

# Avaliação em microcosmo da influência de nanopartículas (hidroxiapatita e PLGA) sobre o comportamento químico de Zn, Cu e Mn em sistema costeiro degradado

M.M. Silva<sup>a</sup>, M.A.V. Wasserman<sup>b</sup>, D.V. Pérez<sup>c</sup>, J. C. Wasserman<sup>d</sup>, R. Santos-Oliveira<sup>b</sup>, T.R. Pereira<sup>b</sup>, M.B. Barreto<sup>f</sup>, L.S.P. Moraes<sup>b</sup>, G.C. Silva<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Radioproteção e Dosimetria.

Avenida Salvador Allende, s/nº, Barra da Tijuca, CEP 22783-127, Rio de Janeiro – RJ, Brasil

<sup>b</sup>Instituto de Engenharia Nuclear.

Rua Hélio de Almeida, 75, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, 21941-972, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>c</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

R. Jardim Botânico, 1024, 22460-000, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>d</sup>Universidade Federal Fluminense (REMADS)

Av. Litorânea, s/n, Instituto de Geociências, escritório 406, Niterói, 24030-346, Rio de Janeiro, Brasil.

[michele@bolsista.ird.gov.br](mailto:michele@bolsista.ird.gov.br)

---

## RESUMO

A liberação de diversos tipos de nanopartículas no ambiente aquático pode resultar na exposição direta ou indireta do homem e de organismos aquáticos, ou impactos no comportamento de metais. A ausência de legislação ambiental específica para o descarte de rejeitos oriundos de atividades que utilizam nanopartículas, como centros de pesquisa, serviços de medicina nuclear e a indústria, tem contribuído para a liberação descontrolada desses materiais no meio ambiente tornando-os relevantes dentro do contexto ecotoxicológico. Neste estudo, o impacto de nanopartículas com uso promissor pela medicina nuclear (nanohidroxiapatita e ácido D, L-láctico-co-glicólico - PLGA) sobre o comportamento químico de metais, foi avaliado através de ensaios em microcosmos, estruturados com as condições do Canal do Cunha (RJ). Este canal é parte de um sistema aquático costeiro, impactado por rejeitos industriais, domésticos e hospitalar, com elevados teores em metais e materiais orgânicos, já reportados na literatura. Ao contrário de estudo prévio realizado com condições operacionais semelhantes ao presente estudo, porém estruturado com materiais de sistema aquático pouco impactado por esses rejeitos, este estudo não identificou modificações no comportamento de metais dissolvidos (Cu, Zn e Mn), após a introdução dos nanomateriais, devido ao elevado grau de degradação orgânica do sistema. O estudo atual corrobora a influência de compostos orgânicos no efeito do aporte de nanomateriais em ambientes aquáticos.

**Palavras-chave:** nanopartículas, ambiente aquático poluído, ensaio em microcosmo

---

---

**ABSTRACT**

Accidental spillages or authorized release of effluents containing nanoparticles into aquatic environment may result in direct or indirect exposure of humans or aquatic organisms or even impacts on metals behavior. The absence of specific environmental legislation from the tailing disposal from activities using nanoparticles, such as research centers, nuclear medicine services and industry, has contributed to the uncontrolled release of these materials into the environment making them relevant within the ecotoxicological context. In this study, nanoparticles (nanohydroxyapatite and D, L-lactic-co-glycolic acid - PLGA) with promising use by nuclear medicine were evaluated by microcosm essays, reproducing the conditions of the Canal do Cunha (RJ), coastal water system, impacted by industrial, domestic and hospital waste, with high content of metals and organic materials, already reported in the literature. Contrary to previous study carried out with operational conditions similar to the present study but structured with aquatic system materials with little impacted by these tailings, this study did not identify changes in the behavior of dissolved metals (Cu, Zn and Mn), after the introduction of the nanomaterials, due to the high degree of organic degradation of the system. The present study corroborates the influence of organic compounds on the effect of the contribution of nanomaterials in aquatic environments.

*Keywords:* nanoparticles, polluted aquatic environment, microcosm essay

---

## 1. INTRODUÇÃO

A rápida expansão da nanotecnologia, com a geração de nanopartículas de diferentes composições químicas, têm exigido estudos aprofundados e inovadores para uma avaliação detalhada dos possíveis impactos do descarte rotineiro destes materiais na rede de esgoto. Nas áreas médica e farmacêutica, estudos relacionados à eficácia de nanorradiofármacos têm sido realizados com o intuito de aprimorar as técnicas de diagnóstico e terapia nos serviços de medicina nuclear resultando no desenvolvimento de diferentes nanopartículas [1]. Atualmente, os polímeros mais utilizados na área farmacêutica são poli (ácido D, L-láctico-co-glicólico) (PLGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glutâmico) (PGA), poli (caprolactona) (PCL), copolímeros de N-(2-hidroxipropil)-metacrilato (HPMA), polissacarídeos e poli (aminoácidos) [2-4]. As nanopartículas poliméricas biodegradáveis têm sido frequentemente utilizadas para aumentar a eficácia terapêutica de diversos fármacos solúveis / insolúveis em água e moléculas bioativas, uma vez que aprimoram sua biodisponibilidade, solubilidade e tempo de retenção tanto no diagnóstico quanto no tratamento de câncer [5].

Biomateriais como a nanohidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), têm sido amplamente estudados para utilização na área médica devido à sua biocompatibilidade e biofuncionalidade [1]. A hidroxiapatita é o constituinte mineral natural encontrado no osso representando de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes. Em sua forma sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses. Estas propriedades aliadas à sua elevada capacidade de adsorver e/ou absorver moléculas fazem da hidroxiapatita um excelente suporte para ação prolongada de drogas anticancerígenas no tratamento de tumores ósseos [6]. Além disso, a hidroxiapatita também apresenta características específicas que permitem sua utilização nos processos de tratamento de água e remediação de solos e água contaminados com metais pesados [7].

Entretanto, as preocupações com a utilização de diversos nanomateriais e a avaliação de riscos destes para os sistemas biológicos estão sendo cada vez mais expressas em público e nos meios de comunicação [8-12]. A literatura apresenta alguns estudos sobre o comportamento de nanopartículas em sistemas biológicos derivados de investigações biomédicas de injeção direta, ingestão ou inalação atmosférica e sua subsequente nanopatologia [11, 12].

