



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS ERECHIM
ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA**

CAROLINE DELAZERI BETTIO

**EFEITOS DE TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA
ESPÉCIES DE MICROALGAS MARINHAS E DULCÍCOLAS: UMA REVISÃO**

ERECHIM

2020

CAROLINE DELAZERI BETTIO

**EFEITOS DE TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA
ESPÉCIES DE MICROALGAS MARINHAS E DULCÍCOLAS: UMA REVISÃO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado na
Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Funghetto
Fuzinatto

ERECHIM

2020

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Bettio, Caroline Delazeri

Efeitos de Toxicidade de Nanopartículas Metálicas para Espécies de Microalgas Marinhas e Dulcícolas: Uma Revisão / Caroline Delazeri Bettio. -- 2020.

47 f.

Orientadora: Doutora em Engenharia Ambiental
Cristiane Funghetto Fuzinato

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária,
Erechim, RS, 2020.

1. Nanopartículas metálicas. 2. Toxicidade. 3.
Microalgas. 4. Ecossistema aquático. I. Fuzinato,
Cristiane Funghetto, orient. II. Universidade Federal da
Fronteira Sul. III. Título.

CAROLINE DELAZERI BETTIO

EFEITOS DE TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA ESPÉCIES
DE MICROALGAS MARINHAS E DULCÍCOLAS: UMA REVISÃO

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção de
grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e
Sanitária da Universidade Federal da Fronteira
Sul.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 21/12/2020

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Funghetto Fuzinatto
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Marilia Teresinha Hartmann

Prof^ª. Dr^ª. Helen Treichel

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por ser sempre minha força e meu guia.

Aos meus pais, Neive e Romeu Bettio, assim como minha irmã, Juliane, por sempre estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis. Vocês são a minha base. Amo muito vocês!

Ao meu namorado, Mateus Valandro, que nunca mediu esforços pra me ver feliz. Por todo amor e carinho destinados a mim durante todos esses anos e por ser sempre tão paciente e compreensivo.

A todos os amigos que fiz durante o período de graduação, em especial, ao Gabriel Tochetto, Felipe Paris e Arthur Colling, sem os quais os dias não teriam a menor graça. Agradeço por sempre estarem presentes, por ouvirem as minhas angústias e também por compartilharem as alegrias. Nos dias difíceis vocês foram o incentivo necessário para continuar. Nossa amizade fez a rotina mais leve e divertida, fez os trabalhos em grupo serem uma alegria e nunca um problema. Foi um imenso prazer poder ter feito parte desse grupo que sempre foi muito mais que apenas um grupo de estudos. Vocês têm minha total admiração.

À Aline Kelb e Cristiane Tessaro que, mesmo com os empecilhos do caminho, sempre se mantiveram por perto, na medida do possível, torcendo e apoiando. Sou muito grata por ter conhecido vocês.

Às pesquisadoras do Laboratório de Qualidade da Água pelo auxílio nas atividades e pela amizade. Por sempre estarem dispostas a ajudar.

Ao corpo docente e técnicos pela assistência e conhecimento prestados.

À minha orientadora, Cristiane Fuzinato, pela paciência e amizade, por confiar no meu trabalho, às vezes mais do que eu mesma. Por me dar liberdade, mas também apoio e suporte.

À Universidade Federal da Fronteira Sul por ter me proporcionado essa experiência única e intensa de aprendizado.

RESUMO

Devido ao desenvolvimento e ampliação do uso dos nanomateriais, houve uma crescente preocupação com os potenciais riscos que a exposição a essas substâncias podem gerar aos sistemas biológicos e à saúde humana. Para avaliação desses efeitos, faz-se uso de testes toxicológicos onde expõe-se um organismo teste à diversas concentrações da substância de interesse. Nessa revisão os organismos avaliados foram espécies de microalgas, por serem elementos representativos do ecossistema aquático, de forma que, estando na base da cadeia trófica, servem de alimento para outros organismos. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo fornecer uma visão geral e abrangente da literatura sobre efeitos tóxicos de suspensões de nanopartículas metálicas de cobalto, prata e cobre sobre diversas espécies de microalgas, tanto de ambientes de água doce, quanto de água salgada, verificando como as características dessas substâncias podem interferir nos efeitos observados. Na literatura os efeitos descritos são os mais diversos, mas o principal deles é a inibição do crescimento. Dentre os mais citados também estão o estresse oxidativo, danos à estrutura da membrana plasmática e redução na eficiência fotossintética. Uma comparação entre os estudos foi realizada atentando-se aos resultados apresentados, bem como aos efeitos e particularidades de cada nanopartícula. Com isso, percebeu-se que, embora a grande maioria dos estudos destaque a importância de fazer a caracterização dessas substâncias, pouco se sabe a respeito da relação dessas propriedades sobre os efeitos observados. Como os resultados são muito variáveis e os estudos, na sua maioria, são mais restritos, verificou-se que as respostas obtidas para um estudo são válidas para aquele estudo em específico e sob aquelas condições, para aquela mesma espécie de microalga, pois, quaisquer variações no sistema, podem alterar significativamente a severidade dos efeitos, visto que as propriedades dessas substâncias atuam de forma conjunta formando, assim, algo bastante complexo. Porém, percebeu-se que alguns pontos são fundamentais e determinantes na toxicidade dessas substâncias químicas, tais como o tamanho da nanopartícula, os níveis de aglomeração e a quantidade de íons liberados. Por isso, concluiu-se que é extremamente necessário compreender a interação dessas nanopartículas com os organismos de forma integrada, em situações mais próximas da realidade, a fim de se determinar limites de concentração aceitáveis a serem depositadas nos recursos hídricos, reduzindo a poluição do ecossistema, bem como buscando evitar problemas a longo prazo.

Palavras-chave: Nanopartículas metálicas; Toxicidade; Microalgas; Ecossistema aquático.

ABSTRACT

Due to the development and expansion of the use of nanomaterials, there was a growing concern about the potential risks that exposure to these substances can generate to biological systems and human health. To assess these effects, toxicological tests are used where a test organism is exposed to different concentrations of the substance of interest. In this review, the organisms evaluated were microalgae species, as they are representative elements of the aquatic ecosystem, so that, being at the base of the food chain, they serve as food for other organisms. Thus, this work aimed to provide a general and comprehensive overview of the literature on the toxic effects of suspensions of metallic nanoparticles of cobalt, silver and copper on several species of microalgae, both in freshwater and saltwater environments, verifying how the characteristics of these substances can interfere with the observed effects. In the literature, the effects described are the most diverse, but the main one is the inhibition of growth. Among the most cited are also oxidative stress, damage to the structure of the plasma membrane and reduction in photosynthetic efficiency. A comparison between the studies was made taking into account the results presented, as well as the effects and particularities of each nanoparticle. With that, it was noticed that, although the great majority of studies highlight the importance of characterizing these substances, little is known about the relationship of these properties on the observed effects. As the results are very variable and the studies, for the most part, are more restricted, it was found that the answers obtained for a study are valid for that specific study and under those conditions, for that same species of microalgae, because any variations in the system, can significantly alter the severity of the effects, since the properties of these substances act together forming, thus, something quite complex. However, it was noticed that some points are fundamental and determinant in the toxicity of these chemical substances, such as the size of the nanoparticle, the levels of agglomeration and the amount of ions released. Therefore, it was concluded that it is extremely necessary to understand the interaction of these nanoparticles with the organisms in an integrated manner, in situations closer to reality, in order to determine acceptable concentration limits to be deposited in water resources, reducing the pollution of the ecosystem, as well as seeking to avoid long-term problems.

Keywords: Metal nanoparticles; Toxicity; Microalgae; Aquatic ecosystem.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 METODOLOGIA.....	12
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
3.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	13
3.2 NANOPARTÍCULAS	14
3.2.1 Cobalto	14
3.2.2 Prata	18
3.2.3 Cobre	31
3.3 INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS DAS NANOPARTÍCULAS, PRINCIPAIS EFEITOS OBSERVADOS E DIFERENÇAS ENTRE AS MICROALGAS MARINHAS E DULCÍCOLAS	38
4 PERCEPÇÕES E CONSIDERAÇÕES PERTINENTES	40
5 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência recente e multidisciplinar que estuda e desenvolve nanomateriais (NMs), de forma que, as consequências do crescimento do uso desses compostos e os efeitos gerados ao ambiente e aos organismos, devem ser avaliados (NICOLAS et al., 2013; TROUT; SCHULTE, 2010).

Embora tenha sido em 1959 que o físico Richard Feynman mencionou pela primeira vez a ampla oportunidade que os materiais apresentam quando suas dimensões são próximas ao nível atômico, cujos átomos poderiam ser manipulados para formarem arranjos de ordem nanométrica para, posteriormente, serem aplicados nos mais diversos fins (FEYNMAN, 1960; FERREIRA; RANGEL, 2009), foi só em 1974 que o termo nanotecnologia propriamente dito surgiu, cunhado pelo engenheiro e professor japonês, Norio Taniguchi, para descrever a fabricação de materiais (TANIGUCHI, 1974). Sua proposta central fundamenta-se na manipulação de átomos e moléculas com a finalidade de construir dispositivos que desempenhem novas funções, com precisão e eficiência, a um custo reduzido, explorando o limite natural que existe entre o comportamento individual e coletivo dessas substâncias, visto que os átomos são naturalmente abundantes (BATISTA, 2010; ROCO, 2011).

Associado ao desenvolvimento da nanotecnologia, houve o aumento tanto da produção quanto da utilização dos nanomateriais para as mais variadas aplicações, nos mais diversos setores, como na biomedicina, cosmética, têxtil, automobilístico e eletrônico, assim como de computação, dentre outros; com destaque ao setor industrial, acarretando em um significativo aumento da exposição humana a esses materiais que, até onde se sabe, tem-se uma escassez de conhecimento quanto seus níveis aceitáveis e possíveis consequências resultantes dessa exposição (LOURO; BORGES; SILVA, 2013).

Os nanomateriais, por sua vez, são definidos como corpos de dimensões nanométricas (10^{-9} m), constituídos de aglomerados de nanopartículas (NPs), cujas estruturas apresentam dimensão na faixa de 1 a 100 nanômetros (nm) (AHMED; CHAUDHRY; IKRAM, 2017). Seu comportamento pode diferir das propriedades usuais, tanto físicas quanto químicas, principalmente, no que se refere à reatividade química, resistência mecânica e comportamento sob ação da luz, graças ao seu tamanho, forma, composição, área superficial e pureza, visto que o fundamento da nanotecnologia consiste na mudança das propriedades das substâncias quando em escalas muito reduzidas (DURÁN et al., 2010; RANA, YADAV, JAGADEVAN, 2020), tornando os nanomateriais versáteis e multifuncionais (RANA, YADAV, JAGADEVAN, 2020).

O aumento expressivo do uso das nanopartículas voltadas à produção de nanomateriais de engenharia visando a sua aplicação em novos produtos de consumo tem aumentado na última década (SENDRA; BLASCO; ARAÚJO, 2018), ampliando assim a necessidade de ter-se maiores informações e esclarecimentos acerca dos seus impactos sobre o meio ambiente e os organismos.

Embora inúmeras sejam as vantagens e aplicações da nanotecnologia, há também aspectos dos nanomateriais que são considerados negativos, como é o caso da nanotoxicidade (GONZÁLEZ-BALLESTEROS; RODRÍGUEZ-ARGUELLES, 2020). Baseado nisso e com o intuito de compreender a interação dos nanomateriais com os sistemas biológicos é que surge a nanotoxicologia, uma subdivisão da toxicologia que pretende atuar como base para o desenvolvimento seguro e sustentável da nanotecnologia (ABDI, 2011; ZUCOLOTTI, 2010), cujo objetivo é avaliar os efeitos adversos aos seres humanos, animais e meio ambiente, oriundos da exposição dos nanomateriais aos sistemas biológicos (HOBSON; GUY, 2014).

Um dos métodos de avaliação dos efeitos quanto a toxicidade dessas substâncias nanométricas é a realização de testes ecotoxicológicos, ou bioensaios, em que torna-se possível, de fato, avaliar os efeitos nocivos desses compostos ao sistema biológico (KNIE; LOPES, 2004). São testes de toxicidade aquática que podem ser realizados em diversos organismos representativos do ecossistema aquático, podendo abranger diversos níveis da organização ecológica expondo-os à substâncias, efluentes industriais ou amostras ambientais, a fim de avaliar se os riscos oriundos da presença desses elementos tóxicos no ambiente (COSTA et al., 2008).

