

MATERIAL PARTICULADO: ESTUDO DA PRESENÇA DE OPES E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PELO ENSAIO ZFET

Beatriz Vitoria Couto Santos¹

Manoel Messias Coutinho Meira²

Diego Stéfani Teodoro Martinez³

Joyce Cristale⁴

Simone Andréa Pozza⁵

Poluição Atmosférica

Resumo

A poluição atmosférica é um problema global que afeta a saúde humana e o meio ambiente. Dentre os principais poluentes atmosféricos estão os organofosforados ésteres (OPEs), que são usados em diversos produtos e podem causar efeitos tóxicos. O presente estudo investigou a toxicidade de compostos orgânicos presentes no material particulado atmosférico (MP) utilizando o modelo Zebrafish (*Danio rerio*). Amostras de MP foram coletadas em Limeira - SP, e analisadas quanto à presença de OPEs. A avaliação envolveu a coleta de MP com diâmetro aerodinâmico $\leq 10 \mu\text{m}$ (MP₁₀) e partículas totais em suspensão (PTS), seguida de análise gravimétrica, extração e análise de OPEs. O ensaio *Zebrafish Embryo Toxicity* (ZFET) foi empregado para avaliar os efeitos tóxicos dessas substâncias em embriões de zebrafish, com foco no crescimento larval e taxa de eclosão. Observou-se que a exposição ao MP, especialmente coletado durante ondas de calor, resultou em concentrações elevadas de OPEs e uma redução no crescimento das larvas, embora a taxa de sobrevivência não tenha sido afetada. Esses resultados indicam que a poluição atmosférica, exacerbada por condições climáticas extremas, pode influenciar negativamente o desenvolvimento das larvas de zebrafish, evidenciando a necessidade de entender melhor as interações entre poluentes atmosféricos e seus efeitos biológicos. O estudo contribui para a compreensão dos impactos ambientais da poluição do ar, destacando a relevância de investigações contínuas sobre os riscos associados à exposição a compostos orgânicos em diferentes contextos ambientais.

Palavras-chave: Poluição atmosférica; *Danio rerio*; Compostos orgânicos.

¹ Aluna da graduação em Engenharia Ambiental, Faculdade de Tecnologia (FT), Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), couto4800@gmail.com

² Mestre em Tecnologia, Faculdade de Tecnologia (FT), Unicamp, manoelcmeira@gmail.com

³ Prof. Dr., Faculdade de Tecnologia (FT), Unicamp, diego.martinez@Innano.cnpem.br

⁴ Profa. Dra., Faculdade de Tecnologia (FT), Unicamp, joycecristale@gmail.com

⁵ Profa. Associada, Faculdade de Tecnologia (FT), Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), spozza@unicamp.br



INTRODUÇÃO

A poluição do ar representa uma grave ameaça à saúde, aumentando o risco de condições como AVC, doença cardíaca isquêmica, câncer de pulmão, DPOC e infecções respiratórias agudas (World Health Organization, 2023). Um poluente atmosférico é qualquer substância liberada na atmosfera que, em níveis prejudiciais, pode causar danos à saúde humana, animal, vegetal ou material (Kampa; Castanas, 2008). Esses poluentes estão associados ao aumento da mortalidade, risco de câncer e doenças respiratórias, como asma e infecções pulmonares (Kampa; Castanas, 2008). Pesquisas são essenciais para entender os impactos da poluição e desenvolver soluções eficazes (Khallaf, 2011).

O material particulado (MP) é um poluente atmosférico composto por uma complexa mistura de partículas suspensas no ar (Seinfeld; Pandis, 2006). Essas partículas variam em tamanho e composição, sendo geradas por fontes naturais, como queimadas e vulcões, e por atividades humanas, como fábricas e veículos (Kampa; Castanas, 2008; Pöschl, 2005). Embora fenômenos naturais contribuam, as atividades humanas são as principais fontes de poluição. O MP inclui partículas de diferentes tamanhos, desde MP_{10} ($\leq 10 \mu\text{m}$) até as ultrafinas, como $MP_{0,1}$ ($\leq 0,1 \mu\text{m}$) (Harrison; Hester; Querol, 2016).