Estudos sobre remediação ambiental através do uso de nanopartículas em solos, sedimentos e águas contaminadas para a retenção de metais pesados têm sido amplamente reportados [13-17]. Todavia pouco se sabe sobre os efeitos em longo prazo de nanopartículas acumuladas no ambiente aquático, provenientes de liberações rotineiras no sistema de esgoto, com relação ao seu comportamento hidrodinâmico, sua associação com sedimentos maiores e partículas coloidais naturais, sua possível associação com poluentes orgânicos, suas vias de absorção na biota e sua exposição para a saúde de organismos e integridade do ecossistema [11, 18, 19]. Além disso, a ausência de legislação ambiental específica para o descarte de rejeitos oriundos de atividades que utilizam nanopartículas, a utilização de nanomateriais em centros de pesquisa e serviços de medicina nuclear e a produção e descarte de nanomateriais pelo setor industrial, tem contribuído para a liberação descontrolada desses materiais no meio ambiente tornando-os relevantes dentro do contexto ecotoxicológico [19-22].

A liberação de diversos tipos de nanopartículas no ambiente aquático pode resultar na exposição direta do homem a estes materiais através do contato com a pele, inalação de aerossóis de água e ingestão direta de água contaminada ou organismos aquáticos contaminados. Outra possível via de

exposição do homem às nanopartículas que deve ser considerada consiste na utilização do biossólido (lodo de esgoto tratado) como fertilizante em solos agrícolas. É importante ressaltar que a presença de nanopartículas no biossólido poderia ocasionar alterações em suas propriedades, tendo poucos trabalhos publicados até o momento nesta área. Os biossólidos contêm minerais argilosos e matéria orgânica sólida, que poderiam ligar-se fortemente a nanopartículas por meio da heteroagregação e da matéria orgânica solúvel, o que poderia mobilizar nanopartículas por meio de mudanças na carga superficial [23]. Dentre as múltiplas vias de exposição das nanopartículas dentro dos ecossistemas, os organismos aquáticos constituem um dos mais importantes quanto à entrada, acúmulo e transferência dos nanomateriais em toda a cadeia alimentar. Em paralelo, a agregação com outras nanopartículas ou colóides pode alterar sua potencial toxicidade e biodisponibilidade no meio ambiente, além de facilitar a sua possível acumulação nos sedimentos de fundo. Adicionalmente, a interação das nanopartículas com a matéria orgânica natural também pode influenciar no comportamento destas com a biota [19, 22-24].

A entrada de nanopartículas em compartimentos ambientais, pode modificar os mecanismos de sorção dos elementos químicos presentes nestes meios, promovendo a transferência dos mesmos para outros componentes do sistema ou favorecendo a captação e retenção de novos elementos. Em um estudo realizado em microcosmos, simulando as condições naturais da Lagoa de Juturnaíba, manancial de água doce que abastece a Região dos Lagos Fluminense, observou-se que a introdução da nanohidroxiapatita (nHAp) teve impacto sobre o comportamento do Zn e Cu, atuando como um captador destes metais e, conseqüentemente, aumentando a precipitação dos complexos formados pela nHAp, Zn e Cu no sedimento, sendo este efeito minimizado por um pH ácido ou pelo aporte de ácidos húmicos no sistema [24].

O presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto potencial causado por diferentes tipos de nanopartículas, que têm sido estudadas para utilização na medicina nuclear como possíveis nanorradiofármacos para o tratamento e diagnóstico de câncer, em um ambiente aquático costeiro altamente impactado por atividades antrópicas sobre o comportamento químico do Cu, Zn e Mn presentes nesse ambiente.

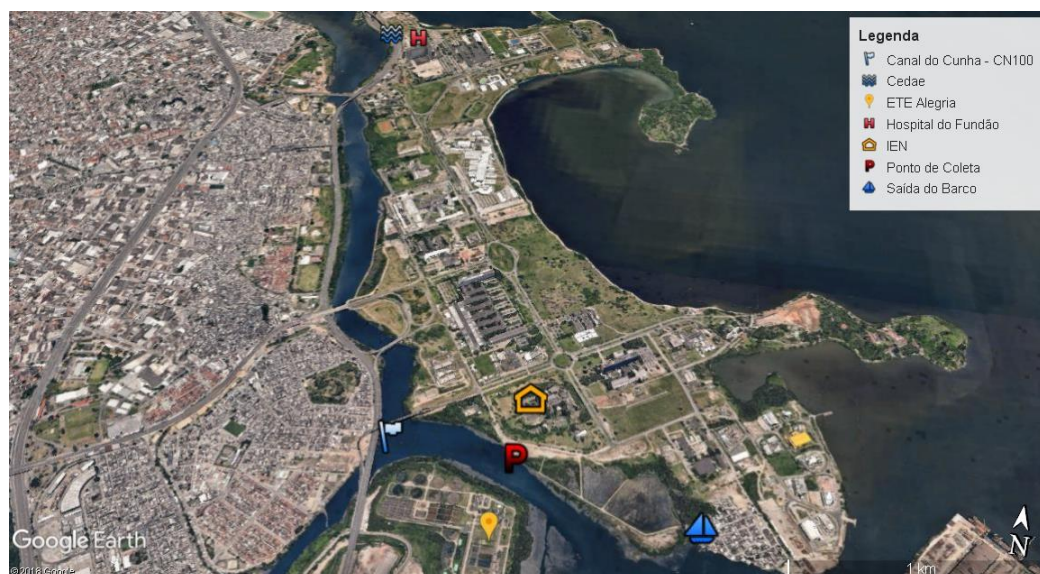
## 2. MATERIAIS E METODOS

### Descrição do Local de Coleta - Canal do Cunha (RJ)

O Canal do Cunha pertence à bacia hidrográfica da Baía de Guanabara tendo como afluentes os rios Jacaré e Faria-Timbó, possuindo área aproximada de 63,6 km<sup>2</sup>. A região hidrográfica (RH) a qual o Canal do Cunha está vinculada (RH-V) situa-se em uma área metropolitana densamente povoada e possui muitos dos seus corpos d'água em nível avançado de degradação da qualidade, incluindo seus sistemas lagunares. Particularmente o Canal do Cunha encontra-se impactado em grande parte pelo lançamento de efluentes domésticos sem tratamento, [25] além de efluentes industriais e hospitalares [26]. O boletim anual de qualidade das águas da RH-V, publicado pelo INEA em 2017, corrobora esta informação, pois reporta a média dos resultados do monitoramento dos corpos de água doce desta região, por meio da aplicação do Índice de Qualidade de Água (IQ<sub>ANSE</sub>). Este índice consolida em um único valor os resultados dos parâmetros: Oxigênio Dissolvido (OD), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Fósforo Total (P<sub>T</sub>), Nitrogênio Nitrato (NO<sub>3</sub>), Potencial Hidrogeniônico (pH), Turbidez (T), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Temperatura da Água (T<sub>a</sub>) e do Ar (T<sub>ar</sub>) e Coliformes Termotolerantes (CT) [27]. De acordo com a tabela 1, verifica-se que a água do Canal do Cunha apresenta um índice de qualidade muito ruim ( $25 \geq \text{IQ}_{\text{ANSE}} \geq 0$ ).

