exposição por 7 dias, no entanto, ambas não apresentaram diferença significativa com o grupo controle. Pode-se sugerir que a maior atividade da GR observada nos animais expostos a 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ após 7 dias, associada à ausência de atividade da GST, pode estar comprometendo a reciclagem da glutationa reduzida, o que poderia causar, em uma exposição prolongada, uma condição de estresse oxidativo (Regoli et al., 2011).

Mao, He, Gin, et al. (2020) observaram que a BP-3 inibiu significativamente a atividade da GR em *M. aeruginosa* nas concentrações de 0,01, 1 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a inibição tendeu a ser mínima no sétimo dia de exposição, em contraponto com a redução mais significativa observada na maior concentração de BP-3 durante as primeiras 24 h de exposição.

A G6PDH, enzima reguladora da via das pentoses fosfato, possui um papel coadjuvante no sistema de defesa antioxidante, pois é responsável por fornecer intermediários redutores (NADPH) necessários à atividade GR (Bainy et al., 1996). Neste estudo, a atividade da G6PDH apresentou decréscimos significativos nas brânquias de mexilhões expostos à

concentração $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3, enquanto os animais expostos a maior concentração ($3 \mu\text{g L}^{-1}$) apresentaram níveis semelhantes ao grupo controle.

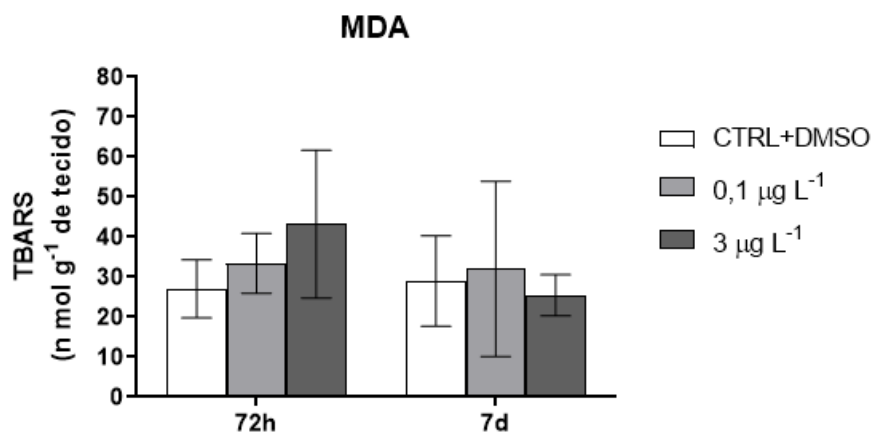
Os mecanismos do sistema de defesa antioxidante são responsáveis pela inibição da formação e pela neutralização e remoção de EROs, desempenhando assim um papel crucial na manutenção da homeostase celular. A brânquia é o principal órgão envolvido na filtração, sendo assim, considerada primeiro local de contato e captação de contaminantes, principalmente em bivalves, e, portanto, podem ser o primeiro tecido afetado pelo impacto nocivo dessas substâncias. Neste sentido, estudos demonstram que as brânquias dos bivalves parecem ser relativamente mais sensíveis para responder a um desafio pró-oxidativo, decorrente de exposições a contaminantes (Bastolla et al. 2019; O'Donovan et al., 2020; Ortega et al., 2019; Sáenz et al., 2010; Santos et al., 2018).

O índice integrado de respostas de biomarcadores (IBR) é uma ferramenta utilizada para avaliar o efeito conjunto de diferentes biomarcadores sobre um organismo ou tecido-alvo durante um ensaio de exposição, auxiliando, assim, nas interpretações quanto aos efeitos toxicológicos de um contaminante (Beliaeff; Burgeot, 2002). O'Donovan et al., (2020), por exemplo, observaram que o IBR foi maior, de forma geral, nas brânquias que nas glândulas digestivas de *Scrobicularia plana*, principalmente nas respostas enzimáticas e naquelas relacionadas a danos oxidativos, sugerindo assim que este tecido pode ser mais afetado em relação a esses biomarcadores quando da exposição à BP-3.

2.3.2.2 Danos oxidativos: Lipoperoxidação (LPO)

Com base nos resultados dos níveis de malondialdeído (MDA), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e os respectivos controles (Figura 6). Portanto, em nossas condições experimentais não foi constatado dano significativo sobre estruturas lipídicas presentes em amostras das brânquias, decorrente de lipoperoxidação (LPO).

Figura 6: Nível de produtos finais da lipoperoxidação (MDA) em brânquias de mexilhões *P. perna* expostos à 0,1 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante 72 h e 7 dias. Os dados estão apresentados sob a forma de média \pm desvio padrão (n = 9). $\mu\text{g L}^{-1}$ - micrograma por litro; d – dias; h – horas.



A LPO é um dos principais eventos citotóxicos primários; eventos esses que desencadeiam uma série de lesões celulares, causando alterações na permeabilidade celular e, subsequentemente, no transporte iônico e de substâncias, reduzindo a seletividade na troca iônica e levando à liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas, formação de produtos citotóxicos (como o malonaldeído, MDA e 4-hidroxinonenal, HNE), alterações no DNA e comprometimento das matrizes extracelulares, podendo, em condições extremas, acarretar morte celular. Portanto, mecanismos ineficientes de minimização do estresse oxidativo durante a formação ou excesso de EROs podem causar um aumento da LPO (OLIVEIRA et al., 2009).

Em consonância com os nossos resultados, Lopes et al. (2020) não observaram nenhum efeito da BP-3 (1 $\mu\text{g L}^{-1}$) durante exposição de 96 h nos níveis de LPO nas brânquias do molusco de areia *A. mactroides* expostos sob condições de temperatura (20°C), salinidade (30 ups) e pH (8.1) semelhantes ao nosso estudo.

Diferentemente, O'Donovan et al., (2020) detectaram um aumento nos níveis de LPO nas brânquias do molusco de areia *Scrobicularia plana* expostos a microplásticos contaminados com BP-3 (82 ng g⁻¹) durante 7 dias. Os autores sugeririam que os resultados podem ser associados à presença de BP-3, livre ou adsorvido, uma vez que o mesmo resultado não foi observado no grupo controle exposto apenas a microplásticos. Entretanto, os níveis de LPO durante a exposição de 72 h não apresentaram diferença entre os tratamentos e respectivos grupos controle.

Diversos estudos avaliaram os efeitos da BP-3 em bivalves e revelaram que a LPO ocorreu em concentrações comparativamente mais altas de exposição, como resultado ou de níveis maiores de estresse induzido (geralmente associado a maiores concentrações de exposição), ou, ainda, devido à alta capacidade antioxidante para eliminar o excesso de EROs, evitando ou diminuindo a LPO (Bordalo et al., 2020; Mao; He; Gin et al. 2020; Zhong et al., 2019).

Por exemplo, Bordalo et al. (2020) observaram que até $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3 nenhuma alteração significativa ocorreu nos níveis de LPO em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* expostos a BP-3 por um período de 96 h, indicando menor produção de EROs devido às baixas concentrações de exposição ou, por outro lado, devido à alta capacidade antioxidante com a consequente prevenção da ocorrência de dano oxidativo. Porém, na exposição à concentração de $1 \mu\text{g L}^{-1}$, a LPO foi maior do que em mexilhões mantidos em concentrações mais baixas, indicando que o estresse causado nesta concentração pode ter levado a um aumento de EROs, e, conseqüentemente, induzindo dano celular.

Zhong et al., (2019) observaram incremento dos conteúdos de EROs (produção de O_2^- e H_2O_2) e MDA em microalgas *Arthrospira* sp. e a *Chlorella* sp., com o aumento das concentrações de BP-3 (228, 2.280 e $11.400 \mu\text{g L}^{-1}$) durante 7 dias, indicando que a peroxidação da membrana celular foi agravada pelo excesso de EROs acumulado.

Mao, He, Gin, et al. (2020) também observaram uma relação positiva entre o aumento das concentrações de BP-3, com o crescimento dos níveis de LPO, indicados pelo conteúdo de MDA em *M. aeruginosa* expostas sob concentrações de 0,01, 1 e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$.

