



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA**

LAYSE RODRIGUES DO ROZARIO TEIXEIRA LINS

**ANÁLISE DA INGESTÃO, DEPURAÇÃO E EFEITOS PRIMÁRIOS DA  
MICROFIBRAS DE POLIETILENO TEREFTALATO (MFPET) EM OSTRAS**

*Crassostrea gasar (Adanson, 1757)*

BELEM-PARÁ

2023

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA**

LAYSE RODRIGUES DO ROZARIO TEIXEIRA LINS

**ANÁLISE DA INGESTÃO, DEPURAÇÃO E EFEITOS PRIMÁRIOS DA**  
**MICROFIBRAS DE POLIETILENO TEREFTALATO (MPET) EM OSTRAS**  
*Crassostrea gasar (Adanson, 1757)*

Dissertação submetida ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ecologia Aquática e Pesca, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Ecologia Aquática e Pesca.

Orientador: Dr. Diego José Nogueira

Coorientador: Dr. Afonso Celso Dias Bainy

BELÉM-PARÁ

2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

---

- R696a Rodrigues do Rozario Teixeira Lins, Layse.  
ANÁLISE DA INGESTÃO, DEPURAÇÃO E EFEITOS  
PRIMÁRIOS DA MICROFIBRAS DE POLIETILENO  
TEREFTALATO (MFPET) EM OSTRAS *Crassostrea gasar*  
(Adanson, 1757) / Layse Rodrigues do Rozario Teixeira Lins. —  
2023.  
61 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof. Dr. Diego José Nogueira  
Coorientador(a): Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Núcleo  
de Ecologia Aquática e Pesca da Amazônia, Programa de Pós-  
Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Belém, 2023.
1. Microplásticos. 2. Avaliação de risco. 3. Ecossistemas  
costeiros. 4. Têxtil. I. Título.

CDD 574.0724

---

LAYSE RODRIGUES DO ROZARIO TEIXEIRA LINS

**ANÁLISE DA INGESTÃO, DEPURAÇÃO E EFEITOS PRIMÁRIOS DA  
MICROFIBRAS DE POLIETILENO TEREFTALATO (MFPET) EM OSTRAS  
*Crassostrea gasar* (Adanson, 1757)**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ecologia Aquática e Pesca.

Data: 30 / 06 /2023

Orientador:

\_\_\_\_\_  
Dr. Diego José Nogueira  
UFSC

Co-orientador:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy  
UFSC

Banca examinadora: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Lilian Lund Amado  
UFPA

\_\_\_\_\_  
Dr. Carlos Henrique A. M. Gomes  
UFSC

\_\_\_\_\_  
Dra. Mariana Rangel Pilotto  
UFSC

BELÉM-PARÁ

2023

## INSTITUIÇÕES DE APOIO E FONTE FINANCEIRA



*Dedico este trabalho com profundo amor e gratidão à minha amada mãe, Maria Teixeira, cujo apoio inabalável e constante incentivo foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui. Também dedico este trabalho em memória ao meu amado pai, João Neto, que infelizmente nos deixou cedo demais, mas cuja influência positiva em minha vida e espírito lutador continuam a me inspirar todos os dias.*

*Além disso, gostaria de dedicar este trabalho a todas as pessoas dedicadas à luta contra a poluição marinha e à preservação dos nossos oceanos. Seja através da ciência e pesquisa ou do ativismo e ação direta, todos os esforços são importantes para garantir um futuro sustentável para o nosso planeta e para as gerações futuras. Obrigado por sua dedicação e por lembrar-nos da importância de cuidar do nosso planeta.*

*"Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção." Freire, Paulo.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha família - minha mãe, irmãs, filha e esposo. Sem o amor, apoio e dedicação de vocês, essa jornada não teria sido possível. Serei eternamente grato por tudo o que fizeram por mim.

Gostaria de agradecer especialmente à professora Lilian Amado, por me guiar nos momentos difíceis. Palavras não seriam suficientes para expressar o quanto sou grato por tudo que ela fez por mim.

Expresso minha gratidão ao Orientador, o professor Afonso, por ter me acolhido e proporcionado a oportunidade de fazer parte do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica. Agradeço pela confiança e apoio gentil e cuidadoso oferecidos, especialmente nos momentos difíceis deste processo desafiador.

Sou imensamente grato ao Diego Nogueira e ao Miguel Saldaña Serrano por me acolherem e pelo apoio quando eu já não acreditava que era possível. Obrigado pela oportunidade de trabalhar com vocês nesta pesquisa e por nos oferecer conselhos, recomendações, sugestões e suporte ao longo de todo o processo. Vocês foram fundamentais em várias etapas importantes para o desenvolvimento deste projeto, especialmente nos momentos mais complexos.

À Fazenda Marinha Paraíso das Ostras (Florianópolis - SC) por gentilmente doar as ostras 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 manutenção e aclimatação dos animais, bem como por todo o auxílio prestado durante o período experimental. Muito obrigado pela parceria!

Também quero agradecer aos membros que compõem a banca avaliadora desta dissertação: Dr. Carlos Henrique A. M. Gomes, Dra. Lilian Amado e Dra. Mariana Rangel Pilotto, pela disponibilidade e pelo tempo destinado à revisão e correção deste documento.

Aos colegas do LABCAI que trabalharam comigo durante este período e contribuíram, direta ou indiretamente, para o desenvolvimento deste trabalho: Ucléida Santos, Mariana Pilotto, Luiz Otávio Bôas, Camila Bastolla, Daína de Lima, Jacó Mattos, Juliana Moser, Clei Piazza, Lígia Lanzarin, Bárbara Righett, Vera Vidal e Flávia Zacchi.

Aos alunos de iniciação científica do LABCAI, Devid Medeiros e Pedro Mattos, pela prontidão e dedicação nas tarefas durante todo o experimento.

A Marilia Tedesco e Tamires Henrique pelos ensinamentos das técnicas Histológicas e apoio nas análises.

Ao Laboratório de Matérias Vitrocerâmico, em especial a Pietro Lunelli e Antônio Pedro Oliveira.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará, assim como aos professores e servidores envolvidos, por terem me concedido a oportunidade de desenvolver este trabalho. Gostaria de expressar um agradecimento especial ao João Bráulio pelo pronto auxílio em todas as questões administrativas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida, que tornou possível a realização deste projeto.

Muito obrigado!

## RESUMO

O objetivo deste trabalho. Investigar se ostras nativas *Crassostrea gasar* apresentam efeitos em níveis bioquímico e histológico frente a exposição a MFPETs e se as MFPET apresentam potencial de acúmulo neste organismo filtrador. tal como, avaliar o processo de ingestão em três tempos (2 horas, 12 horas e 24 horas) de exposição e depuração após período de 48 horas. As ostras adultas da espécie *C. gasar* (n=88), com conchas medindo entre 5 e 7 cm de comprimento, foram adquiridas em uma área de cultivo de ostras localizada no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da UFSC, em Florianópolis, Brasil. O experimento foi realizado em duas fases: 2, 12 e 24 horas de exposição, seguidas de 48 h de depuração. Durante a fase de exposição, as ostras (n=88) foram distribuídas individualmente e aleatoriamente em béqueres de 1 L (uma ostra por béquer). Expostas a 0,5 mg/ L de MFPET (representando aproximadamente 2394,5 microfibras por litro de água) em um sistema estático, sem alimentação, com aeração constante para garantir a ressuspensão das MFPET. Após os períodos de exposição de 2, 12 e 24 horas, um grupo de ostras (n= 8) de cada intervalo foram selecionadas e processado para dissecação das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Também realizou a coleta de tecidos para a análises das atividades das enzimas oxidantes (glândula digestiva) e a histologia (tecido transversal). Um grupo de ostras do período de 24 horas de exposição foram transferidas para água limpa, sem a presença de MFPET e submetidas ao processo de depuração de 48 horas. Durante o período de depuração, a água passou por duas trocas diárias, e as ostras não receberam alimentação. Após a conclusão do processo de depuração de 48 horas, um grupo de ostras foram submetidas à dissecação das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Outro grupo de ostras foi processado para a avaliação das atividades das enzimas (na Glândula digestiva). De acordo com os resultados obtidos, verificou-se a presença de MFPET nas brânquias e nas glândulas digestivas das ostras. Foi observado uma maior quantidade nas glândulas digestivas em comparação às brânquias. Além disso, a técnica de depuração empregada demonstrou eficácia na eliminação das MFPET das ostras. As enzimas não apresentaram diferenças significativas nas atividades na glândula digestiva. Através das análises histológicas, foi constatada a presença de MFPET na região do estômago das ostras. Este estudo apresenta relevância pois auxilia a compreensão dos efeitos dos microplásticos em ostras *C. gasar*. No entanto, é importante destacar que ainda existem muitos aspectos a serem investigados a fim de compreender completamente os impactos desses poluentes no ambiente.

**Palavras-chave:** Microplásticos; Avaliação de risco; Ecossistemas costeiros; Têxtil.

## ABSTRACT

The objective of this study is to investigate whether native oysters *Crassostrea gasar* exhibit biochemical and histological effects when exposed to Microplastic Polyethylene Terephthalate (MPET), as well as to assess the potential for MPET accumulation in this filter-feeding organism. Additionally, the study aims to evaluate the ingestion process at three time points (2 hours, 12 hours, and 24 hours) of exposure and subsequent depuration after a 48-hour period. Adult oysters of the *C. gasar* species (n=88), with shells measuring between 5 and 7 cm in length, were acquired from an oyster cultivation area at the Laboratory of Marine Mollusks (LMM) at UFSC, Florianópolis, Brazil. The experiment was carried out in two phases: 2, 12, and 24 hours of exposure, followed by a 48-hour depuration period. During the exposure phase, the oysters (n=88) were individually and randomly distributed in 1 L beakers (one oyster per beaker). They were exposed to 0.5 mg/L of MPET (approximately 2394.5 microfibers per liter of water) in a static system, without feeding, with continuous aeration to ensure MPET resuspension. After exposure periods of 2, 12, and 24 hours, a group of oysters (n=8) from each interval was selected and processed for dissection of the gills and digestive glands, with the aim of evaluating the presence of microfibers in these tissues. Tissue samples were also collected for analyses of oxidative enzyme activities (digestive gland) and histology (transverse tissue sections). A group of oysters exposed for 24 hours were transferred to clean water without MPET and subjected to a 48 hours depuration process. During the depuration period, the water underwent two daily changes, and the oysters did not receive any food. Following the completion of the 48-hour depuration process, a group of oysters underwent dissection of the gills and digestive glands to assess the presence of microfibers in these tissues. Another group of oysters was processed to evaluate enzyme activities (in the digestive gland). According to the obtained results, the presence of MPET was confirmed in both the gills and digestive glands of the oysters. A higher accumulation was notably observed in the digestive glands compared to the gills. Moreover, the employed depuration technique demonstrated efficiency in eliminating MPET from the oysters. Enzyme activities exhibited no significant differences in the digestive glands. Histological analyses revealed the presence of MPET in the stomach region of the oysters. This study is of relevance as it contributes to the understanding of the effects of microplastics on *C. gasar* oysters. However, it is important to highlight that there are still numerous aspects to be investigated to fully comprehend the impacts of these pollutants on the environment.

**Keywords:** Microplastics; Risk assessment; Coastal ecosystems; Textile.

## Lista de Figuras

- Figura 1:** Na imagem apresentada, são ilustradas as características de cor e forma das ostras *Crassostrea gasar* utilizadas no presente estudo. 18
- Figura 2:** A imagem apresenta a ostra *C. gasar* e destaca a localização de alguns tecidos, manto (ma), as brânquias (br), os palpos labiais (pa), a glândula digestiva (gd), as gônadas (go) e o músculo adutor (mu). As setas pontilhadas brancas ilustram a rota que o alimento percorre dentro da ostra: após passar pelas brânquias, é selecionado pelos palpos labiais e segue para a glândula digestiva, onde se encontram o estômago e o intestino. 19
- Figura 3:** Etapas do método para obtenção das MFPET. 29
- Figura 4:** Delineamento experimental, ilustração dos principais processos a serem realizados na pesquisa (quantificar a presença de microfibras de PET nos tecidos alvo com relação ao tempo e depuração; e a análise bioquímica da atividade enzimática apenas na glândula digestiva e análises histológica nos tecidos da ostra. 31
- Figura 5:** Etapas do processo de extração das MFPET. 32
- Figura 6:** Etapas sequenciais dos procedimentos histológicos para análise de tecidos e identificação de MFPET. 34
- Figura 7:** Figura mostra imagens de MFPET utilizando estereomicroscópio e MEV. Em A e B mostram partículas após a moagem, é possível observar a forma e a textura das microfibras na imagem melhantes a microfibras encontradas ambientalmente. C e D imagens de fibras que não passaram por processo de moagem apenas cortadas. 51
- Figura 8:** A avaliação da atividade enzimática das enzimas CAT (A), GST (B) e GPx (C) foi realizada nas glândulas digestivas das ostras *C. gasar* após 24 horas de exposição ao MFPE e após 48 horas de período de depuração. Foram obtidos cortes histológicos da ostra *C. gasar* na região do estômago (St) durante o uso do MFPET. No painel da esquerda, as imagens mostram a presença de MFPE (setas em preto - D e F) e a formação de células marrons (setas em branco - F) sob iluminação de campo claro. No painel da direita, as imagens apresentam contraste de fase destacando as MFPE, com escala em 50  $\mu$ m. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e os respectivos controles são identificadas por letras na imagem. 56
- Figura 1S:** Propriedade das microfibras pelo espectro FTIR-ATR do Polietileno Tereftalato. Nos círculos em vermelho indicam alguns grupos identificados. 61

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO.....	13
CAPÍTULO 1.....	14
1 INTRODUÇÃO .....	14
1.1 Os plásticos e suas aplicações na indústria: uma visão geral e os desafios da poluição ambiental.....	14
1.2 A poluição por microplásticos em ambientes aquáticos: uma preocupação crescente.....	15
1.3 Acumulação de Microplásticos em Organismos Aquáticos .....	16
1.4 Características e importância da ostra <i>Crassostrea gasar</i> na ostreicultura brasileira.....	17
1.5 Biomarcadores de avaliação da contaminação por microplásticos em bivalves. ....	20
2 OBJETIVOS.....	26
2.1. Objetivo Geral .....	26
2.2. Objetivos Específicos.....	26
3 HIPÓTESES DO ESTUDO.....	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Obtenção dos animais.....	28
4.2 Obtenção e caracterização das MFPET .....	28
4.3 Delineamento Experimental .....	29
4.4 Extração e quantificação de MFPET dos tecidos da ostra.....	31
4.5 Análise de enzimas antioxidantes e identificação de MFPET a nível histológico.....	32
4.6 Análises dos dados .....	34
5 CONCLUSÕES GERAIS .....	35
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	36
CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO .....	45
Resumo .....	45
Abstract.....	45
1 INTRODUÇÃO .....	46
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
2.1 Obtenção dos animais.....	48
2.2 Obtenção e caracterização das MFPET .....	48
2.3 Delineamento .....	49
2.4 Extração e quantificação de MFPET .....	49
2.5 Análise de enzimas antioxidantes e identificação de MFPETs a nível histológico. ....	50
2.6 Análises Dos Dados.....	50
3 RESULTADOS.....	50
3.1 Obtenção e caracterização das MFPET .....	50
3.2 Extração e quantificação de MF <sub>PET</sub> dos tecidos da ostra .....	52

3.3 Respostas da análise de enzimas antioxidantes e identificação de MFPET a nível histológico. ....	52
4 DISCUSSÃO.....	53
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	57
Agradecimentos .....	57
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA .....	58

## ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A dissertação apresentada obedece o formato de artigo científico, seguindo as normas estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará. Composta por dois capítulos, o primeiro abrange uma introdução geral, contendo um breve resumo do trabalho, além de objetivos gerais e específicos. O segundo capítulo corresponde a um artigo científico. Este artigo científico será submetido à revista *Environmental Pollution*, que é amplamente reconhecida por promover a divulgação de trabalhos que estão em destaque na área de poluição ambiental e seus efeitos nos ecossistemas e na saúde humana.

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO

#### **1.1 Os plásticos e suas aplicações na indústria: uma visão geral e os desafios da poluição ambiental.**

Os polímeros orgânicos são compostos complexos que se unem em cadeias moleculares longas e podem ser moldados em filmes ou filamentos para produzir fibras têxteis, diferentes combinações de monômeros levam a uma grande variedade de plásticos, com propriedades e características diversas, como explicado por Piatti (2005).

Entre os diversos tipos de plásticos, destacam-se o polietileno tereftalato, polietileno de alta densidade, policloreto polivinila, polipropileno e poliestireno. O polietileno tereftalato (PET), considerado um dos polímeros mais resistentes e amplamente utilizado na fabricação de embalagens, como garrafas de refrigerante e óleos comestíveis (PEREIRA, 2009). Polietileno de Alta Densidade (PEAD), obtido, tanto, a partir do petróleo, quanto de fontes vegetais, é conhecido por suas propriedades de alta resistência química. É utilizado na fabricação de produtos como baldes, bacias, embalagens de detergentes, entre outros (PIATTI E RODRIGUES, 2005).

Policloreto de Polivinila (PVC), constituído por 57% de cloro e 43% de eteno, é um tipo de plástico extremamente versátil e amplamente empregado em diversas indústrias (RODOLFO, NUNES E ORMANJI, 2006). O poliestireno (PS), é um homopolímero obtido por meio da polimerização do monômero de estireno. Possui características como leveza, capacidade de isolamento térmico, flexibilidade e maleabilidade quando exposto ao calor. É amplamente utilizado em copos, embalagens de iogurte, bandejas e outros produtos (POLYBRASIL, 2018).

Apesar da versatilidade e ampla utilização dos plásticos na indústria, é importante ressaltar as questões relacionadas à poluição ambiental. A quantidade de resíduos plásticos que se tornam detritos marinhos está relacionada ao tamanho da população e à eficiência dos sistemas de gestão de resíduos em diferentes países. Sem melhorias nesses sistemas, espera-se que a quantidade de plásticos provenientes de áreas terrestres e que acabam nos oceanos aumente em até dez vezes até o ano de 2025 (JAMBECK et al, 2015).

Além disso, é fundamental que as indústrias e os consumidores adotem práticas mais sustentáveis, como a reciclagem e redução do consumo de plásticos descartáveis, buscando alternativas mais ecológicas, visando preservar o meio ambiente e assegurar um futuro mais sustentável para as próximas gerações.