Vários estudos constataram elevado teor de poluição e contaminação de suas águas e sedimentos por metais traço (Cu, Zn, Cd, Hg, Co, Ni, Mn, Cd, Fe) [26, 28-30]. Sendo assim, esta área foi escolhida para coleta de material para os ensaios em microcosmos devido à presença de metais e outros contaminantes.

A figura 1 apresenta o ponto de coleta de materiais (CN100) e as principais instalações do entorno.

**Figura 1:** Mapa representativo do Local de Coleta

Fonte: Google Earth

**Tabela 1:** Parâmetros utilizados para o cálculo do  $IQ_{ANSF}$  – Boletim Consolidado Anual de Qualidade das Águas da RH-V - Ano 2017 [27]

Estação de Amostragem	Localização	Município	Data	$IQ_{ANSF}^1$	DBO ( $mg.L^{-1}$ )	$P_T$ ( $mg.L^{-1}$ )	$NO_3$ ( $mg.L^{-1}$ )	OD ( $mg.L^{-1}$ )	pH	T (uT)	CT (NMP/100mL)	SDT ( $mg.L^{-1}$ )	$T_a$ ( $^{\circ}C$ )	$T_{ar}$ ( $^{\circ}C$ )
CN100	Canal do Cunha	Rio de Janeiro	28/03	<b>18</b>	32	1,1	0,01	0,0	7,0	26	$> 2,4 \times 10^4$	2619	25	26
			06/11	<b>15</b>	40	2,1	$< 0,01$	0,0	6,8	31	$> 1,6 \times 10^6$	1442	23	21
Categoria de Resultados			Excelente	Boa	Média	Ruim	<b>Muito ruim</b>							
$IQ_{ANSF}$			$100 \geq IQA \geq 90$	$90 \geq IQA \geq 70$	$70 \geq IQA \geq 50$	$50 \geq IQA \geq 25$	<b><math>25 \geq IQA \geq 0</math></b>							

<sup>1</sup> Na composição do  $IQ_{ANSF}$  usa-se o valor de temperatura corresponde à diferença entre a temperatura da água no ponto de coleta e a temperatura do ar.

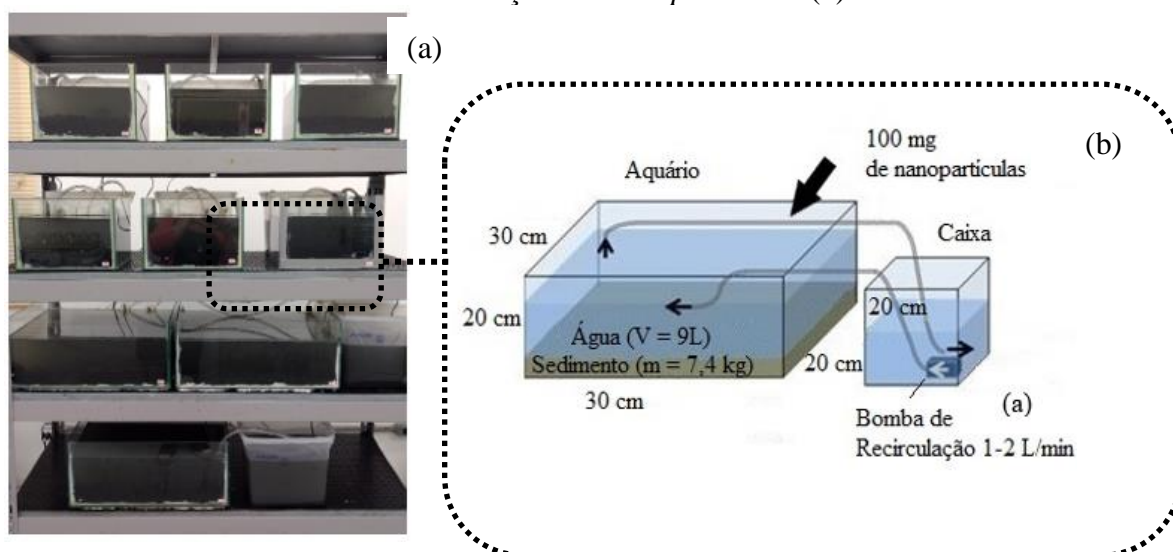
## Coleta de Água e Sedimento no Canal do Cunha

As amostras de água foram coletadas e acondicionadas em galões de 20 L. Já as amostras de sedimento foram coletadas com amostrador busca-fundo, do tipo *Van-Veen*, transferidas para bandejas de polipropileno e acondicionadas em sacos de 200 L. Foram coletados aproximadamente 180 L de água e 130 kg sedimento para a montagem do experimento. Durante a coleta, foram medidos o pH, Eh e temperatura da água e sedimento *in situ*.

## Montagem dos Microcosmos

Com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes nanopartículas no ambiente aquático, os microcosmos foram projetados com características que asseguram: (1) reprodução mais precisa das condições reais, (2) reprodutibilidade, (3) modificações controladas das condições físicas e químicas da água. O experimento foi concebido para evitar qualquer alteração química resultante de seu projeto. Com base nessas premissas, o sistema de microcosmos foi montado com dois compartimentos (aquário e caixa), de modo a manter a troca contínua de água sem perturbação do sistema seguindo modelo descrito em Almeida (2016) e Silva *et al.* (2017) [24, 31]. A figura 2 apresenta uma foto do experimento montado no laboratório (2a) e uma representação esquemática detalhada dos microcosmos que receberam tratamento com nanopartículas (2b).

**Figura 2:** Foto do Experimento em Microcosmo (a) e *Representação Esquemática em Detalhe do Microcosmo com Adição de Nanopartículas* (b)



O aquário foi preenchido com água e sedimento do Canal do Cunha, coletados in situ, e dispostos conforme detalhado na figura 2b. A caixa foi preenchida apenas com a água do Canal do Cunha, a partir de troca contínua entre os compartimentos promovidos por uma bomba de aquário.