Os bioensaios foram desenvolvidos no século XIX, mas passaram a ser amplamente utilizados por órgãos ambientais no monitoramento da qualidade de águas e efluentes somente a partir dos anos 70, e, posteriormente, foram definidos métodos e organismos teste baseado em normas internacionais como DIN (Deutsches Institut für Normung) e ISO (International Organization for Standardization) (KNIE; LOPES, 2004).

Visto isso, entende-se ecotoxicologia como um ramo da toxicologia que revela, por meio de ensaios com matéria viva, efeitos agudos ou crônicos, produzidos por substâncias químicas, podendo então ser entendida como o estudo desses efeitos em uma população, comunidade e ecossistema, além de se preocupar com a prevenção, contenção ou tratamento dos danos causados (KNIE; LOPES, 2004; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Dessa forma, as análises de caráter ecotoxicológico têm a finalidade de saber se, e em qual grandeza, as substâncias químicas, tanto isoladamente quanto na forma de misturas, são nocivas, e a causa e o local onde se manifestam seus efeitos (KNIE; LOPES, 2004). Geralmente,

são avaliados os fenômenos de transporte, bem como a distribuição, transformação e destino final dos contaminantes (COSTA et al., 2008).

Como os organismos respondem de forma integral com reações específicas a todas as intervenções e perturbações causadas por substâncias nocivas e, em muitos dos organismos, as reações são nitidamente visíveis ou facilmente mensuráveis, os mesmos são habilitados a serem utilizados como sensores biológicos de medição de efeitos (KNIE; LOPES, 2004). Para isso, são utilizados organismos vivos que possuam as características desejáveis e que sejam representativos do nível trófico de estudo (TORTELLA et al., 2020), visto que, quando expostos à substâncias tóxicas, os organismos respondem com reações específicas a todas as intervenções, sejam elas diretas ou indiretas (KNIE; LOPES, 2004).

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).

Além de constituírem a base da cadeia alimentar aquática, as microalgas, por serem organismos bentônicos ou pelágicos, possuem um diferencial, já que conseguem associar-se ao substrato do meio aquático, estando imersas ou posicionadas sobre os sedimentos, o que as permite interagir com quaisquer tipos de materiais particulados, independente da densidade (DÉNIEL et al., 2019). Por esse motivo, as microalgas acabam tornando-se muito suscetíveis às nanopartículas, cuja interação pode interferir no seu crescimento/reprodução, estrutura e metabolismo (SENDRA; BLASCO; ARAÚJO, 2018).

Elas são organismos aquáticos, em sua maioria, que podem se fazer presentes tanto em água doce, salgada, estuarina ou hipersalina, assim como na superfície de solos úmidos ou rochas (GONZÁLEZ-BALLESTEROS; RODRÍGUEZ-ARGUELLES, 2020). Além disso, são organismos fotossintéticos e eucariontes, que atuam como uma importantíssima fonte de oxigênio, fazendo parte, algumas delas por serem microscópicas, do fitoplâncton, já que podem flutuar nas superfícies das águas graças ao alto teor de lipídios que as constituem (GONZÁLEZ-BALLESTEROS; RODRÍGUEZ-ARGUELLES, 2020).

Nesse contexto, este artigo tem como objetivo fornecer uma visão geral e abrangente da literatura sobre os efeitos potencialmente adversos de nanopartículas de cobalto, prata e cobre, sobre diversas espécies de microalgas. Com isso, busca-se perceber se há similaridade nos efeitos observados para cada tipo de nanomaterial, bem como verificar se os efeitos se manifestam de forma distinta em microalgas de diferentes ambientes (marinhas e dulcícolas),

analisando, também, como as características e particularidades físico-químicas de cada NP influenciam e contribuem com os efeitos observados¹.

¹ Este trabalho de conclusão de curso está organizado em formato de artigo científico

2 METODOLOGIA

O método consistiu em uma pesquisa literária realizada no dia 11 de agosto de 2020 utilizando duas bases de dados: Science Direct e Web of Science.

Para isso, estipulou-se o período de 2015 a 2021, empregando a seguinte combinação de palavras-chave: “Toxicology” and “Microalgae” and “Nanoparticle” and “Cobalt”/“Silver”/“Copper”. Para cada nanopartícula de estudo realizou-se uma busca separada utilizando as palavras-chave, de forma que, foram mantidos fixos os três primeiros termos, já que eram comuns a todas NPs, e, alterou-se apenas a última palavra-chave, a qual referia-se especificamente ao metal constituinte da NP desejada.

Na sequência, fez-se uma seleção dos artigos, avaliando minuciosamente cada um dos resultados obtidos através da leitura dos mesmos, a fim de verificar se eles apresentavam as informações necessárias para a realização desse artigo de revisão e, assim, fazendo a exclusão manual daqueles que não se enquadravam nos requisitos estipulados.

Foram mantidos apenas os estudos que investigaram os efeitos tóxicos de pelo menos uma das nanopartículas mencionadas, e que, obrigatoriamente, utilizaram alguma espécie de microalga como organismo teste. Cabe ressaltar que optou-se por manter apenas aqueles que se enquadravam como artigos de pesquisa, visto que, nos capítulos de livros e artigos de revisão sobre esse tema, a parte seleta que seria útil para esse estudo era algo que fazia menção a artigos que já seriam utilizados nessa revisão, ou então, citações de artigos mais antigos, que não se enquadravam no período proposto. Por fim, foram removidos os artigos duplicados, os quais apareciam em ambas bases de pesquisa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

Através das buscas pelas palavras-chave obteve-se um total de 577 resultados, incluindo os três tipos de nanopartículas e ambas as bases de dados, conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de resultados obtidos através das buscas nas bases de dados Science Direct e Web of Science por tipo de nanopartícula durante o período de 2015 a 2021.

Nanopartícula	Science Direct	Web of Science	Total
Cobalto	68	2	70
Prata	209	44	253
Cobre	235	19	254
			577

Após todo processo de seleção e exclusão manual, do total, restaram 35 estudos: 2 de cobalto, 22 de prata e 11 de cobre, os quais foram utilizados pra servir de base e dar corpo a esse artigo de revisão. Essa redução expressiva no número deve-se ao fato de que, na grande maioria dos estudos, os termos de busca eram apenas citados ou tratados de forma superficial, não trazendo as informações necessárias para a realização desse trabalho.

Um resumo dos resultados da pesquisa está detalhado nas Figuras 1 e 2 onde verifica-se que, dentre as duas bases, a Science Direct apresentou maior número de resultados sobre esse assunto. Além disso, através dessa busca rápida, observa-se que há uma tendência de crescimento de estudos que envolvam essas nanopartículas com o passar do tempo, dando o indicativo de que cada vez se está mais perto de sanar as dúvidas a respeito dos efeitos oriundos da interação de nanopartículas com microalgas, preenchendo as lacunas existentes.

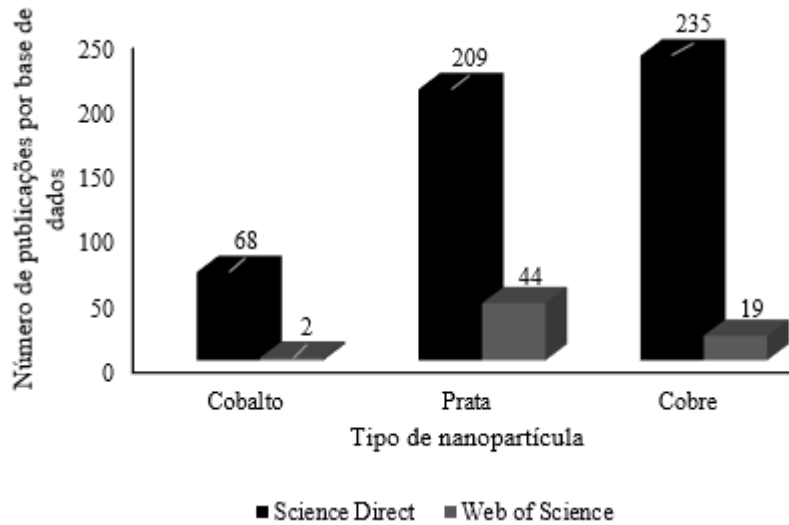


Figura 1 - Número total de publicações de cada nanopartícula de interesse por base de dados, Science Direct e Web of Science, no período de 2015 a 2021.

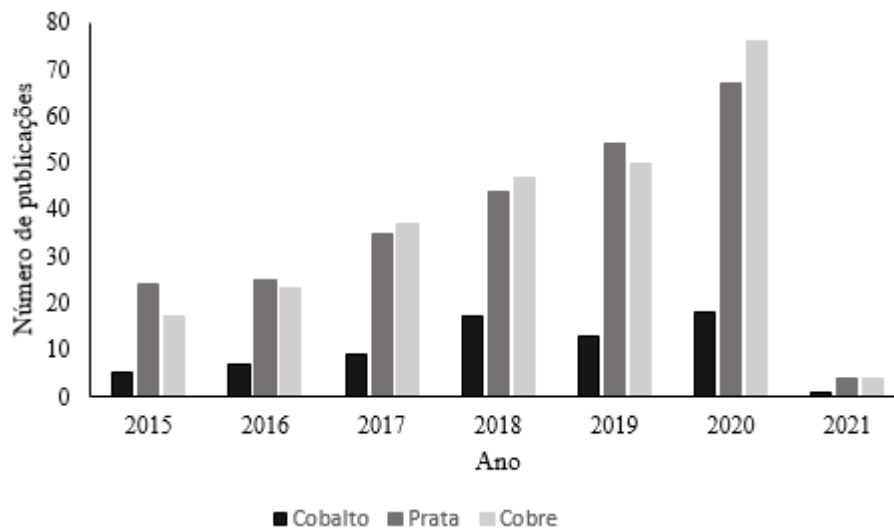


Figura 2 - Número total de publicações das nanopartículas de estudo por ano, somados os resultados das duas bases de dados, Science Direct e Web of Science, no período de 2015 a 2021.

3.2 NANOPARTÍCULAS

3.2.1 Cobalto

As NPs de cobalto são muito investigadas e estão sendo cada vez mais utilizadas industrialmente, graças às suas propriedades físicas, químicas e magnéticas (ZHENG et al., 2019). As propriedades de caráter magnético permitem a sua aplicação como biosensores, em nanofios e nanofibras, em materiais de absorção de micro-ondas ou, ainda, na biomedicina

(WANG et al., 2010). Esse aumento na utilização gera uma crescente necessidade de conhecimento a respeito da toxicidade dessas estruturas.

Visto isso, constata-se que, embora vários tenham sido os resultados gerados pela busca das palavras-chave nas duas bases de dados utilizadas (Science Direct e Web of Science), ainda, pouquíssimos são os estudos existentes que investigam os efeitos de NPs de cobalto em microalgas. Tanto que, mesmo que a tendência seja o aumento dos estudos com o passar do tempo, no intervalo de 2015 a 2021, apenas 2 estudos com essa proposta foram encontrados, o que prova a importância e a urgência que se tem de buscar esse tipo de informação. Um resumo desses 2 estudos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Resumo das informações referente aos estudos que fazem uso da nanopartícula metálica de cobalto, tais como suas características, microalgas expostas à NP, efeitos resultantes dessa exposição e sua respectiva concentração de efeito.