A LPO foi o único ensaio de dano oxidativo avaliado neste estudo. Apesar dos resultados não indicarem efeitos significativos nos tratamentos testados, não é aconselhável descartar que outros tipos de danos oxidativos possam ter ocorrido, relacionados a macromoléculas, como ácidos nucleicos ou proteínas, como foi relatado por Downs et al (2016), que observaram danos significativos ao DNA de larvas do coral *Stylophora pistillata* durante exposição a concentrações ambientalmente relevantes de BP-3 por 8 h.

A resposta observada no presente estudo pode ser indicativa de que mesmo com a redução da atividade das enzimas antioxidantes analisadas na exposição à $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ durante 7 dias, não houve dano oxidativo significativo aos lipídeos em nossas condições experimentais. Tal resultado pode indicar certa eficácia dos mexilhões *P. perna* na ativação e manutenção do sistema de defesa antioxidante e biotransformação, mesmo considerando os decréscimos nos níveis de atividade enzimática observados para a GPx, G6PDH e GR. Por outro lado, na faixa

de 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de BP-3 as atividades das enzimas avaliadas após 7 dias de exposição apresentaram níveis comparáveis àqueles dos mexilhões do grupo controle, o que poderia ser relacionado ao menor nível de LPO comparativamente àquele observado após 72h de exposição na mesma concentração.

Esses resultados poderiam se passíveis de interpretação como reflexo dos processos biológicos complexos que ocorrem nos organismos em resposta às condições ambientais estressoras, em nível molecular ou celular, visando adaptação, e possibilitando assim sua sobrevivência e manutenção ao longo das gerações (Bainy et al., 2000; Regoli; Giuliani, 2014). Além disso, o mexilhão *P. perna* é considerado uma espécie robusta, estando bem adaptados ao ambiente natural em termos de sua constante exposição a flutuações na dinâmica de maré, o que promove, principalmente, alterações na concentração de oxigênio, na temperatura, na salinidade. Essa maior tolerância às variações ambientais, como salinidade e temperatura, poderia de certa forma impactar as suas respostas de defesa e de manutenção de homeostase frente a agentes estressores gerados pelas ações antrópicas, como a exposição à contaminantes (Ferreira; Magalhães, 2004).

2.4 CONCLUSÃO

As análises químicas na água das unidades experimentais demonstraram a presença das concentrações reais médias (0,1 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$), muito similares àquelas encontradas em ecossistemas aquáticos. Aparentemente, houve incorporação e/ou biotransformação da BP-3 na água das unidades experimentais pelos mexilhões expostos a (3 $\mu\text{g L}^{-1}$). Quanto às respostas enzimáticas, foi observada uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na atividade da G6PDH e GPx nas brânquias dos mexilhões expostos a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ após 7 dias de exposição. Esses resultados sugerem uma alteração na reciclagem da GSH. Essa possível alteração, por sua vez, poderia estar relacionada ao desequilíbrio no sistema redox das células branquiais do mexilhão *P. perna*, causada pela BP-3, sob condições controladas em laboratório.

Apesar das diferentes respostas nas atividades enzimáticas, não foram observados danos oxidativos nas condições experimentais aplicadas. Comparativamente, as distintas respostas na defesa antioxidante observadas podem estar relacionadas ao tempo e concentração experimentais, bem como, com a plasticidade em função dos nichos ecológicos que ocupam e a adaptação às respectivas condições ambientais.

2.5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado (88887.372881/2019-00 - PPGAQI/UFSC) para G. S. Cruz. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Projeto nº3110099/2014-0 pelos recursos financeiros prestados para execução do presente trabalho. À fazenda marinha Paraíso das Ostras (Florianópolis – SC) pelo fornecimento dos animais. Ao Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM/UFSC) pela parceria na manutenção, aclimatação inicial, e fornecimento das microalgas para a alimentação dos mexilhões. Ao Laboratório de Toxicologia (ECOBIOTox/FURG) pela parceria nas análises químicas das amostras de água.

REFERÊNCIAS

- ALERJ. Assembleia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro. Projeto de Lei nº 1129/2019, de 22 de agosto de 2019. Proíbe produção, importação e comercialização de filtros solares e outros produtos cosméticos que contenham em sua fórmula as substâncias oxibenzona (benzofenona - 3) e octinoxat. Rio de Janeiro, RJ. 2019.
- AZNAR, R. et al. Simultaneous determination of multiclass emerging contaminants in aquatic plants by ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion and GC-MS. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 24, n. 9, p. 7911-7920, 2016.
- BAYNE, B. L. et al. Measurement of the responses of individuals to environmental stress and pollution: studies with bivalve molluscs. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 286, n. 1015, p. 563-581, 1979.
- BAINY, A. C. D. et al. Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Marine Environmental Research**, v. 50, n. 1-5, p. 411-416, 2000.
- BALMER, M. E. et al. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 4, p. 953-962, 2005.
- BARGAR, T. A.; ALVAREZ, D. A.; GARRISON, V. H. Synthetic ultraviolet light filtering chemical contamination of coastal waters of Virgin Islands national park, St. John, U.S. Virgin Islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 101, n. 1, p. 193-199, 2015.
- BASTOLLA, C. L. V. Respostas bioquímicas em três espécies de ostras do gênero *Crassostrea* (Sacco, 1897) expostas a criseno. Dissertação 2019. (Mestrado em aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

BENEDÉ, J.L. et al. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 812, p. 50-58, 2014.

BEYER, J. et al. Blue mussels (*Mytilus edulis* spp.) as sentinel organisms in coastal pollution monitoring: a review. **Marine environmental research**, v. 130, p. 338-365, 2017.

BORDALO, D. et al. Impacts of UV Filters in *Mytilus galloprovincialis*: preliminary data on the acute effects induced by environmentally relevant concentrations. **Sustainability**, v. 12, n. 17, p. 6852, 2020.

BRASIL Senado Federal. Projeto de Lei nº 616/2019. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências, para dispor sobre a regulação ambiental de cosméticos, e dispõe sobre a proibição de protetores solares considerados tóxicos para os recifes de corais. Brasília, DF, 2019.

BRATKOVICS, S.; SAPOZHNIKOVA, Y. Determination of seven commonly used organic UV filters in fresh and saline waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 3, n. 12, p. 2943, 2011.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. in: methods in enzymology. **Academic Press. Inc**, v.113 p. 484-490, 1985.

CASTRO, M. et al. Occurrence, profile and spatial distribution of UV-filters and musk fragrances in mussels from Portuguese coastline. **Marine Environmental Research**, v. 138, p. 110-118, 2018.

CITY OF KEY WEST. 2018. Ordinance 18–3253 amending chapter 26 sun-screen. City Commission. <http://www.ordinancewatch.com/files/82613/LocalGovernment125476.pdf>. Acessado em 21 de abril de 2021.

CONWAY, A. J. et al. Acute toxicity of the UV filter oxybenzone to the coral *Galaxea fascicularis*. **Science Of The Total Environment**, v. 796, p. 1-11, 2021.

CRANFORD P. J.; WARD J. E.; SHUMWAY S. E. Bivalve filter feeding: variability and limits of the aquaculture biofilter. **Shellfish aquaculture and the environment**, p. 81-124, 2011

DNM. Department of Nature and Environment Aruba (2019) Environmental unfriendly products will be banned starting July 1, 2020. https://www.government.aw/news/news_47033/item/environmental-unfriendly-products-will-be-banned-starting-july-1-2020_51844.html. Acessado em 21 de abril de 2021.

DOWNS, C. A. et al. Toxicopathological effects of the sunscreen UV filter, oxybenzone (benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, v. 70, n. 2, p. 265-288, 2016.

EMNET, P. et al. Personal care products and steroid hormones in the Antarctic coastal environment associated with two Antarctic research stations, mcmurdo station and scott base. **Environmental Research**, v. 136, p. 331-342, 2015.

FENT, K.; ZENKER, A.; RAPP, M. Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1817-1824, 2010.