Um dos compostos presentes no $MP_{2,5}$ são os retardantes de chamas organofosforados (OPEs), adicionados a produtos para reduzir riscos de incêndios e usados como plastificantes em materiais de construção (Chen *et al.*, 2020). Os OPEs substituíram os éteres de difenila polibromados (PBDEs) devido à alta toxicidade destes (Blum *et al.*, 2019). No entanto, os OPEs têm alta taxa de dispersão e são globalmente difundidos, além de serem resistentes à degradação, persistindo no meio ambiente (Cao *et al.*, 2019).

Para avaliação de toxicidade, ensaios com organismos modelo são preferíveis em relação aos ensaios *in vitro*, pois são mais fidedignos na demonstração de complicações fisiológicas (Seinfeld; Pandis, 2006). Entre esses organismos, o peixe-zebra ou zebrafish (*Danio rerio*) vem sendo amplamente utilizado para ensaios ecotoxicológicos (Zhang *et al.*, 2021; Medeiros *et al.*, 2021; Avila-Barnard *et al.*, 2022). Sua combinação de características, incluindo uma embriologia altamente



EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

desenvolvida e a possibilidade de manipulação genética, faz deste um dos modelos mais importantes de organismos vertebrados para pesquisas biológicas (Dammski *et al.*, 2011).

O Zebrafish é um modelo valioso para estudos de toxicidade e desenvolvimento devido à sua semelhança com os humanos em processos moleculares e celulares, compartilhando cerca de 70% do material genético. Essa característica faz com que ele seja amplamente utilizado na pesquisa de doenças humanas e na saúde dos ecossistemas aquáticos, permitindo que os resultados sejam relevantes e aplicáveis para a compreensão de várias condições de saúde (Du *et al.*, 2016).

Pesquisas que examinaram a toxicidade dos OPEs no zebrafish demonstraram que eles têm efeitos prejudiciais à saúde desses peixes. Entre esses compostos, um estudo realizado com embriões de zebrafish revelou que o Tris (1,3-dicloro-2-propil) fosfato (TDCIPP) causa perturbação na metilação da citosina durante a reprogramação epigenética. Assim, o TDCIPP pode resultar em consequências negativas para o desenvolvimento embrionário e a saúde na fase adulta, aumentando o risco de desenvolvimento de câncer (Zhang *et al.*, 2021).

Além disso, o Tris (2-butoxietil) fosfato (TBOEP) foi associado a efeitos adversos na reprodução, prejudicando a capacidade reprodutiva e interrompendo o sucesso reprodutivo em adultos (Medeiros *et al.*, 2021). Também se identificou o Trifenil fosfato (TPhP) como prejudicial, afetando o neurodesenvolvimento do zebrafish em diferentes estágios, resultando em uma significativa diminuição na taxa de sobrevivência 12 horas pós-fecundação (hpf) em comparação ao grupo controle. Ademais, o TPhP também provocou um aumento de células apoptóticas, afetando principalmente o sistema visual (Avila-Barnard *et al.*, 2022).

Diante disso, ficou evidente a necessidade de avaliar os efeitos tóxicos dos OPEs devido às consequências resultantes da sua exposição. Portanto, o objetivo deste estudo é investigar a toxicidade de diferentes amostras de MP₁₀ e PTS coletadas na cidade de Limeira (SP) em embriões de zebrafish por meio do ensaio *Zebrafish Embryo Toxicity* (ZFET).

REALIZAÇÃO



METODOLOGIA

O local de estudo compreende a estação de amostragem situada no *campus* da Faculdade de Tecnologia (FT) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), localizada em Limeira, SP. Nas proximidades dessa estação, encontra-se uma rotatória com fluxo intenso de veículos, e uma das principais vias da cidade, a rodovia SP-147 (Faculdade de Tecnologia (FT), 2020).