Autor	Alga	NPs	Efeitos observados	Concentração de efeito	Características NP
Sharan e Nara (2020)	<i>Chlorella minutissima</i>	Co ₃ O ₄ NP	Inibição de crescimento	EC ₅₀ : 38,16 mg/L	Diâmetro hidrodinâmico médio: 400 nm
	Dulcícola		Declínio de clorofila <i>a</i>	72 horas	Potencial zeta: -
			Aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS)		Forma: cúbica e retangular
			Alterações morfológicas (aumento da enzima desidrogenase láctica (LDH), indicando danos à membrana celular)		
			Sombreamento		
Chen et al. (2018)	<i>Platymonas subcordiforus</i>	CoNP	Inibição do crescimento	EC ₅₀ : 67,2 mg/L	Tamanho médio: 30 nm
	<i>Chaetoceros curvisetus</i>		Diminuição da eficiência fotossintética	EC ₅₀ : 38,6 mg/L	Potencial zeta: -23,2 mV em água Milli-Q e -13,8 mV em meio de água do mar
	<i>Skeletonema costatum</i>		Redução no conteúdo de clorofila	EC ₅₀ : 21,5 mg/L	
	Marinhas			96 horas	Forma: esférica heterogênea
			Sombreamento		

Sharan e Nara (2020) estudaram os efeitos causados pela interação entre nanopartículas de óxido de cobalto ($\text{Co}_3\text{O}_4\text{NPs}$) sobre a microalga de água doce, *Chlorella minutissima*, e verificaram que todos os impactos observados estão vinculados ao efeito de sombreamento. Esse efeito foi causado pela união das nanopartículas à parte externa da célula, causando o seu aprisionamento. O contato direto da nanopartícula com a estrutura da célula gerou danos à membrana celular e, esses danos, comprometeram sua permeabilidade seletiva, o que facilitou a entrada das NPs nas células causando principalmente a inibição do crescimento da microalga, bem como a diminuição do pigmento fotossintético, por isso, o declínio da clorofila *a*. Além disso, a entrada da $\text{Co}_3\text{O}_4\text{NP}$ no interior da célula causou distúrbios e alterações nas organelas, gerando assim espécies reativas de oxigênio (ROS) e, conseqüentemente, estresse oxidativo. Essa produção de ROS é resultado do estresse celular, o qual pode ocasionar a formação de radicais livres derivados do oxigênio que, por sua vez, são responsáveis por causar danos oxidativos ou até mesmo a morte da célula, a apoptose (ONODERA et al., 2015).

Já Chen et al. (2018) investigaram o potencial tóxico de nanopartículas de cobalto (CoNPs) para microalgas marinhas das espécies *Platymonas subcordiformis*, *Chaetoceros curvisetus* e *Skeletonema costatum*. Nesse estudo o efeito de sombreamento também foi evidenciado, sendo verificado em concentrações superiores a 5 mg/L. As NPs se agregaram à microalga, diminuindo o conteúdo de clorofila *a* e inibindo o crescimento das espécies. Os autores perceberam, também, que em concentrações baixas, 1 mg/L, houve o efeito de hormesis, ou seja, a resposta à exposição a CoNP foi benéfica, favorecendo e impulsionando o crescimento das microalgas. Além disso, verificaram que a CoNP libera Co^{2+} e, esses íons foram responsáveis por aumentar a taxa de inibição relativa do crescimento (IR). A partir de seus resultados, concluíram que o sombreamento não foi considerado o único mecanismo tóxico, mas que a ligação entre as NPs e as células, as quais causaram o efeito de sombreamento, somado à presença de íons Co^{2+} liberados pelas NPs, em conjunto, resultaram nos efeitos adversos verificados.

Os mesmos efeitos observados por Sharan e Nara (2020), foram também estudados por Chen e seus colaboradores (2018), porém, Chen et al. (2018) verificaram alterações na morfologia e estresse oxidativo cujo estudo de Sharan e Nara (2020) não abordaram. Entretanto, ambos autores concluíram que os efeitos observados foram consequência do sombreamento, todavia, Chen et al (2018), tiveram a percepção de que os efeitos tóxicos não dependem exclusivamente do mecanismo de sombreamento, mas que a concentração de íons Co^{2+} proveniente das NPs é também um outro fator determinante. Fator esse, também verificado por autores como Nguyen, Moon e Lee (2020), os quais afirmam que a capacidade de liberação de

íons, bem como diversas outras propriedades das nanopartículas, não apenas das de cobalto, mas das nanopartículas no geral, interferem sim na sua toxicidade às microalgas.

Diante do exposto, percebe-se que em um dos estudos o potencial tóxico é investigado sobre um organismo de água doce, enquanto no outro faz-se uso apenas de organismos de água salgada, contudo, independente de habitarem ambientes distintos, o efeito de sombreamento é fator determinante para os efeitos de toxicidade observados.

3.2.2 Prata

A nanopartícula de prata, por sua vez, é amplamente utilizada na indústria, principalmente, devido às suas propriedades antimicrobianas e, em função disso, sua aplicação é frequentemente estudada na prevenção de infecções causadas por bactérias e fungos, podendo ser empregada, por exemplo, em curativos, tecidos e cosméticos (LEE; OBREGON-ALFARO; RODRIGUEZ-GONZALEZ, 2011). A eficiência na ação antimicrobiana é resultante das suas características físico-químicas, sendo que a inativação bacteriana, assim como suas propriedades ópticas e elétricas, estão diretamente relacionadas com a sua forma, tamanho e fase (GUDI KANDULA; MARINGANTI, 2016). Por causa desses atributos, as NPs de prata podem ser aplicadas no setor ambiental, biomédico e industrial (DESHMUKH et al., 2019).

Além de não ser um elemento necessário para o funcionamento e desenvolvimento do ser humano e dos animais, a exposição à prata pode ser prejudicial já que ela é considerada, depois do mercúrio, o metal mais tóxico para os organismos aquáticos (MORENO-GARRIDO; PEREZ; BLASCO, 2015; XIANG; FANG; CHEN, 2018).

A busca por palavras-chave referentes a essa nanopartícula, gerou 253 resultados para o período de 2015 a 2021, o que não é um valor tão expressivo. Desses, apenas 22 resultados foram selecionados por conterem as informações necessárias. A síntese desses estudos encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Síntese das informações referente aos estudos que fazem uso da nanopartícula metálica de prata, tais como suas características, microalgas expostas a AgNP, efeitos resultantes dessa exposição e sua respectiva concentração de efeito.

Autor	Alga	NPs	Efeitos observados	Concentração de efeito	Características NP
Khoshnamvand et al. (2020)	<i>Chlorella vulgaris</i> Dulcícola ou marinha	AgNP	Inibição do crescimento	-	Tamanho hidrodinâmico: 28,95 ± 10,17 nm
			Redução no tamanho e agregação das células	72 horas	Potencial zeta: -23,23 ± 0,75 mV
			Diminuição da clorofila <i>a</i>		Forma: esférica
Romero et al. (2020)	<i>Chlorella vulgaris</i> Dulcícola ou marinha	AgNP	Inibição do crescimento	EC ₅₀ : 110 µg / L	Diâmetro médio: 46,8 ± 3,3 nm
			Alterações morfológicas e fisiológicas (clorofila- <i>a</i> , clorofila- <i>b</i> , feofitina e concentrações de carotenoides, mudando o aspecto verde para marrom claro)	96 horas	Potencial zeta: 39 ± 2 mV
			Alteração na concentração, no diâmetro e no volume das células de algas, nos teores de lipídios, proteínas e carboidratos totais		
Tayemeh et al. (2020)	<i>Chlorella vulgaris</i> Dulcícola ou marinha	AgNO ₃ e AgNP	Redução de mono e poli-insaturados da microalga	-	Tamanho hidrodinâmico médio: 79,65 nm
			Inibição de crescimento	72 horas	Diâmetro hidrodinâmico médio: 33,67 nm
			Redução de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , total e carotenoides		Potencial zeta: -53,33 ± 7,86 mV
					Forma: esférica
Fazelian et al. (2020)	<i>Nannochloropsis oculata</i>	AgNP	Estresse oxidativo	EC ₅₀ : 28,88 mg/L	Diâmetro da partícula: 54,8 nm
			Dano a membrana celular	72 horas	Tamanho: entre 20 e 50 nm

	Principalmente marinha		Inibição do crescimento		Forma: quase esférica
Bahador et al. (2019)	<i>Dunaliella salina</i> Marinha	AgNP	Redução na clorofila <i>a</i> Estresse oxidativo	-	Tamanho médio: 15 nm
			Inibição do crescimento	48 horas	Forma: esférica
			Aumento do pigmento fotossintético		
			Aumento de β -caroteno		
Wang et al. (2019)	<i>Scenedesmus obliquus</i> Dulcícola	AgNP	Inibição do crescimento	-	Diâmetro hidrodinâmico médio: 74,3 \pm 8,6 nm (água pura) ou 82,10 \pm 11,2 nm (meio de cultura BG11)
			Alteração em metabólitos como D- galactose, sacarose e D-frutose	7 dias	
			Estresse oxidativo		Diâmetro médio estimado: 20 nm
			Danos na parede celular		Forma: esférica
Pham (2019)	<i>Scenedesmus acuminatus</i> Dulcícola <i>Chaetoceros gracilis</i> Marinha	AgNP	Inibição do crescimento	EC ₅₀ : 38,5 μ g/L	Diâmetro: 9,8 \pm 0,8 nm
				96 horas	
				EC ₅₀ : 24,3 μ g/L	
Mertens et al. (2019)	<i>Raphidocelis subcapitata</i> Dulcícola	AgNO ₃ e AgNPs	Inibição do crescimento	72 horas	Forma: esférica
				Ag total: EC ₅₀ AgNP: 5,36 μ g/ L EC ₅₀ AgNO ₃ : 2,52 μ g/ L	Tamanho médio 8,4 nm (D ₇₅ = 9,0 nm)

				Ag convencionalmente dissolvida: EC ₅₀ AgNP: 2,13 µg / L EC ₅₀ AgNO ₃ : 0,96 µg / L	
				Ag verdadeiramente dissolvida: EC ₅₀ AgNP: 0,89 µg / L EC ₅₀ AgNO ₃ : 0,29 µg / L	
Johari et al. (2018)	<i>Dunaliella salina</i> Marinha	AgNPs e AgNO ₃	Inibição do crescimento	72 horas IC ₅₀ AgNP (mg/L) Salinidade 35: 0,48 ± 0,022 Salinidade 70: 1,23 ± 0,110 Salinidade 140: 2,92 ± 0,197 IC ₅₀ AgNO ₃ (mg/L) Salinidade 35: 0,218 ± 0,23 Salinidade 70: 0,48 ± 0,097 Salinidade 140: 2,15 ± 0,147	Diâmetro médio: 12,65 nm Diâmetro hidrodinâmico: 63 ± 24 nm Potencial zeta: -53,33± 7,86 mV
Sendra, Blasco, Araújo (2018)	<i>Chlorella autotrophica</i> <i>Dunaliella salina</i> Marinhas	AgNPs e forma iônica	Diminuição da clorofila ativa, do rendimento quântico efetivo de PII (fotossistema II) Inibição do crescimento Aumento da complexidade celular e espécies reativas de oxigênio Alteração no tamanho da célula	EC ₅₀ AgNP: 0.57 mg/L EC ₅₀ AgNO ₃ : 0.21 mg/L EC ₅₀ AgNP: 0.64 mg/L EC ₅₀ AgNO ₃ : 0.35 mg/L 72 horas	Tamanho: 16,7 ± 6,2 nm Potencial zeta: Água ultrapura (-9,93 ± 22,5 mV) Água do mar artificial (-5,6 ± 2 mV)
Chen et al. (2018)	<i>Scenedesmus obliquus</i> Dulcícola	AgNO ₃ e AgNP na forma de complexo Ag – Cys	Inibição do crescimento Alteração na morfologia (grave plasmólise e separação do núcleo da célula)	- 72 horas	Tamanho: < 20 nm

Xiang, Fang e Cheng (2018)	<i>Microcystis Aeruginosa</i> Dulcícola	AgNP	Inibição do crescimento Inibição da fotossíntese Estresse oxidativo Danos à membrana Alteração nos parâmetros fisiológicos e índice de estresse oxidativo	96 horas: EC ₅₀ 0,108 ng/mL 10 dias: EC ₅₀ 135,4 ng/mL	Diâmetro médio: 10 nm
Sendra et al. (2017)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Dulcícola <i>Phaeodactylum tricornutum</i> Marinha	AgNPs	Inibição do crescimento Alteração no tamanho da célula, complexidade celular, clorofila <i>a</i> , espécies reativas de oxigênio Danos à membrana celular e rendimento quântico efetivo de PSII	EC ₅₀ <i>P. tricornutum</i> : entre 143 e 184 µg/L para a NP de 16,7 nm 72 horas	Tamanho: 4,5 ± 2,3, 16,7 ± 6,2 e 46,7 ± 14,6 nm para AgNP1, AgNP2 e AgNP3
Vazquez-Muñoz et al. (2017)	<i>Rodófitas Rhodomonas sp.</i> Preferencialmente marinha	AgNPs	Inibição do crescimento	EC ₁₀₀ : 4 µg/mL	Diâmetro médio: 35 nm Diâmetro hidrodinâmico médio: 78 nm Potencial zeta: -15 mV
Andreani et al. (2017)	<i>Raphidocelis subcapitata</i> Dulcícola	Nano-Ag comercial e PVP- nano-Ag sintetizado em laboratório	Inibição do crescimento	EC ₅₀ Comercial: 6,9 mg/L EC ₅₀ Sintetizado: 26 vezes mais tóxico 72 horas	Comercial: Potencial zeta: -48,2 mV Tamanho primário: 10 nm Sintetizado: Potencial zeta: -1,18 mV Tamanho primário: 9,6 nm
Schiavo et al. (2017)	<i>Phaeodactylum Tricornutum</i>	AgNP revestido com PVP/PEI e não revestido	Mudança na forma Perda de turgor celular	EC ₅₀ Revestido: 0,06 mg/L EC ₅₀ Não revestido: 4,72 mg/L	NP revestido: Tamanho: 5 nm Potencial zeta: 2,37 ± 2,61 mV