FERREIRA, J.F.; MAGALHÃES, A.R.M. **Cultivo de mexilhões**. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). Aquicultura: experiências brasileiras. Florianópolis, SC: Multitarefa, p.221-250, 2004.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química. Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FONTES, M. K. et al. A tiered approach to assess effects of diclofenac on the brown mussel *Perna perna*: A contribution to characterize the hazard. **Water research**, v. 132, p. 361-370, 2018.

GAGO-FERRERO, P. et al. Fully automated determination of nine ultraviolet filters and transformation products in natural waters and wastewaters by on-line solid phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1294, p. 106-116, 2013.

GIL, M. J. et al. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. **Producción+ limpia**, v. 7, n. 2, p. 52-73, 2012.

GIOKAS, D. L.; SALVADOR, A.; CHISVERT, A. UV filters: from sunscreens to human body and the environment. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 360-374, 2007.

GLOCK, G. E.; MCLEAN, P. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. **Biochemical Journal**, v. 55, n. 3, p. 400-408, 1953.

GROZ, M. et al. Detection of emerging contaminants (UV filters, UV stabilizers and musks) in marine mussels from Portuguese coast by quechers extraction and GC–MS/MS. **Science Of The Total Environment**, v. 493, p. 162-169, 2014.

HANSON, K. M.; GRATTON, E.; BARDEEN, C. J. Sunscreen enhancement of UV-induced reactive oxygen species in the skin. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 8, p. 1205-1212, 2006.

HAWAII (2018). Lei do Senado 2571. Disponível em:

https://www.capitol.hawaii.gov/session2018/bills/SB2571_.HTM. Acessado: 21 de abril de 2021.

HE, K. et al. Occurrence of antibiotics, estrogenic hormones, and UV-filters in water, sediment, and oyster tissue from the Chesapeake Bay. **Science Of The Total Environment**, v. 650, p. 3101-3109, 2019.

HE, K.; TIMM, A.; BLANEY, L. Simultaneous determination of UV-filters and estrogens in aquatic invertebrates by modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v.1509, p. 91-101, 2017.

HELLOU, J.; ROSS, N. W.; MOON, T. W. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. **Environ Sci Pollut Res**, v. 19, n. 6, p. 2007-2023, 2012.

HOARAU, P. et al. Purification and partial characterization of seven glutathione S-transferase isoforms from the clam *Ruditapes decussatus*. **European journal of biochemistry**, v. 269, n. 17, p. 4359-4366, 2002.

JEON, H-K. et al. Toxicokinetics and metabolisms of benzophenone-type UV filters in rats. **Toxicology**, v. 248, n. 2-3, p. 89-95, 2008.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for several activities of the glutathione S-transferases. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. **Environment International**, v. 70, p. 143-157, 2014.

KUNG, T. A. et al. Survey of selected personal care products in surface water of coral reefs in Kenting national park, Taiwan. **Science Of The Total Environment**, v. 635, p. 1302-1307, 2018.

KUNZ, Y.; FENT, K. Estrogenic activity of UV filter mixtures. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 217, n. 1, p. 86-99, 2006.

LEE, S-H. et al. Toxicity of benzophenone-3 and its biodegradation in a freshwater microalga *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 389, p. 122-149, 2020.

LI, Y. et al. Photochemical transformation of sunscreen agent benzophenone-3 and its metabolite in surface freshwater and seawater. **Chemosphere**, v. 153, p. 494-499, 2016.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D.; SAES P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LIU, Y. et al. Photostability of the UV filter benzophenone-3 and its effect on the photodegradation of benzotriazole in water. **Environmental Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 581-588, 2011.

LOPES, F. C. et al. Effect of the UV filter, benzophenone-3, on biomarkers of the yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) under different pH conditions. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 111401, 2020.

MAO, F.; HE, Y.; GIN, K. Y-H. Antioxidant responses in cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* caused by two commonly used UV filters, benzophenone-1 and benzophenone-3, at environmentally relevant concentrations. **Journal of hazardous materials**, v. 396, p. 122587, 2020.

MARENZI, A. W. C. et al. Development of mussels *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca-Bivalvia) in culture in South Brazilian. **Journal Of Coastal Research**, p. 1102-1105, 2006.

MATOZZO, V.; GAGNÉ, F. **Immunotoxicology approaches in ecotoxicology: lessons from mollusks**. In: Lessons in Immunity. Academic Press, p. 29-51 2016.

MELWANI, A. R. et al. Mussel watch update: long-term trends in selected contaminants from coastal California, 1977–2010. **Marine pollution bulletin**, v. 81, n. 2, p. 291-302, 2014.

MENG, Q. et al. Toxic effects and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) larvae exposed to benzophenones. **Environmental Pollution**, v. 265, p. 114857, 2020.

MOLINS-DELGADO, D. et al. A potential new threat to wild life: presence of UV filters in bird eggs from a preserved area. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 19, p. 10983-10990, 2017.

MOLINS-DELGADO, D. et al. Occurrence of organic UV filters and metabolites in lebranche mullet (*Mugil liza*) from Brazil. **Science Of The Total Environment**, v. 618, p. 451-459, 2018.

NARLA, S.; LIM, H. W. Sunscreen: FDA regulation, and environmental and health impact. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 19, n. 1, p. 66-70, 2020.

OECD. Environment Health and Safety Publications. **Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: a guidance to application**. Organisation for economic co-operation and, p. 1–147, 2006.

OECD. Environment Health and Safety Publications. Environment, Health and Safety Publications. **Series on Testing and Assessment**. n. 121, 182 p, 2010.

OLMOS-ESPEJEL, J. J. et al. Methodology for analysis of UV filters in tilapia using off-line MSPD followed by on-line SPE–LC/UV. **Chromatographia**, p. 1-8, 2020.

- OOST, R. V. D.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.
- ORTEGA A. S. B. et al. Detoxification, oxidative stress, and cytogenotoxicity of crack cocaine in the brown mussel *Perna perna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 27, p. 27569-27578, 2019.
- PAREDES, E. et al. Ecotoxicological evaluation of four UV filters using marine organisms from different trophic levels *Isochrysis galbana*, *Mytilus galloprovincialis*, *Paracentrotus lividus*, and *Siriella armata*. **Chemosphere**, v. 104, p. 44-50, 2014.
- PESTOTNIK, K.; KOSJEK, T.; HEATH, E. Transformation products of personal care products: UV filters case studies. **Transformation Products Of Emerging Contaminants In The Environment**, p. 459-492, 2014.
- POMPEI, C. M. E. et al. Occurrence of PPCP in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration. **Chemosphere**, v. 226, p. 210-219, 2019.
- REGOLI, F.; GIULIANI, M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. **Marine environmental research**, v. 93, p. 106-117, 2014.
- REPUBLIC OF PALAU (2018). Senate Bill No. 10–135, SD1, HD1 (The Responsible Tourism Education Act of 2018). <https://www.palau.gov.pw/wp-content/uploads/2018/10/RPPL-No.-10-30-re.-The-Responsible-Tourism-Education-Act-of-2018.pdf>. Acessado em 21 de abril de 2021.
- RODIL, R. et al. Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 395, n. 5, p. 1513-1524, 2009.
- RODRÍGUEZ-FUENTES, G. et al. Evaluation of the estrogenic and oxidative stress effects of the UV filter 3-benzophenone in zebrafish (*Danio rerio*) eleuthero-embryos. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 115, p. 14-18, 2015.
- SÁENZ, L. A. et al. Biochemical biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 796-804, 2010.
- SÁNCHEZ-QUILES, D.; TOVAR-SÁNCHEZ, A. Are sunscreens a new environmental risk associated with coastal tourism? **Environment International**, v. 83, p. 158-170, 2015.
- SANG, Z.; LEUNG, K. S-Y. Environmental occurrence and ecological risk assessment of organic UV filters in marine organisms from Hong Kong coastal waters. **Science Of The Total Environment**, v. 566, p. 489-498, 2016.
- SCHLECHT, C. et al. Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. **Toxicology**, v. 205, n. 1-2, p. 123-130, 2004.

SCHLUMPF, M. et al. Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters—an update. **Toxicology**, v. 205, n. 1-2, p. 113-122, 2004.

