

## AVALIAÇÃO DA NANOTOXICIDADE DE NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE ZINCO VISANDO APLICAÇÃO EM FERTILIZANTES

Flávia Fontes Pereira<sup>1,2</sup>; Elaine Cristina Paris<sup>1</sup>; Marcos David Ferreira<sup>1,2</sup>; Daniel Souza Corrêa<sup>1,2</sup>;

<sup>1</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil.

e-mail: [flabio08@gmail.com](mailto:flabio08@gmail.com)

**Classificação:** Cenário e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

### Resumo

O estudo tem por objetivo sintetizar e caracterizar óxido de zinco nanoestruturado visando aplicação como nanofertilizante e avaliar a nanotoxicidade ambiental utilizando como organismo-teste a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. As nanopartículas de ZnO foram sintetizadas pelo método de Coprecipitação seguida de Hidrotermalização pelos períodos de 30 minutos e 2 horas a 150 °C. Após caracterização estrutural e morfológica das nanopartículas de ZnO, bioensaios de nanotoxicidade foram realizados com duração de 96 horas. Os resultados mostraram que o crescimento algáceo foi inibido de forma bastante acentuada para todos os diferentes nanofertilizantes de ZnO quando comparados com as respectivas amostras controles. Mesmo com as possíveis variações nas concentrações, na morfologia e no tamanho das partículas foi evidente a pronunciada toxicidade para as microalgas.

**Palavras-chave:** Nanoestruturas; Fertilizante; Óxido de zinco; Nanotoxicidade; Microalgas.

### EVALUATION OF THE NANOTOXICITY OF ZINC OXID NANOESTRUTURES WITH APPLICATION FOR FERTILIZER

#### Abstract

The study aims to synthesize and characterize zinc oxide nanostructures aiming at application as nanofertilizers and to evaluate its environmental nanotoxicity using as test organism the microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. ZnO nanoparticles were synthesized by co-precipitation method and hydrothermalization followed by 30 minutes and 2 hours at 150°C. After structural and morphological characterization of the ZnO nanoparticles, bioassays of nanotoxicity were carried during of 96 hours. The results showed that the algal growth was strongly inhibited for all the different ZnO concentrations when compared with the respective control samples. Even with the possible variations in concentrations, morphology and particle size, pronounced toxicity to microalgae was evident.

**Keywords:** Nanostructures; Fertilizer; Zinc oxid; Nanotoxicity; Microalgae.

### 1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da pesquisa e atividades industriais relacionadas aos nanomateriais surgiu a preocupação sobre a possibilidade da entrada destes materiais no meio ambiente, ocasionando impacto final para a biota. Quando inseridos no ambiente natural, os nanomateriais sofrem alterações no tamanho da partícula, na forma, na carga de superfície e no controle crítico da biodisponibilidade (BATLEY; KIRBY; MCLAUGHLIN, 2013). Estrutura, composição, concentrações, solubilidade e maior área superficial influenciam na toxicidade de nanopartículas (GUZMÁN; TAYLOR; BANFIELD, 2006).

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) que podem atuar como fertilizante nanoestruturado são uma alternativa promissora para substituir os fertilizantes convencionais uma vez que apresentam inúmeras vantagens, dentre elas, regular a liberação de nutrientes, além de serem mais eficientes que os adubos convencionais, amenizarem a produção de resíduos, e consequentemente os custos de proteção ambiental (TARAFDAR; SHARMA; RALIYA, 2013).

A toxicidade nos recursos hídricos é consideravelmente mais vulnerável à contaminação por nanomateriais, apresentando grande potencial tóxico, especialmente para as microalgas (Gong et al. (2011). Aruoja (2011) relatam que as microalgas são de grande importância ecológica como produtores primários na cadeia trófica aquática. Portanto, a presente pesquisa tem por objetivo sintetizar, caracterizar o ZnO nanoestruturado como nanofertilizante e investigar em sua totalidade o seu comportamento quando disposta no ambiente aquático e os efeitos tóxicos gerados para a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