			Inibição do crescimento	EC ₅₀ Revestido: 0,0052 mg/L EC ₅₀ Não revestido: 4,1 mg/L	Potencial zeta informado pelo fabricante: 18,6 ± 7,9 mV
	<i>Tetraselmis suecica</i>				
					NP não revestido: Tamanho: 47 nm Potencial zeta: -8 ± 0,34 mV
	<i>Isochrysis galbana</i>			EC ₅₀ Revestido: 0,039 mg/L EC ₅₀ Não revestido: 3,3 mg/L	
	Marinhas			72 horas	
Jemec et al. (2016)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	AgNPs e AgNO ₃	Inibição do crescimento	EC ₅₀ AgNP: 0,0086 mg/L EC ₅₀ AgNO ₃ : 0,0071 mg/L	Tamanho médio da partícula primária: 20,4 ± 6,8 nm
	Dulcícola			72 horas	Diâmetro hidrodinâmico médio: 123 ± 12,2 nm
					Potencial zeta: -20 ± 9 mV
Huang, Cheng, Yi (2016)	<i>Skeletonema costatum</i>	AgNP e Ag ⁺	Inibição do crescimento	EC ₅₀ AgNPs: 25,77 mg/L	Forma: esférica
	Marinha		Espécies reativas de oxigênio	EC ₅₀ Ag ⁺ : 156,00 µg/L	Diâmetro: 7,89 ± 1,96 nm (água do mar) e 8,27 ± 1,80 nm (meio f / 2)
			Redução da viabilidade celular	24 horas	
			Redução de clorofila e eficiência fotoquímica do fotossistema II		Diâmetro hidrodinâmico no início do teste: Água Milli-Q: 99,60 ± 32,58 Água do mar: 122,1 ± 12,53 f/2 médio: 441,3 ± 81,24
			Alteração na morfologia		Potencial zeta no início do teste: Água Milli-Q: -1,25 ± 5,45 Água do mar: -3,28 ± 17,40 f/2 médio: -7,62 ± 2,67

Golubev et al. (2016)	<i>Dunaliella Salina</i> Marinha	AgNP (CS-20) e AgNO ₃	Inibição do crescimento Viabilidade das células Células danificadas	LC ₅₀ CS-20: 75mg Ag/ L LC ₅₀ AgNO ₃ : 20 mg Ag/ L 48 horas	Tamanho: 20 nm
Becaro et al. (2015)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> Dulcícola	AgNP	Inibição de crescimento	EC ₅₀ : 1,09 mg/L 7 dias	Tamanho médio 8,12 nm Potencial zeta -1 mV Forma: esférica
Gambardella et al. (2015)	<i>Dunaliella tertiolecta</i> <i>Skeletonema costatum</i> Marinhas	AgNP	Inibição do crescimento	IC ₅₀ : 0,9 mg/L IC ₅₀ : 3,1 mg/L 72 horas	Diâmetro hidrodinâmico: 990 nm Tamanho inicial: 1-10 nm Potencial zeta: -3 ± 2 mV
Ipatova, Spirkina e Dmitrieva (2015)	<i>Scenedesmus quadricauda</i> <i>Monoraphidium arcuatum</i> Dulcícolas	Nanopartículas coloidais de prata AgNP	Inibição do crescimento	- 60 dias	Tamanho: 17-35 nm

A partir da Tabela 3, nota-se que a inibição do crescimento foi, sem dúvida, o efeito mais investigado, sendo objeto de estudo de todas as pesquisas.

Uma das formas mais usuais de expressar o resultado da inibição do crescimento é através da EC_{50} , ou seja, da concentração efetiva do agente tóxico capaz de inibir 50% do crescimento da biomassa algácea em relação ao controle durante o período de exposição. Mesmo sendo comum, não são todos os autores que optam por trazer essa informação. Além disso, verifica-se que os valores de EC_{50} são muito variáveis entre si.

A microalga *Dunaliella salina* foi a mais utilizada nos estudos referentes à nanopartícula de prata e os valores de EC_{50} variaram de 0,022 mg/L (JOHARI et al., 2018) a 75 mg/L (GOLUBEV et al., 2016), considerando situações e condições diferentes, como tempo, por exemplo. Já com a *Chlorella vulgaris*, que foi a segunda microalga mais utilizada dentre os estudos apresentados, apenas um dos autores trouxe o valor de EC_{50} , sendo ele 110 μ g/L em um período de 96 horas (ROMERO et al., 2020).

Se já existe uma variação expressiva de resultado quando a comparação se dá para uma mesma microalga, a diferença de toxicidade acaba sendo extremamente maior quando a comparação envolve diferentes espécies. Por exemplo, o menor valor encontrado foi 0,108 ng/mL para a microalga *Microcystis Aeruginosa* exposta a 96 horas (XIANG, FANG, CHENG, 2018) e o maior, 75 mg/L, para *Dunaliella Salina* em 48 horas de exposição (GOLUBEV et al., 2016). Através dessa diferença, consegue-se perceber que os impactos e resultados referentes a toxicidade das nanopartículas de prata que se aplicam a uma determinada espécie, não necessariamente sirvam para todas as espécies de microalgas. Isso porque muitos são os fatores envolvidos, as variáveis, as condições e o modo de realização do teste, sem contar que cada espécie de microalga tem suas características e particularidades e, por isso, reagem de forma diferente as perturbações, com mais ou menos intensidade.

Ainda, percebe-se que a grande maioria dos estudos avaliou um conjunto de efeitos adversos, entretanto, dependendo muito do foco do trabalho, alguns dos autores atentaram-se apenas à inibição do crescimento das microalgas, como foi o caso de Pham (2019), Mertens et al. (2019), Johari et al. (2018), Vazquez-Muñoz et al. (2017), Andreani et al. (2017), Jemec et al. (2016), Becaro et al. (2015), Gambardella et al. (2015) e Ipatova, Spirkina e Dmitrieva (2015).

Alguns autores preocuparam-se em avaliar a influência do tamanho da nanopartícula de prata, do habitat em que a microalga está inserida, assim como analisar a fundo efeitos diretos e indiretos resultantes dessa interação (SENDRA et al., 2017). Outros atentaram-se a investigar as NPs na forma de complexos (CHEN et al., 2018), com e sem revestimento (SCHIAVO et

al., 2017). A interferência da matéria orgânica no potencial tóxico também foi objeto de alguns estudos (KHOSHNAMEVAND et al. 2020; XIANG; FANG; CHENG, 2018).

A influência que a matéria orgânica natural (ácido húmico do rio Suwannee - SHRA) pode exercer na toxicidade de nanopartículas de prata para *Chlorella vulgaris* foi estudada por Khoshnamvand et al. (2020). Nesse estudo, os autores verificaram que a SHRA apresenta efeito significativo na redução da toxicidade em concentrações superiores a 30 µg/L de AgNP. Os autores levantaram duas alternativas para explicar esse fato: a primeira delas é a possibilidade de que grupos funcionais presentes no SHRA, tais como hidroxilas, cetonas, metoxilas, quininas e fenólicos atuariam como compartimento redutor dos íons Ag^+ liberados pela nanopartícula, reduzindo assim a sua toxicidade. Ou, ainda, os autores acreditam que a matéria orgânica, muito em função desses grupos funcionais, possa ter sido adsorvida na nanopartícula e aumentado sua carga negativa, fazendo com que ocorresse repulsão entre a NP e as células da microalga já carregadas negativamente. Além do mais, o SHRA pode agir sobre as espécies reativas de oxigênio (ROS), também reduzindo a toxicidade da NP. Afirmaram que o SHRA aumenta a estabilidade da NP unindo-se a íons de prata, que, por sua vez, são tóxicos para a alga, pela formação de complexos Ag^+ -matéria orgânica.

Xiang, Fang e Cheng (2018) também perceberam que a matéria orgânica dissolvida reduz a toxicidade de AgNPs. Os autores estudaram a influência do húmus (HIX e β/α) na recuperação da microalga *Microcystis Aeruginosa* depois de exposta à AgNPs e verificaram que a presença da matéria orgânica contribui favoravelmente com o alívio da toxicidade.

Além dos efeitos citados, alguns outros efeitos foram verificados nos estudos, como o aumento de β -caroteno (BAHADOR et al., 2019), a alteração de metabólitos, mais especificamente a D-galactose, sacarose e D-frutose (WANG et al., 2019) e alteração do teor de lipídios, proteínas e carboidratos totais, bem como feofitina e carotenoides (ROMERO et al., 2020).

Estudos que fazem o comparativo entre a prata na forma de nanopartícula (AgNP) e na forma iônica (geralmente através de $AgNO_3$) são encontrados em maior número (TAYEMEH et al., 2020; MERTENS et al., 2019; JOHARI et al., 2018; SENDRA; BLASCO; ARAÚJO, 2018; CHEN et al., 2018; JEMEC et al., 2016; HUANG; CHENG; YI, 2016).

Tayemeh et al. (2020) contrastaram a influência de $AgNO_3$ e AgNP na composição de ácidos graxos e pigmentos, bem como no crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, e verificaram que a prata, em ambas formas, pode reduzir monoinsaturados e poli-insaturados da microalga. A $AgNO_3$ demonstrou-se mais tóxica visto que foi mais severa, para uma mesma concentração ($10 \mu g L^{-1}$), na diminuição dos pigmentos fotossintéticos, e, também, demonstrou

um maior efeito inibitório no crescimento da microalga, de forma que, na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, verificaram inibição de 100%, enquanto com a AgNP, o mesmo aconteceu na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, concluindo que as duas formas interferem na saúde do organismo, causando distúrbios na composição dos ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados e macromoléculas, porém, a prata na forma iônica acaba sendo mais nociva do que a prata na forma de nanopartícula.

Já Mertens et al. (2019) estudaram a prata de três formas: Ag total, Ag convencionalmente dissolvida e Ag verdadeiramente dissolvida. A Ag total era composta por uma combinação do metal, tanto na forma iônica quanto na forma de agregados de AgNP em solução, sem ser filtrada. A Ag convencionalmente dissolvida foi filtrada por membrana de $0,45 \mu\text{m}$, sendo então composta pela combinação de Ag iônico e AgNPs menores em solução. Já a Ag verdadeiramente dissolvida, era composta basicamente por Ag iônico, praticamente na sua totalidade, sendo filtrada por membrana 3 kDa. Com isso, puderam avaliar o potencial tóxico de AgNPs e AgNO_3 separadamente para cada uma das formas e verificaram que as algas demonstraram maior sensibilidade a AgNO_3 e que a prata em solução faz-se presente, na sua maioria, em nanoforma e agregados pequenos. Nesse estudo, apenas foi averiguada a inibição do crescimento. Andreani et al. (2017), estudaram a mesma microalga, a *Raphidocelis subcapitata*, e obtiveram um valor mais elevado de EC_{50} , indicando que o potencial tóxico foi menor do que o relatado por Mertens et al. (2019), mas mesmo assim houve uma significativa inibição do crescimento da espécie.

Por sua vez, Johari et al. (2018) fizeram a avaliação da prata na forma de NP e na forma iônica investigando três salinidades diferentes (35, 70 e 140 g/L) para a microalga *Dunaliella salina*. Verificaram que o aumento da salinidade reduziu a toxicidade de ambas as formas da prata. O que vai de encontro ao verificado por Yung et al. (2015), que evidenciaram que em maiores salinidades, as nanopartículas de ZnO possuem uma maior tendência a se agregar, formando agregados de maior dimensão e, em função disso, em maiores salinidades os efeitos tóxicos diminuíram para a diatomácea *Thalassiosira pseudonana* tanto na inibição do crescimento quanto na eficiência fotossintética. Por esse motivo, a agregação das nanopartículas ocorre de forma mais rápida na água do mar quando comparada com a água doce, visto que a salinidade faz com que exista uma alta força iônica, o que facilita a aglomeração (SHARAN; NARA, 2019).