## **1.2 A poluição por microplásticos em ambientes aquáticos: uma preocupação crescente.**

No mundo foram gerados aproximadamente 250 milhões de toneladas de resíduos plásticos, 70% direcionados para aterros, reciclagem ou unidades de recuperação de energia e 30% descartados de forma inadequada (LIWARSKA-BIZUKOJC, 2021). No Brasil, os números de produção de materiais plásticos são preocupantes, o país fabricou 8,3 milhões de toneladas em 2018, ou seja, 57% do montante produzido na América do Sul; no entanto, apenas 145 mil toneladas (1,28%) foi reciclada (ABIPLAST, 2019; WWF, 2019).

O Brasil encontra-se em uma posição de destaque entre os dez maiores mercados da indústria têxtil, posicionado como o terceiro maior produtor de tecidos, de acordo com dados da Associação Brasileira de Têxtil e Vestuário. Em 2020 o Brasil teve um volume de produção de 1,91 milhões de toneladas, além de ser a maior cadeia têxtil completa do Ocidente, está entre os cinco maiores produtores e consumidores do mundo e entre os quatro maiores produtores de malhas do mundo (ABIT, 2022).

O polímero polietileno tereftalato (PET), responsável por aproximadamente 6,2% da produção global de plásticos, é amplamente utilizado na indústria têxtil para fabricar fibras sintéticas, conhecidas como poliéster. Essas fibras são utilizadas em uma variedade de peças de vestuário (PLASTICS EUROPE, 2022).

Embora a preocupação ambiental em relação aos plásticos exista há algum tempo, é importante ressaltar que os números mencionados anteriormente não incluem os microplásticos (MPs). Os MPs são fragmentos minúsculos de plástico, com tamanho inferior a 5 mm, que podem surgir de esgotos não tratados. Somente a partir do início do século XXI é que os MPs têm sido cada vez mais reconhecidos como poluentes (LI; LIU; PAUL CHEN, 2018). Atualmente, os MPs são considerados contaminantes emergentes e representam um problema global.

As preocupações com os resíduos microplásticos existem há poucas décadas. As dificuldades na estimativa e a falta de atenção até então dada aos microplásticos têm gerado resultados muitas vezes conflitantes e incertos. Mesmo que fosse possível impedir a descarga de mais resíduos hoje, a degradação resultante dos produtos de plástico já presentes no mar e nas praias resultam em uma continuação e aumento dos mesmos durante anos (MARTINS, 2020).

Após a Segunda Guerra Mundial, houve um rápido crescimento populacional e econômico, resultando em melhorias nas condições de vida e um consumo sem precedentes. Nesse contexto, o mercado foi inundado com plásticos - materiais baratos e descartáveis. Em menos de um século de uso em larga escala, o plástico se tornou onipresente em todos os setores

e atividades econômicas (MARTINS, 2020). Tanto é assim que a produção global de plástico aumentou de 1,5 milhões de toneladas em 1950 para 367 milhões de toneladas métricas no ano de em 2020 (TISEO, 2022).

No entanto, algumas das características que tornam os plásticos um material atrativo também podem apresentar problemas e causar preocupações ambientais. Estudos indicam que, de 1950 a 2015, a fabricação de cerca de 8.300 milhões de toneladas de plásticos virgens resultou em aproximadamente 6.300 milhões de toneladas de resíduos plásticos em todo o mundo. Dessas quantidades, cerca de 79% foram descartados em aterros sanitários ou acabaram poluindo ecossistemas terrestres, de água doce e marinhos combinados (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). Se as tendências atuais de produção e gestão de resíduos persistirem, estima-se que até 2050 haverá cerca de 12 bilhões de toneladas de resíduos plásticos em aterros sanitários ou em ecossistemas naturais (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017).

Durante a última década, foi documentado que os materiais plásticos, especialmente as microfibras plásticas (MFs), estão presentes em uma ampla variedade de animais marinhos que são comumente consumidos por humanos, como peixes, mariscos e ostras (BARBOSA et al., 2020; SALDAÑA-SERRANO et al., 2022; VIEIRA et al., 2021). A poluição causada pelas MFs em ambientes aquáticos é uma preocupação cada vez mais crescente na atualidade.

Em um estudo especularam sobre impactos potenciais na saúde humana através do consumo de organismos marinhos que ingeriram MFs (ALIMI et al., 2018), entretanto, mais pesquisas são necessárias para entender os impactos totais na saúde do ecossistema e os danos potenciais à saúde humana.

### **1.3 Acumulação de Microplásticos em Organismos Aquáticos**

A crescente contaminação dos ecossistemas aquáticos por microplásticos têm suscitado preocupações sobre os impactos ambientais e possíveis consequências para a saúde dos organismos aquáticos e dos seres humanos. Microplásticos são fragmentos de plástico com diâmetro inferior a 5 mm, originados de diversas fontes, incluindo a degradação de plásticos maiores e produtos de cuidados pessoais contendo partículas plásticas (CÓZAR et al., 2014).

Organismos aquáticos, desde zooplâncton até peixes de grande porte, têm sido encontrados com microplásticos em seus tratos digestivos, evidenciando o fenômeno de ingestão. A acumulação de microplásticos pode ocorrer tanto através da ingestão direta quanto da transferência pela cadeia alimentar (WRIGHT et al., 2013). Partículas de microplásticos podem ser confundidas com presas naturais, levando à ingestão acidental.

A acumulação de microplásticos em organismos aquáticos pode ter uma série de impactos ecológicos e fisiológicos. Os microplásticos podem obstruir o trato digestivo, reduzir

a taxa de alimentação, afetar a absorção de nutrientes e comprometer o crescimento e a reprodução dos organismos (COLE et al., 2011). Além disso, produtos químicos presentes nos plásticos, como aditivos e poluentes orgânicos persistentes, podem ser liberados no ambiente interno dos organismos, potencialmente causando danos ao nível molecular.

Moluscos bivalves, como mariscos e mexilhões, têm sido identificados como alvos significativos de estudos sobre a acumulação de microplásticos em ambientes aquáticos costeiros (HIDALGO-RUZ et al., 2012). Esses organismos, comumente encontrados em ecossistemas marinhos e estuarinos, são notáveis devido à sua capacidade de filtrar grandes volumes de água, tornando-os suscetíveis à ingestão de partículas microplásticas dispersas no ambiente.

Os moluscos bivalves podem ingerir microplásticos ao se alimentarem de partículas suspensas na água, incluindo plásticos que se assemelham a alimento natural (BESSA et al., 2018). Essas partículas podem ser transportadas até as brânquias e, subsequentemente, para o trato digestivo, resultando em sua acumulação nos tecidos do organismo. A natureza de filtradores dos moluscos bivalves contribui para a exposição crônica e o potencial acúmulo dessas partículas. A presença de microplásticos nos tecidos dos bivalves pode interferir na função dos órgãos, prejudicar a alimentação, afetar a reprodução e aumentar a suscetibilidade a doenças (KARAMI et al., 2017).

A interação entre moluscos bivalves e microplásticos é complexa e influenciada por vários fatores, incluindo o tamanho e tipo de microplástico, a taxa de alimentação do organismo e as características da água circundante. Microplásticos de diferentes composições podem variar em termos de flutuabilidade e capacidade de adsorção de substâncias químicas, afetando assim a probabilidade de ingestão e acúmulo (PAUL-PONT et al., 2016).

#### **1.4 Características e importância da ostra *Crassostrea gasar* na ostreicultura brasileira.**

As ostras (família Ostreidae) são organismos aquáticos bivalves amplamente distribuídos em ecossistemas costeiros e estuarinos, desempenhando um papel crucial na saúde e equilíbrio dos ambientes aquáticos (DUMBAULD et al., 2009). As ostras da espécie *Crassostrea gasar* são adaptadas para viver em regiões estuarinas ao longo da costa brasileira, onde as condições ambientais, como salinidade, temperatura e disponibilidade de oxigênio, variam constantemente (BALDAN; BENDHACK, 2009). Sua importância ecológica se estende desde a promoção da biodiversidade até a melhoria da qualidade da água.

A ostra *C. gasar* possui uma concha oval pontiaguda próxima à dobra e exibe uma coloração escura e acinzentada (Figura 1). A superfície da concha é caracterizada por linhas concêntricas de crescimento marcadas, enquanto as valvas externas possuem projeções

laminares radiais. A valva direita superior é arqueada e larga, enquanto a valva inferior esquerda apresenta uma leve depressão (AJANA,1980).

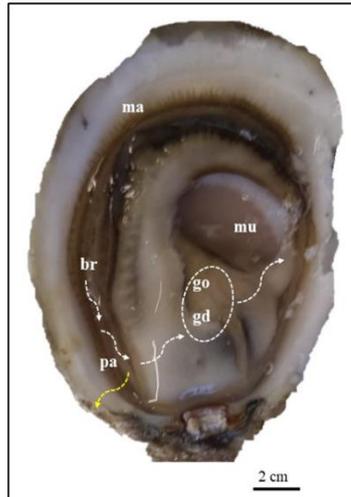
As ostras são organismos filtradores encontrados em manguezais, onde as águas são ricas em nutrientes, algas e larvas de diversos animais (DE LIMA, 2015). Elas se alimentam do que está presente na água, sendo o fitoplâncton seu alimento primordial. Os resíduos não digeridos são liberados na forma de pseudofezes, compostas por sedimentos como lama e areia e dejetos alimentares (GOSLING, 2003). Os resíduos não processados pelo sistema digestivo do animal são excretados na forma de pseudofezes. Enquanto isso, os componentes alimentares que foram submetidos ao processo digestivo e não foram absorvidos, são expelidos na forma de fezes.



**Figura 1:** Na imagem apresentada, são ilustradas as características de cor e forma das ostras *Crassostrea gasar* utilizadas no presente estudo, valvas do mesmo indivíduo, do lado direito a valva direita e ao lado esquerdo a valva esquerda.

No interior, a ostra possui uma coloração branca e uma superfície lisa, onde se destaca a presença do músculo adutor em formato arredondado. A massa visceral é composta pelo sistema digestório, reprodutor, excretor e circulatório, bem como pelas brânquias lamelares cobertas pelo manto (Figura 2) (AMARAL, 2014).

O sistema digestivo das ostras é completo, composto por palpos labiais, boca, esôfago, estômago, intestino e ânus. Além disso, elas possuem um estilete cristalino e uma glândula digestiva (PEREIRA e SOARES-GOMES, 2009).



**Figura 2:** *C. gasar* com destaque para a localização de algumas estruturas internas: manto (ma), as brânquias (br), os palpos labiais (pa), a glândula digestiva (gd), as gônadas (go) e o músculo adutor (mu). As setas pontilhadas brancas ilustram a rota que o alimento percorre dentro da ostra: após passar pelas brânquias, é selecionado pelos palpos labiais e segue para a glândula digestiva, onde se encontram o estômago e o intestino. No estômago, o alimento é submetido a um processo de digestão, enquanto no intestino os nutrientes são absorvidos. Os rejeitos são expelidos pelo ânus na forma de fezes. A seta amarela pontilhada mostra que a seleção do alimento é realizada nos palpos labiais, e as partículas não desejadas são rejeitadas na forma de pseudofeces.

As ostras são conhecidas por sua notável capacidade de filtração, com a capacidade de purificar grandes volumes de água diariamente. Essa característica fisiológica é vital para a remoção de partículas em suspensão, incluindo detritos orgânicos, algas e sedimentos, contribuindo assim para a clarificação da água e a manutenção da qualidade do habitat aquático (NEWELL et al., 2005).

Além de sua função como purificadores da água, as ostras também desempenham um papel fundamental na ciclagem de nutrientes nos ecossistemas costeiros. Ao filtrar a água, elas retiram nutrientes dissolvidos, como nitrogênio e fósforo, que podem ser incorporados em seus tecidos ou depositados no sedimento. Isso ajuda a regular os níveis de nutrientes na água, reduzindo o risco de eutrofização e contribuindo para a saúde de habitats adjacentes (LENIHAN et al., 2003).

Os serviços ecossistêmicos prestados pelas ostras são inestimáveis. Além de contribuir para a sustentabilidade dos ecossistemas aquáticos, elas também oferecem benefícios econômicos e sociais às comunidades costeiras. A aquicultura de ostras é uma indústria importante em muitas regiões, fornecendo empregos e recursos alimentares (GRABOWSKI et al., 2012).

A compreensão da importância ecológica das ostras é fundamental para informar práticas de conservação e manejo adequadas. Estratégias de restauração de recifes de ostras

estão sendo implementadas em muitas áreas para recuperar os ecossistemas costeiros degradados. Esses esforços visam não apenas promover a biodiversidade, mas também melhorar a resiliência dos ecossistemas às mudanças climáticas (COEN et al., 2000).

Devido ao seu melhor desempenho em cultivo, essa espécie é a mais preferida pelos agricultores do norte e nordeste brasileiro e está amplamente distribuída ao longo da costa brasileira (SCARDUA et al., 2017).

No cenário mundial, a ostreicultura é uma das principais atividades da aquicultura marinha, com uma produção de aproximadamente 5,9 milhões de toneladas em 2018 (FAO, 2020a). O gênero *Crassostrea* é o mais cultivado em todo o mundo, representando 99,8% do total cultivado (FAO, 2020a). No cenário latino-americano, o Brasil ocupa a segunda posição em termos de produção de ostras (FAO, 2020b). Em 2019, a produção de *C. gasar* atingiu 96,7 toneladas em Santa Catarina (EPAGRI, 2023) e 86,6 toneladas no Pará (IBGE, 2023), além de ser cultivada em outros estados do país.

A *C. gasar* apresenta características específicas que a tornam atrativa para o cultivo, como a resistência a temperaturas e salinidades variadas (HORODESKY et al., 2019) e facilidade de implantação (SAMPAIO et al., 2019). No Pará, a malacocultura é composta principalmente pela criação dessa espécie, com a captação de sementes em bancos naturais. Essa atividade é conduzida em empreendimentos comunitários administrados por associações de agricultores familiares da região, sendo economicamente viável e gerando empregos (MACEDO et al., 2020). De acordo com De Lima, (2015), a produção das espécies nativas é amplamente obtida através da coleta de sementes de larvas que se estabelecem em ambientes naturais, utilizando coletores artificiais feitos de garrafas PET, ou por meio da captura de juvenis para engorda no mar posteriormente.

Considerando que a espécie *C. gasar* é uma das importantes para a aquicultura comercial e que os moluscos bivalves marinhos são organismos filtradores suscetíveis à ingestão e acúmulo de MPs (RIBEIRO et al, 2023; BRUZAKA et al, 2022, SALDAÑA-SERRANO et al., 2022; VIEIRA et al., 2021).

### **1.5 Biomarcadores de avaliação da contaminação por microplásticos em bivalves.**

Ao serem liberados no ambiente, os MPs podem absorver outras substâncias potencialmente tóxicas, representando uma ameaça devido à principal interação entre organismos e MPs, possivelmente devido à confusão com os alimentos (ANDRADY, 2011). Diversos organismos, como peixes (KIM et al., 2019), bivalves (TENG et al., 2019; CHOI et al., 2022) e crustáceos (JEMEC et al., 2016) ingerem MPs. Nos organismos aquáticos, a

ingestão de MPs pode limitar o crescimento e o desenvolvimento, aumentar a mortalidade, afetar funções metabólicas e causar alterações na expressão gênica (HUANG et al., 2020).

A contaminação de bivalves por microplásticos vai além da mera presença física de partículas plásticas em seus sistemas digestivos. Os microplásticos podem liberar substâncias químicas que compõem os plásticos no interior dos organismos, resultando em possíveis impactos na saúde e no ecossistema (AVIO et al., 2015).

Os microplásticos não são inertes, e componentes químicos como bisfenóis e ftalatos, presentes em muitos plásticos, podem se dissociar dos materiais e serem liberados quando os microplásticos são ingeridos por bivalves. Essas substâncias químicas têm o potencial de causar efeitos adversos nos sistemas endócrino, reprodutivo e imunológico dos bivalves, bem como de serem transferidas pela cadeia alimentar, afetando organismos de níveis tróficos superiores, incluindo seres humanos (HARTMANN et al., 2019).

Além da contaminação química, a bioincrustação de microplásticos representa outro aspecto problemático para os bivalves. Os plásticos podem ser colonizados por biofilme, incluindo microrganismos e pequenos organismos aquáticos, o que confere uma camada biológica à superfície do plástico. Isso cria uma fonte de confusão para os bivalves, pois eles podem consumir não apenas os microplásticos, mas também os organismos bio incrustados, levando a uma ingestão acidental de partículas contaminadas (BROWNE et al., 2011).

A interação entre bivalves e microplásticos é complexa e multidimensional. A exposição a microplásticos e seus produtos químicos pode variar dependendo de fatores como o tamanho, tipo e concentração de microplásticos, além das características específicas dos bivalves, como a taxa de filtração e os padrões de alimentação. A variabilidade desses fatores torna difícil prever os efeitos precisos da contaminação por microplásticos em diferentes espécies de bivalves (VAN CAUWENBERGHE et al., 2015).

A compreensão dos riscos e impactos associados à contaminação por microplásticos em bivalves requer pesquisas mais aprofundadas. É essencial avaliar a extensão da liberação de substâncias químicas, os mecanismos de transferência na cadeia alimentar e os efeitos a longo prazo sobre a saúde dos organismos e ecossistemas. Além disso, abordagens de gestão e regulamentações devem ser desenvolvidas para minimizar os riscos e proteger a saúde dos ecossistemas costeiros (WU et al., 2020).

Bivalves têm sido utilizados para monitorar a qualidade da água em áreas costeiras devido ao seu estilo de vida sésil, capacidade de acumular uma ampla gama de poluentes particulados e dissolvidos, e seu papel significativo nos ecossistemas costeiros (YANCHEVA et al., 2018).

Esses bivalves têm sido empregados em estudos realizados tanto em ambientes naturais quanto em condições controladas de laboratório, demonstrando a pertinência e relevância de sua utilização como biomonitores da contaminação dos ecossistemas costeiros (FLORES NUNES et al., 2014; TREVISAN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015). Os biomarcadores podem ser entendidos como alterações bioquímicas, moleculares ou celulares que refletem as respostas biológicas resultantes da exposição a diversos contaminantes presentes no ambiente aquático, indicando alterações no estado dos indivíduos (WALKER, 2016).

O sistema enzimático de defesa antioxidante é composto por enzimas que desempenham um papel na redução do potencial oxidativo. Três enzimas importantes que participam desse sistema são a Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx) e Glutathione-S-Transferase (GST). A CAT é uma enzima que possui um grupo heme-funcional em seu sítio ativo e é considerada um marcador clássico de peroxissomos. Ela trabalha em conjunto com a dismutase (SOD) para decompor as espécies reativas de oxigênio (EROs) geradas durante a biotransformação, convertendo o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água ( $H_2O$ ) e oxigênio molecular ( $O_2$ ).