O experimento foi delineado da seguinte forma: (a) microcosmos controle; (b) microcosmos com a adição de nHAp; (c) microcosmos com a adição de nanopartícula polimérica (PLGA) dopada com  $^{166}\text{Ho}$ , totalizando nove microcosmos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Experimento em Microcosmos – Condições Operacionais

<b>Cenário Ambiental</b>	<b>Condição Operacional</b>	<b>Tratamento</b>
Controle (n = 3)	Água do Canal do Cunha	Sem tratamento
nHAp (n = 3)	Água do Canal do Cunha	100 mg de nHAp
PLGA (n = 3)	Água do Canal do Cunha	100 mg de $^{166}\text{Ho}$ -PLGA

A montagem foi considerada finalizada após ocorrer a estabilização do nível de água no aquário, em torno de 15 cm de altura da coluna d'água (Figura 2). Este experimento foi realizado no Laboratório de Geoquímica Tropical, no Instituto de Engenharia Nuclear – IEN, localizado no Rio de Janeiro.

### **Síntese de Nanopartículas**

A síntese das nanopartículas foi realizada pelo Laboratório de Biocerâmica e Matérias do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas no Rio de Janeiro, utilizando-se o método de precipitação por via úmida. Para este estudo foi utilizada cerca de 100 mg de nanopartículas em cada microcosmo (Tabela 2), seguindo condições operacionais utilizadas em estudo prévio [24]. A morfologia das nanopartículas de hidroxiapatita (nHAp) e  $^{166}\text{Ho}$ -PLGA foi examinada por Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV) (TM 3000 - Hitachi). Com base nas imagens obtidas, as nanopartículas apresentam variação de tamanho entre 200-250 nm e formato irregular [32].



## Coleta e Análise das Amostras de Água

As coletas de amostras de água dos aquários foram iniciadas trinta minutos após a adição das nanopartículas (T0) utilizando seringas com filtro de 0,45  $\mu\text{m}$ . Foram coletados 20 ml de água de cada aquário e os intervalos de T1 a T9 foram 1,5 h; 2,5 h; 3,5 h; 23,5 h; 25,5 h; 47,5 h; 49,5 h; 73,5 h; 145,5 h respectivamente (81 amostras no total). As amostras de água foram acidificadas e enviadas para análise quantitativa de metais traços. A análise de metais foi realizada por ICP-OES na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo Centro Nacional de Pesquisa de Solos.

As medidas de pH/Eh foram realizadas com um eletrodo combinado de pH nas amostras de água coletadas com um pH/Ehmetro modelo DM-22 da marca DIGIMED. As medidas de Eh foram feitas com um eletrodo combinado de platina Ag/AgCl (KCl 3M) e os valores foram corrigidos seguindo as recomendações descritas na literatura [33].

## Tratamento estatístico

A maioria dos dados foi apresentada como gráficos, mostrando o comportamento das variáveis em relação ao tempo do experimento. O delineamento experimental selecionado para a análise estatística foi um fatorial inteiramente casualizado com dois fatores e 3 repetições. O Fator A representou o tratamento com duas nanopartículas (nHAp e PLGA), além do controle absoluto (sem nenhuma nanopartícula). O Fator B representou os nove tempos de amostragem, a saber: 1,5; 2,5; 3,5; 23,5; 25,5; 47,5; 49,5; 73,5 e 145,5 h. A análise de variância foi realizada após transformação dos dados por raiz ( $X+1$ ), pois a relação entre o menor e maior valor dos dados foi maior que 20 [34]. Nos casos em que o teste de variância (F) foi significativo, aplicou-se o teste de médias de Scott e Knott. O software estatístico utilizado foi o AgroEstat® [35].

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições físico-químicas predominantes nos microcosmos estão reportadas na tabela 3 em contraponto às medidas *in situ*, realizadas oito dias antes do início do experimento em microcosmos. Estes resultados revelam que as condições físico-químicas dominantes no experimento foram bastante similares às condições medidas *in situ*, o que caracteriza a estabilidade dos microcosmos.

**Tabela 3:** Medidas de pH, Eh e temperatura das amostras de água e sedimento *in situ* e no microcosmo

Amostra	pH	Eh (mV)	Temperatura (°C)
Água ( <i>in situ</i> )	8,3	145,0	23,7
Água (microcosmos início)	8,2	111,9	21,0
Água (microcosmos fim)	8,8	90,9	21,7
Sedimento ( <i>in situ</i> )	7,0	-387,0	23,7
Sedimento (microcosmos início)	8,4	-347,7	25,8
Sedimento (microcosmos fim)	8,7	-345,0	26,0

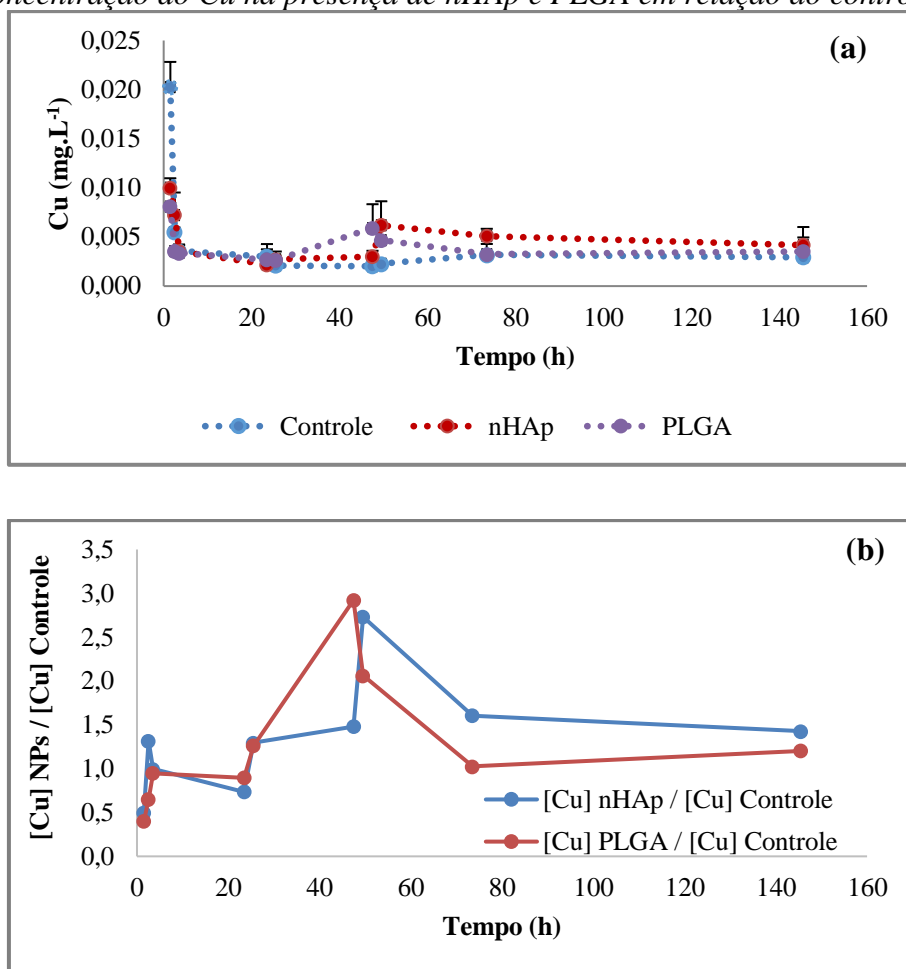
Os valores de pH indicam um ambiente alcalino, típico de sistemas costeiros. Segundo Warren e Haak (2001, apud Borges e Caldas, 2016), o pH pode influenciar diretamente a mobilidade, precipitação e adsorção de metais, sendo que, em ambientes ácidos, a tendência para esses metais seria permanecerem solúveis na coluna d'água. Todavia, ambientes alcalinos promoveriam a rápida adsorção destes elementos aos materiais particulados e sua precipitação [29]. Os valores de Eh medidos para a água e o sedimento caracterizam um ambiente com tendências anóxicas, típicos de sistemas costeiros degradados [36]. Os valores de temperatura da água refletiram a temperatura do ambiente laboratorial com ar condicionado, enquanto o sedimento apresentou um aumento de 2,3°C em relação às condições originais. Nos primeiros dias após a montagem do experimento, em todos os microcosmos, foi visualmente observada a formação de um biofilme na interface água-sedimento. Com o tempo essa formação evoluiu para uma emulsão em suspensão, caracterizando a intensa atividade biológica do sistema (Figura 3).