Johari e seus colaboradores (2018), ainda, concluíram que o AgNO_3 mostrou-se mais tóxico do que a AgNP, muito provavelmente porque os íons de prata conseguem se desprender mais facilmente, mesmo estando em tamanho maior.

Além de avaliar o efeito da prata na forma iônica e na forma de nanopartícula, Sendra, Blasco e Araújo (2018) investigaram se a presença ou ausência de parede celular na célula é um fator significativo. Para isso, utilizaram duas microalgas, a *Chlorella autotrophica* e a *Dunaliella salina*, sendo que *C. autotrophica* não possui parede celular, enquanto *D. salina* sim, e perceberam que a ausência de uma parede celular não tornou a espécie mais vulnerável. Também verificaram que a forma iônica foi mais tóxica que a NP. Nesse estudo é apresentado um valor de EC₅₀ para cada efeito observado, quando muitos dos estudos nem para inibição do crescimento apresentam. Mesmo que, especificamente nesse estudo, estejam dispostas todas essas informações, apenas a concentração efetiva 50% referente à inibição do crescimento é apresentada, pensando no critério de comparação.

Ao contrário dos demais, Jemec et al. (2016) perceberam que AgNPs e AgNO₃ eram similares quanto sua toxicidade para a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, sendo que o valor de EC₅₀ estava na mesma ordem de magnitude para ambas as formas da prata. Portanto, concluíram que a espécie Ag⁺ solúvel é um fator importante de ser avaliado quando se deseja prever o potencial tóxico de AgNPs.

Sendra et al. (2017) fizeram um estudo mais completo onde avaliaram os efeitos diretos e indiretos de AgNPs para duas microalgas, uma marinha e outra dulcícola, *Phaeodactylum tricorutum* e *Chlamydomonas reinhardtii*, respectivamente. Com isso, puderam verificar que diversos são os mecanismos de toxicidade, podendo ser resultante tanto de efeitos indiretos, oriundos de fatores intrínsecos, relacionados com as características da nanopartícula, tais como tamanho, área superficial, potencial zeta e porosidade; bem como de efeitos diretos, associados a fatores extrínsecos, os quais estão vinculados ao comportamento de aglomeração das nanopartículas. Ainda, identificaram que a toxicidade à microalga de água doce, *C. reinhardtii*, é regida pelos efeitos indiretos, principalmente a um fator intrínseco em específico, ou seja, o tamanho da nanopartícula, que, por sua vez, determina a quantidade de Ag dissolvida das NPs, de forma que, quanto menor a NP e maior a área superficial, maior a dissolução. Nesse estudo foram avaliados três tamanhos de nanopartículas: $4,5 \pm 2,3$ nm, $16,7 \pm 6,2$ nm e $46,7 \pm 14,6$ nm. Embora, o principal mecanismo seja o intrínseco, não significa que os fatores extrínsecos não exerçam influência, tanto que fatores extrínsecos, como, por exemplo, a composição do meio de cultura, exercem grande interferência, já que são os principais responsáveis por determinar as espécies químicas que serão formadas a partir do Ag dissolvido.

Sendra e seus coautores (2017) afirmam, ainda, que a toxicidade para *P. tricorutum*, que é um organismo de ambiente marinho, foi decorrente de efeitos diretos, governado por fatores extrínsecos, principalmente a aglomeração das NPs e fixação à parede celular, bem

como a internalização das NPs nas células, onde os aglomerados maiores não conseguem entrar nas células enquanto os menores sim, aumentando a complexidade da mesma. Verificaram também que a água do mar favorece a dissolução do Ag em função da presença de uma alta concentração de NaCl, de forma que a dissolução em água do mar é muito maior do que a dissolução em água doce.

A toxicidade da prata na forma de complexos Ag – Cys: Ag- L- cisteína (Ag- L- Cys) e Ag- D- cisteína (Ag- D- Cys), para a *Scenedesmus obliquus*, expondo-a ao mesmo tempo a Ag^+ e AgNPs em quantidades diferentes também foi avaliada (CHEN et al., 2018). O complexo Ag- L- Cys era constituído por maior quantidade de AgNP do que Ag^+ , entretanto, o complexo Ag- D- Cys foi o que apresentou-se mais tóxico para a microalga. Devido a essa diferença de quantidade de Ag^+ e AgNP nos tipos de complexos Ag-Cys estudados, os autores acreditam que o dano a *S. obliquus* causado pela AgNP foi devido à liberação de íons Ag^+ . Dessa forma, a prata iônica, $AgNO_3$, demonstrou-se mais tóxica que a NP na forma de complexos.

Ainda, autores como Huang, Cheng, Yi (2016) também se propuseram a investigar a exposição de prata na forma de Ag^+ para ajudar a entender como se comporta a AgNP para a *Skeletonema costatum*. Fizeram um estudo mais aprofundado a respeito da inibição da fotossíntese e verificaram que a AgNP causa perturbação a nível genético afetando o gene D1, o qual está vinculado ao teor de proteína D1. A redução do conteúdo dessa proteína é responsável por diminuir a fotossíntese. A partir disso, diferenças entre os efeitos da prata nas duas formas foram verificadas, como, por exemplo, o contato da microalga com a Ag^+ não aumentou o conteúdo de ROS, mas o diminui levemente. O mesmo não acontece para a AgNP.

Com base em todos os trabalhos mencionados acima, que, a sua maneira, fazem menção à comparação entre a toxicidade apresentada pela NP e pela sua forma iônica (geralmente $AgNO_3$), percebe-se que praticamente todos os autores chegaram à conclusão de que a forma iônica é mais tóxica que a forma de nanopartícula. Há indícios de que a prata possui comportamento distinto dentro dos diversos grupos de animais, podendo bioacumular de forma mais rápida na forma de sal ($AgNO_3$) em organismos como algas e poliquetas e na forma de nanopartículas em organismos como invertebrados e peixes (MCGILLICUDDY et al., 2017).

O revestimento das nanopartículas também pode ser um fator que influencie na toxicidade das mesmas. Esse foi um parâmetro avaliado por Schiavo et al. (2017), cujo objetivo do estudo foi investigar a diferença entre AgNPs de 5 nm revestidas com poli N-vinil-2-pirrolidona/polietilenoimina (PVP/PEI) e AgNPs de 47 nm sem revestimento para as microalgas das espécies *Phaeodactylum Tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, além de observar o efeito de PVP/PEI individualmente. Com isso, descobriram que a

nanopartícula com revestimento foi altamente tóxica para ambas espécies em comparação com as nanopartículas sem revestimento. Os autores acreditam que isso se deva a diversos fatores, tais como a formação de agregados menores nas partículas revestidas assim como uma maior capacidade para liberar íons. Ainda, destacaram que, como o agente de revestimento sozinho demonstrou-se tão tóxico quanto as suspensões de Ag revestidas, a presença desse revestimento foi o causa principal para a toxicidade das algas.

Golubev et al. (2016) avaliaram a toxicidade de Ag coloidal tanto na forma de nanopartículas de prata de tamanho 20 nm, designadas pelos autores de CS-20, e AgNO_3 para a *Dunaliella salina*. Pelos valores de LC_{50} , o AgNO_3 apresentou uma maior toxicidade, já que o valor obtido foi de 75 mg de Ag/L para a nanopartícula e 20 mg de Ag/L para o líquido sobrenadante, indicando que as espécies de prata iônica, as quais estão altamente dispersas e complexas no sobrenadante, são mais prejudiciais para a microalga do que a prata coloidal.

Sabe-se que as características da nanopartícula interferem na sua toxicidade. O potencial zeta, por exemplo, é um indicativo de instabilidade ou estabilidade da mesma, de forma que quanto mais instável, maior será a aglomeração das partículas (BECHTOLD, 2011). Quanto mais próximo de 0 mV, mais instável a nanopartícula é, sendo que as AgNPs são consideradas instáveis quando dentro da faixa de -30 mV a 30 mV (BECHTOLD, 2011).

Assim como o potencial zeta, a salinidade também favorece a agregação das nanopartículas, diminuindo a toxicidade da própria NP, muito em função da alta força iônica (YUNG et al., 2015; SHARAN; NARA, 2019). Por isso, como os efeitos tóxicos tendem a ser diminuídos em ambientes de água salgada, a tendência é que os organismos de água doce sofram danos mais severos.

O tamanho e a forma também são informações pertinentes que podem interferir na toxicidade. O tamanho, por sua vez, possui relação inversa com a área superficial, de forma que, quanto menor for o tamanho, maior será a sua área superficial e, conseqüentemente, a reatividade da substância, além de que, em tamanhos reduzidos existe uma alta relação superfície/volume o que facilita a entrada da NP nas células (KOCE, 2017; SHARAN; NARA, 2019).

É perceptível, também, que a grande maioria das AgNPs possuem formato esférico. Quando agregadas de forma densa, as nanopartículas com esse formato, apresentam uma menor área superficial disponível para entrar em contato com as células do que se estivessem separadas umas das outras, o que acaba por reduzir a toxicidade da substância (BORM et al., 2006). Nanopartículas de ZnO, por exemplo, na forma de bastonete provocaram maiores efeitos sobre

a microalga *Phaeodactylum tricornutum* do que a mesma nanopartícula na forma de esfera (PENG et al., 2011).

Visto isso, percebe-se que o estudo realizado por Gambardella et al. (2015) condiz com o relatado acima, já que as duas microalgas estudadas são marinhas, *Dunaliella tertiolecta* e *Skeletonema costatum*, e, por isso, o meio de cultivo possui elevada salinidade. Como esperado, esse fator, aliado a um potencial zeta próximo a zero, favoreceu a aglomeração das partículas, o que é evidenciado pelo elevado diâmetro hidrodinâmico (900 nm).

Por outro lado, embora a tendência é que as microalgas de água doce sejam mais propensas a impactos mais severos quando expostas a nanopartículas, no estudo de Pham (2019), isso não ocorre. A resposta a inibição do crescimento da microalga marinha *Chaetoceros gracilis* apresentou valor de EC_{50} menor, 24,3 $\mu\text{g/L}$, demonstrando que a AgNP foi mais tóxica para a espécie de água salgada do que para a microalga dulcícola *Scenedesmus acuminatus*, onde o resultado foi de 38,5 $\mu\text{g/L}$ (PHAM,2019). Já quando comparando o estudo de Fazelian et al. (2020) e Jemec et al. (2016), observando apenas os valores de EC_{50} , a tendência é válida, de forma que a microalga de água doce *Pseudokirchneriella subcapitata* respondeu a exposição de forma mais severa que a de água salgada *Nannochloropsis oculata*.

Dessa forma, percebe-se que não é tão simples encontrar relações válidas que possam ser aplicadas para todos os casos. Pela literatura, se consegue ter um indicativo da tendência de comportamento de acordo com cada característica, o grande problema é que o processo é muito mais complexo, de forma que não cabe avaliar cada característica isoladamente, visto que são um conjunto de fatores que influenciam no resultado final. Entretanto, algumas características são cruciais, tais como o tamanho reduzido, os níveis de aglomeração e a quantidade de íons de prata liberados. Além disso, percebeu-se que, mesmo com valores de EC_{50} diferentes, a inibição do crescimento foi constatada em todos os casos. Ainda, a estabilidade das nanopartículas no meio, associadas ao tamanho diminuto, aumentam a área superficial o que faz com que a probabilidade de interação com os organismos seja maior.

3.2.3 Cobre

As nanopartículas de cobre estão entre as mais utilizadas e, por isso, a tendência é que se façam presentes em diversos ambientes em altas concentrações, até mesmo no ambiente aquático (KOCE, 2017).

Elas são um tipo de material condutor, de vasta aplicação (ZHU et al., 2020), possuindo alta reatividade, além de propriedades antimicrobianas, muito utilizadas em produtos anti-incrustantes (BARRETO et al., 2019).

As nanopartículas de óxido de cobre, por sua vez, possuem emprego em sensores de gás, células fotovoltaicas (WAN et al., 2018), catalisadores e semicondutores (JIANG; HERRICKS; XIA, 2002; WANG et al. 2012).