Para a coleta de MP₁₀ e PTS, foram utilizados amostradores de grande volume (AGV) em ciclos de 24h, seguindo as recomendações das normas brasileiras NBR 13412 e NBR 9547, que sugerem manter a vazão média dos equipamentos constante durante a amostragem. Filtros de fibra de vidro de 20 cm x 25 cm foram pré-aquecidos em mufla a 400°C por quatro horas para volatilizar possíveis contaminantes orgânicos. Em seguida, foram mantidos em dessecador para estabilização por pelo menos 24 horas antes das coletas. Cada ciclo de amostragem teve duração de um dia, indo das 00:00 às 23:59 do mesmo dia. Após a coleta, a massa de MP depositada no filtro foi determinada por gravimetria, obtendo a concentração em $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Em seguida, os filtros foram pesados e acondicionados a -18°C até a extração e posterior ensaio de toxicidade. No total, foram coletadas 44 amostras ao longo de três meses (setembro, outubro e novembro de 2023). Os filtros foram coletados em dias intercalados no período de 24 horas. As amostras de MP coletadas mensalmente foram analisadas a partir da extração dos OPEs.

Para realizar a extração, foi utilizado 1/8 da área coletada de cada um dos filtros, picado em pequenos pedaços e transferido para um tubo de centrífuga. Em cada amostra, foram acrescentadas 10 mL de hexano:acetona (Hex:Act) (1:1). Posteriormente, foram colocadas em vórtex por 1 min, banho ultrassônico por 10 min e centrífuga com rotação de 3.500 rpm por 10 min. Cada amostra passou por este ciclo por três vezes, porém nas segunda e terceira vezes com volumes de 7 mL de Hex:Acet.

Os extratos foram então concentrados em rotaevaporador até sua quase completa evaporação. Para a etapa de *clean-up*, foram utilizados cartuchos Florisil (Supelco Supelclean™) de 1 g (6 mL), que foram ambientados (6 mL Hex:Act) e pelos quais posteriormente as amostras foram eluídas (6 mL Hex:Act). Em seguida os extratos foram concentrados utilizando fluxo de gás nitrogênio ultrapuro (99,999%) a uma temperatura de 35°C, até que reste aproximadamente 500 μL . Posteriormente, os



EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

extratos foram transferidos para *vials* de 2 mL. Para garantir a completa transferência dos analitos, o frasco que contém o extrato foi enxaguado com duas porções de 400 μL de Hex:Act. Por fim, os extratos foram evaporados completamente utilizando fluxo de N_2 . O extrato foi ressuspensão em 400 μL de acetato de etila, e metade do volume foi coletado e armazenado em outro *vial* para análise química. Os 200 μL restantes foram evaporados novamente e redissolvidos em 500 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) para os testes de toxicidade.

Para comparação com as amostras coletadas na cidade de Limeira, foram preparadas amostras com padrões certificados dos OPEs. De acordo com Gonçalves *et al.* (2023), os principais organofosforados encontrados na cidade entre junho e julho de 2019 foram Trifenil fosfato (TPhP), Tris (2-butoxi)etil fosfato (TBOEP), e Tris (1,3-dicloro-2-propil) fosfato (TDCIPP). Assim, amostras destes padrões foram preparadas, com concentração de 10 ppm, e verificadas nos filtros por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (GC/MS).

As análises químicas foram realizadas utilizando o Cromatógrafo Gasoso Trace GC Ultra (Thermo), acoplado ao espectrômetro de massas ITQ900 (Thermo) com analisador de massas *ion trap*. A injeção das amostras foi feita com o injetor PTV (vaporização com temperatura programada), com amostrador automático Triplus, divisão de fluxo (*solvent split*) e volume de injeção de 5 μL conforme Cristale *et al.* (Cristale, Oliveira Santos, Fagnani, 2020). A coluna cromatográfica utilizada foi a Zebron ZB5-MS (Phenomenex), com vazão de gás hélio de 1,5 mL/min. O forno da coluna foi programado para uma temperatura inicial de 60°C por 6 minutos, aquecendo em taxas específicas até atingir 230°C por 1 minuto e, em seguida, aquecendo até 280°C a uma taxa de 20°C/min, mantendo essa temperatura por 14 min. As análises foram realizadas nos modos SCAN e SIM. A curva analítica utilizada foi construída por Gonçalves *et al.* (2023), que utilizou o mesmo equipamento deste estudo para realizar suas análises, e foi obtida a partir do preparo de sete soluções em diferentes concentrações, variando de 0,005 a 0,5 mgL^{-1} , utilizando extratos de filtros em branco. Em cada solução de calibração, foram adicionados 10 μL de uma solução deuterada com concentração de 5 $\text{ng}\mu\text{L}^{-1}$ (TNBP-D27 e TPHP-D15). O deuterado TNBP-D27 foi utilizado para quantificar os compostos TNBP, TBOEP, EHDPHP e TEHP, enquanto o deuterado TPHP-D15 foi utilizado para quantificar os compostos TCEP, TCIPP, TDCIPP, TPHP e TMPP.



