



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMÁTICA, USO E CONSERVAÇÃO**  
**DA BIODIVERSIDADE**

**ALEXYA VITORIA FELIX CARVALHO**

**NANOPARTÍCULAS DE  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  PODEM AFETAR A BIODIVERSIDADE?**  
**ESTUDO DE TOXICIDADE EM MODELOS AQUÁTICOS E TERRESTRES**

**FORTALEZA**  
**2023**

ALEXYA VITORIA FELIX CARVALHO

NANOPARTÍCULAS DE  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  PODEM AFETAR A BIODIVERSIDADE?  
ESTUDO DE TOXICIDADE EM MODELOS AQUÁTICOS E TERRESTRES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Biodiversidade

Orientador: Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thaiz B.A.R Miguel.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- C321n Carvalho, Alexya Vitoria Felix.  
Nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> podem afetar a biodiversidade? Estudo de toxicidade em modelos aquáticos e terrestres / Alexya Vitoria Felix Carvalho. – 2023.  
48 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel.  
Coorientação: Prof. Dr. Thaiz Batista Azevedo Rangel Miguel.
1. Ecotoxicologia. 2. Toxicidade aguda. 3. Microscopia óptica. 4. Microscopia eletrônica de varredura. I. Título.

CDD 578.7

---

ALEXYA VITORIA FELIX CARVALHO

NANOPARTÍCULAS DE Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> PODEM AFETAR A BIODIVERSIDADE?  
ESTUDO DE TOXICIDADE EM MODELOS AQUÁTICOS E TERRESTRES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Biodiversidade

Aprovada em: 30/08/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Vicente Vieira Faria  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Valdirene Moreira Gomes  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)

A Deus.

Aos meus pais, Luciana e Bruno.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, ao Programa de pós-graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade (PPGSIS) e todo corpo docente, por proporcionarem um ensino de alta qualidade.

À Central Analítica - UFC/CT-INFRA/MCTI-SISNANO/Pró-Equipamentos CAPES por todo o suporte proporcionado a essa pesquisa.

Ao grupo de Química de Materiais Avançados (GQMat) coordenado pelo Dr. Pierre Fechine da Universidade Federal do Ceará, por ceder gentilmente e caracterizar as nanopartículas para que esse trabalho fosse desenvolvido.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel e a prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thaiz B.A.R. Miguel, pela dedicação à pesquisa e excelente orientação.

Aos participantes da banca de qualificação prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Izabel Gallão, Dr. Saulo Pireda Fernandes e prof. Dr. Vicente Vieira Faria, pelas importantíssimas contribuições para essa pesquisa.

Aos professores participantes da banca examinadora prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Valdirene Moreira Gomes e Prof. Dr Vicente Vieira Faria pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas do laboratório BioMat, especialmente a Kamila Medeiros, pelas reflexões, críticas e ajuda recebidas.

Aos amigos, que estiveram presentes nos bons e maus momentos. Com vocês a vida é mais bonita.

Ao meu amado companheiro Victor Moura, por estar presente durante toda a caminhada do mestrado, pelas palavras de incentivo, por ser o meu porto seguro nos momentos de dificuldade, pelo amor, ensinamentos, paciência e cuidado.

À minha família, especialmente minha mãe Lucina Felix, meu pai Bruno Carvalho e irmão Kayo Felix, pelo apoio, incentivo e amor incondicional.

A Deus, por nunca me desamparar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