Quando em baixas concentrações, os íons liberados pelas nanopartículas de cobre atuam como micronutriente, importante tanto para o desenvolvimento das plantas quanto dos animais, porém, elevadas concentrações acabam gerando o efeito contrário, tornando-se prejudicial aos organismos (ZHU et al, 2020). Nas plantas, em pequenas quantidades, o cobre auxilia na fotossíntese e no processo de respiração, contribuindo com a cadeia transportadora de elétrons (MIAZEK et al., 2015; ROUT; SAHOO, 2015).

As nanopartículas de óxido de cobre possuem dissolução lenta no ambiente aquático, demorando para que haja a sua degradação completa e, por isso, permanecem no local onde foi inserida por um longo período (PENG et al., 2017; CHE et al., 2018).

Devido a demanda de informações, cada vez mais se vem estudando os efeitos dessas nanopartículas em microalgas. O número de publicações, baseado na busca por palavras-chave referentes a essa nanopartícula, gerou 254 resultados de 2015 até o momento, entretanto, desses, 11 possuíam as informações e requisitos necessários (Tabela 4).

Tabela 4 - Resumo das informações referente aos estudos que fazem uso da nanopartícula metálica de cobre, tais como suas características, microalgas expostas a NP, efeitos resultantes dessa exposição e sua respectiva concentração de efeito.

Autor	Alga	NPs	Efeitos observados	Concentração de efeito	Características NP
Zhu et al. (2020)	<i>Skeletonema costatum</i> Marinha	Nano-Cu	Inibição de crescimento Danos à membrana celular	- 96 horas	Tamanho médio: 30 nm Diâmetro hidrodinâmico: 180,3 a 388,8 nm Potencial zeta: -12,3 mV
Wang et al. (2020)	<i>Chlorella vulgaris</i> Dulcícola ou marinha	CuO-NPs	Danos à membrana celular Produção de ROS	- 5 dias	Tamanho: 15-50 nm Potencial zeta: 16,51 ± 0,49 mV Diâmetro hidrodinâmico: Inicial: 696 ± 42 nm No quinto dia: 2077 ± 205 nm
Fazelian, Yousefzadi e Movafeghi (2020)	<i>Nannochloropsis oculata</i> Marinha	CuO-NPs	Inibição do crescimento Diminuição do teor de clorofila <i>a</i> Diminuição do conteúdo de proteína Efeito negativo sobre o conteúdo de ácidos graxos saturados (SFAs) Aumento no nível de ácidos graxos insaturados (USFAs) Diminuição da viabilidade celular	EC ₅₀ : 116,981 mg/L 72 horas	Forma: quase esférica Tamanho: 10 - 40 nm Diâmetro hidrodinâmico: 493,0 ± 43,6
Fazelian et al. (2019)	<i>Nannochloropsis oculata</i> Marinha	CuO-NPs	Inibição do crescimento Diminuição do teor de clorofila <i>a</i> Danos à membrana celular Estresse oxidativo	EC ₅₀ : 116,981 mg/L 72 horas	Tamanho: 40 nm
Barreto et al. (2019)	<i>Chlorella sorokiniana</i> Dulcícola	Cu-NPs	Inibição do crescimento Diminuição de carboidratos totais Aumento de proteínas Lipídios não foram afetados	- 96 horas	Tamanho: 30-60 nm

Joonas et al. (2019)	<i>Raphidocelis subcapitata</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Fistulifera pelliculosa</i> Dulcícolas	CuO-NPs CuSO ₄	Inibição do crescimento Redução do teor da fotossíntese	CuO-NP EC ₅₀ OECD: 0,87 mg/L EC ₅₀ ANW: 1,84 mg/L EC ₅₀ OECD: 0,30 mg/L EC ₅₀ ANW: 1,15 mg/L EC ₅₀ OECD: 0,52 mg/L EC ₅₀ ANW: 16,03 mg/L 72 horas	Tamanho: 24,5 nm Forma: esférica Tamanho hidrodinâmico em água desionizada: 152 ± 2,03 nm Potencial zeta: Água desionizada: 16,6 ± 2,9 mV Meio OECD: -26,6 ± 4,8 mV Meio água natural ANW: -19,7 ± 0,7 mV
Zhang et al. (2018)	<i>Skeletonema costatum</i> Marinha	Nano-Cu	Inibição do crescimento Diminuição no conteúdo de clorofila e eficiência fotossintética	- 96 horas	Tamanho: 10-30 nm Forma: esférica
Che et al. (2018)	<i>Chlorella</i> sp. Dulcícola <i>Scenedesmus</i> sp. Dulcícola ou marinha	CuO-NPs	Inibição do crescimento Inibição da atividade fotossintética e de respiração Acúmulo de ROS	- 25 dias	Tamanho: 50 nm Diâmetro hidrodinâmico: 464 ± 14 nm Potencial zeta: 14,75 ± 1,12 mV
Andreani et al. (2017)	<i>Raphidocelis subcapitata</i> Dulcícola	Nano-Cu disperso em água ultra purificada Nano-Cu disperso em DMSO 1%	Inibição do crescimento	EC ₅₀ : 4,83 mg/L EC ₅₀ : 9,2 mg/L 72 horas	Potencial zeta: -7,52 ± 0,39 mV Potencial zeta: -6,81 ± 0,34 mV Tamanho: 40 nm
Cheloni, Marti e Slaveykova (2016)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Dulcícola	CuO-NP	Inibição do crescimento Inibição da fotossíntese	- 24 horas	Forma: esférica Tamanho: 30 – 50 nm Tamanho hidrodinâmico: de 800 para 600 nm Potencial zeta inicial: - 23,4 mV

Moos, Maillard e Slaveykova (2015)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Dulcícola	CuO-NPs	Aumento no tamanho das células Estresse oxidativo Branqueamento da clorofila Permeabilização da membrana	- 24 horas	Forma: esférica Tamanho: 30 – 50 nm Diâmetro hidrodinâmico: 130 a 146 nm Potencial zeta: -
------------------------------------	---	---------	---	---------------	--

Mais uma vez, o efeito mais verificado foi a inibição do crescimento, avaliado em todos os estudos referente às nanopartículas metálicas de cobre. Entretanto, em alguns deles, não foi detectada uma inibição de crescimento significativa, como para a microalga *Chlorella vulgaris* quando exposta a concentrações de 1 a 10 mg/L de CuO-NPs por 5 dias (WANG et al., 2020), e nem para *Chlamydomonas reinhardtii* em concentrações de até 10 mg/L, também de CuO-NPs por um período de 24 horas (MOOS; MAILLARD; SLAVEYKOVA, 2015), porém, em ambos casos ocorreu estresse oxidativo e danos à membrana celular o que indica que mesmo sofrendo impactos negativos, a microalga consegue se desenvolver por um certo período, até que, em um determinado momento, esses danos acabem por ocasionar a morte celular.

Um número significativo de estudos considerando o número total (7 dos 11) não trazem informação relacionada a EC₅₀.

O comparativo entre nanopartículas de óxido de cobre (CuO-NP) e sulfato de cobre (CuSO₄) com a perspectiva de comparar o metal em nanoescala assim como na forma iônica foi realizado por Joonas et al. (2019). Esses autores fizeram um estudo bem mais complexo, avaliando além da diferença de toxicidade entre as formas de NPs, várias espécies de microalgas em vários meios de cultivo. Com isso, concluíram que a variabilidade de resultados entre os meios e entre as espécies de microalgas reforça ainda mais a necessidade de se avaliar vários organismos dentro de um mesmo nível trófico.

Além da fotossíntese, mesmo que em menor proporção, a respiração das algas *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. também podem ser prejudicadas pela exposição a longo prazo de nanopartículas de óxido de cobre (CHE et al., 2018). Os autores fizeram uma observação importante, verificando que a CuO-NP, depois que consegue internalizar na célula, sofre modificações e é convertida a um outro tipo de nanopartícula, a Cu₂O-NP, concentrando-se nos cloroplastos das células algáceas.

Já Barreto et al. (2019), afirmam que as Cu-NPs interferiram no metabolismo de carboidratos para a microalga *Chlorella sorokiniana*, diminuindo sua quantidade, o que significa que houve impacto sobre a fotossíntese, já que os carboidratos são o principal resultado do processo. Além disso houve aumento das proteínas em altas concentrações. Nesse estudo fizeram uma verificação bastante importante: constataram que quase a totalidade das nanopartículas migraram do meio de cultivo para as células depois de 24 horas de exposição, ocasionando desequilíbrio bioquímico e no metabolismo energético.

O efeito de CuO-NPs para a microalga *Nannochloropsis oculata* foi avaliada por Fazelian, Yousefzadi e Movafeghi (2020) e Fazelian et al. (2019). O primeiro estudo citado investigou os impactos de várias nanopartículas, dentre elas a de óxido de cobre, tanto na

questão de crescimento, quanto de conteúdo de proteína e ácidos graxos. Verificaram a inibição do crescimento, assim como uma redução no teor de proteínas e ácidos graxos saturados, enquanto os insaturados aumentaram. O segundo, verificou que a exposição à CuO-NP gerou a diminuição do crescimento da microalga e também do conteúdo de clorofila *a*, o que, por outro lado, aumentou a quantidade de peróxido de hidrogênio, causando danos à membrana. Além disso, houve aumento dos compostos fenólicos e diminuição dos níveis de carotenoides, muito provavelmente relacionados ao estresse oxidativo. Em ambos estudos o valor de EC₅₀ foi o mesmo e, de certa forma, bastante elevado quando comparado com os outros trabalhos, 116,981 mg/L para 72 horas de exposição, sendo de todos o menos tóxico, enquanto a mesma NP em contato por 72 horas com a microalga da espécie *Chlamydomonas reinhardtii*, demonstrou-se muito mais tóxica (0,30 mg/L).

A avaliação combinada de nano-Cu e microplástico sobre *Skeletonema costatum* foram realizadas por Zhu et al. (2020) de forma que ambos, separadamente, acabaram por inibir o crescimento da espécie investigada, porém, quando sozinho, o cobre demonstrava-se mais tóxico do que na presença do microplástico. Por isso, os autores apontaram que o microplástico acabou por reduzir a toxicidade da nanopartícula, observação essa que pode ser explicada pelo simples fato de que o elemento determinante da toxicidade foi a quantidade de íons Cu²⁺ liberados pelas partículas. O contato fez com que o microplástico adsorvesse esses íons, reduzindo sua biodisponibilidade para a microalga, amenizando assim os impactos adversos. O mesmo ocorre com a combinação entre nano-Cu e nanotubos, onde os nanotubos adsorvem os íons Cu²⁺ reduzindo a toxicidade das nanopartículas para a microalga *Skeletonema costatum* (ZHANG et al., 2018)

Andreani et al. (2017) investigaram como estabilizadores orgânicos utilizados na dispersão de nanopartículas de cobre podem influenciar na toxicidade da NP. O solvente DMSO favoreceu a sua dispersão e, através de suas observações, concluíram que a toxicidade da Nano-Cu se deve a uma combinação de fatores, tais como composição química, solubilização, persistência em suspensão, dentre outros.

Já Cheloni, Marti e Slaveykova (2016) verificaram o efeito da luz com distintas composições espectrais sobre a estabilidade de CuO-NPs e quais os seus efeitos para a microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. Verificaram que a luz natural simulada e a luz comum utilizada no laboratório não afetaram o crescimento da espécie, mas verificaram a inibição do crescimento quando em contato de luz com radiação UVB intensificada. Em 8 mg/L, que foi a concentração onde ocorreu essa inibição do crescimento, não houve danos à membrana e nem efeitos negativos sobre a clorofila, porém, foi detectado estresse oxidativo. Enquanto na

microalga exposta à luz natural simulada, embora não tenha sido observado inibição do crescimento, houve resposta positiva ao estresse oxidativo.

Com base nos artigos mencionados, percebe-se que, dos estudos que trazem valores de EC_{50} , as microalgas marinhas comportam-se de acordo com o esperado, apresentando valores superiores quando comparados às microalgas de água doce, ou seja, esses organismos precisam ficar expostos a concentrações superiores da substância para que se verifique algum efeito, o que faz com que esse tipo de NP seja, geralmente, mais tóxica para microalgas de água doce. 116,981 mg/L para a espécie marinha *Nannochloropsis oculata* no período de 72 horas (FAZELIAN et al., 2019; FAZELIAN; YOUSEFZADI; MOVAFEGHI, 2020), 4,83 mg/L e 9,2 mg/L para a microalga dulcícola *Raphidocelis subcapitata* para a Nano-Cu dispersa em água ultra-pura e em meio DMSO 1%, respectivamente (ANDREANI et al., 2017), por exemplo.

