



## EXPOSIÇÃO AGUDA DE PEIXES *Piaractus mesopotamicus* A NANO-TiO<sub>2</sub> E RADIAÇÃO UV

Zaira Clemente<sup>1</sup>, Vera L. S. S. Castro<sup>1</sup>, Claudio M. Jonsson<sup>1</sup>, Leonardo F. Fraceto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança, Embrapa Meio Ambiente (CNPMA), Jaguariúna, SP.

<sup>2</sup> Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Sorocaba, SP.

e-mail de contato: zairaclemente@hotmail.com

**Projeto Componente: PC6**

**Plano de Ação: PA6**

### Resumo

As diversas propriedades das nanopartículas de dióxido de titânio (nano-TiO<sub>2</sub>) devem ser consideradas na avaliação da sua ecotoxicidade. Este estudo buscou avaliar os efeitos da co-exposição de peixes ao nano-TiO<sub>2</sub> e a radiação ultravioleta a níveis ambientais. Peixes foram expostos durante 96h a 0, 1, 10 ou 100 mg/L de nano-TiO<sub>2</sub>, sob duas diferentes condições de iluminação. Ao final do período de exposição foram analisados os biomarcadores bioquímicos atividade específica de catalase, superóxido dismutase, glutathione S-transferase, fosfatase ácida, lipoperoxidação e carbonilação de proteínas no fígado dos animais. Nas condições testadas, não foram observados efeitos tóxicos do nano-TiO<sub>2</sub> nos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** nano-TiO<sub>2</sub>, ultravioleta, peixes, biomarcadores, nanoecotoxicologia.

### Introdução

Estudos sobre o potencial risco ecotoxicológico das nanopartículas de titânio (nano-TiO<sub>2</sub>) têm sido publicados, mas os resultados são ainda inconclusivos. As propriedades dos diversos nano-TiO<sub>2</sub> devem ser consideradas para estabelecer modelos experimentais que permitam avaliar melhor sua toxicidade. O TiO<sub>2</sub> tem importantes propriedades fotocatalíticas e sua fotoativação ocorre na faixa de 300-388nm, que corresponde à faixa do ultravioleta [1].

Em condições naturais, os organismos aquáticos estão expostos a diversos fatores que não são incluídos nos bioensaios laboratoriais, como a radiação solar; composta por luz visível, radiação ultravioleta e infravermelho [2]. As propriedades fotocatalíticas do nano-TiO<sub>2</sub> podem elevar seus efeitos tóxicos a organismos aquáticos em

condições ambientais, e poucos estudos até agora têm considerado isso [3].

Este estudo tem por objetivo obter informações sobre os potenciais riscos ecotoxicológicos do nano-TiO<sub>2</sub> estabelecendo para isso um modelo experimental de avaliação da sua toxicidade em uma espécie de peixe nativa, mantida sob diferentes condições de iluminação.

### Materiais e métodos

Peixes juvenis (n=8) da espécie pacu caranha (*Piaractus mesopotamicus*) foram expostos durante 96h a diferentes concentrações de nano-TiO<sub>2</sub> Sigma Aldrich 25nm 100% anatase (0, 1, 10 e 100 mg/L) e sob duas diferentes condições de radiação (luz visível e/ou ultravioleta). As soluções de exposição foram totalmente renovadas a cada 24h, e foram preparadas a partir de uma solução de nano-TiO<sub>2</sub> em água (1 g/L), sonicada durante 10 min (150 W/L



Sonicador Cole Parmer 600 W, amplitude 100%). Para estabelecimento da radiação ultravioleta (UV) em laboratório, foram utilizadas quatro lâmpadas UVA340 Q-Panel. Os animais não foram alimentados durante o bioensaio, e foram submetidos a um ciclo claro-escuro de 12h. A exposição à UV, nos grupos correspondentes, ocorreu durante o período claro. Medidas da radiação solar em ambiente externo e em laboratório foram feitas através do espectroradiômetro Ocean Optics USB 2000+RAD.

Foram realizadas medidas de tamanho, polidispersão (pdi) e potencial zeta (PZ) do nano-TiO<sub>2</sub> na água de exposição através do método de Espalhamento Dinâmico de Luz (Dynamic Light Scattering/ DLS - Zeta sizer Nano series, Malvern Instruments).

Ao final do período de exposição, os peixes foram anestesiados com benzocaína e eutanasiados. Foi coletado o fígado dos animais para análise dos biomarcadores bioquímicos: atividade específica de catalase [4], superóxido dismutase [5], glutathione S-transferase [6], fosfatase ácida [7], concentração de lipoperóxidos [8] e de proteínas carboniladas [9]. A concentração protéica nas amostras foi medida segundo o método de Bradford [10].

## Resultados e discussão

As características das nanopartículas em solução puderam ser medidas apenas na solução 100mg/L, devido ao limite de detecção do aparelho, e foram: 596.1 ± 38 nm, pdi 0.31 ± 0.09; PZ -19.2 ± 1 mV. O espectro da radiação nos grupos expostos a luz visível e UV foi de 300 a 610 nm, com um pico de irradiância em 340 nm, e a dose de exposição foi de 21,63 J/cm<sup>2</sup>/h de UVA e de 0,84 J/cm<sup>2</sup>/h de UVB na lâmina d'água. A dose de exposição a UV em laboratório foi próxima à dose de radiação UV solar em Jaguariúna (SP) em 16/05/2011 às 13h (22,83 J/cm<sup>2</sup>/h de UVA e 0,04 J/cm<sup>2</sup>/h de UVB).

