

TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBALTO PARA A MICROALGA *Desmodesmus subspicatus*

JULIA MARIA SCHNEIDER^{1,2*}, JAMILE SHERON MARCON^{1,2*}, CRISTIANE
FUNGHETTO FUZINATTO^{2,3*}

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um campo que avança em rápida expansão e atravessa as tradicionais fronteiras das ciências e engenharias e vem sendo considerada uma área promissora de pesquisas, dedicando-se ao estudo e desenvolvimento de materiais em escala nanométrica (10^{-9} m) (FARIAS, 2011).

Os principais tipos de nanopartículas atualmente utilizadas são os nanotubos de carbono e os óxidos de metais. Existem no mercado inúmeras nanopartículas metálicas, dentre elas as nanopartículas de Óxido de Cobalto que são utilizadas principalmente em biosensores na medicina, contrastes para ressonância magnética, revestimentos, plásticos, fios e fibras. A sua constante utilização pode acabar potencializando sua presença no meioambiente (FRANCISCO, 2006). A partir da preocupação sobre os prováveis danos que as nanopartículas podem causar no meio ambiente, surge a nanotoxicologia, que avalia a gravidade dos efeitos causados pelos nanomateriais em organismos vivos (NEL, A. *et al*, 2006). Um organismo muito utilizado na realização dos testes ecotoxicológicos são as algas por serem elementos fundamentais que compõem a cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos. Por esse motivo, são consideradas adequadas para avaliar a qualidade hídrica e de efluentes, assim como a periculosidade de substâncias químicas, baseando-se na observação dos efeitos desses meios sobre o desenvolvimento da biomassa algal (KNIE & LOPES, 2004).

2 OBJETIVOS

Avaliar a toxicidade de suspensões de nanopartículas de Óxido de Cobalto para a microalga *Desmodesmus subspicatus*.

3 METODOLOGIA

Os estudos foram realizados no Laboratório de Qualidade da Água e em demais laboratórios que envolvem o Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – *Campus* Erechim/RS e no Laboratório de Microscopia Central da Universidade

1 Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, contato: ju22s@hotmail.com.

2 Grupo de Pesquisa Biodiversidade e Conservação da Fauna - GPCON.

3 Prof^a. Dr^a. em Engenharia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Orientadora**.

Federal de Santa Catarina (UFSC). O cultivo da microalga *Desmodesmus subspicatus* foi mantido no laboratório de Qualidade da Água de acordo com a NBR 12648:2018 (ABNT). O cultivo foi mantido em meio de cultura CHU em ambiente com temperatura, aeração e luminosidade controlada. A contagem de células foi realizada a partir de uma sequência de diluições em meio CHU da solução estoque de organismo mãe para se obter uma concentração adequada de células e assim a construção de uma curva de correlação entre a contagem de células em microscópio ótico, câmara de Neubauer, e a leitura de absorvância da amostra em um comprimento de onda de 682nm. Com a construção da curva de correlação finalizada foi possível a realização dos testes de sensibilidade para a microalga.

Os testes de sensibilidade foram feitos, também, de acordo com a ABNT NBR 12.648:2018, expondo a microalga, *D. subspicatus*, a uma substância de referência: o Dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). Todos os ensaios foram realizados em duplicata, com o dicromato de potássio nas concentrações 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9 mg/L, além de um controle negativo composto apenas pelo meio de cultivo, totalizando um volume de 100 mL. Os erlenmeyers contendo os ensaios foram distribuídos aleatoriamente em mesa agitadora com temperatura controlada (23°C), agitação de 150 rpm e iluminação contínua por um período de 72 horas. Ao fim das 72 horas, determinou-se a biomassa algácea por espectrofotometria para definir qual foi o aumento na densidade celular durante o período, a partir da curva de correlação, os valores de absorvância foram transformados em número de células e inseridos no *software* GraphPad Prism® 6.0, resultando em um valor de sensibilidade.