**Figura 3:** Foto do detalhe do biofilme no interior do microcosmo

A figura 4 apresenta a concentração Cu nos microcosmos Controle, nHAp e PLGA (4a) e a razão da concentração do Cu em relação ao controle, em presença de nHAp e da PLGA (4b). A Figura 4a apresenta os teores de Cu dissolvido ao longo do tempo de observação. Nesta figura observamos uma rápida diminuição do Cu dissolvido nas primeiras horas, em todos os microcosmos, se estabilizando com concentrações variando entre 0,003 e 0,005 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 4a). Os valores de concentração observados são compatíveis com os valores 0,005 - 0,028 mg.L<sup>-1</sup>, reportados para o Cu no Canal do Cunha [37].

Com a adição das nanopartículas as concentrações de Cu dissolvido podem atingir valores cerca de três vezes superiores aos valores observados no controle (Figura 4b). Estes máximos foram atingidos em torno das 48 h (2,9 e 2,7), retornando em 74 h (1,0 e 1,6) para as razões PLGA/Controle e nHAp/Controle respectivamente.

**Figura 4:** Concentração do Cu dissolvido nos microcosmos Controle, nHAp e PLGA (a) e Razão da concentração do Cu na presença de nHAp e PLGA em relação ao controle (b).



Entretanto, a análise de variância (Tabela 4) indicou que somente o fator tempo afetou significativamente ( $P < 5\%$ ) a concentração do Cu dissolvido. O baixo valor do Coeficiente de Variação da ANOVA (0,2) indica que o experimento é preciso e confiável [38]. A tabela 5 indica que somente no tempo de 1,5 h (Tempo 1) o teor de Cu foi significativamente maior ( $P < 5\%$ ) e diferente do Cu determinado nos outros tempos. Este resultado pode ser um indicativo de um ajuste inicial do sistema com relação à adição das nanopartículas.

**Tabela 4:** Análise de Variância para os dados transformados [raiz (X+1)] de Cu dissolvido

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	2	0,0000040247	0,0000020123	0,74NS	0,4830
Efeito Fator B	8	0,0001371358	0,0000171420	6,28**	< 0,0001
Efeito Interação AxB	16	0,0000675309	0,0000042207	1,55NS	0,1173
Tratamentos	26	0,0002086914	-	-	
Resíduo	54	0,0001473333	0,0000027284	-	
Total	80	0,0003560247	-	-	

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste-F. NS: não significativo.

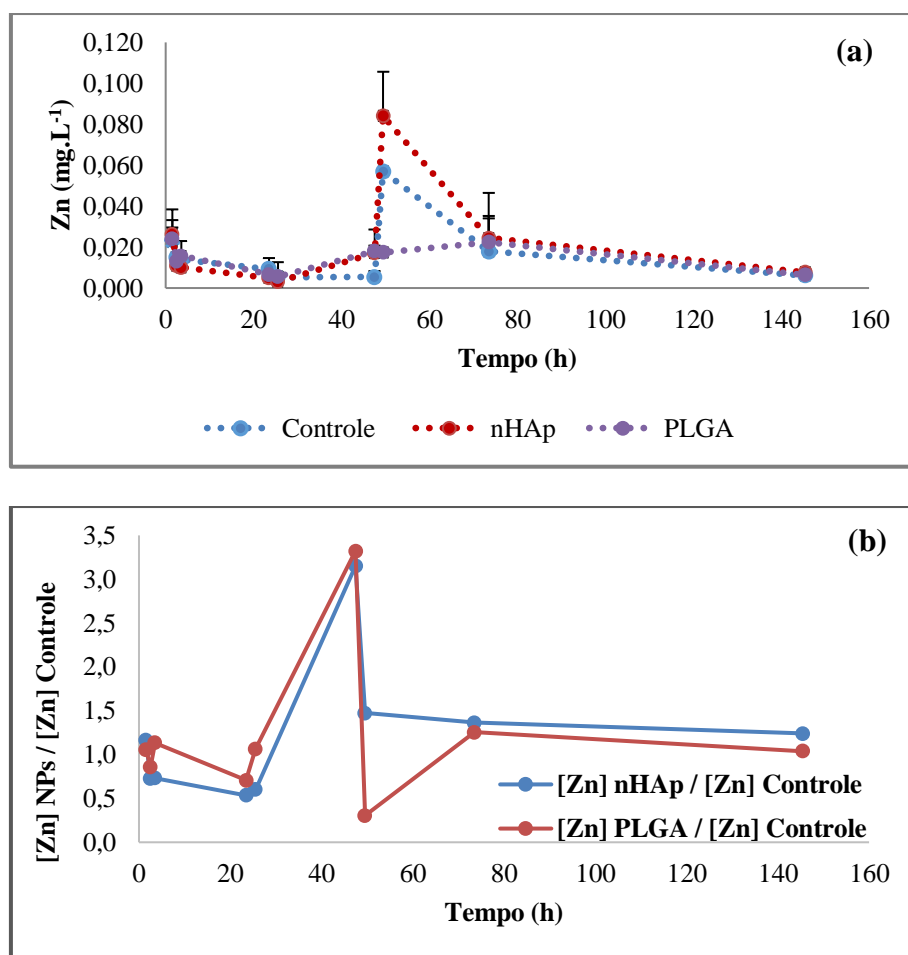
**Tabela 5:** Resultado do teste de médias de Scott e Knott ( $P < 5\%$ ) para os valores encontrados de Cu dissolvido nos nove tempos amostrais independente do tipo de tratamento realizado