SCHÖNE, B. R.; KRAUSE JR.; Richard A. Retrospective environmental biomonitoring—Mussel Watch expanded. **Global and Planetary Change**, v. 144, p. 228-251, 2016.

SIES, H. et al. Strategies of antioxidant defense. **European Journal Of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180-183, 2015.

SILVA, C. P.; EMÍDIO, E. S.; DE MARCHI, M. R. R. The occurrence of UV filters in natural and drinking water in São Paulo state (Brazil). **Environmental Science And Pollution Research**, v. 22, n. 24, p. 19706-19715, 2015.

SOUZA, A. et al. Cytotoxicity evaluation of Amoxicillin and Potassium Clavulanate in Perna perna mussels. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 2016.

STIEN, D. et al. A unique approach to monitor stress in coral exposed to emerging pollutants. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

SUPLICY, F. M. **Cultivo de mexilhões: sistema contínuo e mecanizado**. Epagri, Florianópolis, SC, 2017.

SUREDA, A. et al. Acute exposure to sunscreen containing titanium induces an adaptive response and oxidative stress in *Mytilus galloprovincialis*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 149, p. 58-63, 2018.

TARAZONA, I. et al. Determination of hydroxylated benzophenone UV filters in sea water samples by dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1217, n. 29, p. 4771-4778, 2010.

THOREL, E. et al. Effect of 10 UV filters on the Brine Shrimp *Artemia salina* and the marine microalga *Tetraselmis* sp. **Toxics**, v. 8, n. 2, p. 29, 2020.

TOVAR-SÁNCHEZ, A. et al. Sunscreen products as emerging pollutants to coastal waters. **Plos One**, v. 8, n. 6, p. 65451-65451, 2013.

TSUI, M. M.P. et al. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in surface waters from different countries. **Water Research**, v. 67, p. 55-65, 2014.

US EPA. Distributed Structure-Searchable Toxicity Database. Disponível em: <https://www.epa.gov/chemical-research/distributed-structure-searchable-toxicity-dsstoxt-database>. Acessado em 21 de agosto de 2021.

US VIRGINS ISLAND (2019). Details of Bill No. 33-0043/Act No. 8185. Act n° 8185. Bill No. 33–0043. Thirty-Third Legislature of the Virgin Islands. Regular Session 2019. <https://www.legvi.org/billtracking/ShowPDF.aspx?num=8185&type=Act>. Acessado em 21 de abril de 2021.

VALAVANIDIS, A. et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 64, n. 2, p. 178-189, 2006.

VIDAL-LIÑÁN, L. et al. Bioaccumulation of UV filters in *Mytilus galloprovincialis* mussel. **Chemosphere**, v. 190, p. 267-271, 2018.

VILA, M. et al. Ultrasound-assisted emulsification microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of UV filters in water. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 530-539, 2016.

WENDEL, A. et al. Glutathione peroxidase. **Methods In Enzymology**, p. 325-333, 1981.

WIJGERDE, T. et al. Adding insult to injury: effects of chronic oxybenzone exposure and elevated temperature on two reef-building corals. **Science Of The Total Environment**, v. 733, p. 139030, 2020.

XUE, J.; LIU, W.; KANNAN, K. Bisphenols, benzophenones, and bisphenol A diglycidyl ethers in textiles and infant clothing. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 9, p. 5279-5286, 2017.

ZANETTE, J. et al. Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. **Science Of The Total Environment**, v. 409, n. 10, p. 1976-1983, 2011.

ZENKER, A.; SCHMUTZ, H.; FENT, K. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. **Journal Of Chromatography A**, v. 1202, n. 1, p. 64-74, 2008.

ZHANG, Q. et al. Evaluation of ecotoxicological effects of benzophenone UV filters: luminescent bacteria toxicity, genotoxicity and hormonal activity. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 142, p. 338-347, 2017.

ZHANG, Y. et al. Potentiation of lethal and sub-lethal effects of benzophenone and oxybenzone by UV light in zebrafish embryos. **Aquatic Toxicology**, v. 235, p. 105835, 2021.

ZHONG, X. et al. The toxicological effects of oxybenzone, an active ingredient in sunscreen personal care products, on prokaryotic alga *Arthrospira* sp. and eukaryotic alga *Chlorella* sp. **Aquatic Toxicology**, v. 216, p. 105295, 2019.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi possível avaliar os efeitos da BP-3, em concentrações de relevância ambiental, sobre a atividade de enzimas envolvidas no sistema de defesa antioxidante, bem como, avaliar potenciais danos oxidativos nas membranas celulares de mexilhões *P. perna*. Levando em consideração nossas condições experimentais, bem como, as concentrações utilizadas e os tempos de exposição selecionados para este estudo, foi possível verificar um possível desequilíbrio no sistema redox das células branquiais do mexilhão *P. perna*, causada pela BP-3, sob condições controladas em laboratório

Este estudo foi o primeiro a avaliar tal conjunto de respostas bioquímicas, em especial as atividades enzimáticas selecionadas, associadas ao estresse oxidativo nesta espécie de grande importância para a aquicultura nacional.

Como perspectiva, pretende-se analisar dados referentes às análises químicas da BP-3 nos tecidos dos mexilhões *P. perna* expostos, bem como, avaliar a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT) (enzimas consideradas como linha de frente nas defesas antioxidantes), visando agregar informações relevantes quanto às defesas antioxidantes desses organismos frente à exposição a esse contaminante emergente.

Enfatiza-se a importância do uso de protetores solares contra a ação nociva dos raios UV. No entanto, salienta-se a importância de investigações relacionadas à toxicidade de tais substâncias sobre os organismos, particularmente aquáticos, devido à sua presença constante nas matrizes ambientais.

Mais estudos são necessários para avaliação dos efeitos e riscos efetivos da BP-3 sobre o meio ambiente, para assim subsidiar melhor estratégias de mitigação de seus possíveis impactos, destacando o desenvolvimento de tratamentos de esgoto mais eficazes e com maior capacidade de remoção, bem como, para elaboração de políticas públicas efetivas. Além disso, devido a relevância de bivalves para a produção aquícola, é imprescindível garantir a qualidade ambiental e a sustentabilidade das populações prevenindo a perda de biodiversidade e garantindo a segurança alimentar para o consumo humano.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

ABIHPEC. **Panorama do setor – Higiene pessoal, perfumaria e cosméticos**. Disponível em:

https://abihpec.org.br/site2019/wpcontent/uploads/2021/10/Panorama_do_Setor_Atualizado_Setembro_2021.pdf. Acessado em 21 de agosto de 2021.

AHMED, F. K.; LIM, H. W.; DRAELOS, Z. D. Worldwide regulation of UV filters: current status and future trends. **Clinical Guide To Sunscreens And Photoprotection**, p. 65-81, 2009.

ALERJ. Assembleia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro. Projeto de Lei nº 1129/2019, de 22 de agosto de 2019. Proíbe produção, importação e comercialização de filtros solares e outros produtos cosméticos que contenham em sua fórmula as substâncias oxibenzona (benzofenona - 3) e octinoxat. Rio de Janeiro, RJ. 2019.

ALLEN, J. M.; GOSSETT, C. J.; ALLEN, S. K. Photochemical formation of singlet molecular oxygen in illuminated aqueous solutions of several commercially available sunscreen active ingredients. **Chemical Research In Toxicology**, v. 9, n. 3, p. 605-609, 1996.

ALLINSON, M. et al. Occurrence and assessment of the risk of ultraviolet filters and light stabilizers in Victorian estuaries. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 12022-12033, 2018.

AMINE, H. et al. UV filters, ethylhexyl methoxycinnamate, octocrylene and ethylhexyl dimethyl PABA from untreated wastewater in sediment from eastern Mediterranean river transition and coastal zones. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 11, p. 2435-2442, 2012.

ANDERSON, D. P. **Environmental factors in fish health: immunological aspects**. In: IWAMA, G. The fish immune system: organism, pathogen, and environment. Latest Edition p. 289-310, 1996.