As nanopartículas de Óxido de Cobalto foram sintetizadas adaptando o método de microemulsão. Para um volume de 100 mL foram pesados 1,0 g de PVA que foram solubilizados em 50mL de água ultrapura com aquecimento de 100°C e agitação até completa solubilização. Após solubilizado o polímero precisou atingir a temperatura ambiente, para então ser adicionado a 30 mL de água ultrapura gelada contendo 0,03 g de $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (mantido sob agitação). Foram pesados então 0,015 g de $NaBH_4$ e essa massa foi diluída em 20 mL de água ultrapura gelada. Esta solução de Borohidreto de Sódio foi colocada em uma bureta de 25 mL com gotejamento lento na solução anterior (PVA + $CoCl_2 \cdot 6H_2O$), sob forte agitação formando então uma solução de cor preta. Manteve-se durante todo o processo de síntese a agitação e o banho de gelo, com intuito de minimizar a formação de espuma.

As nanopartículas de Óxido de Cobalto foram caracterizadas em relação a sua área superficial, ao seu diâmetro médio e sua estabilidade em suspensão. Na caracterização das nanopartículas

foram utilizados os métodos: Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET); Medida de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta. As análises de caracterização foram realizadas no Laboratório de Microscopia Central (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O efeito avaliado no teste de toxicidade crônica para a microalga *Desmodesmus subspicatus* foi o crescimento algáceo, com um tempo de ensaio de 72 horas. O teste foi realizado com iluminação contínua e mantido sobre agitação constante a 150 ± 3 rpm em mesa agitadora orbital “shaker”, em ambiente com temperatura controlada entre $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

O teste foi realizado em triplicata e foram utilizadas as seguintes concentrações: [0,3; 0,5; 1; 2; 4; 5,5; 6; 6,5; 8; 10; 12] $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da Microscopia Eletrônica de Transmissão foi possível verificar que o diâmetro médio da nanopartícula de Óxido de Cobalto é de aproximadamente 3 nm, desvio padrão de 0,70 e Intervalo de Confiança (IC 95%) de 0,14. Considerando o diâmetro (D) como 3 nm, e a densidade (ρ) do Cobalto como $8,900 \text{ g}\cdot\text{cm}^3$, a área superficial da nanopartícula de Óxido de Cobalto é de $224,7 \text{ m}^2/\text{g}$.

Os valores médios de diâmetro obtidos pela Medida de Espelhamento de Luz Dinâmico - DLS foram de aproximadamente 30 nm devido a aglomeração das nanopartículas. As partículas estudadas possuem valores de potencial Zeta compreendido dentro da faixa de -25mV e $+25\text{mV}$, assim as nanopartículas apresentaram um certo grau de instabilidade.

Através das leituras de absorvância no espectrofotômetro e da contagem do número de células presentes nas suspensões algáceas pelo microscópio óptico, gerou-se a curva de equivalência entre as variáveis (Figura 01).

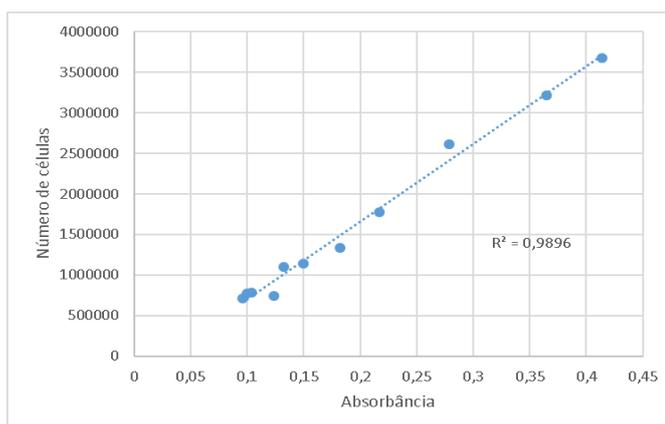


Figura 01: Correlação entre o número de células da microalga *D. subspicatus* e a absorvância a 682 nm a partir de diluições em meio CHU da solução estoque do organismo teste.