Os microplásticos têm sido associados a perturbações no equilíbrio redox e na homeostase antioxidante em moluscos aquáticos, resultando em potenciais danos oxidativos às células dos organismos. Esses impactos estão ligados à liberação de substâncias químicas e à interação direta entre os microplásticos e os sistemas biológicos (HU et al., 2020).

O equilíbrio redox é fundamental para a regulação das reações químicas nas células e para manter o funcionamento normal dos organismos. A exposição aos microplásticos pode levar a uma produção aumentada de EROs, como o  $H_2O_2$  e os radicais livres, que são moléculas altamente reativas capazes de causar danos às biomoléculas (LI et al., 2019).

Os moluscos aquáticos possuem um sistema antioxidante intrínseco composto por enzimas antioxidantes, como superóxido SOD, CAT e GPx, que atuam para neutralizar os efeitos prejudiciais das EROs. No entanto, a exposição crônica aos microplásticos pode sobrecarregar esse sistema de defesa, resultando em disfunção das enzimas antioxidantes e acúmulo de EROs, levando a danos oxidativos nas células e tecidos dos moluscos (ZHAO et al., 2019).

Embora haja evidências crescentes dos impactos dos microplásticos nos sistemas antioxidantes e redox dos moluscos, ainda há lacunas em nosso entendimento completo desses efeitos. Estudos detalhados são necessários para elucidar os mecanismos subjacentes e os efeitos a longo e curto prazo da exposição aos microplásticos nos sistemas antioxidantes dos moluscos, visando assim uma avaliação mais abrangente dos riscos ambientais e de saúde associados (CHEN et al., 2020).

A GPx, que desempenha um papel fundamental na regulação dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e na prevenção de danos celulares (JIA et al., 2020). A GPX é uma enzima chave do sistema de defesa antioxidante, convertendo o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, evitando assim a acumulação de EROs que poderiam danificar lipídios, proteínas e DNA nas células dos moluscos. A atividade da GPX é fundamental para manter a homeostase redox e minimizar os danos oxidativos (LI et al., 2020).

Para que a GPX exerça sua função antioxidante, é crucial a presença da glutathiona (GSH). A GSH é um tripeptídeo composto pelos aminoácidos cisteína, glicina e ácido glutâmico. Ela atua como um doador de elétrons para a GPX, reduzindo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água e, ao fazê-lo, a própria GSH é oxidada. A enzima glutathiona redutase (GR) regenera a GSH a partir da sua forma oxidada, garantindo que ela esteja disponível para a funcionalidade contínua da GPX (ZHANG et al., 2017).

A exposição a estressores ambientais, como a contaminação por microplásticos, pode comprometer a integridade do sistema antioxidante nos moluscos. A presença de microplásticos pode resultar em uma produção aumentada de EROs, sobrecarregando as enzimas antioxidantes e reduzindo os níveis de GSH. Isso pode levar a uma disfunção nas enzimas antioxidantes e a um desequilíbrio redox nos organismos (WU et al., 2021). A GST é uma enzima essencial que catalisa a reação de conjugação entre GSH e substratos endógenos e exógenos, tornando-os mais solúveis e facilitando sua excreção (SINGH et al., 2021).

A GST está intimamente relacionada com o Sistema de Detoxificação Antioxidante (SDA), que inclui enzimas antioxidantes como SOD e CAT. A GSH produzida pela GST é um componente vital do SDA, doando elétrons para neutralizar as EROs e protegendo as células contra danos oxidativos (AWASTHI et al., 2020).

A GST desempenha um papel crucial na Fase II das fases de detoxificação de compostos orgânicos. Nessa etapa, conhecida como conjugação, a GST catalisa a adição da GSH a substâncias tóxicas, tornando-as mais hidrossolúveis e prontas para excreção. Isso transforma os compostos orgânicos em formas menos tóxicas, facilitando sua eliminação (BOARD et al., 2003).

A interação da GST com o SDA e as fases de detoxificação demonstra o papel fundamental dessa enzima na proteção celular contra substâncias prejudiciais. A conjugação da GSH às moléculas tóxicas inativa-as, prevenindo potenciais danos celulares e contribuindo para a manutenção da homeostase (CHOUDHURY et al., 2022).

A presença da GST é crucial para a saúde e sobrevivência dos organismos, já que contribui para a remoção eficiente de compostos tóxicos. A atuação da GST em conjunto com

o SDA e as fases de detoxificação assegura que o organismo possa enfrentar os desafios de exposição a substâncias prejudiciais (MANNERVIK, 2001). Devido à sua presença em diferentes tecidos e frações celulares, a GST é frequentemente utilizada como um biomarcador para a contaminação aquática em programas de biomonitoramento.

A ferramenta histológica permite uma análise detalhada em nível microscópico, oferece uma visão profunda das respostas biológicas e dos efeitos causados pelos microplásticos em organismos marinhos (CATARINO et al., 2018). A histologia desempenha um papel crucial na quantificação precisa da presença de microplásticos nos tecidos dos moluscos. A preparação de cortes histológicos permite a estimativa da concentração dessas partículas em diferentes regiões dos tecidos (MATTSSON et al., 2015). Essa abordagem quantitativa ajuda a entender a distribuição espacial e os níveis de contaminação nos organismos. Além de permitir uma avaliação precisa das consequências nos níveis celular e tecidual.

Diversos estudos utilizaram técnicas histológicas para identificar a presença de MPs em bivalves (PITTURA et al. 2018, GONZÁLEZ-SOTO et al. 2019, MORESCHI et al. 2020 e CHOI et al. 2021).no estudo de Huang et al., (2019), foi possível analisar os órgãos-alvo, como o trato gastrointestinal e as brânquias, e revelar os locais de maior interação e acúmulo de microplásticos nos tecidos. A histologia emerge como uma ferramenta multifacetada e essencial no estudo dos efeitos dos microplásticos e na identificação de sua presença nos moluscos bivalves. Ao combinar observações morfológicas com análises quantitativas, ela possibilita uma compreensão mais abrangente dos impactos ambientais e biológicos dos microplásticos nesses organismos sensíveis (BARBOZA et al., 2021).

Ainda há lacunas de conhecimento sobre mecanismos que podem minimizar ou reduzir os efeitos adversos dos MPs, como o processo de depuração estudado por BIRNSTIEL, SOARES-GOMES e da GAMA (2019). A incorporação da técnica de depuração em experimentos envolvendo a exposição de ostras a microplásticos revela-se uma abordagem crucial, respaldada por estudos anteriores que atestam sua eficácia na redução de contaminantes e impurezas em organismos marinhos. Pesquisas demonstraram que a depuração não apenas elimina substâncias indesejadas, mas também contribui para a minimização da interação entre microplásticos e tecidos de organismos, possibilitando uma avaliação mais precisa dos efeitos diretos desses materiais (VENDEL et al., 2018; COLE et al., 2016; BIRNSTIEL, SOARES-GOMES e da GAMA 2019).

A depuração, que consiste na imersão das ostras em água purificada do ambiente, destina-se a eliminar impurezas e contaminantes, possibilitando um cenário mais próximo das condições naturais (VENDRAMINI-COSTA et al., 2020). Essa prática é respaldada por

evidências científicas que destacam a influência positiva da depuração na remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos de moluscos (HERRERA et al., 2018).

Estudos anteriores têm destacado a importância de verificar os níveis de contaminação por microplásticos antes e após a depuração, a fim de avaliar a taxa de remoção efetiva dessas partículas (HUVET et al., 2021). O acompanhamento de parâmetros como tamanho, forma e composição dos microplásticos após a depuração é crucial para entender como esses contaminantes interagem com as ostras e como sua presença pode ser mitigada.

No contexto do estudo sobre os efeitos dos microplásticos em ostras, a escolha de empregar uma combinação de métodos – avaliação de atividades enzimáticas, histologia e depuração – fundamenta-se na necessidade de obter uma compreensão completa e abrangente dos impactos dos contaminantes microplásticos. Nesse contexto, a aplicação de uma única abordagem de análise pode ser insuficiente para capturar a complexidade e a variedade de respostas biológicas das ostras aos microplásticos (DELLA TORRE et al., 2020).

Portanto, ao empregar conjuntamente a avaliação de atividades enzimáticas, histologia e depuração, busca-se uma abordagem mais holística e complementar na compreensão dos efeitos dos microplásticos em ostras. Essa abordagem multidisciplinar permite superar as limitações de cada método individual e fornece uma visão abrangente das respostas biológicas, do potencial de acumulação e da eficácia da remoção de microplásticos, contribuindo para um entendimento mais sólido dos riscos associados a esses contaminantes emergentes (BARBOZA et al., 2022).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar a ingestão da *Crassostrea gasar* frente a exposição a MFPET e investigar se a *C. gasar* apresenta efeitos em níveis bioquímico e histológico neste organismo filtrador.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Verificar se a moagem mecânica de tecido de poliéster é um método eficiente para a obtenção de MFPET com propriedades similares às encontradas no ambiente.
- Realizar a quantificação das MFPET retidas em diferentes tecidos da ostra, como brânquias, glândula digestiva das ostras *C. gasar* após uma exposição aguda (2 horas, 12 horas e 24 horas) a MFPET.
- Realizar a quantificação das MFPET retidas em diferentes tecidos da ostra, como brânquias, glândula digestiva das ostras *C. gasar* após o processo de depuração das ostras *C. gasar* por 48h em água limpa.
- Avaliar se as atividades enzimáticas da CAT, GST e GPx, na glândula digestiva das ostras *C. gasar*, após uma exposição aguda (24 horas) a MFPET, sofrem alterações significativas.
- Avaliar se as atividades enzimáticas de CAT, GST e GPx, na glândula digestiva das ostras *C. gasar* e após processo de depuração por 48h, sofrem alterações significativas.
- Verificar se há a presença de MFPET em diferentes tecidos das ostras *C. gasar* após uma exposição aguda (24 horas) através de método histológico.

### 3 HIPÓTESES DO ESTUDO

- Devido ao mecanismo de alimentação semelhante a um filtro das ostras e ao seu estilo de vida sésil, juntamente com as características das microfibras, as MFPET ficam retidas nas glândulas digestivas e brânquias;
- A retenção das MFPET nas glândulas digestivas e brânquias alteram atividades enzimáticas;
- Após um período de depuração de 48 horas das ostras *C. gasar*, há uma redução na quantidade de MFPET retidas nas glândulas digestivas e brânquias;
- Após um período de depuração de 48 horas das ostras *C. gasar*, não há alterações na atividade das enzimas antioxidantes.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

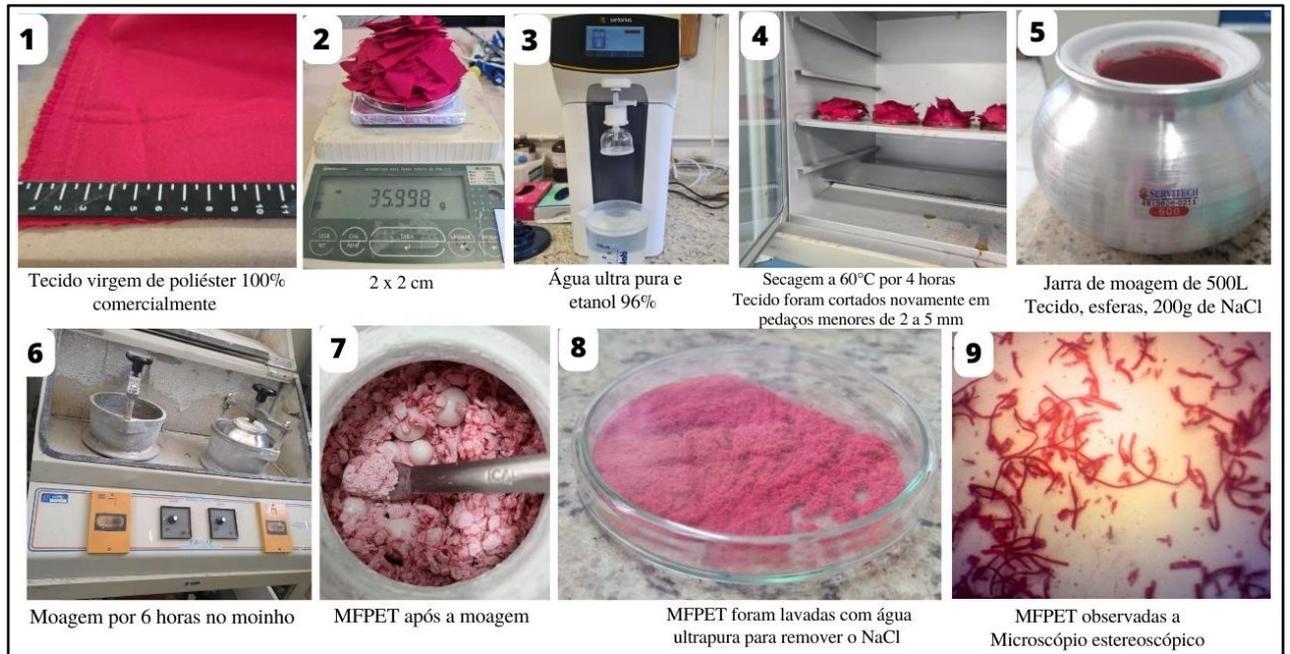
### 4.1 Obtenção dos animais

As ostras adultas da espécie *C. gasar* (n=88), com conchas medindo entre 5 e 7 cm de comprimento, foram adquiridas em uma área de cultivo de ostras localizada no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da UFSC, em Florianópolis, Brasil. Após a coleta, as ostras foram transportadas para o laboratório e passaram por um período de aclimação de 5 dias. Dentro do laboratório, as ostras foram mantidas em tanques com água do mar filtrada (0,45 µm) e aerada, mantendo a temperatura da água a 21 °C e a salinidade a 30. Um ciclo claro-escuro de 12 horas cada foi estabelecido. Durante o período de aclimação, as ostras foram alimentadas com uma dieta composta por uma mistura de algas, contendo uma concentração de  $10 \times 10^4$  células por mL, sendo 50% de *Isochrysis galbana* e 50% de *Chaetoceros muelleri*.

### 4.2 Obtenção e caracterização das MFPET

A fim de reproduzir MPs encontrados no ambiente marinho, as MFPET foram obtidas seguindo o método de (JEMEC et al., 2016) com algumas modificações. Um tecido têxtil virgem de poliéster 100% vermelho foi adquirido comercialmente e fragmentado em pedaços de 2 x 2 cm. Em seguida, os pedaços de tecido foram lavados com água ultra pura e etanol 96% para remover possíveis contaminações da superfície. Após a secagem a 60°C por 4 horas e resfriamento até a temperatura ambiente. Em uma jarra de moagem de 500L foram colocados pedaços de tecido foram cortados em pedaços menores (2 a 5 mm) com 200 g de NaCl, juntamente com esferas de moagem, permitindo a obtenção das MF<sub>PET</sub> através da moagem do tecido, para isso, foi utilizado um moinho triturador centrífugo.

O tecido foi submetido à moagem por 6 horas, a uma velocidade de 150 rpm, alternando entre períodos de moagem de 2 minutos ligados e 2 minutos desligados. Após o processo de moagem, as MF<sub>PET</sub>s foram lavadas com água ultrapura para remover o NaCl e, em seguida, filtradas usando uma membrana de celulose com poros de 8 µm. Por fim, as MF<sub>PET</sub> foram secas e armazenadas em um recipiente hermético (Figura 3).



**Figura 3:** Etapas do método para obtenção das MFPET.

Após a obtenção das MFPET, as distribuições de tamanhos de partículas foram determinadas no Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (VITROCER) da UFSC. Para isso, 10 mg de MFPET foram dispersas em água destilada e as partículas foram medidas por difração a laser utilizando o difratômetro Mastersizer (Malvern Mastersizer 3000™ - *The Particle size analyzer*, Ltd., UK). Nesta análise, utilizamos três valores para representar os tamanhos das partículas em uma amostra: DX (10), Dx (50) e Dx (90).

Dx (10) indica o tamanho abaixo do qual se encontram apenas 10% da amostra. Isso significa que a maioria das partículas é maior do que esse valor. Dx (50) representa o tamanho abaixo do qual se encontram 50% da amostra. Metade das partículas tem um tamanho menor ou igual a esse valor. Já Dx (90) está relacionado ao tamanho médio das partículas da amostra. Ele indica o tamanho abaixo do qual se encontram 90% das partículas. Ou seja, apenas 10% das partículas são maiores do que esse valor.

Para uma observação detalhada da forma e estrutura das MFPET, utilizou-se o microscópio estereoscópico Olympus BX41. As imagens foram capturadas utilizando uma câmera digital DP73, permitindo uma análise minuciosa da aparência das MFPET. Além disso, a fim de confirmar a composição química das MFPET, uma amostra foi analisada utilizando Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) no equipamento AGILENT TECHNOLOGIES - Cary 660 FTIR ATR, utilizando um cristal de ZnSe, na faixa de 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ .