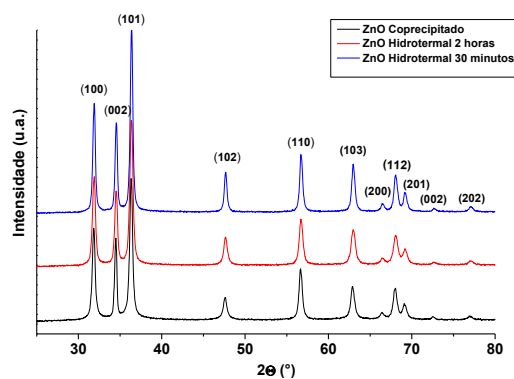
As nanopartículas de ZnO foram obtidas empregando-se o método de Coprecipitação por via úmida. Desta maneira, foram preparadas suspensões para três sínteses de ZnO puro, nas quais foram solubilizados 5,47g de nitrato de zinco ( $Zn(NO_3)_2$ ) e 4g de hidróxido de sódio (NaOH), em água Milli-Q. A solução de NaOH foi misturada à solução de ( $Zn(NO_3)_2$ ) até formar um precipitado branco, a temperatura ambiente e agitação constante, mantendo o pH final na faixa entre 12 a 14. O precipitado de uma das sínteses foi acondicionado em placa de Petri e seco em estufa a vácuo (marca Nova Ética) a 60 °C. Já os produtos das outras duas sínteses de ZnO via método coprecipitação foram tratados pelo método hidrotermal, nos períodos de 30 minutos e 2 horas, objetivando definir a cristalinidade e a morfologia para os diferentes nanofertilizantes.

Para os dois tratamentos hidrotérmicos das nanopartículas de ZnO puro, os precipitados brancos obtidos foram transferidos para o copo de Teflon de 100mL e levado ao reator hidrotermal e mantidos a uma temperatura de 150 °C por 30 minutos e 2 horas, respectivamente. As amostras foram acondicionadas em placas de Petri para secagem em estufa a uma temperatura de 60 °C. A caracterização estrutural e morfológica do ZnO foi realizada pela técnica de difração de raios X (DRX), utilizando um difratômetro da Shimadzu, modelo XRD-6000, sendo as condições operacionais com ângulo variando de 5° a 80° (2 $\theta$ ) e velocidade de 1°/min, e através da microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) em um microscópio JEOL, modelo JSM-6701F, respectivamente.

Bioensaios de nanotoxicidade com a microalga *P. subcapitata* foram realizados para amostras de ZnO Coprecipitada e ZnO Hidrotermais 30 minutos e 2 horas no período de 96 horas. As concentrações iniciais de nanofertilizantes utilizadas para os bioensaios foram 10 mg L<sup>-1</sup>, 25 mg L<sup>-1</sup>, 50 mg L<sup>-1</sup>, 100 mg L<sup>-1</sup> e 200 mg L<sup>-1</sup>. A norma utilizada foi a preconizada pela OECD, 2011.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

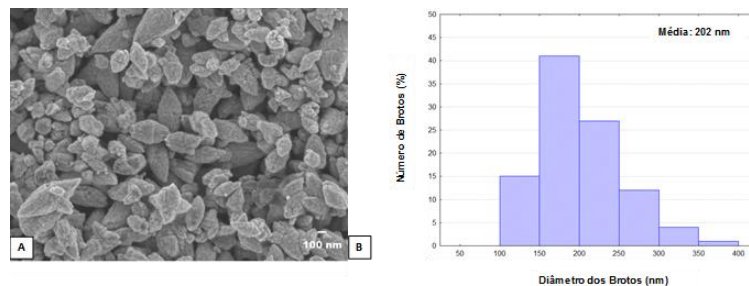
A Figura 1 apresenta os difratogramas das nanopartículas de ZnO Coprecipitado, ZnO Hidrotermal 30 minutos e ZnO Hidrotermal 2 horas, respectivamente. Pode-se observar nos difratogramas de raios X das amostras sintetizadas que houve a formação de ZnO monofásico com estrutura hexagonal de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) n°36-1451. Os picos cristalográficos obtidos estão relacionados à célula unitária hexagonal do tipo wurtzita, com grupo espacial *P63mc* (186).