A toxicidade das frações MP₁₀ e PTS no desenvolvimento de embriões de peixes foi avaliada de acordo com o guia 236 da OCDE (*Fish Embryo Acute Toxicity Test - FET*). Peixes *D. rerio* adultos foram mantidos pelo Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) - CNPEM. Ovos colocados 5 hpf foram selecionados sob um estereomicroscópio quanto à sua viabilidade. Os ovos selecionados foram transferidos individualmente para uma placa de 24 poços com 2 ml de suspensão por poço e mantidos a 28 °C sob 14h:10h, ciclo claro:escuro. A exposição dos indivíduos aos extratos foi realizada utilizando 20 organismos por tratamento sem renovação de meio, sendo: frações MP₁₀ e PTS nos meses de outubro, novembro, dezembro, totalizando 6 grupos, além do grupo controle. Também foi realizado um controle positivo, utilizando meio com adição de DMSO na mesma concentração dos tratamentos (1%). As suspensões foram preparadas utilizando água reconstituída (96 mg L⁻¹ NaHCO₃, 60 mg L⁻¹ MgSO₄, 4 mg L⁻¹ KCl, 60 mg L⁻¹ CaSO₄ e pH 7,5 ± 0,5). Após 96 hpf, foram avaliados os seguintes parâmetros: malformação, edema, comprimento total e mortalidade. Os ensaios foram realizados em triplicatas independentes com ovos obtidos de diferentes cruzamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do ensaio ZFET, foi possível elaborar a Tabela 1, que relaciona o número de sobreviventes (S) e ovos eclodidos (E) com o tempo de exposição às amostras de PTS e MP₁₀ coletadas nos meses de outubro, novembro e dezembro. De forma geral, não foram observadas mortalidade e formação de edemas nos peixes expostos. Conforme Tabela 1, verifica-se que todas as amostras de MP₁₀ e a amostra de PTS de outubro tiveram taxa de eclosão em 48 hpf menor quando comparadas com o grupo controle, demonstrando atraso na eclosão dos ovos.



EXTREMOS CLIMÁTICOS: IMPACTOS ATUAIS E RISCOS FUTUROS

Tabela 1: Número de sobreviventes (S) e ovos eclodidos (E) por material particulado e mês de coleta

Tempo de exposição	Controle		PTS						MP ₁₀					
	-		outubro/23		novembro/23		dezembro/23		outubro/23		novembro/23		dezembro/23	
	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E
24hpf	20	0	20	0	20	0	20	0	20	0	20	0	20	0
48hpf	20	12	20	6	20	12	20	16	20	7	20	7	20	5
72hpf	20	20	20	20	20	19	20	20	20	20	20	20	20	20
96hpf	20	20	20	20	20	19	20	20	20	20	20	20	20	20

A presença de compostos nocivos à saúde em Limeira foi confirmada por estudos anteriores. Santos et al. (2023) investigaram a toxicidade de 16 HPAs prioritários no MP de Limeira usando o modelo Zebrafish, encontrando maior mortalidade e atraso na eclosão em concentrações iguais ou superiores a 0,05 ppm. Limeira, com uma área de aproximadamente 581 km² e 310.783 habitantes (IBGE, 2023), possui a 18^a maior frota veicular de São Paulo, com 240.839 veículos (IBGE, 2023). As vastas plantações de cana-de-açúcar e a indústria de joias também contribuem para a emissão de MP (Gonçalves, 2021). Gonçalves et al. (2023) detectaram OPEs, como TPHP e TEHP, em todas as amostras coletadas entre junho e julho de 2019, enquanto as amostras de Santos et al. (2023) foram coletadas entre novembro de 2022 e janeiro de 2023, período semelhante ao deste trabalho.