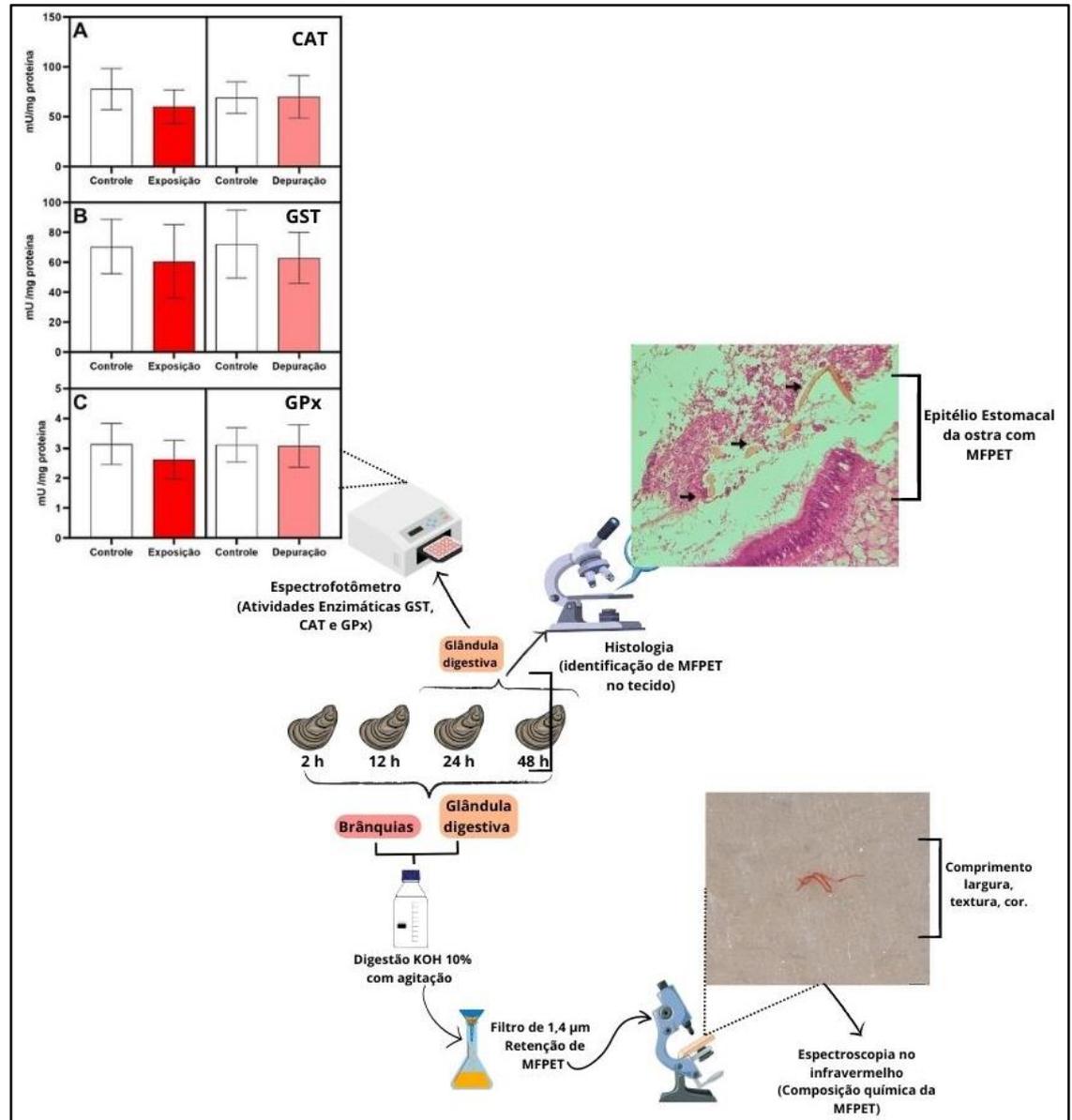
### 4.3 Delineamento Experimental

Com um desenho experimental baseado em estudos preliminares (REVEL et al. 2019; MORESCHI et al., 2020, CHOI et al., 2021). O experimento foi realizado em duas fases: 2, 12 e 24 horas de exposição, seguidas de 48 h de depuração. Durante a fase de exposição, as ostras (n=88) foram distribuídas individualmente e aleatoriamente em béqueres de 1 L (uma ostra por béquer). Expostas a 0,5 mg/ L de MFPET (representando aproximadamente 2394,5 microfibras por litro de água) em um sistema estático, sem alimentação, com aeração constante para garantir a ressuspensão das MFPET.

A escolha dessa concentração de MFs, mesmo sendo superior àquelas normalmente encontradas na água do mar (REVEL et al., 2019; CHOI et al., 2022) foi embasada em razões analíticas e práticas, levando em consideração os resultados obtidos em experimentos preliminares. Esses experimentos apresentaram informações sobre diferentes aspectos, incluindo o tempo de exposição, a concentração de MFPET, a intensidade de aeração para manter as partículas em suspensão, o tecido com maior acumulação de MFPET e o tempo ideal para a depuração.

Após os períodos de exposição de 2, 12 e 24 horas, um grupo de ostras (n= 8) de cada intervalo foi selecionadas e processado para dissecação das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Também realizou a coleta de tecidos para a análises das atividades das enzimas oxidantes (glândula digestiva) e a histologia (tecido transversal). Um grupo de ostras do período de 24 horas de exposição foram transferidas para água limpa, sem a presença de MFPET e submetidas ao processo de depuração de 48 horas.

Durante o período de depuração, a água passou por duas trocas diárias, e as ostras não receberam alimentação. Após a conclusão do processo de depuração de 48 horas, um grupo de ostras foram submetidas à dissecação das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Outro grupo de ostras foi processado para a avaliação das atividades das enzimas (glândula digestiva) (Figura 4).

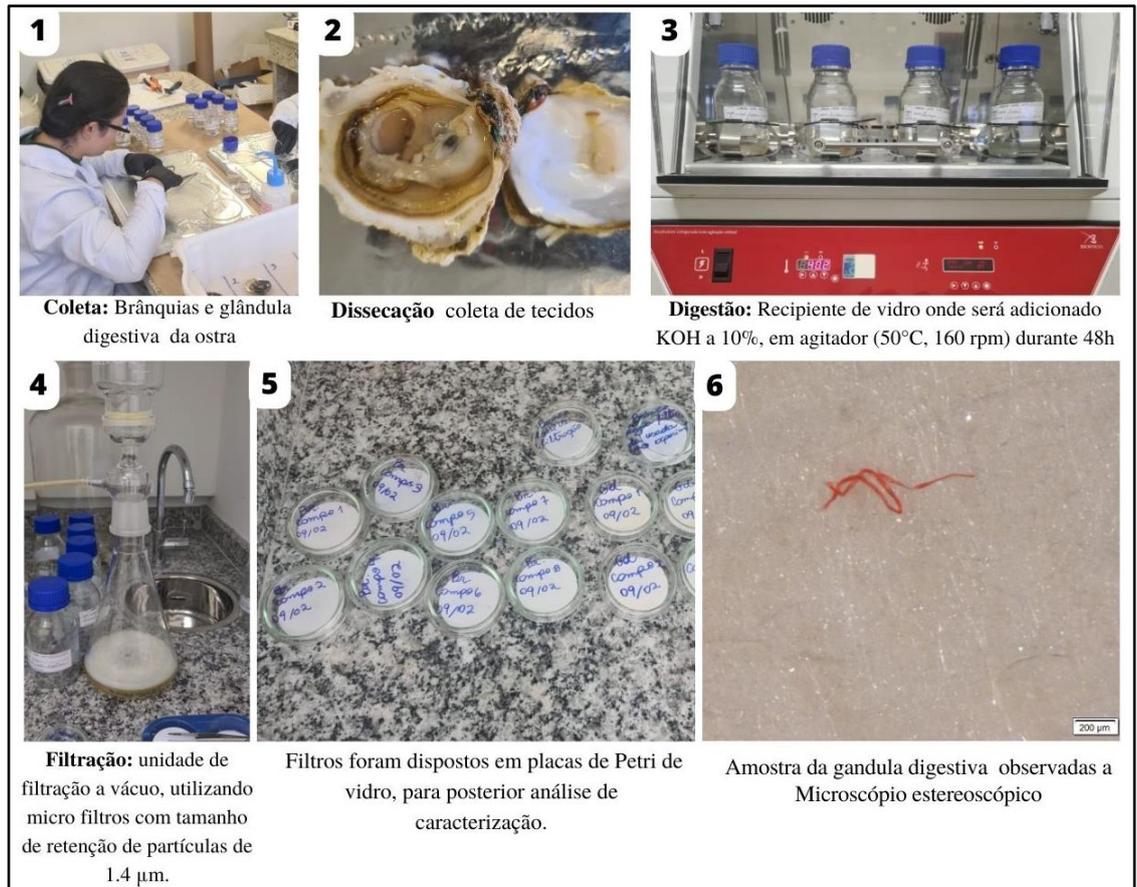


**Figura 4:** Delineamento experimental, ilustração dos principais processos a serem realizados na pesquisa (quantificar a presença de microfibras de PET nos tecidos alvos com relação ao tempo e depuração; e a análise bioquímica da atividade enzimática apenas na glândula digestiva e análises histológicas nos tecidos da ostra (n=8)).

Com a finalidade de evitar qualquer contaminação externa por MPs foram empregadas no experimento um rigoroso controle de qualidade, utilizamos exclusivamente materiais de vidro ou aço inoxidável, os recipientes e utensílios foram devidamente esterilizados com água ultra pura antes de serem utilizados, além disso, luvas de nitrilo foram utilizadas durante o experimento.

#### 4.4 Extração e quantificação de MFPET dos tecidos da ostra

A análise da presença de MFPET nas brânquias e glândula digestiva de cada ostra após a exposição (2, 12 e 24 h) e a depuração (48h) seguiu um procedimento adaptado do protocolo publicado por (SALDAÑA-SERRANO et al., 2022). Inicialmente, os tecidos foram colocados em recipientes de vidro limpos, nos quais foram adicionados uma solução pré filtrada de hidróxido de potássio a 10% até que a solução cobrisse completamente a amostra, seguindo a proporção 1:5 (peso e volume) (Figura 5).



**Figura 5:** Etapas do processo de extração das MFPET.

Os recipientes de vidro foram submetidos a agitação constante por 24 horas, a uma temperatura de 55°C e velocidade de 160 rotações por minuto (rpm). Após a completa digestão dos tecidos, a filtração foi realizada por meio de uma unidade de filtração a vácuo, utilizando micro filtros com tamanho de retenção de partículas de 1.4 µm. Os filtros foram dispostos em placas de Petri de vidro com tampa, para posterior análise de caracterização, a filtração foi realizada dentro de uma estufa e com ar condicionado desligado para evitar contaminação externa.

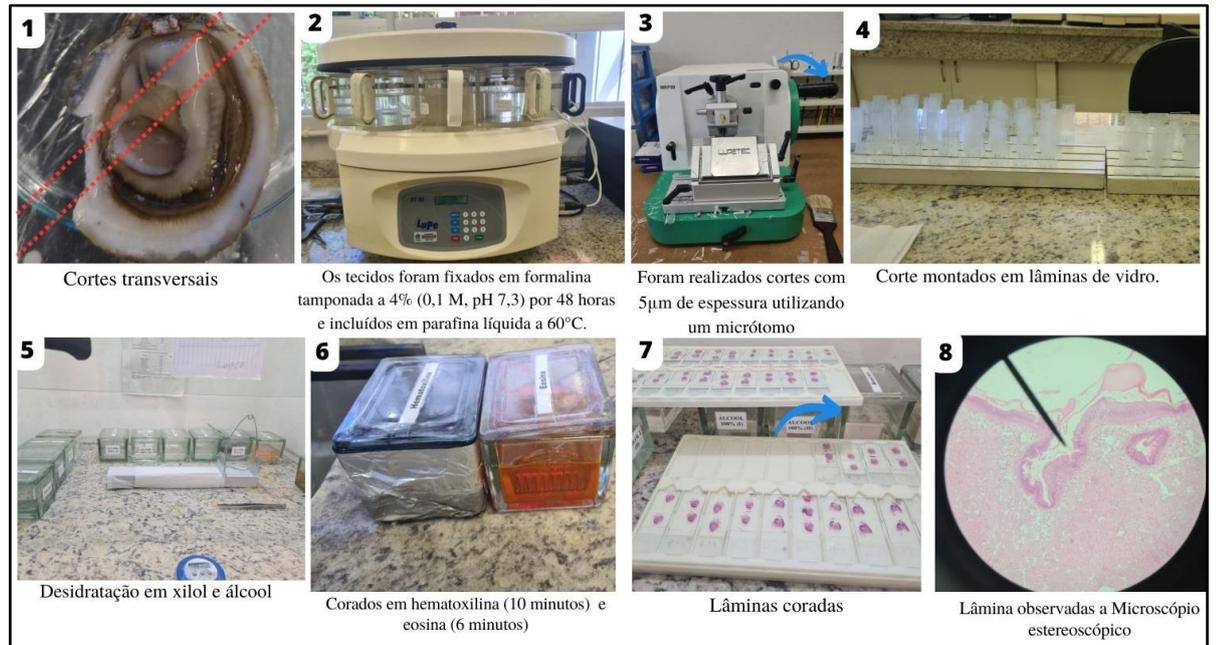
#### 4.5 Análise de enzimas antioxidantes e identificação de MFPET a nível histológico.

Para realizar as análises de biomarcadores, as glândulas digestivas de cada ostra previamente armazenadas em um freezer de temperatura ultrabaixa a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  foram utilizadas. Essas glândulas foram preparadas através da homogeneização em um tampão de homogeneização contendo 0,1 M de TRIS-HCl (pH 7,4), com adição de 0,5 M de sacarose, 0,15 M de KCl, 1 mM de DTT e 0,1 mM de PMSF (foi utilizado protocolos do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica). Após a homogeneização, os tecidos foram submetidos a uma centrifugação por 30 minutos a 9000 g e  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Em seguida, os sobrenadantes resultantes da centrifugação foram coletados para a realização dos ensaios das atividades das enzimas CAT, GST e GPx de acordo com métodos espectrofotométricos.

A atividade da CAT foi quantificada seguindo o método de (AEBI, 1984), no qual a velocidade de decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi medida em 240 nm. A atividade da GST foi quantificada seguindo o método descrito por (CARLBERG; MANNERVIK, 1985). Nesse método, a atividade da GST é medida através da formação do conjugado 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB)-GSH, sendo a absorvância medida a 340 nm. A GPx foi avaliada através da medição da taxa de oxidação do NADPH a 340 nm, As leituras foram feitas em duplicatas. As atividades enzimáticas foram normalizadas utilizando a concentração de proteínas totais, que foi determinada seguindo a metodologia descrita por (BRADFORD, 1976).

Os procedimentos histológicos foram conduzidos de acordo com a metodologia descrita por (DOS REIS et al., 2020). As ostras dissecadas foram selecionadas aleatoriamente e cortadas em seções transversais com aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  para a análise. O objetivo foi determinar, de forma qualitativa, a presença e distribuição de MFPET nos tecidos. Para isso, os tecidos foram fixados em formalina tamponada a 4% (0,1 M, pH 7,3) por 48 horas e incluídos em parafina líquida a  $60^{\circ}\text{C}$ . Após a desidratação em álcool e diafanização em xilol, foram realizados cortes com 5  $\mu\text{m}$  de espessura utilizando um micrótomo (Figura 6).



**Figura 6:** Etapas sequenciais dos procedimentos histológicos para análise de tecidos e identificação de MFPET.

Os cortes foram montados em lâminas de vidro. Os tecidos foram corados com hematoxilina (10 minutos) e eosina (6 minutos), e em seguida, foram observados em um microscópio óptico (Nikon ECLIPSE Ti-U, Melville, NY, EUA).

#### 4.6 Análises dos dados

Os dados comparativos foram submetidos a testes estatísticos para verificar a distribuição normal de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variância teste de Bartlett. Se os conjuntos de dados dos parâmetros medidos atenderam aos requisitos de distribuição normal e homogeneidade, foram avaliados utilizando a ANOVA de uma via, para comparação entre tratamentos e seus respectivos controles. Para os dados não-paramétricos, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Wilcoxon. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (SD) e exibidos em gráficos gerados no GraphPad Prism® v 9.3 (StatSoft Inc.).

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

O estudo revelou a presença de MF<sub>PET</sub> nas brânquias e glândulas digestivas de ostras expostas a diferentes tratamentos experimentais. Além disso, a concentração de microplásticos MF<sub>PET</sub> foi maior nas glândulas digestivas do que nas brânquias. Notavelmente, um período de depuração de 48 horas mostrou-se eficaz na remoção de MF<sub>PET</sub> das ostras *C. gasar*.

Os resultados indicam que uma concentração específica de 0,05 mg/l de microfibras durante 24 horas pode não ter efeitos prejudiciais nas atividades enzimáticas nas glândulas de *C. gasar*, mas ainda há muitas incertezas sobre os efeitos dos microplásticos em diferentes concentrações e espécies de moluscos. No entanto, é possível que a ativação de enzimas estejam ocorrendo em outros tecidos diferentes da glândula digestiva. Assim, a utilização de brânquias de bivalves em estudos bioquímicos e de biomonitoramento pode ser uma abordagem vantajosa para futuras investigações.

A partir dos resultados histológicos obtidos, foram observados a presença de células marrons próximas ao estômago, deste modo, é necessário continuar a investigar os efeitos dos microplásticos em organismos aquáticos e tomar medidas para minimizar seus efeitos negativos.

Conclui-se que os resultados obtidos neste estudo reforçam a necessidade de medidas de monitoramento e controle da exposição a esses poluentes. Além disso, ressalta-se a importância de políticas de gestão ambiental para minimizar a contaminação por poluentes em ecossistemas aquáticos.

É fundamental ressaltar que este estudo contribui para o entendimento dos efeitos das microfibras plásticas em organismos aquáticos, porém, ainda há muitos aspectos a serem investigados para uma compreensão mais completa dos impactos desses poluentes no meio ambiente.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABIPLAST. Profile 2019. Abiplast 2019, 45. Acesso em 22 ago 2022.

ABIT. Dados gerais do setor. Abit 2022 Disponível em: < <https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>>. Acesso em 20 ago 2022.

AJANA, A. M. 1980. Fishery Of the Mangrove Oyster, *Crassostrea Gasar*, Adanson (1757), In the Lagos Area, Nigeria. *Aquaculture* 21: 129-137.

ALIMI, O. S.; FARNER BUDARZ, J.; HERNANDEZ, L. M.; TUFENKJI, N. Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport. *Environmental Science & Technology*, v. 52, n. 4, p. 1704–1724, 20 fev. 2018. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b05559>>. Acesso em 20 ago 2022.

AMARAL, V. S; SIMONE, L. R. L., 2014. Revision of genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 94, n. 04, p.811-836.

ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 8, p. 1596–1605, 1 ago. 2011.

AVIO, C. G., GORBI, S., & REGOLI, F. (2015). Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat. *Marine Environmental Research*, 100, 2-11.

AWASTHI, Y. C., SHARMA, R., CHENG, J. Z., YANG, Y., & SHARMA, A. (2020). Role of 4-hydroxynonenal in stress-mediated apoptosis signaling. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 517-534.

BALDAN, A.P.; BENDHACK, F., 2009. Maricultura sustentável no litoral do Paraná, Brasil: atualidades e perspectivas. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, v.7, p.491-497.

BARBOZA, L. G. A., LOPES, C., OLIVEIRA, P., BESSA, F., OTERO, V., HENRIQUES, B., RAIMUNDO, J., CAETANO, M., VALE, C., & GUILHERMINO, L. (2020). Microplásticos em peixes selvagens do Nordeste do Oceano Atlântico e seu potencial para causar efeitos neurotóxicos, danos oxidativos lipídicos e riscos à saúde humana associados à exposição à ingestão. *A ciência do ambiente total*, 717, 134625. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134625>

BARBOZA, L. G., DICK VETHAAK, A., LAVORANTE, B. R. B. O., & LUNDEBYE, A. K. (2022). Marine microplastics: Method development towards standardized assessment of physical impacts on bivalves. *Environmental Pollution*, 286, 117544.