Tempo	Cu
Tempo 1	0,0124444a
Tempo 7	0,0070000b
Tempo 6	0,0051111b
Tempo 2	0,0051111b
Tempo 3	0,0047778b
Tempo 9	0,0046667b
Tempo 5	0,0038889b
Tempo 8	0,0035556b
Tempo 4	0,0035556b

A figura 5 apresenta a concentração do Zn nos microcosmos Controle, nHAp e PLGA e a razão da concentração do Zn em relação ao controle, em presença de nHAp e da PLGA. Com relação aos teores de Zn em solução, a maior variação observada, ocorreu próximo às 50 h de experimento quando a concentração do Zn no Controle e na presença da nHAp apresentou um pico (0,057 mg.L<sup>-1</sup> e 0,084 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente). No decorrer do experimento, as concentrações variaram entre 0,006 e 0,018 mg.L<sup>-1</sup> no Controle e 0,008 e 0,024 mg.L<sup>-1</sup> na presença da nHAp (Figura 5a). O comportamento do Zn dissolvido na presença de PLGA não teve grandes variações ao longo do tempo, com valores oscilando entre 0,006 e 0,022 mg.L<sup>-1</sup>. Os valores de concentração observados no experimento, são compatíveis com os valores 0,00005 - 0,06 mg.L<sup>-1</sup>, reportados para Zn no Canal do Cunha [37], indicando que as condições experimentais não modificaram ao longo do tempo de observação reproduzindo satisfatoriamente as condições *in situ*.

A figura 5b apresenta a razão entre as concentrações de Zn dissolvido na presença das nanopartículas em relação ao controle. De acordo com esta figura, foram observadas razões entre as concentrações cerca de três vezes maiores que o controle, com a adição das nanopartículas. Estes máximos foram atingidos em torno das 48 h (3,3 e 3,1), retornando em 74 h (1,2 e 1,4) para as razões PLGA/Controle e nHAp/Controle respectivamente. Este comportamento foi semelhante ao observado para o Cu.

**Figura 5:** Concentração do Zn dissolvido nos microcosmos Controle, nHAp e PLGA (a) e Razão da concentração do Zn na presença de nHAp e PLGA em relação ao controle (b).



Na tabela 6 estão reportados os resultados da análise de variância dos efeitos principais e interação para o Zn. Assim como observado para o Cu, este resultado também evidencia que a diferença não foi significativa entre os tratamentos (Fator A), entretanto ocorreu a significância para

o fator tempo (Fator B) na concentração do Zn. A interação entre estes fatores também não foi significativa. A tabela 7 indica que somente nos tempos de 49,5 (Tempo 7) e 73,5 h (Tempo 8) o teor de Zn foi significativamente maior ( $P < 5\%$ ) e diferente do Zn determinado nos outros tempos, confirmando os picos observados na figura 5b.

**Tabela 6:** Análise de Variância para os dados transformados [raiz (X+1)] de Zn dissolvido

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Efeito Fator A	2	0,0002006173	0,0001003086	0,83NS	0,4400
Efeito Fator B	8	0,0058739506	0,0007342438	6,10**	< 0,0001
Efeito Interação AxB	16	0,0016173827	0,0001010864	0,84NS	0,6367
Tratamentos	26	0,0076919506	-	-	
Resíduo	54	0,0064986667	0,0001203457	-	
Total	80	0,0141906173	-	-	

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste-F. NS: não significativo.

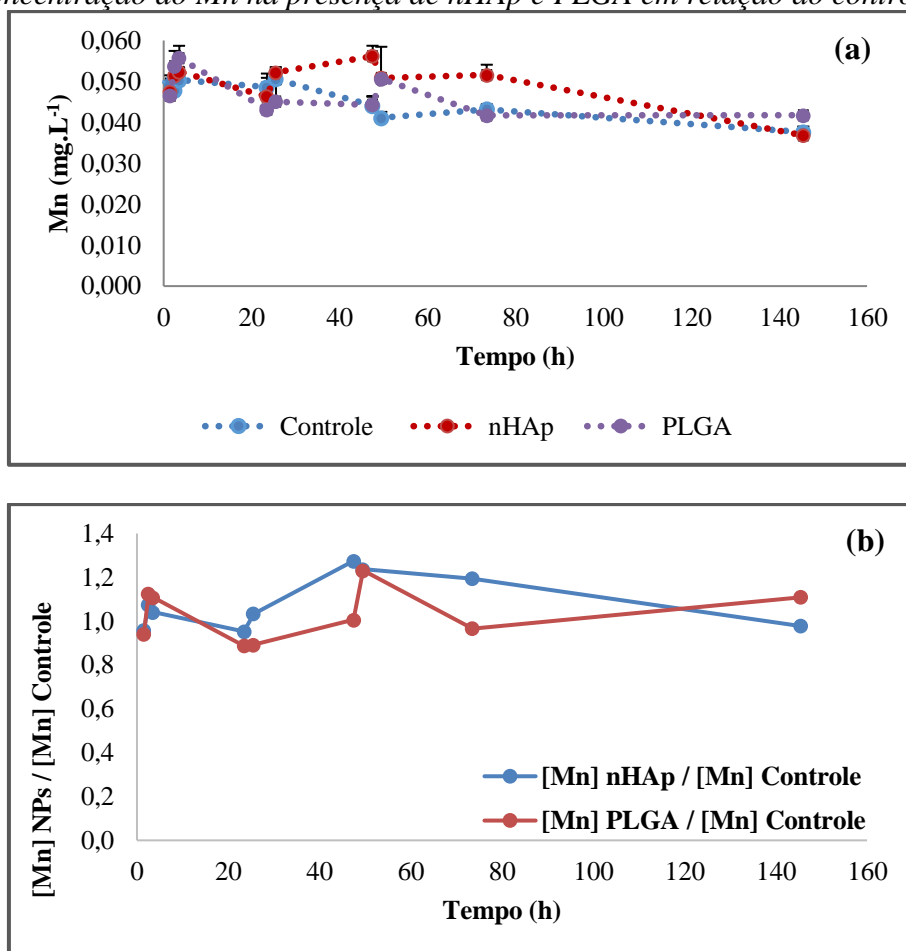
**Tabela 7:** Resultado do teste de médias de Scott e Knott ( $P < 5\%$ ) para os valores encontrados de Zn dissolvido nos nove tempos amostrais independente do tipo de tratamento realizado

Tempo	Zn
Tempo 7	0,0587778a
Tempo 8	0,0438889a
Tempo 1	0,0241111b
Tempo 3	0,0131111b
Tempo 2	0,0128889b
Tempo 9	0,0125556b
Tempo 6	0,0121111b
Tempo 4	0,0068889b
Tempo 5	0,0046667b

Com relação ao Mn dissolvido, não foram observadas variações significativas nas concentrações ao longo do tempo nos três sistemas com valores oscilando entre 0,04 e 0,06 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 6a).