No presente estudo, com exceção da amostra de MP₁₀ de outubro, o TPHP foi detectado em todas as amostras, com uma concentração média de 0,39 µg/m³. De maneira semelhante, o TMPP também esteve presente de forma significativa, com uma concentração média de 0,20 µg/m³. O organofosforado TBOEP apresentou as maiores concentrações entre os OPEs analisados, variando de 1,60 µg/m³ a 3,74 µg/m³, seguido pelo TDCIPP, que teve uma concentração média de 0,61 µg/m³.

A partir das análises cromatográficas dos extratos, foi possível confeccionar a Tabela 2, com base nos dados obtidos pela GC-MS, contendo os OPEs detectados nas amostras. A identificação dos compostos deu-se a partir da comparação dos espectros de massa dos extratos com os espectros obtidos por Gonçalves *et al.* (Gonçalves *et al.*, 2023), realizados no mesmo equipamento da pesquisa atual.



Tabela 2: OPEs detectados nas amostras de PTS e MP₁₀ coletadas em 2023

OPEs	PTS			MP ₁₀		
	outubro/23	novembro/23	dezembro/23	outubro/23	novembro/23	dezembro/23
-	X	X	X	-	X	X
TPHP	X	X	X	-	X	-
TDCIPP	-	X	-	-	X	-
TCEP	-	X	-	-	X	-
TNBP	X	X	X	-	X	X
TMPP	-	X	-	-	X	X

Devido à qualidade do ar ser afetada por condições meteorológicas, que influenciam diretamente a química da atmosfera e a dispersão de poluentes (Bastos *et al.*, 2016), o maior número de compostos foi encontrado nas amostras de PTS e MP₁₀ coletadas no mês de novembro, que coincide com um período de ondas de calor que ocorreram na cidade de Limeira. Ao decorrer das coletas do material particulado, foi feito o registro das temperaturas, e, durante as ondas de calor, foi registrado temperatura média de 37°C.

A Figura 1 (a) e (b) contêm os dados relativos ao comprimento das larvas do zebrafish. É possível observar que entre as amostras de PTS e MP₁₀ dos meses amostrados, o mês de novembro, que possuiu o maior número de compostos tóxicos, obteve a menor mediana. O teste *T Student* ($p < 0,05$) foi aplicado para atestar a relevância da variação dos comprimentos das larvas expostas em relação ao controle, os resultados do teste com MP₁₀ e PTS referentes ao mês de novembro foram 0,01 e 0,04, respectivamente, com médias 3,65 mm, logo é possível verificar que a variação é significativa. Santos *et al.* (2023) observou um aumento na variabilidade das medidas e uma redução no comprimento médio dos embriões com o aumento da concentração de exposição.