BARBOZA, L. G., DICK VETHAAK, A., LAVORANTE, B. R. B. O., & LUNDEBYE, A. K. (2021). Marine microplastics: Method development towards standardized assessment of physical impacts on bivalves. *Environmental Pollution*, 286, 117544.

BESSA, F., BARRÍA, P., NETO, J. M., & FRIAS, J. P. (2018). Microplastics in sediments and wild organisms from Ria de Aveiro (Portugal): First assessment. *Environmental Pollution*, 236, 266-273.

- BIRNSTIEL, S., SOARES-GOMES, A., & DA GAMA, B. A. Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. *Marine pollution bulletin*, 140, 241-247. (2019).
- BOARD, P. G., BAKER, R. T., CHELVANAYAGAM, G., JERMIIN, L. S., & ZENG, Z. (2003). Glutathione transferases, a structural perspective. *Drug Metabolism Reviews*, 35(3), 257-305.
- BRADFORD, M. M. Determinación de proteínas: método de bradford. *Analytical Biochemistry*, v. 254, p. 1976, 1976.
- BROWNE, M. A.; CRUMP, P.; NIVEN, S. J.; TEUTEN, E.; TONKIN, A.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology*, v. 45, n. 21, p. 9175–9179, nov. 2011.
- BRUZACA, D. N., JUSTINO, A. K., MOTA, G. C., COSTA, G. A., LUCENA-FRÉDOU, F., & GÁLVEZ, A. O. (2022). Ocorrência de microplásticos em moluscos bivalves *Anomalocardia flexuosa* capturados em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Boletim de Poluição Marinha*, 179, 113659.
- CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. [59] Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, v. 113, n. C, p. 484–490, 1 jan. 1985.
- CATARINO, A. I., MACCHIA, V., SANDERSON, W. G., THOMPSON, R. C., & HENRY, T. B. (2018). Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal. *Environmental Pollution*, 237, 675-684.
- CHEN, Q., WANG, J., TAN, J., PENG, J., CHEN, Y., WANG, Y., & ZHAN, Z. (2020). Chronic microplastic exposure induces oxidative stress, immune response and reproductive disruption in female zebrafish. *Environmental Pollution*, 260, 114036.
- CHOI, J. S., KIM, K., HONG, S. H., PARK, K. I., & PARK, J. W. (2021). Impacto do comprimento da microfibras de polietileno tereftalato sobre as respostas celulares do mexilhão mediterrâneo *Mytilus galloprovincialis*. *Pesquisa Ambiental Marinha*, 168, 105320.
- CHOI, J. S., KIM, K., PARK, K., & PARK, J. W. (2022). Long-term exposure of the Mediterranean mussels, *Mytilus galloprovincialis* to polyethylene terephthalate microfibers: Implication for reproductive and neurotoxic effects. *Chemosphere*, 299, 134317.
- CHOUDHURY, H., & PANDEY, M. (2022). Role of glutathione S-transferases in health and diseases. *Resonance*, 27(1), 37-50.
- COEN, L. D., & LUCKENBACH, M. W. (2000). Developing success criteria and goals for evaluating oyster reef restoration: Ecological function or resource exploitation?. *Ecological Engineering*, 15(3-4), 323-343.
- COLE, M., LINDEQUE, P., HALSBAND, C., & GALLOWAY, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588-2597.
- COLE, M., LINDEQUE, P., HALSBAND, C., & GALLOWAY, T. S. (2016). Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 113(1-2), 17-24.

CÓZAR, A., ECHEVARRÍA, F., GONZÁLEZ-GORDILLO, J. L., IRIGOIEN, X., ÚBEDA, B., HERNÁNDEZ-LEÓN, S., ... & DUARTE, C. M. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(28), 10239-10244.

DE LIMA, M. D. N. B. (2015). *Biologia Reprodutiva, Crescimento Cultivo da Ostra-do-Mangue Crassostrea gasar Adanson (1757)(MOLLUSCA: BIVALVIA) em manguezais da Costa Amazônica (Curuçá e São Caetano de Odivelas), Brasil (Doctoral dissertation, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ).*

DE SÁ, L. C.; OLIVEIRA, M.; RIBEIRO, F.; ROCHA, T. L.; FUTTER, M. N. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? *Science of The Total Environment*, v. 645, p. 1029–1039, 15 dez. 2018.

DE SOUZA SAMPAIO, D. et al. Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. *Reviews in Aquaculture*, v. 11, n. 1, p. 88–104, 1 fev. 2019.

DELLA TORRE, C., BERGAMI, E., SALVATI, A., FALERI, C., CIRINO, P., DAWSON, K. A., ... & CORSI, I. (2020). Accumulation and embryotoxicity of polystyrene nanoparticles at early stage of development of sea urchin embryos *Paracentrotus lividus*. *Environmental Science and Technology*, 54(2), 1179-1187.

DOS REIS, I. M. M. et al. Differential responses in the biotransformation systems of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) elicited by pyrene and fluorene: Molecular, biochemical and histological approach – Part II. *Aquatic Toxicology*, v. 226, p. 105565, 1 set. 2020.

DUMBAULD, B. R., RUESINK, J. L., & RUMRILL, S. S. (2009). The ecological role of bivalve shellfish aquaculture in the estuarine environment: A review with application to oyster and clam culture in West Coast (USA) estuaries. *Aquaculture*, 290(3-4), 196-223.

EGBEOCHA Chidi Onyema, Sorayya Malek, Chijioko Uche Emenike, Pozi Milow. Feasting on microplastics: ingestion by and effects on marine organisms. *AQUATIC BIOLOGY Aquat Biol.* (2018). 27: 93–106. <https://doi.org/10.3354/ab00701>.

EPAGRI/CEPA. Infoagro. Available at: <https://cedap.epagri.sc.gov.br/index.php/estudos/>. Acesso maio 08, 2023.

FAO. 2020a. Fishery and Aquaculture Statistics. Global production 1950-2018 (Online Query Panels). In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. <http://www.fao.org/fishery/statistics/en>. Acesso maio 08, 2023.

FAO. 2020b. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FLORES-NUNES, F.; GOMES, T.; COMPANY, R.; MORAES, R.; SASAKI, S.; TANIGUCHI, S.; BICEGO, M.; MELO, C.; BAINY, A.; BEBIANNO, M. Changes in protein expression of pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed in situ to urban sewage. *Environ. Sci. Pollut. Res. Intern.* 2014. DOI 10.1007/s11356-014-3821-8.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, v. 3, n. 7, p. e1700782, 5 jul. 2017.

GOLWALA, H., ZHANG, X., ISKANDER, SM, & SMITH, AL (2021). Resíduos sólidos: uma fonte negligenciada de microplásticos para o meio ambiente. *Ciência do Ambiente Total*, 769, 144581.

GONZÁLEZ-SOTO, N., HATFIELD, J., KATSUMITI, A., DUROUDIER, N., LACAVE, J. M., BILBAO, E., ... & CAJARAVILLE, M. P. (2019). Impactos da exposição dietética a microplásticos de poliestireno de diferentes tamanhos isolados e com benzo[a]pireno sorvido sobre biomarcadores e respostas de organismos inteiros em mexilhões *Mytilus galloprovincialis*. *Ciência do Meio Ambiente Total*, 684, 548-566.

GOSLING, E. *Bivalve Molluscs. Biology, Ecology and Culture*. Fishing News Books. 2003.

GRABOWSKI, J. H., PETERSON, C. H., & POWERS, S. P. (2012). Restoring oyster reefs to recover ecosystem services. In *Ecosystem engineers* (pp. 281-298). Academic Press.

HARTMANN, N. B., HÜFFER, T., THOMPSON, R. C., HASSELLÖV, M., VERSCHOOR, A., DAUGAARD, A. E., ... & WAGNER, M. (2019). Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environmental Science & Technology*, 53(3), 1039-1047.

HERRERA, A., PETTIGROSSO, R. E., CLEDÓN, M., & MARCOVECCHIO, J. E. (2018). Removal of metals by *Mytilus edulis* and depuration effect on metal bioaccumulation in two bivalve species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 150, 218-225.

HIDALGO-RUZ, V., GUTOW, L., THOMPSON, R. C., & THIEL, M. (2012). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060-3075.

HORODESKY, A.; CASTILHO-WESTPHAL, G.G.; COZER, N. et al. Effects of salinity on the survival and histology of oysters *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757). *Biosci. J.*, v.35, p.586-597, 2019.

HU, L., ZHU, L., & CHEN, H. (2020). The interaction of microplastics with the antioxidant defense system and oxidative stress in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *Science of the Total Environment*, 744, 140935.

HUANG, D.; TAO, J.; CHENG, M.; DENG, R.; CHE, S.; et al.; Microplastics and nanoplastics in the environment: Macroscopic transport and effects on creatures. *Journal of Hazardous Materials*, v, 29, 2020. Disponível em: . doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124399

HUANG, Y., XU, X., ZHANG, T., & REN, H. (2019). Microplastics in the Gastrointestinal Tract of the Scallop *Chlamys farreri* and Their Potential Effects on Digestive Tract Function. *Environmental Science & Technology*, 53(19), 11168-11176.

HUVET, A., GONZALEZ-FERNANDEZ, C., PAUL-PONT, I., LAMBERT, C., SUQUET, M., THOMAS, Y., ... & SOUDANT, P. (2021). Molecular responses of European flat oysters to microplastics. *Environmental Pollution*, 286, 117603.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de produto. Available at: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940> Acesso maio 08, 2023.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Demográfico

2010. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/>. Acesso em: 19 de ago. 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). Cidades e estados. Rio de Janeiro, 2010b. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados>. Acesso em: 19 de ago. 2022.

JAMBECK, J. R., et al. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771.

JEMEC, A.; HORVAT, P. KUNEJ, U.; BELE, M.; KRŽAN, A. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, v. 219, p. 201–209, 1 dez. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116310533#bib26>>. Acesso em 22 ago 2022.

JIA, R., CHENG, Y., YANG, Z., & LI, R. (2020). Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) responses in the clam *Macra veneriformis* exposed to cadmium and high temperature stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110596.

KARAMI, A., GOLIESKARDI, A., CHOO, C. K., LARAT, V., & GALLOWAY, T. S. (2017). The presence of microplastics in commercial salts from different countries. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9.

KIM, S. W.; CHAE, Y.; KIM, D.; AN, Y.-J. Zebrafish can recognize microplastics as inedible materials: Quantitative evidence of ingestion behavior. *Science of The Total Environment*, v. 649, p. 156–162, 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718332819?via%3Dihub>>. Acesso em 22 ago 2022.

LENIHAN, H. S., PETERSON, C. H., & BYERS, J. E. (2003). Dynamic impacts of large-scale species introductions: Evidence from the US west coast. *Ecology Letters*, 6(10), 911-919.

Li, H., Li, Y., Li, J., Liu, L., Xie, X., & Zhao, Y. (2019). Oxidative stress, DNA damage and DNA-protein crosslink induced by microcystin-LR in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Chemosphere*, 216, 481-489.

LI, J.; LIU, H.; PAUL CHEN, J. Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Research*, v. 137, p. 362–374, 15 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135417310515>>. Acesso em 22 ago 2022.

LI, Q., CAI, Y., ZHANG, J., & GUO, H. (2020). Effects of microplastics on the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in the pearl oyster *Pinctada martensii*. *Environmental Pollution*, 256, 113320.

LIU, Y. et al. An overview of microplastics in oysters: Analysis, hazards, and depuration. *Food Chemistry*, v. 422, p. 136153, out. 2023.

LIWARSKA-BIZUKOJC, Ewa. Efeito de (bio)plásticos no ambiente do solo: Uma revisão. *Ciência do Ambiente Total*, v. 795, p. 148889, 2021.

LÜCHMANN, K.H.; CLARK, M.S.; BAINY, A.C.D.; GILBERT, J.A.; CRAFT, J.A.; CHIPMAN, J.A.; THORNE, M.A.S.; MATTOS, J.J.; SIEBERT, M.N.; SCHROEDER, D.C. Key metabolic pathways involved in xenobiotic biotransformation and stress responses revealed by transcriptomics of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana*. *Aquatic Toxicology*, v. 166, p. 10–20, 2015.

MACEDO, A. R. G. et al. Crescimento e viabilidade econômica da ostra nativa *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) cultivadas em dois sistemas. *CEP*, v. 88034, p. 000, 2020.

MANNERVIK, B. (2001). The isoenzymes of glutathione transferase. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 77, 315-372.

MARTINS, Marta Filipa Santos. Poluição por plástico. A crise ambiental e as políticas europeias e nacionais. 2020. Tese de Doutorado.

MATTSSON, K., JOHNSON, E. V., MALMENDAL, A., LINSE, S., HANSSON, L. A., & CEDERVALL, T. (2015). Brain damage and behavioural disorders in fish induced by plastic nanoparticles delivered through the food chain. *Scientific Reports*, 5, 1-11.

MORESCHI, A. C., CALLIL, C. T., CHRISTO, S. W., JUNIOR, A. L. F., NARDES, C., DE FARIA, É., & GIRARD, P. (2020). Filtration, assimilation and elimination of microplastics by freshwater bivalves. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 2, 100053.

NEWELL, R. I. E., FISHER, T. R., HOLYOKE, R. R., & CORNWELL, J. C. (2005). Influence of eastern oysters on nitrogen and phosphorus regeneration in Chesapeake Bay, USA. In *The comparative roles of suspension feeders in ecosystems* (pp. 373-396). Springer.

PAUL-PONT, I., LACROIX, C., GONZALEZ-FERNANDEZ, C., HÉGARET, H., LAMBERT, C., LE GOÏC, N., & SOUDANT, P. (2016). Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: Toxicity and influence on fluoranthene bioavailability. *Environmental Pollution*, 216, 724-737.

PEREIRA, Francisco SG. *Polímeros-Fundamentos Científicos e Tecnológicos*. Instituto Federal de Pernambuco. Recife, 2009.

PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (org.). *Biologia marinha*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009.

PERREIRA, R. et al. (Re)conhecendo o PET. 2002.

PIATTI, T.M. *Plásticos: características, usos, produção e impactos ambientais*. Maceió: EDUFAL, 2005.

PITTURA, L., AVIO, C. G., GIULIANI, M. E., D'ERRICO, G., KEITER, S. H., CORMIER, B., ... & REGOLI, F. (2018). Microplásticos como veículos de HAP ambientais para organismos marinhos: riscos químicos e físicos combinados para os mexilhões mediterrânicos, *Mytilus galloprovincialis*. *Fronteiras das ciências marinhas*, 5, 103.

POLYBRASIL: Comércio, importação e exportação LDPA. Poliestireno-ps/psai. São paulo-SP. Revisão 1.0 Julho/2018 Pág. 1/17. Disponível em: < <https://www.polybrasil.com.br/wp-content/uploads/2018/08/datasheet-ps-psai.pdf>> Acesso em: 10/05/2023.

PLASTICS EUROPE. Plastics - the Facts 2022: An analysis of European plastics production, demand and waste data. Brussels, Belgium: [s.n.]. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>>. Acesso em: 25 maio. 2023.

REIS, ISIS MAYNA MARTINS DOS et al. A influência do sexo e estágio reprodutivo sobre biomarcadores de exposição e efeito a pireno e fluoreno em ostras do gênero *Crassostrea*. 2020.

REVEL M, LAGARDE F, PERREIN-ETTAJANI H, BRUNEAU M, AKCHA F, SUSSARELLU R, ROUXEL J, COSTIL K, DECOTTIGNIES P, COGNIE B, CHÂTEL A, MOUNEYRAC C (2019) Respostas de biomarcadores específicos do tecido no mexilhão azul *Mytilus* spp. *Frente Environ Sci Environ Toxicol* 7:33

RIBEIRO, V. V., NOBRE, C. R., MORENO, B. B., SEMENSATTO, D., SANZ-LAZARO, C., MOREIRA, L. B., & CASTRO, Í. B. (2023). Ostras e mexilhões como sentinelas equivalentes de microplásticos e partículas naturais em ambientes costeiros. *Ciência do Ambiente Total*, 874, 162468.

RODOLFO JR, Antonio; NUNES, Luciano Rodrigues; ORMANJI, Wagner. Tecnologia do PVC. Proeditores/Braskem, São Paulo, v. 2, p. 447, 2006.

SALDAÑA-SERRANO, MIGUEL; VELASQUEZ BASTOLLA, CAMILA LISARB; MATTOS, JACÓ JOAQUIM; DE LIMA, DAÍNA; FREIRE, THAÍS BRITO; NOGUEIRA, DIEGO JOSÉ; DE LA TORRE, GABRIEL ENRIQUE; HARRISON RIGHETTI, BÁRBARA PACHECO; ZACCHI, FLÁVIA LUCENA; ARAÚJO DE MIRANDA GOMES, CARLOS HENRIQUE; TANIGUCHI, SATIE; BÍCEGO, MARCIA CARUSO; DIAS BAINY, AFONSO CELSO. Microplastics and linear alkylbenzene levels in oysters *Crassostrea gigas* driven by sewage contamination at an important aquaculture area of Brazil. *Chemosphere*, v. 1, p. 136039, 2022.

SAMPAIO, D.S.; TAGLIARO, C.H.; SCHNEIDER, H.; BEASLEY, C.R. Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. *Reviews in Aquaculture*, v.11, n.2, p. 88-104, 2019.

SCARDUA, M. P., VIANNA, R. T., DUARTE, S. S., FARIAS, N. D., CORREIA, M. L. D., SANTOS, H. T. A. D., & SILVA, P. M. D. (2017). Crescimento, mortalidade e suscetibilidade de ostras *Crassostrea* spp à infecção por *Perkinsus* spp. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26, 401-410.

SINGH, B., SINGH, A., KUMAR, V., ANSARI, M. F., & SINGH, A. (2021). GLUTATHIONE S-TRANSFERASE (GST) enzymes: Emerging therapeutic targets for cancer and chemoresistance. *Biochemical Pharmacology*, 192, 114748.

TENG, J.; WANG, Q.; RAN, W.; WU, D.; LIU, Y.; SUN, S.; LIU, H.; CAO, R.; ZHAO, J. Microplastic in cultured oysters from different coastal areas of China. *Science of The Total Environment*, v. 653, p. 1282–1292, 25 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718344048?via%3Dihub>>. Acesso em 22 ago 2022.

TISEO, Ian. Annual production of plastics worldwide from 1950 to 2020: (in million metric tons). 2022. Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics/>.

plastics-since-1950/. Acesso em 23 ago 2022.