A figura 6b apresenta a razão entre as concentrações de Mn dissolvido na presença das nanopartículas em relação ao controle. De acordo com esta figura, também não houve grandes variações, com valores oscilando entre (1,0 e 1,2) ao longo do tempo tanto para a razão PLGA/Controle quanto para a razão nHAp/Controle corroborando com os resultados da análise estatística.

**Figura 6:** Concentração do Mn dissolvido nos microcosmos Controle, nHAp e PLGA (a) e Razão da concentração do Mn na presença de nHAp e PLGA em relação ao controle (b).



A análise de variância para efeitos dos fatores A (tratamentos) e B (tempo) reportados na tabela 8 confirmaram que não houve significância em nenhum dos fatores e na interação na concentração do Mn. Uma vez que o teste de variância (F) não foi significativo em nenhum dos casos, o teste de médias de Scott e Knott não foi aplicado.



**Tabela 8:** Análise de Variância para os dados transformados [raiz (X+1)] de Mn dissolvido

<b>Causas de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Efeito Fator A	2	0,0003308889	0,0001654444	0,49NS	0,6152
Efeito Fator B	8	0,0031297778	0,0003912222	1,16NS	0,3406
Efeito Interação AxB	16	0,0055248889	0,0003453056	1,02NS	0,4484
Tratamentos	26	0,0089855556	-	-	
Resíduo	54	0,0182253333	0,0003375062	-	
Total	80	0,0272108889	-	-	

Em estudo anterior, reproduzindo-se as condições da Lagoa de Juturnaíba (RJ), também realizado em microcosmos [24], observou-se que a nHAp teve impacto sobre o comportamento do Zn e Cu, atuando como um captador destes metais e, conseqüentemente, aumentando a precipitação dos complexos formados pela nHAp, Zn e Cu no sedimento, no entanto este efeito foi minimizado pela acidificação do meio e/ou pelo aporte de ácidos húmicos no sistema. O comportamento de Cu e Zn neste estudo não evidenciou o efeito das nanopartículas testadas, o que pode ser atribuído ao elevado grau de degradação (níveis baixos ou ausentes de oxigênio dissolvido), visto que materiais orgânicos minimizam os processos de adsorção esperados para esses nanomateriais sobre metais [24], mascarando o efeito das mesmas nas concentrações testadas tanto no atual sistema (Canal do Cunha) quanto no sistema anterior (Lagoa de Juturnaíba), que foram idênticas para ambos os experimentos.

A tabela 9 apresenta as concentrações de DBO e OD reportadas na literatura para a Lagoa de Juturnaíba (ambiente aquático lântico), para o Canal do Cunha (ambiente aquático costeiro com nível avançado de degradação da qualidade ambiental) e os valores limites estabelecidos pela Resolução 357/2005 do CONAMA. Com base nos valores encontrados na literatura para o Canal do Cunha, foi possível confirmar as condições de hipóxia e anóxia, que são características de corpos de água que recebem grandes cargas orgânicas. Uma vez que o oxigênio dissolvido é rapidamente consumido pelos microrganismos aquáticos que degradam a matéria orgânica, ocorre o desequilíbrio do ecossistema favorecendo o aumento da atividade microbiológica observada através da formação da emulsão.

**Tabela 9:** Concentrações de DBO e OD reportadas na literatura para a Lagoa de Juturnaíba e Canal do Cunha

Autor	Local	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	DBO (mg.L <sup>-1</sup> )	Referência
Almeida (2016)	Lagoa de Juturnaíba	6,10	-	[31]
Silva et al.(2017)	Lagoa de Juturnaíba	6,10	-	[24]
Morais et al. (2017)	Lagoa de Juturnaíba	6,16	-	[39]
INEA (2017)	Lagoa de Juturnaíba	6,4	2,0	[40]
CONAMA 357/05 – Água Doce Classe 2	-	≥ 5,0	≤ 5,0	[41]
Borges et al. (2016)	Canal do Cunha	0,23 (1998-2003) 0,35 (2004-2011)	-	[29]
Kaufmann (2009)	Canal do Cunha	0,2	30	[26]
INEA (2017)	Canal do Cunha	0	32 – 40	[27]
CONAMA 357/05 – Água Salina Classe 3	-	≥ 4	-	[41]

#### 4. CONCLUSÃO

Os nanomateriais testados não apresentaram diferenças significativas entre si no comportamento dos metais dissolvidos (Cu, Zn e Mn).

O elevado grau de degradação orgânica no Canal do Cunha (níveis baixos ou ausentes de oxigênio dissolvido) parece justificar a ausência de impacto dos nanomateriais sobre o comportamento químico do Cu, Zn e Mn presentes no sistema, confirmando estudos anteriores nos quais o impacto observado da nanohidroxiapatita nos processos de adsorção de metais dissolvidos foram minimizados pela adição de compostos orgânicos (ácidos húmicos) em um sistema lântico não degradado (Lagoa de Juturnaíba).

#### REFERENCIAS

- [1] Silva, F.M.R., *Desenvolvimento e avaliação de nano-hidroxiapatita dopada com Holmio-166 para terapia do câncer ósseo*. 2015, Instituto de Engenharia Nuclear: Rio de Janeiro - Brasil.
- [2] Calzoni, E., et al., *Biocompatible Polymer Nanoparticles for Drug Delivery Applications in Cancer and Neurodegenerative Disorder Therapies*. **Journal of functional biomaterials**, 2019. 10(1): p. 4.
- [3] Villanova, J.C.O., R.L. Oréfica, and A.S. Cunha, *Aplicações farmacêuticas de polímeros*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 2010. 20: p. 51-64.