3.3 INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS DAS NANOPARTÍCULAS, PRINCIPAIS EFEITOS OBSERVADOS E DIFERENÇAS ENTRE AS MICROALGAS MARINHAS E DULCÍCOLAS

As três nanopartículas metálicas de interesse não apresentam muitos estudos a respeito, porém, de todas, a de prata é a que se possui mais informação, seguida da de cobre, enquanto para a de cobalto raríssimos são os estudos, dando o indicativo de que muito ainda se tem pra evoluir e investigar sobre esse assunto.

Ainda, nota-se que a inibição do crescimento foi o único efeito avaliado em 100% dos casos, independente do tipo de nanopartícula, embora essa inibição nem sempre tenha ocorrido. Além disso, verifica-se que ambas nanopartículas indicam que a toxicidade é dependente dos íons liberados pela própria substância química e que a maioria dos efeitos observados não são específicos de apenas uma NP, no geral, os efeitos que foram mencionados são comuns.

Percebe-se que os estudos referentes as nanopartículas de cobalto destacaram que a toxicidade é consequência do efeito de sombreamento. Efeito esse que não é mencionado, talvez por não ser tão evidente, nas outras nanopartículas, embora em todos os tipos de NPs há relatos de que as substâncias fiquem aderidas à parte externa da célula, causando danos à membrana celular, o que acaba facilitando a sua internalização na célula.

Algo bastante verificado nos estudos envolvendo NPs de prata e cobre foi o comparativo entre o metal na forma de nanopartícula e na forma iônica. Em praticamente todos os trabalhos

onde essa questão foi abordada, a forma iônica acabou demonstrando-se mais tóxica do que a própria nanopartícula.

E, quando se considera o ambiente em que a microalga está inserida, seja ele de água doce ou salgada, como já mencionado anteriormente, a tendência seria de que sobre a microalga dulcícola, a NP se apresentasse de forma mais tóxica do que sobre a microalga marinha, o que nem sempre acontece devido a tantas variáveis e interferências que ocorrem no sistema. Notou-se que a nanopartícula de cobre é a que mais segue essa tendência. Cabe ressaltar que esse fato é afirmado baseado em uma quantidade pequena de estudos, já que a maioria dos artigos referentes a Nano-Cus e CuO-NPs não apresentam valores para EC₅₀.

Além de tudo isso, ao longo do texto, foi mencionado como cada característica isoladamente pode interferir nos efeitos observados, acentuando-os ou minimizando-os. A partir disso, percebeu-se que os dados referentes a EC₅₀ eram muito variados formando uma faixa bem ampla, enquanto o tamanho foi o que mais se manteve próximo quando comparado os três tipos de NPs. Quando avaliadas em faixas de tamanho, acabam sendo parecidas, porém, quando são observados os tamanhos médios, a NP de prata foi a que apresentou a menor dimensão (10 nm), seguida da de cobalto (30 nm), e da de cobre (40 nm). Observa-se, também, que a maioria delas apresentou formato esférico e potencial zeta na faixa de instabilidade e, conseqüentemente, uma grande tendência a formar aglomerações.

4 PERCEPÇÕES E CONSIDERAÇÕES PERTINENTES

Através dessa revisão bibliográfica percebeu-se que existem muitas lacunas a serem preenchidas, muito em função de não se ter um número expressivo de estudos, principalmente quando se trata das nanopartículas de cobalto.

Além disso, ficou clara a importância de haver o desenvolvimento de métodos padronizados para estimar a toxicidade de todos os tipos de nanopartículas a fim de facilitar a comparação e verificar linhas de tendências.

Ainda, percebeu-se que a grande maioria dos estudos se realiza em condições controladas, expondo apenas uma única espécie de organismo ou uma pequena variedade deles, o que, embora seja importante, nem sempre representa um valor real, pois diversos parâmetros acabam não sendo avaliados, como a interação entre os organismos dentro do nível trófico, condições meteorológicas, variação de temperatura do meio, etc. Dessa forma, não se tem uma avaliação dos efeitos reais das nanopartículas nos ecossistemas, mas do comportamento das mesmas em ambientes controlados.

Verificou-se que a bioacumulação e a biomagnificação não são muito estudadas, o que seria ideal para verificar efeitos a longo prazo. Atualmente, o mais comum é avaliar os efeitos diretos do contato da NP de interesse com o organismo teste, mas não se avalia de fato o efeito indireto, que ocorreria, por exemplo, através da ingestão de um organismo localizado na base da cadeia alimentar, que tenha acumulado no seu interior doses da NP, por um organismo localizado no topo da pirâmide.

Além do mais, a variação expressiva nos resultados e a falta de uma padronização de sistemas e de parâmetros considerados torna extremamente difícil estabelecer tendências gerais de comportamento a respeito dos efeitos oriundos do contato entre as NPs e o organismo teste.

Outra questão que surgiu devido à escassez de informação a partir do levantamento literário realizado, foi a necessidade de considerar se o modo de síntese das nanopartículas influencia na toxicidade final das mesmas e de que maneira, já que foi constatado que as NPs podem ser tanto comerciais quanto sintetizadas em laboratório, geralmente ambas de forma química, assim como extraídas através de síntese verde.

5 CONCLUSÃO

Através dessa revisão bibliográfica, verificou-se que os efeitos observados para ambas as nanopartículas são similares e que, embora seja comum que os estudos destaquem que a caracterização das nanopartículas é fundamental, já que os efeitos são dependentes dessas características, praticamente nenhum dos estudos apresenta ou busca uma relação entre elas e os efeitos observados para justificar os resultados encontrados. Acredita-se que isso ocorre em função da dificuldade que existe em fazer uma comparação entre os estudos devido a tamanha variação nos parâmetros analisados, como tempo de exposição, tamanho de nanopartícula, faixa de concentrações utilizadas, dentre outros tantos fatores (como por exemplo, utilizar a nanopartícula pura, ou em outras formas, com ou sem matéria orgânica, na presença ou não de revestimento), bem como fazer uso de espécies diferentes (com e sem parede celular, de diferentes ambientes e por isso mais sensíveis ou não).

Por conseguinte, percebeu-se que as características físico-químicas dão sim um indicativo de comportamento referente a toxicidade da NP, mas de forma mais isolada, quando em conjunto, em um sistema, essa comparação fica bastante complexa. Como os resultados são muito variáveis, constatou-se que são válidos apenas para aquela espécie e para aquelas condições específicas.

Dessa forma, apesar do impulso na produção de artefatos utilizando nanopartículas e na aplicação industrial dos nanomateriais, é evidente a necessidade de compreender a interação de forma mais complexa dessas substâncias com organismos aquáticos com o intuito de determinar limites de concentração que podem chegar aos recursos hídricos, visando a redução da poluição do ecossistema. Além disso, os impactos causados aos organismos presentes no ambiente que ficarão expostos a essas substâncias e aqueles que pertencem a uma ordem mais elevada da cadeia alimentar podem ser evitados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI. AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. **Nanotecnologias**: subsídios para a problemática dos riscos e regulação. Brasília, 2011.

AHMED, S.; CHAUDHRY, S. A.; IKRAM, S. A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: a prospect towards green chemistry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 166, p. 272-284, 2017.

ANDREANI, T.; NOGUEIRA, V.; PINTO, V. V.; FERREIRA, M. J.; RASTEIRO, M. G.; SILVA, A. M.; PEREIRA, R.; PEREIRA, C. M. Influence of the stabilizers on the toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms and human cell lines. **Science of the Total Environment**, v. 607-608, p. 1264-1277, 2017.

BAHADOR, E.; EINALI, A.; AZIZIAN-SHERMEH, O.; SANGTARASH, M. H. Metabolic responses of the green microalga *Dunaliella salina* to silver nanoparticles-induced oxidative stress in the presence of salicylic acid treatment. **Aquatic Toxicology**, v. 217, p. 1-10, 2019.

BARRETO, D. M.; TONIETTO, A. E.; AMARAL, C. D. B.; PULGROSSI, R. C.; POLPO, A.; NÓBREGA, J. A.; LOMBARDI, A. T. Physiological responses of *Chlorella sorokinianato* copper nanoparticles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, p. 387-395, 2019.

BATISTA, R. S.; SILVA, L. M.; SOUZA, R. R. M.; PRADO, H. J. P.; SILVA, C. A.; RÔÇAS, G.; OLIVEIRA, A. L.; NETO, J. A. H. Nanociência e nanotecnologia como temáticas para discussão de ciência, tecnologia, sociedade e ambiente. **Ciência & Educação**, v. 16, p. 479-490, 2010.

BECARO, A. A.; JONSSON, C. M.; PUTI, F. C.; SIQUEIRA, M. C.; MATTOSO, L. H.C.; CORREA, D. S.; FERREIRA, M. D. Toxicity of PVA-stabilized silver nanoparticles to algae and microcrustaceans. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 3, p. 22-29, 2015.

BECHTOLD, M. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata e aplicação como agente biocida em tinta poliuretânica hidrossolúvel**. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

BORM, P.; KLAESSIG, F. C.; LANDRY, T. D.; MOUDGIL, B.; PAULUHN, J.; THOMAS, K.; TROTTIER, R.; WOOD, S. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part V: dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. **Toxicological Sciences**, v. 90, p. 23-32, 2006.

CHE, X.; DING, R.; LI, Y.; ZHANG, Z.; GAO, H.; WANG, W. Mechanism of long-term toxicity of CuO NPs to microalgae. **Nanotoxicology**, v. 12, p. 923-939, 2018.

CHELONI, G.; MARTI, E.; SLAVEYKOVA, V. I. Interactive effects of copper oxide nanoparticles and light to green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 120-128, 2016.

CHEN, X.; ZHANG, C.; TAN, L.; WANG, J. Toxicity of Co nanoparticles on three species of marine microalgae. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 454-461, 2018a.

CHEN, Z.; SHENG, X.; WANG, J.; WEN, Y. Silver nanoparticles or free silver ions work? An enantioselective phytotoxicity study with a chiral tool. **Science of the Total Environment**, v. 610-611, p. 77-83, 2018b.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, p. 1820-1830, 2008.

DÉNIEL, M.; ERRIEN, N.; DANIEL, P.; CARUSO, A.; LAGARDE, F. Current methods to monitor microalgae-nanoparticle interaction and associated effects. **Aquatic Toxicology**, v. 217, p. 1-13, 2019.

DESHMUKH, S.P.; PATIL, S. M.; MULLANI, S. B.; DELEKAR, S. D. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. **Materials Science and Engineering**, v. 97, p. 954-965, 2019.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D.; CONTI, R.; ALVES, O. L.; COSTA, F. T. M.; BROCCHI, M. Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 949-959, 2010.

FAZELIAN, N.; MOVAFEGHI, A.; YOUSEFZADI, M.; RAHIMZADEH, M. Cytotoxic impacts of CuO nanoparticles on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 17499-17511, 2019.

FAZELIAN, N.; MOVAFEGHI, A.; YOUSEFZADI, M.; RAHIMZADEH, M.; ZAREI, M. Impact of silver nanoparticles on the growth, fatty acid profile, and antioxidative response of *Nannochloropsis oculata*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, p. 1-14, 2020.

FAZELIAN, N.; YOUSEFZADI, M.; MOVAFEGHI, A. Algal Response to Metal Oxide Nanoparticles: analysis of growth, protein content, and fatty acid composition. **Bioenergy Research**, v. 13, p. 944-954, 2020.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. C. Nanotecnologia: Aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, p. 1860-1870, 2009.

FEYNMAN, R. There's plenty of room at the bottom. **Engineering & Science**, v. 5, p. 22-36, 1960.

GAMBARDELLA, C.; COSTA, E.; PIAZZA, V.; FABBROCINI, A.; MAGI, E.; FAIMALI, M.; GARAVENTA, F. Effect of silver nanoparticles on marine organisms belonging to different trophic levels. **Marine Environmental Research**, v. 111, p. 41-49, 2015.

GOLUBEV, A. A.; PRILEPSKII, A. Y.; DYKMAN, L. A.; KHLEBTSOV, N. G.; BOGATYREV, V. A. Colorimetric Evaluation of the Viability of the Microalga *Dunaliella Salinas* a Test Tool for Nanomaterial Toxicity. **Toxicological Sciences**, v. 151, p. 115-125, 2016.