TREVISAN, R. Mecanismos de defesas celulares relacionados a defesas antioxidantes e de biotransformação em mexilhões *Perna perna* e ostras *Crassostrea gigas* expostas a agentes oxidantes e eletrofilicos. 2014. Tese (Doutorado em Bioquímica). Programa de PósGraduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

VAN CAUWENBERGHE, L., DEVRIESE, L., GALGANI, F., & ROBBENS, J. (2015). Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research*, 111, 5-17.

VENDEL, A. L., BESSA, F., ALVES, R. N., & OLIVEIRA, M. (2018). Bivalve depuration: a review on the purification system and its impact on bivalve microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2727.

VENDRAMINI-COSTA, D. B., MARQUES-SANTOS, L. F., OLIVEIRA, A. P. A., & LOPES, C. A. (2020). Effect of depuration time on depurative capacity and oxidative status of *Crassostrea gigas* oysters. *Aquaculture*, 524, 735238.

VIEIRA, K. S., NETO, J. A. B., CRAPEZ, M. A. C., GAYLARDE, C., DA SILVA PIERRI, B., SALDAÑA-SERRANO, M., ... & FONSECA, E. M. (2021). Ocorrência de acúmulo de microplásticos e metais pesados em ostras nativas de *Crassostrea Gasar* no sistema estuarino de Paranaguá, Brasil. *Boletim de Poluição Marinha*, 166, 112225.

VIEIRA, KHAUÊ SILVA; BAPTISTA NETO, JOSÉ ANTÔNIO; CRAPEZ, MIRIAM ARAUJO CARLOS; GAYLARDE, CHRISTINE; PIERRI, BRUNO DA SILVA; SALDAÑA-SERRANO, MIGUEL; BAINY, AFONSO CELSO DIAS; NOGUEIRA, DIEGO JOSÉ; FONSECA, ESTEFAN MONTEIRO. Occurrence of microplastics and heavy metals accumulation in native oysters *Crassostrea Gasar* in the Paranaguá estuarine system, Brazil. *know and what we need to know. Environmental Sciences Europe*, v. 26, n. 1, p. 12, 9 dez. 2014.

WALKER, C. H. ET AL., 2016. *Principles of Ecotoxicology*. Londres: Taylor & Francis, p. 321.

WRIGHT, S. L., THOMPSON, R. C., & GALLOWAY, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution*, 178, 483-492.

WU, F., YANG, Y., XU, L., YIN, X., LI, X., & HUANG, W. (2020). Microplastics in bivalves from the Chinese Bohai Sea: A threat to food safety and a human health risk assessment. *Science of the Total Environment*, 744, 140963.

WU, X., YIN, L., CHEN, X., XIE, Z., HU, M., & XU, X. (2021). Microplastics alter the interspecific competition among two suspension-feeding bivalves: Implications for population dynamics and ecosystem function. *Environmental Pollution*, 286, 117657.

WWF. Brasil é o 4o país do mundo que mais gera lixo plástico <https://www.wwf.org.br/?70222/Brasil-e-o-4-pais-do-mundo-que-mais-geralixo-plastico>. Acesso em 24 ago 2022.

YANCHEVA, V. S. ET AL., 2018. Mussels in Ecotoxicological Studies - Are They Better Indicators for Water Pollution Than Fish? *Ecologia Balkanica*, v. 10, n. 1, p.57-84.

ZHANG, X., LIAN, J., LIU, X., LI, R., & TANG, Y. (2017). Antioxidant responses and DNA damage in the clam *Ruditapes philippinarum* exposed to microplastics. *Environmental Pollution*, 220, 1082-1089.

ZHAO, L., JIN, M., SONG, Q., WANG, J., & GAO, R. (2019). The interactions between microplastics and the antioxidant defense system in different tissues of goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 227, 662-671.

## CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO

### ANÁLISE DA INGESTÃO, DEPURAÇÃO E EFEITOS PRIMÁRIOS DA MICROFIBRAS DE POLIETILENO TEREFALATO (MFPET) EM OSTRAS *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757)

Layse Rodrigues do Rozario Teixeira Lins<sup>1</sup>, Miguel Saldana-Serrano<sup>1</sup>, Carlos H.A.M. Gomes<sup>2</sup>, Mariana Rangel Pilotto<sup>1</sup>, Luiz Otávio de Barros Vilas Bôas<sup>1</sup>, Camila Lisarb Velasquez Bastolla<sup>1</sup>, Daína de Lima<sup>1</sup>, Deivid Medeiros da Costa<sup>1</sup>, Marília Tedesco<sup>3</sup>, Tamiris Henrique Ferreira<sup>3</sup>, Pietro Sinigaglia Lunelli<sup>4</sup>, Antônio Pedro Novaes de Oliveira<sup>4</sup>, Marcelo de Oliveira Lima<sup>5</sup>, Afonso Celso Dias Bainy<sup>1</sup>, Diego José Nogueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Biomarkers of Aquatic Contamination and Immunochemistry-LABCAI, Federal University of Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, 88034-257, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratory of Marine Mollusks-LMM, Department of Aquaculture, Center of Agricultural Science, Federal University of Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, 88040900, Brazil.

<sup>3</sup>Aquatic Organisms Health Laboratory-AQUOS, Federal University of Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, 88037-000, Brazil.

<sup>4</sup>Laboratory of Glass-Ceramic Materials-VITROCER, Federal University of Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil.

#### Resumo

O objetivo desta pesquisa consistiu em investigar os potenciais efeitos do Polietileno Tereftalato (MFPET) na espécie nativa de ostra, *Crassostrea gasar*, bem como avaliar a possibilidade de contaminação por microplásticos de MFPET. Para esse propósito, investigou-se a presença de MFPET em forma de microfibras, avaliando experimentalmente os possíveis efeitos biológicos dessas microfibras na saúde desses animais, após exposição a uma concentração de 0,5 mg/L de MFPET por 24 horas, seguido de um período de depuração de 48 horas em água limpa. Foram analisados, após exposição e após depuração, a ocorrência de MFPET nas brânquias e glândulas digestivas e as atividades de enzimas, da glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) e catalase (CAT). Cortes histológicos transversais foram realizados para verificar a presença de MFPET nos tecidos da ostra. verificou-se a presença de MFPET nas brânquias e glândulas digestivas das ostras. Notavelmente, constatou-se maior ingestão nas glândulas digestivas em comparação às brânquias. Além disso, a técnica de depuração empregada demonstrou eficácia na eliminação das MFPET das ostras. As atividades das enzimas não demonstraram diferenças significativas nas glândulas digestivas. Através das análises histológicas, foi constatada a presença de MFPET no epitélio do estômago das ostras.

**Palavras-chave:** Microplásticos; Ostra nativa; Atividades Enzimáticas; Exposição.

#### Abstract

The aim of this research was to investigate the potential effects of Polyethylene Terephthalate Microfibers (MFPET) on the native oyster species, *Crassostrea gasar*, as well as to assess the possibility of contamination by microplastics from MFPET. For this purpose, the presence of MFPET in the form of microfibers was experimentally examined, evaluating the potential biological effects of these microfibers on the health of these animals after exposure to a concentration of 0.5 mg/L of MFPET for 24 hours, followed by 48 hours depuration period in clean water. The occurrence of MFPET in the gills and digestive glands, as well as the activities of enzymes, glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST), and catalase (CAT), were analyzed after both exposure and depuration. Transverse histological sections were conducted to verify the

presence of MFPET in the oyster tissues. The presence of MFPET was confirmed in the gills and digestive glands of the oysters. Remarkably, a higher accumulation was observed in the digestive glands compared to the gills. Furthermore, the employed depuration technique demonstrated effectiveness in eliminating MFPET from the oysters. Enzyme activities showed no significant differences in the digestive glands. Histological analyses revealed the presence of MFPET in the stomach epithelium of the oysters.

**Keywords:** Microplastics; Native oyster; Enzyme Activities; Exposure.

## 1 INTRODUÇÃO

Ao longo do século 20, os polímeros sintéticos, popularmente conhecidos como "plásticos", emergiram como uma inovação revolucionária e se tornaram indispensáveis para o nosso estilo de vida. Tornou-se evidente que a produção global de plástico gerou uma demanda crescente, visto que aumentou significativamente, passando de 1,5 milhões de toneladas métricas em 1950 para impressionantes 390,7 milhões de toneladas métricas em 2021 (PLASTICS EUROPE, 2022). O rápido crescimento na produção de plásticos é surpreendente, superando a maioria dos outros materiais fabricados pelo homem. Atualmente, quase tudo o que consumimos é composto por esse material versátil (D'AMBRIÈRES, 2019).

O polímero polietileno tereftalato (PET), responsável por aproximadamente 6,2% da produção global de plásticos, é amplamente utilizado na indústria têxtil para fabricar fibras sintéticas, conhecidas como poliéster. Essas fibras são utilizadas em uma variedade de peças de vestuário (PLASTICS EUROPE, 2022). De acordo com THOMPSON et al., (2009), a produção de plástico na primeira década do século atual foi equivalente à quantidade produzida ao longo de todo o século anterior. Enquanto prognósticos nas décadas de 1940 previam um mundo mais limpo, livre de deterioração e enriquecido por materiais sintéticos coloridos e práticos (THOMPSON et al., 2009).

De acordo com estimativas, aproximadamente 79% dos resíduos plásticos no mundo são descartados em aterros sanitários ou acabam afetando ecossistemas terrestres, de água doce e marinhos de forma combinada (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). Caso as tendências atuais de produção e gestão de resíduos persistam, é previsto que até 2050 haverá cerca de 12 bilhões de toneladas de resíduos plásticos depositados em aterros sanitários ou impactando os ecossistemas naturais (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017).

Embora os plásticos tenham sido motivo de preocupação ambiental por um tempo considerável, é crucial destacar que as informações mencionadas anteriormente não englobam os microplásticos (MPs) e nanoplásticos (NPs). Estes consistem em fragmentos de dimensões excepcionalmente reduzidas, com tamanhos inferiores a 5 mm (ANDRADY, 2011), sendo que os nanoplásticos possuem dimensões na faixa de 1 a 1000 nanômetros. Estes microplásticos podem ser gerados tanto por meio de liberação direta no meio ambiente, conhecidos como microplásticos primários, quanto pela degradação ao longo do tempo de peças plásticas maiores, seja por processos

mecânicos, fotoquímicos ou outros, tornando-se microplásticos secundários (FRIAS; NASH, 2019).

Nos últimos anos, tem havido um aumento significativo da preocupação global em relação à poluição causada por MPs. Consequentemente, a poluição por microfibras (MFs) tem gradualmente direcionado à atenção das pessoas. As MF são a forma predominante de MPs encontradas na água e no sedimento, podendo representar até 80% dos MPs (ACHARYA et al., 2021). Além das MF sintéticas, no ambiente também são encontradas MFs provenientes de fontes naturais, como lã, algodão, entre outras, bem como MFs semissintéticas, como o acetato de celulose. As MFs são amplamente encontradas em estudos de monitoramento de MPs em áreas de cultivo de moluscos bivalves e frequentemente são a forma mais abundante em termos de quantidade (SALDAÑA-SERRANO et al., 2022; VIEIRA et al., 2021). Elas se acumulam em moluscos bivalves, como ostras e mexilhões, que são particularmente vulneráveis a essa forma de poluição, devido ao seu comportamento alimentar de filtragem (WARD et al., 2019)

No entanto, embora as MFs constituam a maioria dos MPs encontrados, a maioria dos estudos tem examinado os efeitos da exposição e ingestão de fragmentos e esferas de MPs por moluscos, constatando danos fisiológicos e físicos, bem como redução na capacidade de reprodução (CHOI et al., 2022; CHRISTOFOROU et al., 2020). A escassez de estudos sobre a exposição às MFs é principalmente devido à indisponibilidade desses materiais para compra comercial e à dificuldade em prepará-los em laboratório. Como resultado, o conhecimento dos efeitos das MFs em moluscos bivalves após a exposição ainda é limitado, o que tem gerado preocupação tanto na comunidade científica quanto nas agências de proteção ambiental em todo o mundo. Isso se deve ao fato de que o aumento do consumo de bivalves cultivados em várias regiões pode representar um risco para a saúde humana (VAN CAUWENBERGHE; JANSSEN, 2014).

Neste estudo, o objetivo foi realizar um experimento de exposição aguda com ostras da espécie *C. gasar*, visando investigar os efeitos das microfibras de polietileno tereftalato (MFPET) sobre enzimas antioxidantes. Os MFPET podem desencadear uma série de reações que levam à formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) no organismo das ostras, levando a alterações enzimáticas. As enzimas GST, GPx e CAT, atuam como mecanismos de defesa das células contra os efeitos prejudiciais das EROs, ajudando a neutralizar os radicais livres e reduzir os danos celulares. Portanto, monitorar as mudanças nas atividades dessas enzimas nas ostras após exposição aos MFPET pode fornecer informações valiosas sobre a resposta adaptativa das ostras ao estresse oxidativo induzido por essas partículas. Nossas hipóteses de pesquisa foram as seguintes: (1) Devido ao mecanismo de alimentação semelhante a um filtro das ostras e ao seu estilo de vida sésil, juntamente com as características das microfibras, as MFPET ficam retidas nas glândulas digestivas e brânquias (2) a retenção das MFPET nas glândulas digestivas e brânquias alteram atividades enzimáticas (3) Após um período de depuração de 48 horas das ostras *C. gasar*, há uma

redução na quantidade de MFPET retidas nas glândulas digestivas e brânquias. (4) Após um período de depuração de 48 horas das ostras *C. gasar*, não há alterações na atividade das enzimas antioxidantes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção dos animais

As ostras adultas da espécie *C. gasar* (n=88), com conchas medindo entre 5 e 7 cm de comprimento, foram adquiridas em uma área de cultivo de ostras localizada no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da UFSC, em Florianópolis, Brasil. Após a coleta, as ostras foram transportadas para o laboratório e passaram por um período de aclimação de 5 dias. Dentro do laboratório, as ostras foram mantidas em tanques com água do mar filtrada (0,45 µm) e aerada, mantendo a temperatura da água a 21 °C e a salinidade a 30 ppm. Um ciclo claro-escuro de 12 horas cada foi estabelecido. Durante o período de aclimação, as ostras foram alimentadas com uma dieta composta por uma mistura de algas, contendo uma concentração de  $10 \times 10^4$  células / mL, sendo 50% de *Isochrysis galbana* e 50% de *Chaetoceros muelleri*.

### 2.2 Obtenção e caracterização das MFPET

A fim de reproduzir MPs encontrados no ambiente marinho, as MFPET foram obtidas seguindo o método de (JEMEC et al., 2016) com algumas modificações. Um tecido têxtil virgem de poliéster 100% vermelho foi adquirido comercialmente e fragmentado em pedaços de 2 x 2 cm. Em seguida, os pedaços de tecido foram lavados com água ultra pura e etanol 96% para remover possíveis contaminações da superfície. Após a secagem a 60°C por 4 horas e resfriamento até a temperatura ambiente. Em uma jarra de moagem de 500L foram colocados pedaços de tecido foram cortados em pedaços menores (2 a 5 mm) com 200 g de NaCl, juntamente com esferas de moagem, permitindo a obtenção das MFPET através da moagem do tecido, para isso, foi utilizado um moinho triturador centrífugo.

Após a obtenção das MFPET, as distribuições de tamanhos de partículas foram determinadas no Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (VITROCER) da UFSC. Para isso, 10 mg de MFPET foram dispersas em água destilada e as partículas foram medidas por difração a laser utilizando o difratômetro Mastersizer (Malvern Mastersizer 3000™ - The Particle size analyzer, Ltd., UK). Nesta análise, utilizamos três valores para representar os tamanhos das partículas em uma amostra: DX (10), Dx (50) e Dx (90).

Para uma observação detalhada da forma e estrutura das MFPET, utilizou-se o microscópio estereoscópico Olympus BX41. As imagens foram capturadas utilizando uma câmera digital DP73, permitindo uma análise minuciosa da aparência das MFPET.

Além disso, a fim de confirmar a composição química das MFPET, uma amostra foi analisada utilizando Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) no equipamento AGILENT TECHNOLOGIES - Cary 660 FTIR ATR, utilizando um cristal de ZnSe,

na faixa de 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ , este é um dos métodos utilizados para confirmar a composição química de micro e Nano plástico de formais gerais.

### **2.3 Delineamento**

Com um desenho experimental baseado em estudos preliminares (REVEL et al. 2019; MORESCHI et al., 2020, CHOI et al., 2021). O experimento foi realizado em duas fases: 2, 12 e 24 horas de exposição, seguidas de 48 h de depuração. Durante a fase de exposição, as ostras ( $n=88$ ) foram distribuídas individualmente e aleatoriamente em béqueres de 1 L (uma ostra por béquer). Expostas a 0,5 mg/ L de MFPET (representando aproximadamente 2394,5 microfibras por litro de água) em um sistema estático, sem alimentação, com aeração constante para garantir a ressuspensão das MFPET.

A escolha dessa concentração de MFs, mesmo sendo superior àquelas normalmente encontradas na água do mar (REVEL et al., 2019; CHOI et al., 2022) foi embasada em razões analíticas e práticas, levando em consideração os resultados obtidos em experimentos preliminares. Esses experimentos apresentaram informações sobre diferentes aspectos, incluindo o tempo de exposição, a concentração de MFPET, a intensidade de aeração para manter as partículas em suspensão, o tecido com maior acumulação de MFPET e o tempo ideal para a depuração.

Após os períodos de exposição de 2, 12 e 24 horas, um grupo de ostras ( $n=8$ ) de cada intervalo foi selecionadas e processado para dissecção das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Também realizou a coleta de tecidos para a análises das atividades das enzimas oxidantes (glândula digestiva) e a histologia (tecido transversal). Um grupo de ostras do período de 24 horas de exposição foram transferidas para água limpa, sem a presença de MFPET e submetidas ao processo de depuração de 48 horas.

Durante o período de depuração, a água passou por duas trocas diárias, e as ostras não receberam alimentação. Após a conclusão do processo de depuração de 48 horas, um grupo de ostras foram submetidas à dissecção das brânquias e glândulas digestivas, com o objetivo de avaliar a presença de microfibras nesses tecidos. Outro grupo de ostras foi processado para a avaliação das atividades das enzimas ( glândula digestiva).

### **2.4 Extração e quantificação de MFPET**

A análise da presença de MFPET nas brânquias e glândula digestiva de cada ostra após a exposição (2, 12 e 24 horas) e a depuração (48 horas) seguiu um procedimento adaptado do protocolo publicado por (SALDAÑA-SERRANO et al., 2022). Inicialmente, os tecidos foram colocados em recipientes de vidro limpos, nos quais foram adicionados uma solução pré filtrada de hidróxido de potássio a 10% até que a solução cobrisse completamente a amostra, seguindo a proporção 1:5 (peso e volume).