- [4] dos Santos, S.N., et al., *Anti-inflammatory/infection PLA nanoparticles labeled with technetium 99m for in vivo imaging*. **Journal of Nanoparticle Research**, 2017. 19(10): p. 345.
- [5] Shenoy, D.B. and M.M. Amiji, *Poly(ethylene oxide)-modified poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles for targeted delivery of tamoxifen in breast cancer*. **Int J Pharm**, 2005. 293(1-2): p. 261-70.
- [6] Costa, A.C.F.M.L., M. G.; Lima, L. H. M. A.; Cordeiro, V. V.; Viana, K. M. S.; Souza, C.V.; Lira, H. L., *Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações*, in *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*. 2009. p. 29-38.
- [7] Mondal, S., S.V. Dorozhkin, and U. Pal, *Recent progress on fabrication and drug delivery applications of nanostructured hydroxyapatite*. **Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol**, 2017.
- [8] Colvin, V.L., *The potential environmental impact of engineered nanomaterials*. **Nat Biotech**, 2003. 21(10): p. 1166-1170.
- [9] Colvin, V., *Sustainability for Nanotechnology*. **The Scientist**, 2004. 18: p. 26ff.
- [10] Dowling, A.P., *Development of nanotechnologies*. **Materials Today**, 2004. 7(12, Supplement): p. 30-35.
- [11] Howard, C., *Small particles–big problems*. **Int Lab News**, 2004. 34(2): p. 28-29.
- [12] Royal Society & Royal Academy of Engineering, *Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties*. 2004, Royal Society.
- [13] da Silva, E.A.B., et al., *Water Remediation Using Calcium Phosphate Derived From Marine Residues*. **Water, Air, & Soil Pollution**, 2012. 223(3): p. 989-1003.
- [14] Liang, X., et al., *In situ field-scale remediation of Cd polluted paddy soil using sepiolite and palygorskite*. **Geoderma**, 2014. 235-236: p. 9-18.
- [15] Olga, B.K., et al., *Nanoparticle Metal Oxides for Chlorocarbon and Organophosphate Remediation, in Environmental Applications of Nanomaterials*. 2007, Imperial College Press. p. 3-24.
- [16] Yang, Z., et al., *In situ remediation and phytotoxicity assessment of lead-contaminated soil by biochar-supported nHAP*. **Journal of Environmental Management**, 2016. 182: p. 247-251.
- [17] Zubair, M., et al., *Recent progress in layered double hydroxides (LDH)-containing hybrids as adsorbents for water remediation*. **Applied Clay Science**, 2017. 143: p. 279-292.
- [18] Moore, M., *Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment?* **Environment international**, 2006. 32(8): p. 967-976.
- [19] Daughton, C.G., *Non-regulated water contaminants: emerging research*. **Environmental Impact Assessment Review**, 2004. 24(7–8): p. 711-732.
- [20] Handy, R.D., R. Owen, and E. Valsami-Jones, *The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs*. **Ecotoxicology**, 2008. 17(5): p. 315-25.
- [21] Handy, R.D., et al., *The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles*. **Ecotoxicology**, 2008. 17(4): p. 287-314.
- [22] Cerrillo, C., et al., *Key challenges for nanotechnology: Standardization of ecotoxicity testing*. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, 2017. 35(2): p. 104-126.
- [23] Batley, G.E., J.K. Kirby, and M.J. McLaughlin, *Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments*. **Acc Chem Res**, 2013. 46(3): p. 854-62.

- [24] Silva, M.M., et al., *The effect of nanohydroxyapatite on the behavior of metals in a microcosm simulating a lentic environment*. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 2017. 8(Supplement C): p. 219-227.
- [25] INEA, **RESOLUÇÃO CERHI-RJ Nº 107**. 2013: Rio de Janeiro.
- [26] Kaufmann, C.L.G., *Estudo Hidrodinâmico e de Qualidade de Água após Revitalização da Circulação do Canal do Fundão, Baía de Guanabara, RJ*, in COPPE. 2009, Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ). p. 150p.
- [27] INEA, **Boletim Consolidado de Qualidade das águas da Região Hidrográfica V- Baía de Guanabara**. 2017: Rio de Janeiro.
- [28] Barrocas, P. and J. Wasserman, *O mercúrio na Baía de Guanabara: Uma revisão histórica*. **Geochimica Brasiliensis**, 2011. 9(2): p. 115-127.
- [29] Borges, R.C. and V.G. Caldas, *A review of use of GIS for the evaluation of heavy metal and water quality parameters in the Canal do Cunha watershed and west of the Guanabara Bay*. **Journal of Sedimentary Environments**, 2016. 1(2): p. 275-285.
- [30] de Carvalho Aguiar, V.M., et al., *Ecological risks of trace metals in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil: An index analysis approach*. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2016. 133: p. 306-315.
- [31] Almeida, A.M., *Avaliações de Resíduos de Estações de Tratamento de Água em Reservatório: Distribuição e Mobilidade de Metais em Sedimentos Adjacentes*, in Rede UFF de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. 2016, Federal Fluminense University: Niterói. p. 146.
- [32] da Silva, F.M.R., et al., *Nano-Hydroxyapatite Doped with Ho-166 as Drug Delivery System for Bone Cancer Therapy*. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, 2015.
- [33] Jardim, W.F., *Measurement and interpretation of redox potential values (EH) in environmental matrices*. **Química Nova**, 2014. 37(7): p. 1233-1235.
- [34] Fernandez, G.C.J., *Residual Analysis and Data Transformations: Important Tools in Statistical Analysis*. **HortScience**, 1992. 27: p. 297-300.
- [35] BARBOSA, J.C., MALDONADO JUNIOR, W., **AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. 2015, Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p.
- [36] Wasserman, J.C., *Relationships between nutrients and macroalgal biomass in a brazilian coastal lagoon: the impact of a lock construction AU - Cunha, Leticia Cotrim da*. **Chemistry and Ecology**, 2003. 19(4): p. 283-298.
- [37] Borges, R.C., et al., *Use of GIS for the evaluation of heavy metal contamination in the Cunha Canal watershed and west of the Guanabara Bay, Rio de Janeiro, RJ*. **Marine Pollution Bulletin**, 2014. 89(1): p. 75-84.
- [38] GOMES, F.P., *A estatística moderna na pesquisa agropecuária*. 1984: Piracicaba: Potafos. 162p.
- [39] Morais, M.R.D.d., M. Oliveira, and V.D.P. Oliveira, *Impacto da ação antrópica na qualidade da água da represa de Juturnaíba – Silva Jardim/RJ*. Vol. 10. 2017. 201.
- [40] INEA, **Boletim Consolidado de Qualidade das águas da Região Hidrográfica VI- Baía de Guanabara**. 2017: Rio de Janeiro.
- [41] CONAMA, **RESOLUÇÃO Nº 357/2005**. 2005, Publicada no DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63.