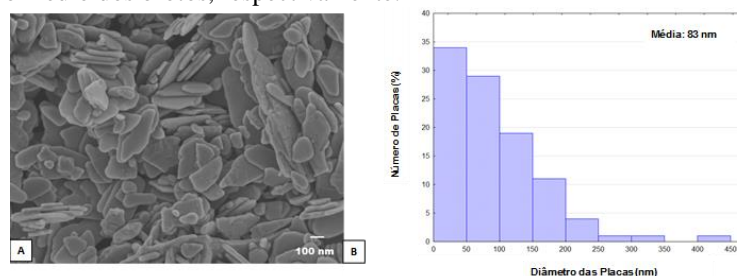
**Figura 1.** Difratogramas de raios X das amostras de ZnO Coprecipitada e Hidrotermais nos períodos de 30 minutos e 2 horas, respectivamente.

Todos os picos de difração estão bem definidos, indicando a formação da fase cristalina. Esse resultado indica que o ZnO pode ser obtido facilmente em curto tempo pelo método hidrotermal. As estruturas cristalográficas para o ZnO obtidas nos trabalhos de Libanori (2011) e Quirino et al. (2014) foram bastante similares às encontradas neste estudo. Da mesma forma, a análise deste estudo corroborou com os picos cristalográficos encontrados nas amostras do trabalho de Feltrin (2010).

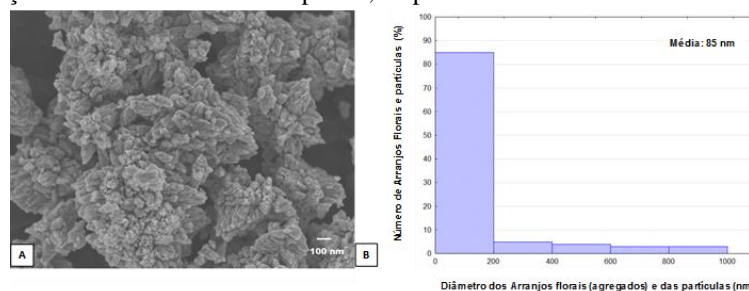
As Figuras 2 (A,B), 3 (A,B) e 4 (A,B) apresentam as morfologias obtidas para as diferentes sínteses de ZnO.



**Figura 2 (A, B)** - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Coprecipitado e o histograma de distribuição do diâmetro médio dos brotos, respectivamente.



**Figura 3 (A, B)** - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Hidrotermal por 30 minutos e o histograma de distribuição do diâmetro médio das placas, respectivamente.



**Figura 4 (A, B)** - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Hidrotermal por 2 horas e o histograma de distribuição do diâmetro médio dos arranjos florais (agregados de partículas) e das partículas, respectivamente.

De um modo geral, as micrografias acima evidenciaram formação de aglomerados/agregados de brotos (Figura 2A), placas (Figura 3A) e arranjos florais (Figura 4A). Para a morfologia de brotos foi possível notar várias nanopartículas aderidas entre si, assim como na morfologia de arranjos florais, os quais são formados por agregados de facetas florais. A morfologia em arranjos florais indica um estágio intermediário entre a formação de brotos coprecipitados e nanoplacas hidrotermais (MOTOC et al., 2015). As variações de tamanho e morfologia observadas são oriundas do fato das sínteses serem realizadas em meio básico, no qual os processos de solubilização/recristalização ocorreram em tempos diferentes ao longo do processo hidrotérmico (LIBANORI, 2011).

Os bioensaios revelaram elevada toxicidade de todas os nanofertilizantes sintetizados para a microalga *P. subcapitata*, não sendo possível calcular os valores de 96h-IC50 e avaliar o comportamento da velocidade do crescimento algáceo devido à dificuldade em realizar os ajustes por regressão linear. Estudos com nanopartículas de óxido de cobre (CuO), óxido de zinco (ZnO), óxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e óxido de silício (SiO<sub>2</sub>) têm comprovado o quanto são tóxicas para as células de *P. subcapitata*, assim como para as demais espécies de microalgas (CLÉMENT; HUREL; MARMIER, 2013; MACHADO; SOARES, 2014).