ANVISA. Resolução RDC 69 de março de 2016, “Dispõe sobre o “REGULAMENTO TÉCNICO MERCOSUL SOBRE LISTA DE FILTROS ULTRAVIOLETAS PERMITIDOS PARA PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUMES”. 2016.

AZNAR, R. et al. Simultaneous determination of multiclass emerging contaminants in aquatic plants by ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion and GC-MS. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 24, n. 9, p. 7911-7920, 2016.

BAINY, A. C. D. et al. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. **Aquatic Toxicology**, v. 34, n. 2, p. 151-162, 1996.

BAINY, A. C. D. et al. Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Marine Environmental Research**, v. 50, n. 1-5, p. 411-416, 2000.

- BALMER, M. E. et al. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 4, p. 953-962, 2005.
- BARGAR, T. A.; ALVAREZ, D. A.; GARRISON, V. H. Synthetic ultraviolet light filtering chemical contamination of coastal waters of Virgin Islands national park, St. John, U.S. Virgin Islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 101, n. 1, p. 193-199, 2015.
- BARÓN, E. et al. Occurrence of hydrophobic organic pollutants (BFRs and UV-filters) in sediments from South America. **Chemosphere**, v. 92, n. 3, p. 309-316, 2013.
- BASTOLLA, C. L. V. Respostas bioquímicas em três espécies de ostras do gênero *Crassostrea* (Sacco, 1897) expostas a crisenol. Dissertação 2019. (Mestrado em aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- BENEDÉ, J.L. et al. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 812, p. 50-58, 2014.
- BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista De Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 09-19, 2012.
- BORDALO, D. et al. Impacts of UV Filters in *Mytilus galloprovincialis*: preliminary data on the acute effects induced by environmentally relevant concentrations. **Sustainability**, v. 12, n. 17, p. 6852, 2020.
- BRASIL Senado Federal. Projeto de Lei nº 616/2019. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências, para dispor sobre a regulação ambiental de cosméticos, e dispõe sobre a proibição de protetores solares considerados tóxicos para os recifes de corais. Brasília, DF, 2019.
- BRATKOVICS, S.; SAPOZHNIKOVA, Y. Determination of seven commonly used organic UV filters in fresh and saline waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 3, n. 12, p. 2943, 2011.
- BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011.
- BU, Q. et al. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: a review. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 262, p. 189-211, 2013.

BURNS, E.; DAVIES, I. The toxicological effects of oxybenzone, an active ingredient in sunscreen personal care products, on prokaryotic alga *Arthrospira* sp. and eukaryotic alga *Chlorella* sp.: Methodological issues. **Aquatic toxicology**, v. 226, p. 105501, 2020.

CALAFAT, M. et al. Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. **Environmental health perspectives**, v. 116, n. 7, p. 893-897, 2008.

CALONI, S. et al. Sunscreens' UV filters risk for coastal marine environment biodiversity: a review. **Diversity**, v. 13, n. 8, p. 374, 2021.

CALOW, P. P. **Handbook of environmental risk assessment and management**. John Wiley & Sons, p. 600, 1998.

CASTRO, M. et al. Occurrence, profile and spatial distribution of UV-filters and musk fragrances in mussels from Portuguese coastline. **Marine Environmental Research**, v. 138, p. 110-118, 2018.

CHAIYABUTR, C. et al. Ultraviolet filters in sunscreens and cosmetic products — a market survey. **Contact Dermatitis**, v. 85, n. 1, p. 58-68, 2021.

CHEN, L.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, n. 5, p. 1013-1024, 2012.

CHISVERT, A; SALVADOR, A. UV filters in sunscreens and other cosmetics. tanning and whitening agents. **Analysis Of Cosmetic Products**, Elsevier, p. 83-120, 2007.

CITY OF KEY WEST. 2018. Ordinance 18–3253 amending chapter 26 sun-screen. City Commission. Disponível em: <http://www.ordinancewatch.com/files/82613/LocalGovernment125476.pdf> . Acessado em 21 de abril de 2021.

COMBI, T. et al. Distribution and fate of legacy and emerging contaminants along the adriatic sea: a comparative study. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 1055-1064, 2016.

CONWAY, A. J. et al. Acute toxicity of the UV filter oxybenzone to the coral *Galaxea fascicularis*. **Science Of The Total Environment**, v. 796, p. 1-11, 2021.

CUDERMAN, P.; HEATH, E. Determination of UV filters and antimicrobial agents in environmental water samples. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1343-1350, 2007.

CUNHA, S.C. et al. Co-occurrence of musk fragrances and UV-filters in seafood and macroalgae collected in European hotspots. **Environmental Research**, v. 143, p. 65-71, 2015.

DANOVARO, R. et al. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. **Environmental health perspectives**, v. 116, n. 4, p. 44-447, 2008.

DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. 6, p. 907-938, 1999.

DÍAZ-CRUZ, M. S. et al. Personal care products reconnaissance in EVROTAS river (Greece): water-sediment partition and bioaccumulation in fish. **Science Of The Total Environment**, v. 651, p. 3079-3089, 2019.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; LLORCA, M.; BARCELÓ, D. Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment. **Trends In Analytical Chemistry**, v. 27, n. 10, p. 873-887, 2008.

DNM. Department of Nature and Environment Aruba. Environmental unfriendly products will be banned starting July 1, 2020. Disponível em:

DOWNS, C. A. et al. Toxicopathological effects of the sunscreen UV filter, oxybenzone (benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, v. 70, n. 2, p. 265-288, 2016.

DRUG BANK. Oxybenzone. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01428>. Acessado em 21 de agosto de 2021.

EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A-E. A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2017.

ECHA. EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. Disponível em: <https://echa.europa.eu/brief-profile/-/briefprofile/100.004.575>. Acessado em 30 março de 2021.

EMNET, P. et al. Personal care products and steroid hormones in the Antarctic coastal environment associated with two Antarctic research stations, mcmurdo station and scott base. **Environmental Research**, v. 136, p. 331-342, 2015.

EPAGRI. EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. Síntese informativa da maricultura, 2017. Florianópolis, p.8. Disponível em http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_epagri/Cedap/EstatisticaSintese/Sintese-informativa-da-maricultura-2017.pdf. Acessado em 23 de agosto de 2021.

FAGERVOLD, S. K. et al. Occurrence and environmental distribution of 5 UV filters during the summer season in different water bodies. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 230, n. 7, p. 172, 2019.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability In Action.** [s.l: s.n.].

FENT, K.; ZENKER, A.; RAPP, M. Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1817-1824, 2010.

FERNANDES, F. et al. Urban Aquatic Pollution in Brazil. **Urban Pollution: Science and Management**, p. 357-370, 2018.

FERREIRA, J.F.; MAGALHÃES, A.R.M. **Cultivo de mexilhões**. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). Aquicultura: experiências brasileiras. Florianópolis, SC: Multitarefa, p.221-250, 2004.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química. Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FONTES, M. K. et al. A tiered approach to assess effects of diclofenac on the brown mussel *Perna perna*: A contribution to characterize the hazard. **Water research**, v. 132, p. 361-370, 2018.

GAGO-FERRERO, P. et al. First determination of UV filters in marine mammals. Octocrylene Levels in Franciscana Dolphins. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 11, p. 5619-5625, 2013.

GAGO-FERRERO, P.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Fast pressurized liquid extraction with in-cell purification and analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of UV filters and their degradation products in sediments. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 400, n. 7, p. 2195-2204, 2011.

GIL, M. J. et al. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. **Producción+ limpia**, v. 7, n. 2, p. 52-73, 2012.

GIOKAS, D. L.; SALVADOR, A.; CHISVERT, A. UV filters: from sunscreens to human body and the environment. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 360-374, 2007.

GOSLING, E. **Bivalve molluscs: biology. ecology and culture**. Oxford: Wiley-Blackwell, p. 456, 2003.

GROZ, M. et al. Detection of emerging contaminants (UV filters, UV stabilizers and musks) in marine mussels from Portuguese coast by quechers extraction and GC-MS/MS. **Science Of The Total Environment**, v. 493, p. 162-169, 2014.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significanc. **Journal American Society For Clinical Nutrition**, v. 57, p. 715-725, 1993.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press, 2015.