Não ocorreu mortalidade de peixes em nenhum grupo nem foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos diversos biomarcadores bioquímicos analisados. Assim, nas condições experimentais testadas neste estudo, a CL<sub>50</sub> (Concentração Letal para 50% dos organismos expostos) de nano-TiO<sub>2</sub> Sigma Aldrich para *Piaractus mesopotamicus* foi >100mg/L, sendo que a OECD [11] não recomenda o teste de concentrações acima desta. Os resultados deste estudo corroboram com a literatura, que descreve baixa toxicidade aguda do nano-TiO<sub>2</sub> em peixes [12; 13; 14]. Por outro lado, nossos resultados discordam de outros trabalhos em que a co-

exposição ao nano-TiO<sub>2</sub> e UV aumentou a toxicidade em girinos e daphnia [15; 16; 17].

## Conclusões

O nano-TiO<sub>2</sub> não provocou toxicidade nem alteração aguda nos biomarcadores aqui testados em fígado de *Piaractus mesopotamicus*. A co-exposição a radiação ultravioleta em níveis ambientalmente relevantes não alterou os efeitos do nano-TiO<sub>2</sub> aos parâmetros analisados neste estudo. Outros biomarcadores e condições experimentais serão avaliados. Os resultados deste estudo contribuem no estabelecimento de protocolos de análise nanoecotoxicológica e na avaliação de risco do nano-TiO<sub>2</sub>.

## Agradecimentos

FAPESP, EMBRAPA, CNPq, FINEP, Fundunesp e pelo apoio financeiro. Programa Capes – Rede Nanobiotec - Brasil (Edital Capes 04/CII-2008) pela bolsa de doutorado (Zaira Clemente). Piscicultura Polettini pela doação dos peixes.

## Referências

1. R. F. P. Nogueira; W. F. Jardim. *Quím. Nova*, 1998, 21, 1, 69-72.
2. M. P. Correa. Dsc Theses, Universidade de São Paulo, 2003.
3. Z. Clemente; V.L. Castro; C.M. Jonsson; L.F. Fraceto. *Int. J. Environ. Res.*, 2012, 6, 1, 33-50.
4. H.Aebi. *Academic Press*, 1984, 105, 121-126.
5. H. Ukedo; S. Maeda; T. Ishii; M. Sawamura. *Anal. Biochem.*, 1997, 251, 206-209.
6. J. H. Keen; W. H. Habig; W. B. Jakoby. *J. Biol. Chem.*, 1976, 251, 6183-6188.
7. J.N. Prazeres; C.V. Ferreira; H. Aoyama. *Plant Physiol Bioch.*, 2004, 42, 15-20.
8. Z. Y. Jiang; J. V. Hunt; S. P. Wolf. *Anal. Biochem.*, 1992, 202, 384-389.
9. J. Sedlak; R. H. Lindsay. *Anal. Biochem.*, 1968, 25, 192-205.
10. M. Bradford. *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248-254.
11. OECD Guidelines for testing of Chemicals 204, 1992.
12. R. J. Griffitt; J. Luo; J. Gao; J.C. Bonzongo; D.S. Barber. *Environ Toxicol Chem*, 2008, 27, 9, 1972-1978.
13. R. J. Griffitt; K. Hyndman; N. D. Denslow; D. S. Barber. *Toxicol. Sci.*, 2009, 17, 2, 404-415.

- 14.D.B. Warheit; R.A Hoke; C. Finlay; E.M. Donner; K.L. Reed; C.M. Sayes. *Toxicol. Lett.*, 2007, *171*, 99-110.
- 15.K.Hund-Rinke; M. Simon. *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2006, *13*, 225-232.
- 16.G.P.S. Marcone; A.C. Oliveira; G.Almeida; G.A. Umbuzeiro; W.F Jardim in Anais do V Encontro Nacional de Química Ambiental 2010, Estância de São Pedro, 2010, 77.
- 17.J. Zhang; M. Wages; S.B. Cox; J.D. Maul; Y. Li; M.Barnes; L.Hope-Weeks; G. Cobb. *Environ Toxicol Chem*, 2012, *31*, 1, 176-183.
-

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

## **REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

### **ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012**

Maria Alice Martins  
Morsyleide de Freitas Rosa  
Men de Sá Moreira de Souza Filho  
Nicodemus Moreira dos Santos Junior  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Fortaleza, CE  
2012



**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452,  
CEP 13560-970 – São Carlos, SP  
Fone: (16) 2107-2800  
Fax: (16) 2107-2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Embrapa Agroindústria Tropical**

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,  
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
<http://www.cnpat.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpat.embrapa.br](mailto:sac@cnpat.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.  
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

**Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical**

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama  
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação na publicação.**

**Embrapa Instrumentação**

---

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.