Os recipientes de vidro foram submetidos a agitação constante por 24 horas, a uma temperatura de 55°C e velocidade de 160 rotações por minuto (rpm). Após a completa digestão dos

tecidos, a filtração foi realizada por meio de uma unidade de filtração a vácuo, utilizando micro filtros com tamanho de retenção de partículas de 1.4 µm. Os filtros foram dispostos em placas de Petri de vidro com tampa, para posterior análise de caracterização.

## **2.5 Análise de enzimas antioxidantes e identificação de MFPETs a nível histológico.**

Para realizar as análises de biomarcadores, as glândulas digestivas de cada ostra previamente armazenadas em um freezer de temperatura ultrabaixa a -80 °C foram utilizadas. Essas glândulas foram preparadas através da homogeneização em um tampão de homogeneização contendo 0,1 M de TRIS-HCl (pH 7,4), com adição de 0,5 M de sacarose, 0,15 M de KCl, 1 mM de DTT e 0,1 mM de PMSF (foi utilizado protocolos do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica - LABCAI). Após a homogeneização, os tecidos foram submetidos a uma centrifugação por 30 minutos a 9000 g e 4 °C. Em seguida, os sobrenadantes resultantes da centrifugação foram coletados para a realização dos ensaios das atividades das enzimas CAT, GST e GPx de acordo com métodos espectrofotométricos.

Os procedimentos histológicos foram conduzidos de acordo com a metodologia descrita por (DOS REIS et al., 2020). As ostras dissecadas foram selecionadas aleatoriamente e cortadas em seções transversais com aproximadamente 5 µm para a análise. O objetivo foi determinar, de forma qualitativa, a presença e distribuição de MFPET nos tecidos. Para isso, os tecidos foram fixados em formalina tamponada a 4% (0,1 M, pH 7,3) por 48 horas e incluídos em parafina líquida a 60°C. Após a desidratação em álcool e diafanização em xilol, foram realizados cortes com 5µm de espessura utilizando um micrótomo. Os cortes foram montados em lâminas de vidro. Os tecidos foram corados com hematoxilina (10 minutos) e eosina (6 minutos), e em seguida, foram observados em um microscópio óptico (Nikon ECLIPSE Ti-U, Melville, NY, EUA).

## **2.6 Análises Dos Dados**

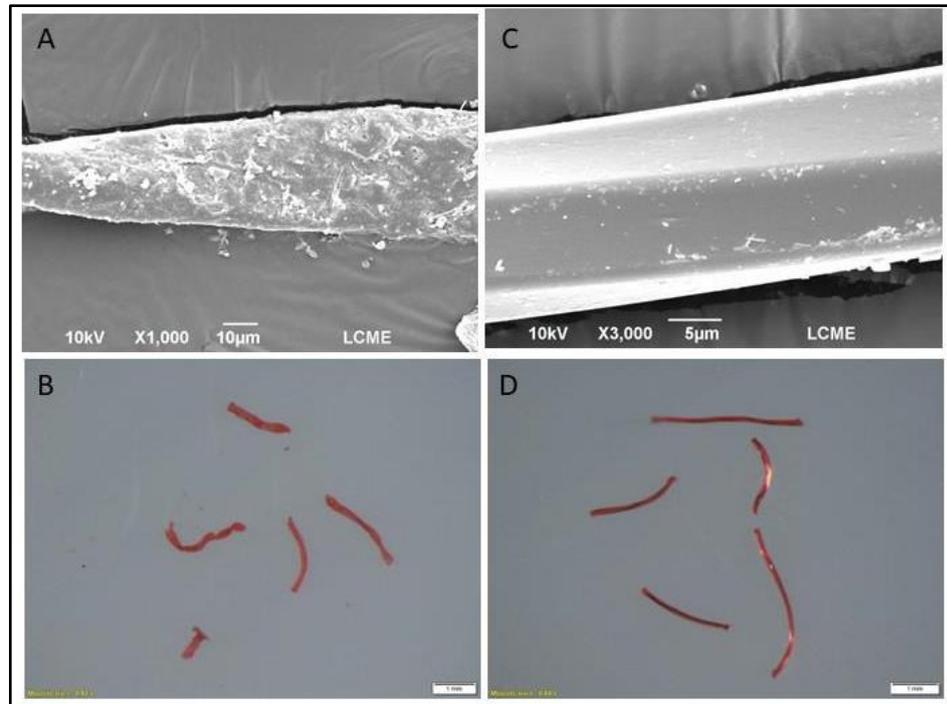
Os dados comparativos foram submetidos a testes estatísticos para verificar a distribuição normal de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variância teste de Bartlett. Se os conjuntos de dados dos parâmetros medidos atenderam aos requisitos de distribuição normal e homogeneidade, foram avaliados utilizando a ANOVA de uma via, para comparação entre tratamentos e seus respectivos controles. Para os dados não-paramétricos, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Wilcoxon. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão (SD) e exibidos em gráficos gerados no GraphPad Prism® v 9.3 (StatSoft Inc.).

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Obtenção e caracterização das MFPET**

A técnica de moagem do tecido revelou-se altamente eficaz na produção de MFPET, gerando partículas predominantemente compostas por fibras assimétricas de tamanhos variados. Ao analisar as MFPET obtidas por meio da moagem em estereomicroscópio e MEV, e compará-las com aquelas obtidas sem esse processo, fica claramente evidente a diferença (Figura 7). Destaca-se

que as fibras resultantes da moagem possuem semelhanças em termos de forma e aparência com as fibras encontradas no ambiente natural, sendo achatadas, de comprimento longo e com degradação na superfície.



**Figura 7:** Figura mostra imagens de MFPET utilizando estereomicroscópio e MEV. Em A e B mostram partículas após a moagem, é possível observar a forma e a textura das microfibras na imagemse melhantes a microfibras encontradas ambientalmente. C e D imagens de fibras que não passaram por processo de moagem apenas cortadas.

Após o processo de obtenção das MFPET, que envolve etapas como moagem, filtração e secagem, foi realizada uma análise para determinar a distribuição dos tamanhos das MFPET. Os resultados revelaram que as MF<sub>PET</sub> apresentaram uma faixa de tamanho micrométrico ( $\mu\text{m}$ ), variando entre 44,70  $\mu\text{m}$  e 911,00  $\mu\text{m}$  (Dx90). Mais especificamente, constatou-se que 10% das MFPET possuem tamanho abaixo de  $52,20 \pm 3,14 \mu\text{m}$  (Dx10), o que indica que a maioria das MFPET tem um tamanho superior a esse valor.

Além disso, 50% das MFPET encontram-se com tamanho abaixo de  $573,30 \pm 21,39 \mu\text{m}$  (Dx50), ou seja, metade das MFPET têm tamanho menor ou igual a esse valor. Por fim, foi observado que 90% das MFPET estão abaixo de  $870,80 \pm 16,06 \mu\text{m}$ , o que significa que apenas 10% das MFPET possuem tamanho maior do que esse valor.

A análise das MFPET ( $n=100$ ) no estereomicroscópio apresentou resultados semelhantes. As medições de contagem de partículas e análise estatística da dispersão de tamanho revelaram uma média de  $589,20 \pm 248,50 \mu\text{m}$  para as MF<sub>PET</sub>, na forma de fibras (Tabela 1).

Após analisar a estrutura química do PET, foi verificado um desvio na banda característica do anel aromático, próximo a  $1400 \text{ cm}^{-1}$ . Além disso, notou-se uma alteração na posição da ligação

C-O, com um deslocamento de  $1200\text{ cm}^{-1}$  para  $1150\text{ cm}^{-1}$ . Também foram identificados grupos de ésteres polares e benzeno, os quais estavam presentes em  $700\text{ cm}^{-1}$  (Fig. S1).

### 3.2 Extração e quantificação de MF<sub>PET</sub> dos tecidos da ostra

Os resultados da análise da ingestão e retenção em tecidos-alvo (brânquias e glândula digestiva), após exposição a MF<sub>PET</sub> em diferentes intervalos de tempo (2, 12 e 24 horas), bem como após um período de depuração de 48 horas para as ostras expostas por 24 horas, estão apresentados na Tabela 1. Durante todos os intervalos de tempo avaliados, foi constatada a presença de MF<sub>PET</sub> tanto nas brânquias quanto nas glândulas, com uma predominância nas glândulas em relação às brânquias.

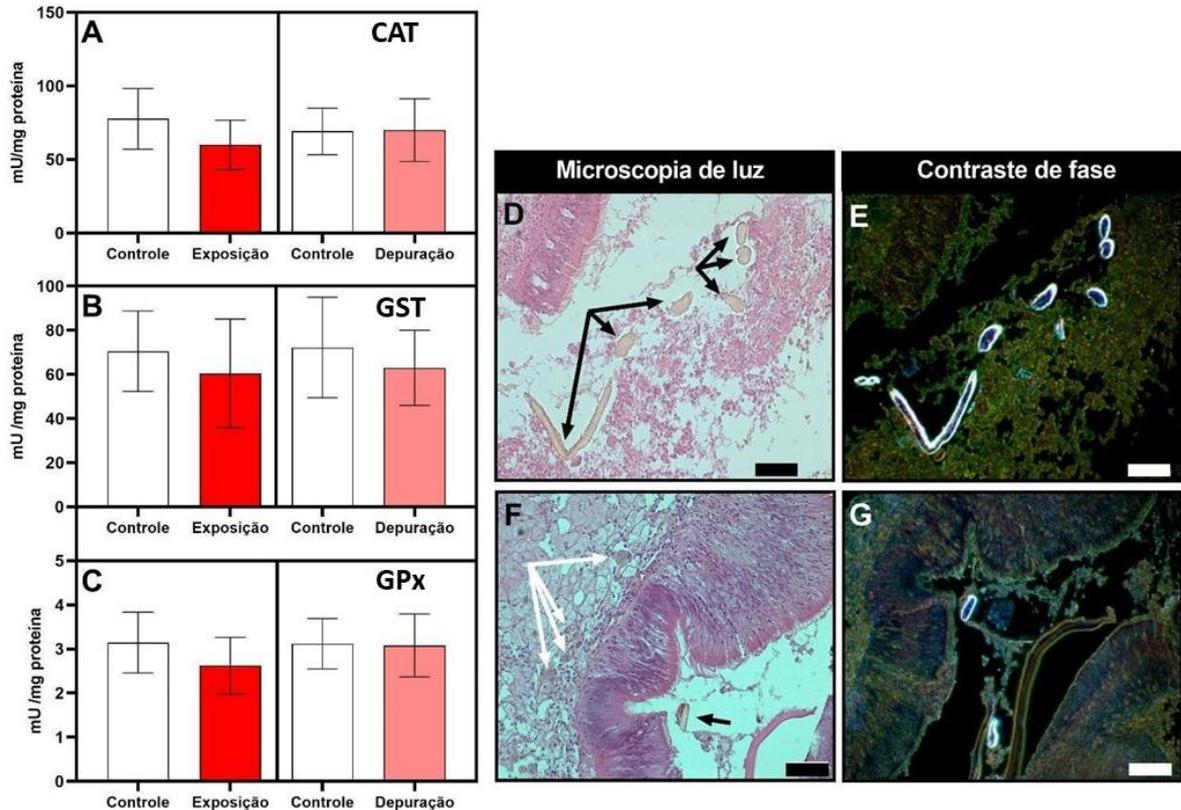
No entanto, nas ostras submetidas ao processo de depuração, observou-se uma diminuição na quantidade de MF<sub>PET</sub> encontrados, indicando que houve eliminação de MF<sub>PET</sub>, no entanto foi detectados em apenas um único indivíduo MF<sub>PET</sub> nas brânquias (Tabela 1). Os tamanhos das microfibras presentes nas brânquias e glândulas das ostras mostraram-se em concordância com o tamanho médio identificado durante a caracterização das microfibras (Tabela 1).

**Tabela 1:** Quantidade de MF<sub>PET</sub> por ostra, por tecido e a média geral em diferentes períodos de exposição e depuração.

Tratamentos	Amostra (n)	Ostras com MF <sub>PET</sub>	MF <sub>PET</sub> total	MF <sub>PET</sub> brânquias	MF <sub>PET</sub> glândulas	MF <sub>PET</sub> /ostra	Tamanho (µm)
2 horas	8	2	13	2	11	$1,62 \pm 2,82$	$558,50 \pm 266,00$
12 horas	8	1	5	0	5	$0,62 \pm 0,74$	$1540,00 \pm 487,40$
24 horas	8	5	47	4	43	$5,87 \pm 10,91$	$620,50 \pm 314,50$
Controle 1	0	0	0	0	0	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$
Depuração	8	1	1	1	0	$0,12 \pm 0,35$	$680,00 \pm 0,00$
Controle 2	0	0	0	0	0	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$

### 3.3 Respostas da análise de enzimas antioxidantes e identificação de MF<sub>PET</sub> a nível histológico.

Após a análise quantitativa indicar uma maior retenção de MF<sub>PET</sub> nas glândulas digestivas das ostras expostas por 24 horas, decidimos concentrar nossa avaliação apenas nesse tecido para investigar algumas enzimas. No entanto, os resultados obtidos revelaram que as atividades dessas enzimas na glândula digestiva das ostras expostas por 24 horas não apresentaram diferença significativa em comparação ao grupo de controle. Esses dados sugerem que a exposição temporária não teve impacto nas atividades dessas enzimas nesta região específica das ostras (Figura 8).



**Figura 8:** A avaliação da atividade enzimática das enzimas CAT (A), GST (B) e GPx (C) foi realizada nas glândulas digestivas das ostras *C. gasar* após 24 horas de exposição ao MFPE e após 48 horas de período de depuração. Foram obtidos cortes histológicos da ostra *C. gasar* na região do estômago (St) durante o uso do MFPET. No painel da esquerda, as imagens mostram a presença de MFPET (setas em preto - D e F) e a formação de células marrons em todas as amostras (setas em branco - F) sob iluminação de campo claro. No painel da direita, as imagens apresentam contraste de fase destacando as MFPET, com escala em 50  $\mu\text{m}$ . As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e os respectivos controles são identificadas por letras na imagem.

Ao examinar os cortes transversais das ostras através da microscopia de luz, constatou-se a presença de MFPET no estômago e nos intestinos das ostras expostos por 24 horas ( $n=2$ ). Adicionalmente, a análise histológica revelou a ocorrência de células marrons em todas as amostras de as ostras expostas ( $n=8$ ), denominadas brown cells, nas proximidades da região estomacal, em todas as amostras.

#### 4 DISCUSSÃO

Apesar de haver vários estudos na literatura sobre a ingestão e acumulação de microplásticos (MP) em organismos aquáticos (WARD; ROSA; SHUMWAY, 2019), em contrapartida, outros trabalhos de exposição de MPs, (Pittura et al. 2018; Moreschi et al., 2020;) usaram MPs menores do que as relatadas em campo e de forma e tamanho regulares (principalmente microesferas) que são menos representativas de partículas plásticas fragmentadas identificadas no ambiente marinho. Muitas microesferas de plástico com um diâmetro menor ou igual a 100  $\mu\text{m}$ , devido à sua disponibilidade comercial para estudos de exposição e facilidade de caracterização, negligenciando, assim, a ampla disseminação de fibras sintéticas e fragmentos, limitando as comparações entre os estudos (KNAUSS; DUNGAN; LEHMANN, 2022; KWAK et al., 2022; REVEL et al., 2020a).

Recentes estudos laboratoriais têm se concentrado na absorção MFs por moluscos bivalves, ressaltando a necessidade de avaliar a presença de MFs, uma vez que elas são partículas mais comumente encontradas em estudos de monitoramento (QU et al., 2018; WARD et al., 2019).

Durante este estudo, procurou-se utilizar as condições mais realistas possíveis, do ponto de vista ambiental, em termos de tipo de plástico, polietileno tereftalato (PET) e origem das partículas obtidas a partir da moagem de um tecido de poliéster. Além disso, utilizamos a ostra *C. gasar* como organismo teste para avaliar os efeitos potenciais das MFPET provenientes da moagem do tecido de poliéster, levando em conta a importância ambiental e econômica desta espécie (DE SOUZA SAMPAIO et al., 2019).

Nossos resultados indicaram que o processo de moagem de um tecido de poliéster resultou em microfibras com variação de tamanho que se enquadram na definição de MPs (MATTSSON et al., 2018). Esses resultados estão em concordância com estudos anteriores que examinaram a liberação e o tamanho de MFs primários durante a lavagem de tecidos sintéticos, bem como nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) (DE FALCO et al., 2019; MAGNI et al., 2019).

Além disso, as características das MFs, como a fragmentação da superfície e a espessura, assemelham-se às MFs encontradas em estudos de monitoramento (SALDAÑA-SERRANO et al., 2022; VIEIRA et al., 2021). Vale destacar que as microfibras foram identificadas como a forma mais comum de MFs em ambientes marinhos, representando mais de 80% do total (AVIO et al., 2020). Em relação à degradação, enquanto as partículas fragmentadas encontradas no ambiente sofrem degradação química parcial, aparentando uma fragilidade física e fragmentação superficial, nossas fibras sofreram apenas degradação física.

Embora tenhamos observado, neste estudo, que as ostras acumulam MFPET com tamanho superior a 500  $\mu\text{m}$ , isso não é comum. As ostras possuem um sistema de seleção de partículas altamente complexo, que envolve sua estrutura branquial e os palpos labiais, permitindo um transporte bidirecional de partículas. Normalmente, as ostras conseguem eficientemente ingerir partículas dentro da faixa de tamanho preferencial de 2 a 200  $\mu\text{m}$  (POUVREAU; JONQUIÈRES; BUESTEL, 1999), e rejeitam partículas maiores, como as microfibras observadas neste estudo.

No entanto, apesar de não representarem o tamanho ideal das partículas ingeridas, as MFs possuem características distintas. Elas exibem uma ampla variação de espessura e geralmente são flexíveis, além de possuírem formas assimétricas únicas (JEMEC et al., 2016). Por esse motivo, é possível que as MFs mais longas sejam ingeridas e encontradas em diversos tecidos, como nas brânquias e glândulas digestivas das ostras (DÉTRÉE et al., 2023; WARD et al., 2019).

No estudo administrado por Moreschi et al., (2020) com o bivalve *Anodontites trapesialis*, constatou-se que, após uma exposição de 24 horas a micropartículas de polietileno com tamanhos variando entre 55 e 110  $\mu\text{m}$ , as partículas foram identificadas nos tecidos branquiais, trato gastrointestinal e parte delas foi encontrado nas fezes e pseudofezes do organismo. Em contraste,

foi observado que partículas de PE e PP com tamanho inferior a 400  $\mu\text{m}$  foram detectadas somente na glândula digestiva de organismos expostos a 100  $\mu\text{g/L}$  em baixa quantidade no tecido de *Mytilus* spp (REVEL et al. 2019).