HAWAII (2018). Lei do Senado 2571. Disponível em:

https://www.capitol.hawaii.gov/session2018/bills/SB2571_.HTML . Acessado: 21 de abril de 2021.

HE, K. et al. Occurrence of antibiotics, estrogenic hormones, and UV-filters in water, sediment, and oyster tissue from the chesapeake bay. **Science Of The Total Environment**, v. 650, p. 3101-3109, 2019a.

HE, K.; TIMM, A.; BLANEY, L. Simultaneous determination of UV-filters and estrogens in aquatic invertebrates by modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v.1509, p. 91-101, 2017.

HE, T. et al. Comparative toxicities of four benzophenone ultraviolet filters to two life stages of two coral species. **Science Of The Total Environment**, v. 651, p. 2391-2399, 2019b.

HELLOU, J.; ROSS, N. W.; MOON, T. W. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. **Environ Sci Pollut Res**, v. 19, n. 6, p. 2007-2023, 2012.

HORRICKS, R. A. et al. Organic ultraviolet filters in nearshore waters and in the invasive lionfish (*Pterois volitans*) in Grenada, West Indies. **Plos One**, v 14. 1, n. 7, p. 1-11, 2019. https://www.government.aw/news/news_47033/item/environmental-unfriendly-products-will-be-banned-starting-july-1-2020_51844.html . Acessado em 21 de abril de 2021.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; ÂNGELO DE. F. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n.5, p. 1170-1179, 2008.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Banco de Dados Agregados. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 15 de novembro de 2019.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>. Acessado em 23 de agosto de 2021.

JANJUA, N. R. et al. Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3, octyl-methoxycinnamate, and 3-(4-methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans. **Journal Of Investigative Dermatology**, v. 123, n. 1, p. 57-61, 2004.

JEMEC, A. et al. Biochemical biomarkers in environmental studies—lessons learnt from enzymes catalase, glutathione S-transferase and cholinesterase in two crustacean species. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 17, n. 3, p. 571-581, 2010.

JEON, H-K. et al. Toxicokinetics and metabolisms of benzophenone-type UV filters in rats. **Toxicology**, v. 248, n. 2-3, p. 89-95, 2008.

JEON, H-K.; CHUNG, Y.; RYU, J-C. Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1131, n. 1, p. 192-202, 2006.

JIANG, R. et al. Absorption of sunscreens across human skin: an evaluation of commercial products for children and adults. **British Journal Of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 4, p. 635-637, 1999.

JURADO, A. et al. Urban groundwater contamination by residues of UV filters. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 271, p. 141-149, 2014.

KADRY, A. M. et al. Pharmacokinetics of benzophenone-3 after oral exposure in male rats. **Journal Of Applied Toxicology**, v. 15, n. 2, p. 97-102, 1995.

KAMEDA, Y.; KIMURA, K.; MIYAZAKI, M. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 6, p. 1570-1576, 2011.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. **Water research**, v. 42, n. 13, p. 3498-3518, 2008.

KIM, K. Y. et al. Effects of the summer holiday season on UV filter and illicit drug concentrations in the Korean wastewater system and aquatic environment. **Environmental Pollution**, v. 227, p. 587-595, 2017.

KIM, S. et al. Effects of benzophenone-3 exposure on endocrine disruption and reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)— a two generation exposure study. **Aquatic Toxicology**, v. 155, p. 244-252, 2014.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. **Environment International**, v. 70, p. 143-157, 2014.

KLAPPENBACH, M. A. Lista preliminar de los Mytilidae brasileños con claves para su determinación y notas sobre su distribución. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**, v. 37, p. 327-351, 1965.

KOTNIK, K. et al. Trace analysis of benzophenone-derived compounds in surface waters and sediments using solid-phase extraction and microwave-assisted extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 13, p. 3179-3190, 2014.

KRAUSE, M. et al. Sunscreens: are they beneficial for health? an overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. **International Journal Of Andrology**, v. 35, n. 3, p. 424-436, 2012.

KUNG, T. A. et al. Survey of selected personal care products in surface water of coral reefs in Kenting National Park, Taiwan. **Science Of The Total Environment**, v. 635, p. 1302-1307, 2018.

KUNISUE, T. et al. Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in US women and their association with endometriosis. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 8, p. 4624-4632, 2012.

KUNZ, Y.; FENT, K. Estrogenic activity of UV filter mixtures. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 217, n. 1, p. 86-99, 2006.

LABILLE, J. et al. Assessing UV filter inputs into beach waters during recreational activity: a field study of three French Mediterranean beaches from consumer survey to water analysis. **Science Of The Total Environment**, v. 706, p. 1-41, 2019.

LAMBROPOULOU, D. A. et al. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-p-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 967, n. 2, p. 243-253, 2002.

LANGFORD, K. H. et al. Environmental occurrence and risk of organic UV filters and stabilizers in multiple matrices in Norway. **Environment International**, v. 80, p. 1-7, 2015.

LANGFORD, K. H.; THOMAS, K. V. Inputs of chemicals from recreational activities into the Norwegian coastal zone. **Journal Of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 7, p. 894, 2008.

LI, Y. et al. Photochemical transformation of sunscreen agent benzophenone-3 and its metabolite in surface freshwater and seawater. **Chemosphere**, v. 153, p. 494-499, 2016.

LIM, H. W.; DRAELOS, Z. D. Clinical guide to sunscreens and photoprotection. **New York: Informa Healthcare USA, Inc.**, p. 322, 2009.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D.; SAES P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LIONETTO, M. G.; CARICATO, R.; GIORDANO, M. E. Pollution biomarkers in environmental and human biomonitoring. **The Open Biomarkers Journal**, v. 9, 1-9, 2019.

LIU, Y-S. et al. Photostability of the UV filter benzophenone-3 and its effect on the photodegradation of benzotriazole in water. **Environmental Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 581-588, 2011.

LOPES, F. C. et al. Effect of the UV filter, benzophenone-3, on biomarkers of the yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) under different pH conditions. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 111401, 2020.

LORAINÉ, G. A.; PETTIGROVE, M. E. Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in southern California. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 3, p. 687-695, 2006.

LOZANO, C. et al. Toxicity of UV filters on marine bacteria: Combined effects with damaging solar radiation. **Science of the Total Environment**, v. 722, p. 137803, 2020.

LOZANO, C. et al. Unraveling the molecular effects of oxybenzone on the proteome of an environmentally relevant marine bacterium. **Science of The Total Environment**, v.793, p. 148431, 2021.

MAGI, E. et al. Stir bar sorptive extraction and LC–MS/MS for trace analysis of UV filters in different water matrices. **Chromatographia**, v. 75, n. 17-18, p. 973-982, 2012.

MANAIA, B. E. et al. Inorganic UV filters. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 201-209, 2013.

MANASFI, T. et al. Degradation products of benzophenone-3 in chlorinated seawater swimming pools. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 15, p. 9308-9316, 2015.

MARENZI, A. W. C. et al. Development of mussels *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca-Bivalvia) in culture in South Brazilian. **Journal Of Coastal Research**, p. 1102-1105, 2006.

MATOZZO, V.; GAGNÉ, F. **Immunotoxicology approaches in ecotoxicology: lessons from mollusks**. In: Lessons in Immunity. Academic Press, p. 29-51 2016.

MCCOSHUM, S. M.; SCHLARB, A. M.; BAUM, K. A. Direct and indirect effects of sunscreen exposure for reef biota. **Hydrobiologia**, v. 776, n. 1, p. 139-146, 2016.

MILLER, A. et al. Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights. **Febs Letters**, v. 586, n. 5, p.585-595, 2012.

MIZUKAWA, A. et al. Sediments as a sink for UV filters and benzotriazoles: the case study of Upper Iguaçú watershed, Curitiba (Brazil). **Environmental Science And Pollution Research**, v. 24, n. 22, p. 18284-18294, 2017.

MOEDER, Monika et al. At-line microextraction by packed sorbent-gas chromatography–mass spectrometry for the determination of UV filter and polycyclic musk compounds in water samples. **Journal of chromatography A**, v. 1217, n. 17, p. 2925-2932, 2010.