Observando a Figura 01, percebe-se um comportamento linear, sendo que o aumento do número de células significou também o aumento da absorvância. Com isso, obteve-se a equação da reta, bem como um coeficiente de correlação (R^2) satisfatório.

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade indicaram que a concentração de efeito de dicromato de potássio capaz de causar 50% de inibição do crescimento algal ($CE_{50,72h}$) obtida foi de $0,6465 \pm 0,6 \text{ mg.L}^{-1}$, indicando que o dicromato de potássio mostrou-se tóxico para a microalga *Desmodesmus subspicatus*.

Para os estudos avaliando a exposição crônica das nanopartículas de Óxido de Cobalto frente à microalga *Desmodesmus subspicatus*, utilizando os resultados obtidos nos ensaios, com o auxílio do programa estatístico GraphPad Prism 6.0[®] e Microsoft Excel[®], foi possível obter o valor de $CE_{50,72h}$ de $0,5678 \text{ mg.L}^{-1}$ (Tabela 01). Por se tratar de resultados preliminares e por não poder ser comparado com segurança, visto que não foi encontrado outro trabalho que se utiliza do mesmo organismoteste e da mesma NP, com as mesmas propriedades físicas e com o mesmo método de síntese, serão necessários mais testes de toxicidade para confirmar os possíveis efeitos de toxicidade para as microalgas.

Número do teste	CE_{50} (mg/L)	IC (95%)
1	0,7964	0,4892 - 1,561
2	0,3553	0,2374 - 0,8543
3	0,5518	0,4478 - 0,9817
$CE_{50,72h}$ média	0,5678	-

Tabela 01: Valores de $CE_{50,72h}$ para toxicidade da microalga *Desmodesmus subspicatus* exposta a nanopartículas de óxido de cobalto.

5 CONCLUSÃO

A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece os padrões de qualidade da água para concentração total de Cobalto os limites máximos para água doce Classe I e Classe II como $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$, logo as nanopartículas de Óxido de Cobalto apresentam concentração maior do que a permitida ($CE_{50,72h} = 0,5678 \text{ mg.L}^{-1}$), porém os dados apresentados na Resolução são para as macropartículas de Cobalto e não existem, no Brasil, legislações específicas para as nanopartículas. Também não foram encontrados para a *Desmodesmus*

subspicatus valores de CE₅₀, destacando assim o pioneirismo do ensaio. Os resultados apresentados aqui podem ser considerados preliminares.

O projeto se encontrava em fase de adaptação de metodologias às condições e aos equipamentos de laboratório da UFFS e com a paralisação das atividades presenciais nos Campi da UFFS em 16/03/2020, devido a pandemia do Novo Coronavírus (COVID-19), o projeto de pesquisa precisou ser paralisado, principalmente pela falta de transporte à Universidade e, por isso, o projeto precisou ser retomado, o que levou algum tempo, logo foram realizadas poucas repetições dos testes de sensibilidade e de toxicidade frente as nanopartículas de Óxido de Cobalto. Contudo esses resultados podem servir como norteadores para projetos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648:2018** - Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica: Método de ensaio com algas. Rio de Janeiro, 2018.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA.** Brasil, p. 9 mai. 2011.

FARIAS, E. M. **Nanotecnologia e meio ambiente: um levantamento sobre os riscos e benefícios dessa nova tecnologia em um contexto atual.** 30 f. TCC (graduação) – Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, 2011.

FRANCISCO, B. B. A. **Fontes Alternativas para a Obtenção de Níquel, Cobalto e Cobre.** In: XIV JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – CETEM, 2006, Rio de Janeiro.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA/ GTZ, 2004.

NEL, A. *et al.* "Toxic potential of materials at the nanolevel". Science, 2006. 311(5761): p. 622-7.

Palavras-chave: Nanotoxicologia, Óxido de Cobalto, *Desmodesmus subspicatus*, Microalga.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2020 - 0233

Financiamento: CNPq.