GONZÁLEZ-BALLESTEROS, N.; RODRÍGUEZ-ARGÜELLES, M. C. Seaweeds: a promising bionanofactory for ecofriendly synthesis of gold and silver nanoparticles. **Sustainable Seaweed Technologies**, v. 1, p. 507-541, 2020.

GUDIKANDULA, K.; MARINGANTI, S. C. Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 11, p. 714-721, 2016.

HOBSON, D. W.; GUY, R. C. Encyclopedia of Toxicology. **Biomedical Sciences**, v. 1, p. 434-436, 2014.

HUANG, J.; CHENG, J.; YI, J. Impact of silver nanoparticles on marine diatom *Skeletonema costatum*. **Journal of Applied Toxicology**, v. 36, p. 1343-1354, 2016.

IPATOVA, V. I.; SPIRKINA, N. E.; DMITRIEVA, A. G. Resistance of microalgae to colloidal silver nanoparticles. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 62, p. 253-261, 2015.

JEMEC, A.; KAHRU, A.; POTTHOFF, A.; DROBNE, D.; HEINLAAN, M.; BÖHME, S.; GEPPERT, M.; NOVAK, S.; SCHIRMER, K.; REKULAPALLY, R. An interlaboratory comparison of nanosilver characterisation and hazard identification: harmonising techniques for high quality data. **Environment International**, v. 87, p. 20-32, 2016.

JIANG, X. C.; HERRICKS, T.; XIA, Y. N. CuO Nanowires Can Be Synthesized by Heating Copper Substrates in Air. **Nano Letters**, v. 2, p. 1333–1338, 2002.

JOHARI, S. A.; SARKHEIL, M.; TAYEMEH, M. B.; VEISI, S. Influence of salinity on the toxicity of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO₃) in halophilic microalgae, *Dunaliella salina*. **Chemosphere**, v. 209, p. 156-162, 2018.

JOONAS, E.; ARUOJA, V.; OLLI, K.; KAHRU, A. Environmental safety data on CuO and TiO₂ nanoparticles for multiple algal species in natural water: filling the data gaps for risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 973-980, 2019.

KHOSHNAMVAND, M.; ASHTIANI, S.; CHEN, Y.; LIU, J. Impacts of organic matter on the toxicity of biosynthesized silver nanoparticles to green microalgae *Chlorella vulgaris*. **Environmental Research**, v. 185, p. 1-8, 2020.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis, 2004.

KOCE, J. D. Effects of exposure to nano and bulk sized TiO₂ and CuO in *Lemna minor*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 119, p. 43-49, 2017.

LEE, S. W.; OBREGON-ALFARO, S.; RODRIGUEZ-GONZALEZ, V. Photocatalytic coatings of silver-TiO₂ nanocomposites on foamed waste-glass prepared by sonochemical process. **Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry**, v. 221, p. 71-76, 2011.

LOURO, H.; BORGES, T.; SILVA, M. J. **Nanomateriais manufacturados: novos desafios para a saúde pública**. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 31, p. 188-200, 2013.

MCGILLICUDDY, E.; MURRAY, I.; KAVANAGH, S.; MORRISON, L.; FOGARTY, A.; CORMICAN, M.; MORRIS, D. Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 231-246, 2017.

MERTENS, J.; OORTS, K.; LEVERETT, D.; ARIJS, K. Effects of silver nitrate are a conservative estimate for the effects of silver nanoparticles on algae growth and *Daphnia magna* reproduction. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 1, p. 1701-1713, 2019.

MIAZEK K.; IWANEK W.; REMACLE C.; RICHEL A.; GOFFIN D. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial product biosynthesis: a review. **Molecular Science**, v. 16, p. 23929–23969, 2015.

- MOOS, N. V.; MAILLARD, L.; SLAVEYKOVA, V. I. Dynamics of sub-lethal effects of nano-CuO on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii* during short-term exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 161, p. 267-275, 2015.
- MORENO-GARRIDO, I.; PEREZ, S.; BLASCO, J. Toxicity of silver and gold nanoparticles on marine microalgae. **Marine Environmental Research**, v. 111, p. 60-73, 2015.
- NGUYEN, M. K.; MOON, J. Y.; LEE, Y. C. Microalgal ecotoxicity of nanoparticles: an updated review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 201, p. 1-20, 2020.
- NICOLAS, J.; MURA, S.; BRAMBILLA, D.; MACKIEWICZ, N.; COUVREUR, P. Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery. **Chemical Society Reviews**, v. 42, p. 1147-1235, 2013.
- OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo, 2008.
- ONODERA A.; NISHIUMI F.; KAKIGUCHI K.; TANAKA A.; TANABE N.; HONMA A.; YAYAMA K.; YOSHIOKA Y.; NAKAHIRA K.; YONEMURA S.; YANAGIHARA I.; TSUTSUMI Y.; KAWAI Y. Short-term changes in intracellular ROS localisation after the silver nanoparticles exposure depending on particle size. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 574–579, 2015.
- PHAM, T. L. Toxicity of Silver Nanoparticles to Tropical Microalgae *Scenedesmus acuminatus*, *Chaetoceros gracilis* and Crustacean *Daphnia lumholtzi*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 19, p. 1009-1016, 2019.
- PENG, C.; SHEN, C.; ZHENG, S.; YANG, W.; HU, H.; LIU, J.; SHI, J. Transformation of CuO Nanoparticles in the Aquatic Environment: Influence of pH, Electrolytes and Natural Organic Matter. **Nanomaterials**, v. 7, p. 326–342, 2017.
- PENG, X., PALMA, S., FISHER, N.S., WONG, S.S. Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae. **Aquatic Toxicology**, v. 102, p. 186-196, 2011.
- RANA, A.; YADAV, K.; JAGADEVAN, S. A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: mechanism, application and toxicity. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 1-104, 2020.
- ROCO, M. C. The long view of nanotechnology development: the National Nanotechnology Initiative at 10 years. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, p. 427-445, 2011.
- ROMERO, N.; VISENTINI, F. F.; MÁRQUEZ, V. E.; SANTIAGO, L. G.; CASTRO, G. R.; GAGNETEN, A. M. Physiological and morphological responses of green microalgae *Chlorella vulgaris* to silver nanoparticles. **Environmental Research**, v. 189, p. 1-10, 2020.
- ROUT, G. R.; SAHOO, S. Role of iron in plant growth and metabolism. **Reviews Agricultural Science**, v. 3, p. 1–24, 2015.
- SCHIAVO, S.; DUROUDIER, N.; BILBAO, E.; MIKOLACZYK, M.; SCHÄFER, J.; CAJARAVILLE, M.P.; MANZO, S. Effects of PVP/PEI coated and uncoated silver NPs and PVP/PEI coating agent on three species of marine microalgae. **Science of the Total Environment**, v. 577, p. 45-53, 2017.
- SENDRA, M.; BLASCO, J.; ARAÚJO, C. V. M. Is the cell wall of marine phytoplankton a

protective barrier or a nanoparticle interaction site? Toxicological responses of *Chlorella autotrophica* and *Dunaliella salina* to Ag and CeO₂ nanoparticles. **Ecological Indicators**, v. 95, p. 1053-1067, 2018.

SENDRA, M.; YESTE, M.P.; GATICA, J.M.; MORENO-GARRIDO, I.; BLASCO, J. Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricoratum*). **Chemosphere**, v. 179, p. 279-289, 2017.

SHARAN, A.; NARA, S. Exposure of synthesized Co₃O₄ nanoparticles to *Chlorella minutissima*: an ecotoxic evaluation in freshwater microalgae. **Aquatic Toxicology**, v. 224, p. 1-8, 2020.

SHARAN, A.; NARA, S. Phytotoxic Properties of Zinc and Cobalt Oxide Nanoparticles in Algae. **Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms**, v. 1, p. 1-22, 2019.

TANIGUCHI, N. **On the basic concept of nano-technology proceedings of the international conference on production engineering Tokyo Part II Japan Society of Precision Engineering**. Tóquio, 1974.

TAYEMEH, M. B.; ESMAILBEIGI, M.; SHIRDEL, I.; JOO, H. S.; JOHARI, S. A.; BANAN, A.; NOURANI, H.; MASHHADI, H.; JAMI, M. J.; TABARROK, M. Perturbation of fatty acid composition, pigments, and growth indices of *Chlorella vulgaris* in response to silver ions and nanoparticles: a new holistic understanding of hidden ecotoxicological aspect of pollutants. **Chemosphere**, v. 238, p. 1-10, 2020.

TORTELLA, G. R.; RUBILAR, O.; DURÁN, N.; DIEZ, M. C.; MARTÍNEZ, M.; PARADA, J.; SEABRA, A. B. Silver nanoparticles: toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 390, p. 1-78, 2020.

TROUT, D. B.; SCHULTE, P. A. Medical surveillance, exposure registries, and epidemiologic research for workers exposed to nanomaterials. **Toxicology**, v. 269, p. 128-135, 2010.

VAZQUEZ-MUÑOZ, R.; BORREGO, B.; JUÁREZ-MORENO, K.; GARCÍA-GARCÍA, M.; MORALES, J. D. M.; BOGDANCHIKOVA, N.; HUERTA-SAQUERO, A. Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: does the complexity of biological systems matter?. **Toxicology Letters**, v. 276, p. 11-20, 2017.

WAN, J. K.; CHU, W. L.; KOK, Y. Y.; CHEONG, K. W. Assessing the toxicity of copper oxide nanoparticles and copper sulfate in a tropical *Chlorella*. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 3153-3165, 2018.

WANG, G.; LIU, H.; HORVAT, J.; WANG, B.; QIAO, S.; PARK, J.; AHN, H. Highly ordered mesoporous cobalt oxide nanostructures: Synthesis, characterisation, magnetic properties, and applications for electrochemical energy devices. **Chemistry**, v. 16, p. 11020-11027, 2010.

WANG, L.; HUANG, X.; SUN, W.; TOO, H. Z.; LASERNA, A. K. C.; LI, S. F. Y. A global metabolomic insight into the oxidative stress and membrane damage of copper oxide nanoparticles and microparticles on microalga *Chlorella vulgaris*. **Environmental Pollution**, v. 258, p. 1-10, 2020.

WANG, P.; ZHANG, B.; ZHANG, H.; HE, Y.; ONG, C. N.; YANG, J. Metabolites change of *Scenedesmus obliquus* exerted by AgNPs. **Journal of Environmental Sciences**, v. 76, p. 310-318, 2019.

WANG, Z.; XIE, X.; ZHAO, J.; LIU, X.; FENG, W.; WHITE, J. C.; XING, B. Xylem- and Phloem-Based Transport of CuO Nanoparticles in Maize (*Zea mays* L.). **Environmental Science and Technology**, v. 46, p. 4434–4441, 2012.

XIANG, L.; FANG, J.; CHENG, H. Toxicity of silver nanoparticles to green algae *M. aeruginosa* and alleviation by organic matter. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, p. 1-9, 2018.

YUNG, M. M. N.; WONG, S. W. Y.; KWOK, K. W. H.; LIU, F. Z.; LEUNG, Y. H.; CHAN, W. T.; LI, X. Y.; DJURISIC, A. B.; LEUNG, K. M. Y. Salinity-dependent toxicities of zinc oxide nanoparticles to the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. **Aquatic Toxicology**, v. 165, p. 31-40, 2015.

ZHANG, C.; CHEN, X.; TAN, L.; WANG, J. Combined toxicities of copper nanoparticles with carbon nanotubes on marine microalgae *Skeletonema costatum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13127-13133, 2018.

ZHENG, F.; LUO, Z.; ZHENG, C.; LI, J.; ZENG, J.; YANG, H.; CHEN, J.; JIN, Y.; ASCHNER, M.; WU, S.; ZHANG, Q.; LI, H. Comparison of the neurotoxicity associated with cobalt nanoparticles and cobalt chloride in wistar rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 369, p. 90-99, 2019.

ZHU, X.; ZHAO, W.; CHEN, X.; ZHAO, T.; TAN, L.; WANG, J. Growth inhibition of the microalgae *Skeletonema costatum* under copper nanoparticles with microplastic exposure. **Marine Environmental Research**, v. 158, p. 1-7, 2020.

ZUCOLOTTO, V. **Nanotoxicidade**. Disponível em: <<http://www.nanomedicina.com.br/>>. Acesso em: 10 out. 2020.