MOLINS-DELGADO, D. et al. A potential new threat to wild life: presence of UV filters in bird eggs from a preserved area. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 19, p. 10983-10990, 2017.

MOLINS-DELGADO, D. et al. Occurrence of organic UV filters and metabolites in lebranche mullet (*Mugil liza*) from Brazil. **Science Of The Total Environment**, v. 618, p. 451-459, 2018.

- MOREL, Y.; BAROUKI, R. Repression of gene expression by oxidative stress. **Biochemical Journal**, v. 342, n. 3, p. 481-496, 1999.
- NARCHI, W.; GALVÃO-BUENO, M. S. Functional anatomy of *Perna perna* (Linné) (Bivalvia, Mytilidae). **Revista Brasileira De Zoologia**, v. 14, n. 1, p. 135-168. 1997.
- NARLA, S.; LIM, H. W. Sunscreen: FDA regulation, and environmental and health impact. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 19, n. 1, p. 66-70, 2020.
- NEVES, C. F.; MUEHE, D. Vulnerabilidade, impactos e adaptação a mudanças do clima: a zona costeira. **Parcerias Estratégicas**, v. 13, n. 27, p. 217-296, 2010.
- NGUYEN, K. T-N. et al. Rapid and selective determination of UV filters in seawater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry combined with stir bar sorptive extraction. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2375-2384, 2011.
- NIH. 2021. **PubChem**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4632>. Acessado em 30 de março de 2021.
- NIKI, E. et al. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 338, n. 1, p. 668-676, 2005.
- O'DONOVAN, S. et al. Effects of the UV filter, oxybenzone, adsorbed to microplastics in the clam *Scrobicularia plana*. **Science of the Total Environment**, v. 733, p. 139102, 2020.
- OECD. Environment Health and Safety Publications. **Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: a guidance to application**. Organisation for economic co-operation and, p. 1–147, 2006.
- OKEREKE, C. S. et al. Metabolism of benzophenone-3 in rats. **Drug Metabolism And Disposition**, v. 21, n. 5, p. 788-791, 1993.
- OKEREKE, C. S.; ABDEL-RHAMAN, M. S.; FRIEDMAN, M. A. Disposition of benzophenone-3 after dermal administration in male rats. **Toxicology Letters**, v. 73, n. 2, p. 113-122, 1994.
- OLMOS-ESPEJEL, J. J. et al. Methodology for analysis of UV filters in tilapia using off-line MSPD followed by on-line SPE–LC/UV. **Chromatographia**, p. 1-8, 2020.
- O'MALLEY, E. et al. Per capita loads of organic UV filters in Australian wastewater influent. **Science Of The Total Environment**, v. 662, p. 134-140, 2019.
- ORTEGA A. S. B. et al. Detoxification, oxidative stress, and cytogenotoxicity of crack cocaine in the brown mussel *Perna perna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 27, p. 27569-27578, 2019.
- OSTERWALDER, U.; SOHN, M.; HERZOG, B. Global state of sunscreens. photodermatology, **Photoimmunology & Photomedicine**, v. 30, n. 2-3, p. 62-80, 2014.

PAI, C-W. et al. Occurrences of pharmaceuticals and personal care products in the drinking water of Taiwan and their removal in conventional water treatment processes. **Chemosphere**, v. 256, p. 1-40, 2020.

PAREDES, E. et al. Ecotoxicological evaluation of four UV filters using marine organisms from different trophic levels *Isochrysis galbana*, *Mytilus galloprovincialis*, *Paracentrotus lividus*, and *Siriella armata*. **Chemosphere**, v. 104, p. 44-50, 2014.

PATEL, M. et al. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects, and removal methods. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 6, p. 3510-3673, 2019.

PENG, X. et al. Multi-target determination of organic ultraviolet absorbents in organism tissues by ultrasonic assisted extraction and ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1384, p. 97-106, 2015.

PEREIRA, C. D. et al. Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1257-1264, 2011.

PEREIRA, L. A.; ROCHA, R. M. A maricultura e as bases econômicas, social e ambiental que determinam seu desenvolvimento e sustentabilidade. **Ambiente & Sociedade**, v. 18, p. 41-54, 2015.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, p. 3-27, 2015.

PIAZZA, R. et al. Exposure to phenanthrene and depuration: changes on gene transcription, enzymatic activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. **Aquatic Toxicology**, v. 177, p. 146-155, 2016.

POIGER, T. et al. Occurrence of UV filter compounds from sunscreens in surface waters: regional mass balance in two swiss lakes. **Chemosphere**, v. 55, n. 7, p. 951-963, 2004.

POLETTE, M.; ASMUS, M. L. **Meio ambiente marinho e impactos antrópicos. introdução às ciências do mar**. Pelotas, RS, Brasil: Editora Textos, p. 500-520, 2015.

POMPEI, C. M. E. et al. Occurrence of PPCP in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration. **Chemosphere**, v. 226, p. 210-219, 2019.

RAMOS, S. et al. Advances in analytical methods and occurrence of organic UV-filters in the environment — a review. **Science Of The Total Environment**, v. 526, p. 278-311, 2015.

REPUBLIC OF PALAU (2018). Lei do Senado n° 10–135, SD1, HD1 (The Responsible Tourism Education Act of 2018). Disponível em: <https://www.palau.gov.pw/wp-content/uploads/2018/10/RPPL-No.-10-30-re.-The-Responsible-Tourism-Education-Act-of-2018.pdf>. Acessado em 21 de abril de 2021.

RICHARDSON, S. D. et al. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 12, p. 4645-4677, 2009.

RICHARDSON, S. D.; KIMURA, S. Y. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 546-582, 2016.

RIOS, E. C. **Compendium of Brazilian sea shells of Brazil**. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, Brazil: Evangraf, p. 368, 2009.

RODIL, R. et al. Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 395, n. 5, p. 1513-1524, 2009.

RODRÍGUEZ-FUENTES, G. et al. Evaluation of the estrogenic and oxidative stress effects of the UV filter 3-benzophenone in zebrafish (*Danio rerio*) eleuthero-embryos. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 115, p. 14-18, 2015.

SÁENZ, L. A. et al. Biochemical biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 796-804, 2010.

SÁNCHEZ-QUILES, D.; TOVAR-SÁNCHEZ, A. Are sunscreens a new environmental risk associated with coastal tourism? **Environment International**, v. 83, p. 158-170, 2015.

SÁNCHEZ-QUILES, D.; TOVAR-SÁNCHEZ, A. Sunscreens as a source of hydrogen peroxide production in coastal waters. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 16, p. 9037-9042, 2014.

SANG, Z.; LEUNG, K. S-Y. Environmental occurrence and ecological risk assessment of organic UV filters in marine organisms from Hong Kong coastal waters. **Science Of The Total Environment**, v. 566, p. 489-498, 2016.

SANKODA, K. et al. Seasonal and diurnal variation of organic ultraviolet filters from personal care products used along the Japanese coast. **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, v. 68, n. 2, p. 217-224, 2014.

SCHETTINO, T. et al. Biomarker approach in marine monitoring and assessment: new insights and perspectives. **Environmental Sciences**, v.6, 20-27, 2012.

SCHLECHT, C. et al. Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. **Toxicology**, v. 205, n. 1-2, p. 123-130, 2004.

SCHLUMPF, M. et al. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: correlation of UV filters with use of cosmetics. **Chemosphere**, v. 81, n. 10, p. 1171-1183, 2010.

SCHLUMPF, M. et al. *In vitro* and *in vivo* estrogenicity of UV screens. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 3, p. 239-244, 2001.

SCHNEIDER, S. L.; LIM, H. W. Review of environmental effects of oxybenzone and other sunscreen active ingredients. **Journal Of The American Academy of Dermatology**, v. 80, n. 1, p. 266-271, 2019.

SERPONE, N. et al. An *in vitro* systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of commercial sunscreen lotions and their chemical UVB/UVA active agents. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 1, n. 12, p. 970-981, 2002.