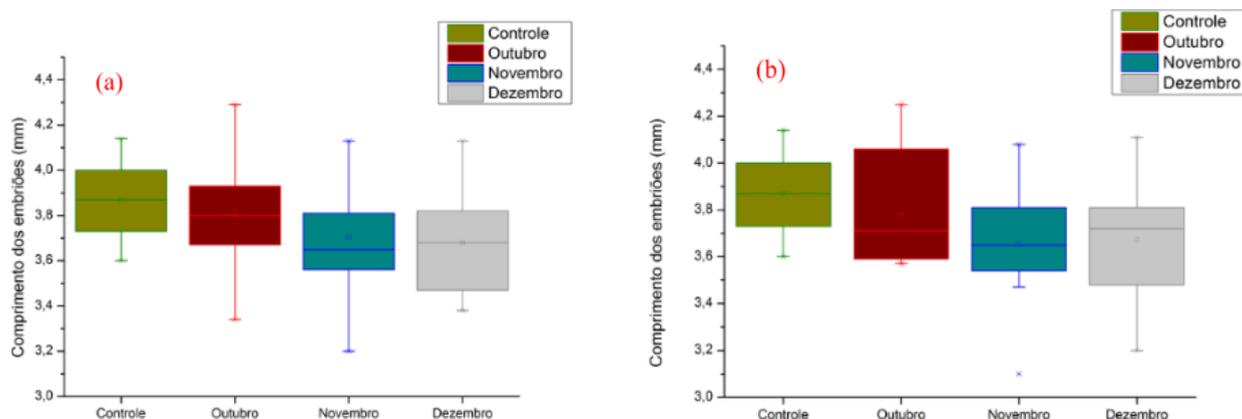


Figura 1: Comprimento dos embriões expostos às amostras de (a) MP_{10} e (b) PTS coletadas em 2023.

A toxicidade pode resultar tanto da ação isolada de certos compostos quanto da combinação entre eles (Du *et al.*, 2015). Quando diferentes substâncias se misturam, suas interações podem potencializar os efeitos tóxicos, tornando a mistura mais prejudicial do que os compostos individuais.

CONCLUSÕES

O ensaio ZFET demonstrou efeitos negativos da ação dos seis OPEs detectados nas amostras de MP_{10} e PTS coletadas em Limeira - SP. Observou-se redução no comprimento dos embriões, bem como atrasos nas taxas de eclosão das larvas de zebrafish, embora não haja impactos nas taxas de sobrevivência. A toxicidade pode ser causada tanto pela ação individual de alguns compostos, quanto pela sua mistura, visto que a interação dos compostos pode acentuar a toxicidade da mistura.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de IC. À equipe da instalação (Nanotox), pela assistência durante os experimentos (SAU 20240212). À Josiane Ap. de Souza Vendemiatti pelo suporte no laboratório da FT. Esta pesquisa



utilizou instalações do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), uma Organização Social supervisionada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI).

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT) - NBR 13412: Material Particulado em Suspensão na Atmosfera – Determinação da concentração de partículas inaláveis pelo método do amostrador de grande volume acoplado a um separador inercial de partículas – método de ensaio, São Paulo, 1995, 8 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT) - NBR 9547: Material Particulado em Suspensão no Ar Ambiente – Determinação da concentração total pelo método do amostrador de grande volume – método de ensaio, São Paulo, 1997, 14 p.

AVILA-BARNARD, S. et al. Tris (1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate disrupts the trajectory of cytosine methylation within developing zebrafish embryos. **Environmental Research**, v. 211, p. 113078, 2022.

BASTOS, V. A. F. et al. Avaliação da toxicidade de quantum dots de tamanhos mágicos de CdSe/CdS do tipo core shell no modelo animal *C. elegans*. 2016. Dissertação (mestrado) Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia.

BLUM, Arlene et al. Organophosphate ester flame retardants: are they a regrettable substitution for polybrominated diphenyl ethers? **Environmental Science & Technology Letters**, v. 6, n. 11, p. 638-649, 2019.

CAO, Z. et al. Influence of air pollution on inhalation and dermal exposure of human to organophosphate flame retardants: A case study during a prolonged haze episode. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 7, p. 3880-3887, 2019.

CHEN, Y. et al. Contamination profiles and potential health risks of organophosphate flame retardants in PM2.5 from Guangzhou and Taiyuan, China. **Environment International**, v. 134, p. 105343, 2020.

CRISTALE, J., OLIVEIRA SANTOS, I., FAGNANI, E. Organophosphate esters by GC-MS: An optimized method for aquatic risk assessment. **Journal of Separation Science** 43(4):748-55. 2020

DAMMSKI, A. P.; MULLER, B. R.; GAYA, C.; REGONATO, D. Zebrafish: Manual de criação em biotério. 1. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2011. 107 p. Disponível em:

<https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2013/06/ZEBRAFISH.pdf>. Acesso em: 8 de julho de 2024.