No entanto, é a primeira vez que um estudo experimental de exposição a microfibras MF<sub>PET</sub> em *C. gasar* revelou que essas partículas estão presentes nos tecidos das brânquias e da glândula digestiva, quando expostas. Além disso, o estudo constatou que a glândula digestiva é o tecido que mais acumula essas microfibras plásticas.

A análise histológica também corroborou os resultados obtidos na extração dos MF<sub>PET</sub> das glândulas digestivas, o que sugere que as diferentes formas das fibras fisicamente fragmentadas podem aumentar sua biodisponibilidade e permitir uma rápida ingestão dessas partículas alongadas pelos bivalves, independentemente do tamanho.

Embora não tenham sido observadas mudanças estruturais e morfológicas decorrentes da exposição aos MF<sub>PET</sub>, como relatado em estudos posteriores (ALNAJAR; JHA; TURNER, 2021; BRÅTE et al., 2018), foram identificadas células marrons em todas as réplicas que foram expostas a MF<sub>PET</sub>, conhecidas como *brown cells*, próximas à região do estômago nas ostras analisadas.

Essas células desempenham um papel importante nos mecanismos de defesa contra patógenos, respostas inflamatórias, controle dos batimentos cardíacos e detoxificação celular (ZAROOGIAN; YEVICH, 1994). Estudos realizados em moluscos revelaram a presença dessas células intestinais marrons, indicando a exposição a poluentes no ecossistema (BOSCOLO PAPO et al., 2014; COSTA et al., 2013).

Deste modo, a distribuição de *brown cell* nos tecidos das ostras pode estar relacionada à resposta contra agentes exógenos. Os locais de maior prevalência de brown cells são considerados pontos de excreção de substâncias indesejáveis para o bivalve, o que sugere uma possível relação com a presença de MF<sub>PET</sub>.

Em um estudo realizado por Moreschi et al., (2020), constatou-se a presença de microplásticos em filamentos branquiais e septos intestinais. No intestino, as partículas de microplásticos foram absorvidas pelo tecido conjuntivo e em algumas partes da alça intestinal. O tamanho médio das partículas de microplásticos foi de  $39,59 \pm 16,20 \mu\text{m}$ , com variação entre 17 e 88  $\mu\text{m}$  (MORESCHI et al., 2020). Nas análises histológicas de Pittura et al (2018), microplásticos foram localizados em hemolinfa, brânquias, mais principalmente em tecidos digestivos.

As concentrações utilizadas neste estudo foram menores (0,0005 g/L) em comparação ao experimento conduzido por Moreschi et al., (2020) e Choi et al., (2021), ambos os quais encontraram microplásticos assimilados nos tecidos dos bivalves após curtos períodos de exposição. Isso pode indicar que a assimilação de microplásticos por bivalves é indeterminada e depende das concentrações utilizadas nos experimentos, conforme sugerido por Moreschi et al. (2020). Em outro

estudo de Choi et al (2022) a exposição por longo período a MF<sub>PET</sub> em causaram a degeneração em tecidos gonadais e atrofia dos tubos digestivos de mexilhões.

Após a confirmação da ingestão de microplásticos na glândula digestiva, que desempenha um papel crucial na biotransformação de xenobióticos (LIVINGSTONE et al., 1992), vários estudos indicaram que esses microplásticos podem induzir a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e desencadear um processo de estresse oxidativo (PAROLINI et al., 2020).

Em um estudo realizado por Choi et al., (2022) a exposição crônica (período longo de 32 dias) a MF<sub>PET</sub> aumentou as atividades de enzimas relacionadas à antioxidantes (catalase e superóxido dismutase) e neurotoxicidade (acetilcolina esterase) nos tecidos da glândula digestiva e branquial em mexilhões, em concentrações baixas. No estudo de Revel e colaboradores (2019), observaram uma diminuição na atividade de GST nas brânquias e glândula digestiva de mexilhões *Mytilus spp*, após exposição a polietileno e polipropileno por um período de 10 dias.

Os resultados do nosso estudo revelaram que, após 24 horas de exposição, não houve desregulação na atividade das enzimas antioxidantes testadas. No entanto, no nosso estudo, é importante considerar que o tempo de exposição foi curto e a quantidade de microplásticos encontrada foi baixa, uma vez que outros estudos com *Crassostrea gigas* e *Mytilus galloprovincialis* com maior tempo de exposição mostraram que a presença de microplásticos na glândula digestiva e alterações nas atividades de algumas enzimas antioxidantes (CHOI et al., 2021; REVEL et al., 2020b).

Além disso, é importante realizar mais estudos para avaliar se outras concentrações de microfibras ou diferentes espécies de moluscos podem ser afetados de forma diferente. e destacar também que, embora a atividade enzimática seja uma importante medida de saúde fisiológica, outros efeitos e danos celulares podem ocorrer devido à exposição a microfibras e que não foram abordadas nesta pesquisa.

É crucial ressaltar a importância desses animais, amplamente apreciados em todo o mundo, e seu papel fundamental na cadeia alimentar humana (LIU et al., 2023). É importante considerar que existe a possibilidade de as ostras serem portadoras de MPs, o que pode representar um risco para os consumidores. No experimento a etapa de depuração, demonstrou que um período de 48 horas foi suficiente para uma eliminação ideal dos MF<sub>PET</sub> ingeridos pelas ostras após uma exposição de 24 horas e não houve alteração nas atividades das enzimas antioxidantes.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados da pesquisa confirmam a hipótese de que ocorre ingestão de MFPET pelas brânquias e glândulas digestivas das ostras quando submetidas a diferentes tratamentos experimentais. Foi constatado que as glândulas digestivas apresentam uma concentração mais elevada de MFPET em comparação com as brânquias. No entanto, ainda existem incertezas em relação aos efeitos dos microplásticos em diferentes concentrações e espécies de moluscos. Além disso, é possível que ocorra desregulação da atividade enzimática em tecidos diferentes da glândula digestiva. Portanto, a inclusão de outros tecidos, como manto, brânquias, músculo adutor e gônada, em estudos bioquímicos e de biomonitoramento pode representar uma abordagem promissora para futuras investigações.

É fundamental destacar que a hipótese de redução na quantidade ingerida de MFPET foi confirmada após um período de depuração de 48 horas, demonstrando de maneira sólida a eficácia na remoção das MFPET nas ostras.

Portanto, compreender os processos de ingestão e remoção de MFPET nas ostras contribui para implementar medidas adequadas de controle e monitoramento, garantindo a segurança dos alimentos marinhos oferecidos aos consumidores. Além disso, destaca-se a importância de políticas de gestão ambiental para minimizar a contaminação por poluentes em ecossistemas aquáticos.

### **Agradecimentos**

Agradecemos ao Laboratório De Biomarcadores De Contaminação Aquática E Imunoquímica pelo suporte laboratorial para a pesquisa. A Universidade Federal do Pará (UFPA) e a Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ACHARYA, S. et al. Microfibers from synthetic textiles as a major source of microplastics in the environment: A review. *Textile Research Journal*, v. 91, n. 17–18, p. 2136–2156, 1 set. 2021.
- ALNAJAR, N.; JHA, A. N.; TURNER, A. Impacts of microplastic fibres on the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, v. 262, p. 128290, jan. 2021.
- ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 8, p. 1596–1605, 1 ago. 2011.
- AVIO, C. G. et al. Distribution and characterization of microplastic particles and textile microfibers in Adriatic food webs: General insights for biomonitoring strategies. *Environmental Pollution*, v. 258, p. 113766, mar. 2020.
- BOSCOLO PAPO, M. et al. Induction of brown cells in *Venerupis philippinarum* exposed to benzo(a)pyrene. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 40, n. 1, p. 233–238, set. 2014.
- BRÁTE, I. L. N. et al. Weathering impacts the uptake of polyethylene microparticles from toothpaste in Mediterranean mussels (*M. galloprovincialis*). *Science of The Total Environment*, v. 626, p. 1310–1318, jun. 2018.
- CHOI, J. S., KIM, K., HONG, S. H., PARK, K. I., & PARK, J. W. (2021). Impacto do comprimento da microfibrila de polietileno tereftalato sobre as respostas celulares do mexilhão mediterrâneo *Mytilus galloprovincialis*. *Pesquisa Ambiental Marinha*, 168, 105320.
- CHOI, J. S., KIM, K., PARK, K., & PARK, J. W. (2022). Long-term exposure of the Mediterranean mussels, *Mytilus galloprovincialis* to polyethylene terephthalate microfibers: Implication for reproductive and neurotoxic effects. *Chemosphere*, 299, 134317.
- CHRISTOFOROU, E. et al. Effects of long-term exposure to microfibers on ecosystem services provided by coastal mussels. *Environmental Pollution*, v. 266, p. 115184, 1 nov. 2020.
- COSTA, P. M. et al. Development of histopathological indices in a commercial marine bivalve (*Ruditapes decussatus*) to determine environmental quality. *Aquatic Toxicology*, v. 126, p. 442–454, jan. 2013.
- D'AMBRIÈRES, W. Plastics recycling worldwide: current overview and desirable changes. <http://journals.openedition.org/factsreports>, n. Special Issue 19, p. 12–21, 1 mar. 2019.
- DE FALCO, F. et al. The contribution of washing processes of synthetic clothes to microplastic pollution. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 6633, 29 abr. 2019.
- DE SOUZA SAMPAIO, D. et al. Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. *Reviews in Aquaculture*, v. 11, n. 1, p. 88–104, 1 fev. 2019.
- DÉTRÉE, C. et al. On the horns of a dilemma: Evaluation of synthetic and natural textile microfibre effects on the physiology of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution*, v. 331, p. 121861, ago. 2023.
- DOS REIS, I. M. M. et al. Differential responses in the biotransformation systems of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) elicited by pyrene and fluorene: Molecular, biochemical and histological approach – Part II. *Aquatic Toxicology*, v. 226, p. 105565, 1 set. 2020.
- FRIAS, J. P. G. L.; NASH, R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, v. 138, p. 145–147, 1 jan. 2019.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, v. 3, n. 7, p. e1700782, 19 jul. 2017.

JEMEC, A.; HORVAT, P. KUNEJ, U.; BELE, M.; KRŽAN, A. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, v. 219, p. 201–209, 1 dez. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116310533#bib26>>. Acesso em 22 ago 2022.

KNAUSS, C. M.; DUNGAN, C. F.; LEHMANN, S. A. A Paraffin Microtomy Method for Improved and Efficient Production of Standardized Plastic Microfibers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 41, n. 4, p. 944–953, 2022.

KWAK, J. IL et al. Critical review of environmental impacts of microfibers in different environmental matrices. *Comparative Biochemistry and Physiology*, p. 109196, 2022.

LIU, Y. et al. An overview of microplastics in oysters: Analysis, hazards, and depuration. *Food Chemistry*, v. 422, p. 136153, out. 2023.

LIVINGSTONE DR, LIPS F, GARCIA MARTINEZ P, PIPE RK (1992) Enzimas antioxidantes na glândula digestiva do mexilhão comum *Mytilus edulis*. *Mar Biol* 112:265–276

MAGNI, S. et al. The fate of microplastics in an Italian Wastewater Treatment Plant. *Science of The Total Environment*, v. 652, p. 602–610, fev. 2019.

MATTSSON, K. et al. Nanoplastics in the Aquatic Environment. *Microplastic Contamination in Aquatic Environments*, p. 379–399, 2018.

MORESCHI, A. C., CALLIL, C. T., CHRISTO, S. W., JUNIOR, A. L. F., NARDES, C., DE FARIA, É., & GIRARD, P. (2020). Filtration, assimilation and elimination of microplastics by freshwater bivalves. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 2, 100053.

PAROLINI, M. et al. Oxidative stress-related effects induced by micronized polyethylene terephthalate microparticles in the Manila clam. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, v. 83, n. 4, p. 168–179, 16 fev. 2020.

PLASTICS EUROPE. *Plastics - the Facts 2022: An analysis of European plastics production, demand and waste data*. Brussels, Belgium: [s.n.]. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>>. Acesso em: 25 maio. 2023.

POUVREAU, S.; JONQUIÈRES, G.; BUESTEL, D. Filtration by the pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon habitat. *Aquaculture*, v. 176, n. 3–4, p. 295–314, 15 jun. 1999.

QU, X. et al. Assessing the relationship between the abundance and properties of microplastics in water and in mussels. *Science of The Total Environment*, v. 621, p. 679–686, 15 abr. 2018.

REIS, Isis Mayna Martins dos et al. A influência do sexo e estágio reprodutivo sobre biomarcadores de exposição e efeito a pireno e fluoreno em ostras do gênero *Crassostrea*. 2020.

REVEL M, LAGARDE F, PERREIN-ETTAJANI H, BRUNEAU M, AKCHA F, SUSSARELLU R, ROUXEL J, COSTIL K, DECOTTIGNIES P, COGNIE B, CHÂTEL A, MOUNEYRAC C (2019) Respostas de biomarcadores específicos do tecido no mexilhão azul *Mytilus* spp. *Frente Environ Sci Environ Toxicol* 7:33

REVEL, M. et al. Realistic environmental exposure to microplastics does not induce biological

effects in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Pollution Bulletin*, v. 150, p. 110627, jan. 2020a.

REVEL, M. et al. Realistic environmental exposure to microplastics does not induce biological effects in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Pollution Bulletin*, v. 150, p. 110627, jan. 2020b.

SALDAÑA-SERRANO, MIGUEL; VELASQUEZ BASTOLLA, CAMILA LISARB; MATTOS, JACÓ JOAQUIM; DE LIMA, DAÍNA; FREIRE, THAÍS BRITO; NOGUEIRA, DIEGO JOSÉ; DE LA TORRE, GABRIEL ENRIQUE; HARRISON RIGHETTI, BÁRBARA PACHECO; ZACCHI, FLÁVIA LUCENA; ARAÚJO DE MIRANDA GOMES, CARLOS HENRIQUE; TANIGUCHI, SATIE; BÍCEGO, MARCIA CARUSO; DIAS BAINY, AFONSO CELSO. Microplastics and linear alkylbenzene levels in oysters *Crassostrea gigas* driven by sewage contamination at an important aquaculture area of Brazil. *Chemosphere*, v. 1, p. 136039, 2022.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; VOM SAAL, F. S.; SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 2153–2166, 27 jul. 2009.

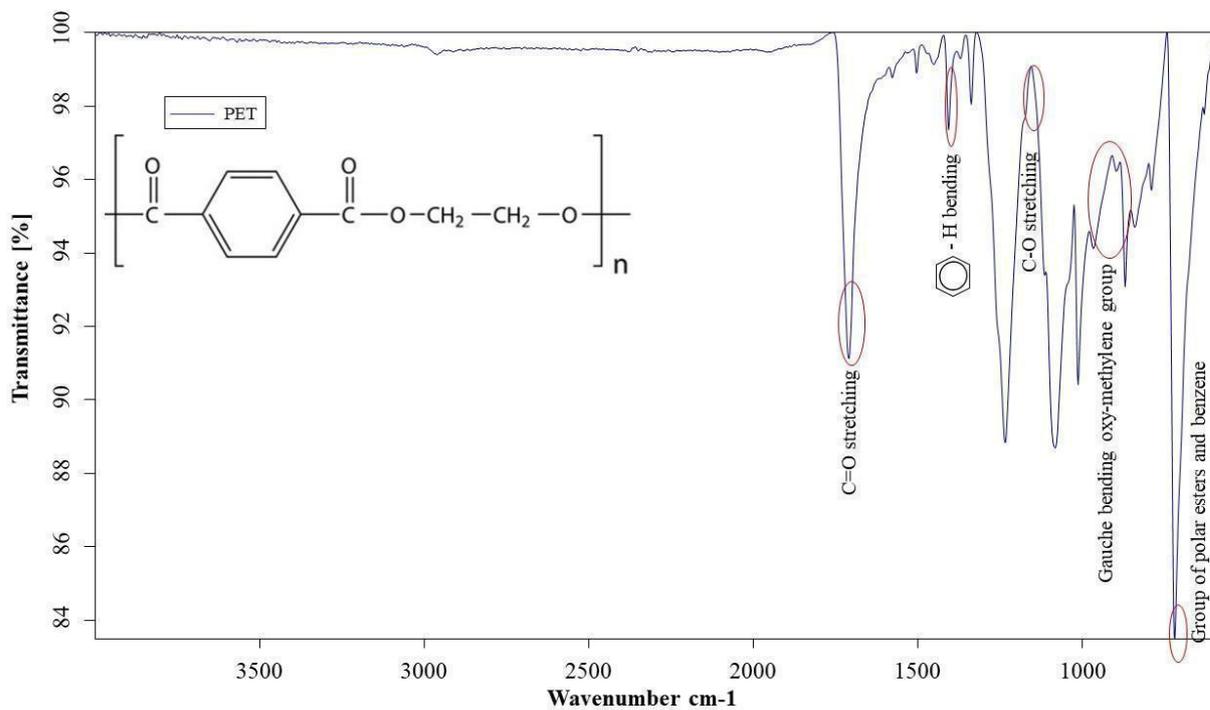
VAN CAUWENBERGHE, L.; JANSSEN, C. R. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution*, v. 193, p. 65–70, 1 out. 2014.

VIEIRA, K. S., NETO, J. A. B., CRAPEZ, M. A. C., GAYLARDE, C., DA SILVA PIERRI, B., SALDAÑA-SERRANO, M., ... & FONSECA, E. M. (2021). Ocorrência de acúmulo de microplásticos e metais pesados em ostras nativas de *Crassostrea Gasar* no sistema estuarino de Paranaguá, Brasil. *Boletim de Poluição Marinha*, 166, 112225.

WARD, J. E. et al. Selective Ingestion and Egestion of Plastic Particles by the Blue Mussel (*Mytilus edulis*) and Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*): Implications for Using Bivalves as Bioindicators of Microplastic Pollution. *Environmental Science and Technology*, v. 53, n. 15, p. 8776–8784, 6 ago. 2019.

WARD, J. E.; ROSA, M.; SHUMWAY, S. E. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: A 40-year history. *Anthropocene Coasts*, v. 2, n. 1, p. 39–49, 2019.

ZAROOGIAN, G.; YEVICH, P. The nature and function of the brown cell in *Crassostrea virginica*. *Marine Environmental Research*, v. 37, n. 4, p. 355–373, jan. 1994.



**Figura 1s:** Propriedade das microfibras pelo espectro FTIR-ATR do Polietileno Tereftalato. Nos círculos em vermelho indicam alguns grupos identificados.