SHAN, X. et al. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 47, n. 1, p. 61-71, 1990.

SIEBERT, M. N. et al. Characterization of ethoxyresorufin o-deethylase activity (EROD) in oyster *Crassostrea brasiliana*. comparative biochemistry and physiology part b: **Biochemistry And Molecular Biology**, v. 203, p. 115-121, 2017.

SIES, H. et al. Strategies of antioxidant defense. **European Journal Of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180-183, 2015.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1315S-1321S, 1995.

SILVA, C. P.; EMÍDIO, E. S.; DE MARCHI, M. R. R. The occurrence of UV filters in natural and drinking water in São Paulo state (Brazil). **Environmental Science And Pollution Research**, v. 22, n. 24, p. 19706-19715, 2015.

SLEKAR, Kimberly Hudak; KOSMAN, Daniel J.; CULOTTA, Valeria Cizewski. The yeast copper/zinc superoxide dismutase and the pentose phosphate pathway play overlapping roles in oxidative stress protection. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 46, p. 28831-28836, 1996.

SNIS. 2019. **Diagnóstico dos serviços de resíduos sólidos**. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/diagnosticos>. Acessado em 15 de agosto de 2021.

SOUZA, A. et al. Cytotoxicity evaluation of Amoxicillin and Potassium Clavulanate in *Perna perna* mussels. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, 2016.

STAHL, W.; SIES, H. **Protection against solar radiation—protective properties of antioxidants**. In: Comprehensive series in photosciences. Elsevier, p. 561-572, 2001.

STEGEMAN, J. J.; LECH, J. J. Cytochrome P-450 monooxygenase systems in aquatic species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 90, p. 101-109, 1991.

STIEN, D. et al. A unique approach to monitor stress in coral exposed to emerging pollutants. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

SUPLICY, F. M. **Cultivo de mexilhões: sistema contínuo e mecanizado**. Epagri, Florianópolis, SC, 2017.

SUREDA, A. et al. Acute exposure to sunscreen containing titanium induces an adaptive response and oxidative stress in *Mytilus galloprovincialis*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 149, p. 58-63, 2018.

TARAZONA, I. et al. Determination of hydroxylated benzophenone UV filters in sea water samples by dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1217, n. 29, p. 4771-4778, 2010.

TASHIRO, Y.; KAMEDA, Y. Concentration of organic sun-blocking agents in seawater of beaches and coral reefs of Okinawa Island, Japan. **Marine pollution bulletin**, v. 77, n. 1-2, p. 333-340, 2013.

TOVAR-SÁNCHEZ, A.; SÁNCHEZ-QUILES, D.; RODRÍGUEZ-ROMERO, A. Massive coastal tourism influx to the Mediterranean Sea: the environmental risk of sunscreens. **Science Of The Total Environment**, v. 656, p. 316-321, 2019.

TSUI, M. M.P. et al. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in surface waters from different countries. **Water Research**, v. 67, p. 55-65, 2014.

TSUI, M. MP. et al. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in marine sediments in Hong Kong and Japan. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 292, p. 180-187, 2015.

US EPA. Distributed Structure-Searchable Toxicity Database. Disponível em: <https://www.epa.gov/chemical-research/distributed-structure-searchable-toxicity-dssto-database>. Acessado em 21 de agosto de 2021.

US VIRGINS ISLAND. Lei nº 33-0043/Ato nº 8185. “Thirty-Third Legislature of the Virgin Islands. Regular Session 2019”. Disponível em <https://www.legvi.org/billtracking/ShowPDF.aspx?num=8185&type=Act>. Acessado em 21 de abril de 2021.

VALAVANIDIS, A. et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 64, n. 2, p. 178-189, 2006.

VALENTI, W. C. **Aquicultura sustentável. in: congresso de zootecnia**, 12º, Vila Real, Portugal, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos Anais, p.111-118,2002.

VERLECAR, X. N. et al. Marine pollution detection through biomarkers in marine bivalves. **Current science**, p. 1153-1157, 2006.

VIDAL-LIÑÁN, L. et al. Bioaccumulation of 4-nonylphenol and effects on biomarkers, acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase, in *Mytilus galloprovincialis* mussel gills. **Environmental Pollution**, v. 200, p. 133-139, 2015.

VIDAL-LIÑÁN, L. et al. Bioaccumulation of UV filters in *Mytilus galloprovincialis* mussel. **Chemosphere**, v. 190, p. 267-271, 2018.

VIKAS, M.; DWARAKISH, G. S. Coastal pollution: a review. **Aquatic Procedia**, v. 4, p. 381-388, 2015.

VILA, M. et al. Ultrasound-assisted emulsification microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of UV filters in water. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 530-539, 2016.

VIONE, D. et al. Phototransformation of the sunlight filter benzophenone-3 (2-hydroxy-4-methoxybenzophenone) under conditions relevant to surface waters. **Science of the total environment**, v. 463, p. 243-251, 2013.

WALKER, C. H.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. **Principles of ecotoxicology**. CRC press, 2005.

WANG, L. et al. Benzotriazole, benzothiazole, and benzophenone compounds in indoor dust from the United States and East Asian countries. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 9, p. 4752-4759, 2013.

WANG, S. Q.; BALAGULA, Y.; OSTERWALDER, U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. **Dermatologic Therapy**, v. 23, n. 1, p. 31-47, 2010.

WEBER, L. I.; DA CONCEIÇÃO, M. B. **O mexilhão *Perna perna* (L.): biologia, ecologia e aplicações**. Editora Interciência, p. 324, 2008.

WIJGERDE, T. et al. Adding insult to injury: effects of chronic oxybenzone exposure and elevated temperature on two reef-building corals. **Science Of The Total Environment**, v. 733, p. 139030, 2020.

WU, H. et al. Several environmental endocrine disruptors in beverages from South China: occurrence and human exposure. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 26, n. 6, p. 5873-5884, 2019.

WU, J-W.; CHEN, H-C.; DING, W-H. Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction plus simultaneous silylation for rapid determination of salicylate and benzophenone-type ultraviolet filters in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1302, p. 20-27, 2013.

XIONG, Z-M. et al. Ultraviolet radiation protection potentials of Methylene Blue for human skin and coral reef health. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2021.

XUE, J.; LIU, W.; KANNAN, K. Bisphenols, benzophenones, and bisphenol A diglycidyl ethers in textiles and infant clothing. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 9, p. 5279-5286, 2017.

YILDIRIM, M.; TOPKAYA, B. Assessing environmental impacts of wastewater treatment alternatives for small-scale communities. **CLEAN–Soil, Air, Water**, v. 40, n. 2, p. 171-178, 2012.

ZENKER, A.; SCHMUTZ, H.; FENT, K. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. **Journal Of Chromatography A**, v. 1202, n. 1, p. 64-74, 2008.

ZHANG, Q. et al. Evaluation of ecotoxicological effects of benzophenone UV filters: luminescent bacteria toxicity, genotoxicity and hormonal activity. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 142, p. 338-347, 2017.

ZHANG, T. et al. Benzophenone-type UV filters in urine and blood from children, adults, and pregnant women in China: partitioning between blood and urine as well as maternal and fetal cord blood. **Science Of The Total Environment**, v. 461, p. 49-55, 2013.

ZHONG, X, et al. The toxicological effects of oxybenzone, an active ingredient in sunscreen personal care products, on prokaryotic alga *Arthrospira* sp. and eukaryotic alga *Chlorella* sp. **Aquatic Toxicology**, v. 216, p. 105295, 2019.

ZHUANG, R. et al. Stability and toxicity of selected chlorinated benzophenone-type UV filters in waters. **Acta Chimica Slovenica**, v. 60, n. 4, p. 826-832, 2014.

APÊNDICE

Figura 7. Design experimental do presente estudo adotado para as exposições às concentrações nominais de BP-3 (1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), dois tempos de exposição (72 h e 7 dias) e dois grupos controles (água do mar + dimetilsulfóxido 0,001% - DMSO). $\mu\text{g L}^{-1}$ – micrograma por litro; CTRL – grupos controles; DMSO – dimetilsulfóxido.