DU, Z. et al. TPhP exposure disturbs carbohydrate metabolism, lipid metabolism, and the DNA damage repair system in zebrafish liver. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 21827, 2016.

DU, Z. et al. Aryl organophosphate flame retardants induced cardiotoxicity during zebrafish embryogenesis: by disturbing expression of the transcriptional regulators. **Aquatic Toxicology**, v. 161, p. 25-32, 2015.



FACULDADE DE TECNOLOGIA - FT. Sobre a FT: Sobre Limeira. 2020. Disponível em: <https://www.ft.unicamp.br/pt-br/sobre/limeira>. Acesso em: 7 de julho. 2024.

GONÇALVES, P.B., CRISTALE, J., DA SILVA, A.A., NOGAROTTO, D.C., OSÓRIO, D.M.M., ROMUALDO, L.L., POZZA, S.A. Organophosphate esters (OPEs) in atmospheric particulate matter in different Brazilian regions. **Environmental Science: Atmospheres**, v. 3, n. 10, p. 1533-1540, 2023.

GONÇALVES, P. B. **Identificação de compostos polares "non-targeted" por espectrometria de massas de alta resolução em MP**. 2021. 1 recurso online (67 p.) Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Tecnologia, Limeira, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1642229>. Acesso em: 10 julho. 2024.

HARRISON, R. M., HESTER, R. E., QUEROL, X. (Ed.). **Airborne particulate matter: sources, atmospheric processes and health**. Royal Society of Chemistry, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/limeira/panorama>. Acesso em: 7 de julho. 2024.

KAMPA, M.; CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. **Environmental Pollution**, v. 151, n. 2, p. 362-367, 2008.

KHALLAF, M. (Ed.). **The impact of air pollution on health, economy, environment and agricultural sources**. BoD–Books on Demand, 2011.

MEDEIROS, A. M. L.; KHAN, L. U.; SILVA, G. H.; OSPINA, C. A.; ALVES, O. L.; CASTRO, V. L.; MARTINEZ, D. S. Graphene oxide-silver nanoparticle hybrid material: an integrated nanosafety study in zebrafish embryos. Elsevier: *Ecotoxicology and Environmental Safety*, [s. l.], v. 209, n. 111776, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111776>.

OCDE (2013). Teste No. 236: Teste de Toxicidade Aguda em Embriões de Peixe (FET). Diretrizes da OCDE para o Teste de Produtos Químicos, Seção 2, Publicação da OECD, Paris. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264203709-en>.

PÖSCHL, U. Atmospheric aerosols: composition, transformation, climate and health effects. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 46, p. 7520-7540, 2005.

SEINFELD, J. H.; PANDIS, S. N. *Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change*. 2. ed. Hoboken: Wiley-Interscience, 2006. 1203 p.

SANTOS, G. et al. Avaliação da toxicidade de padrões de HPAS utilizando ensaio ZFET. In: Congresso Nacional do Meio Ambiente, 20, 2023, Poços de Caldas.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Statistics Report 2023: Monitoring Health for the SDGs. Geneva: World Health Organization, 2023.

XU, Q; WU, D; DANG, Y; YU, L; LIU, C; WANG, J. Reproduction impairment and endocrine disruption in adult zebrafish (*Danio rerio*) after waterborne exposure to TBOEP. **Aquatic Toxicology**, v. 182, p. 163-171, 2017.



21º Congresso Nacional de
MEIO AMBIENTE

de Poços de Caldas
22 a 25 DE OUTUBRO | 2024

EXTREMOS CLIMÁTICOS: IMPACTOS ATUAIS E RISCOS FUTUROS

ZHANG, Y; JIA, Z; RAJENDRAN, R.S; ZHU, C; WANG, X; LIU, K; CEN, J. Exposure of particulate matter (PM10) induces neurodevelopmental toxicity in zebrafish embryos. Elsevier: Neurotoxicology, v. 87, p. 208-218, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.10.004>.

ZHANG, Q. et al. Neurodevelopmental toxicity of organophosphate flame retardant triphenyl phosphate (TPHP) on zebrafish (*Danio rerio*) at different life stages. **Environment International**, p. 107745, 2023.