As nanopartículas de óxido de ferro são amplamente utilizadas em aplicações biomédicas e ambientais, devido as suas propriedades magnéticas, biodegradabilidade e baixa toxicidade. Para melhorar o desempenho das funções propostas a essas nanopartículas, a funcionalização da superfície vem sendo amplamente utilizada. A funcionalização abre uma lacuna no conhecimento acerca dessas nanopartículas, uma vez que poucos trabalhos relatam o efeito e ecotoxicidade da interação dessas com organismos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi analisar a interação de nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com acrilato polissódico (NPOF-AP) e polietilenimina ramificada (NPOF-PR) em sistemas biológicos, utilizando *Lactuca sativa* L. e *Artemia salina* L. como modelos experimentais. Em *L. sativa*, foram realizados testes para avaliar a germinação e crescimento das plântulas, nos quais as sementes foram expostas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR (12,5; 25; 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>), além dos controles com água destilada e dicromato de potássio (0,2M). As características avaliadas foram: taxa de germinação, comprimento e peso úmido e seco das plântulas, sendo coletadas, ao final do experimento, as raízes e parte aérea para as análises microscópicas. Além disso, foram realizados testes de toxicidade aguda em *A. salina*, em dois estágios de vida, náuplios I e II, por 48h, nas mesmas concentrações de NPOF-AP e PR supracitadas. Ao final do experimento, a taxa mortalidade foi calculada e os animais mortos foram analisados em microscópio óptico. Os resultados indicaram que não houve fitotoxicidade no processo de germinação das sementes e no tamanho das plântulas de *L. sativa* expostas aos tratamentos com NPOF-AP e PR. Mudanças morfoanatômicas foram observadas nas plântulas, como alteração na morfologia das células do cotilédone nas concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP em relação aos controles e aumento da densidade de pelos radiculares nas raízes nas concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. Os resultados para *A. salina*, indicaram que a taxa de mortalidade para os náuplios I variou de 0 a 7,5%. Enquanto que para os náuplios II, foram observadas para a NPOF-PR, uma taxa de 2,5% na concentração de 12,5 mg.L<sup>-1</sup> e 12,5% na concentração de 100mg.L<sup>-1</sup> das nanopartículas. Já para os náuplios II submetidos a diferentes concentrações de NPOF-AP, houve uma variação de 7,5% de taxa de mortalidade na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> a 30% na concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup>. A maior taxa de mortalidade nos náuplios II está relacionada ao desenvolvimento completo do trato digestivo. Além disso, houve a acumulação das nanopartículas no trato digestivo tanto dos náuplios I e II após as 48h de exposição às nanopartículas. Dessa forma, os ensaios iniciais indicaram que as nanopartículas apresentaram baixa toxicidade, sendo um fator importante para a utilização em

aplicações biomédicas.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia; toxicidade aguda; microscopia óptica; microscopia eletrônica de varredura.

## ABSTRACT

Iron oxide nanoparticles are used extensively in biomedical and environmental applications due to their magnetic properties, biodegradability, and low toxicity. In order to improve the performance of the functions proposed for these nanoparticles, surface functionalization has been used. Functionalization opens a gap in the knowledge of these nanoparticles since few studies report the effect and ecotoxicity of their interaction with organisms. Therefore, this work aimed to analyze the interaction of iron oxide nanoparticles functionalized with polysodium acrylate (NPOF-AP) and branched polyethyleneimine (NPOF-PR) in biological systems, using *Lactuca sativa* L. and *Artemia salina* L. as experimental models. In *L. sativa*, tests were performed to evaluate germination and seedling growth by exposing seeds to different concentrations of NPOF-AP and NPOF-PR (12.5, 25, 50, and 100 mg.L<sup>-1</sup>), as well as controls with distilled water and potassium dichromate (0.2M). The following characteristics were evaluated: germination rate, length, and fresh and dry weight of seedlings; roots and aerial parts were collected at the end of the experiment for microscopic analysis. In addition, acute toxicity tests were carried out on *A. salina* at two life stages, nauplii I and II, for 48 hours at the same concentrations of NPOF-AP and PR mentioned above. At the end of the experiment, the mortality rate was calculated, and the dead animals were analyzed by light microscopy. The results showed no phytotoxicity in the seed germination process or the size of *L. sativa* seedlings exposed to NPOF-AP and PR treatments. Morphoanatomical changes were observed in the seedlings, such as a change in the morphology of the cotyledon cells at concentrations of 50 and 100 mg.L<sup>-1</sup> of NPOF-AP compared to the controls, and an increase in the density of root hairs on the roots at concentrations of 50 mg.L<sup>-1</sup> of NPOF-AP. The results for *A. salina* showed that the mortality rate for nauplii I ranged from 0 to 7.5%. For nauplii II, a rate of 2.5% was observed at concentration of 12.5 mg.L<sup>-1</sup>, and 12.5% at concentration of 100 mg.L<sup>-1</sup> of NPOF-AP nanoparticles. For nauplii II exposed to different concentrations of NPOF-AP, the mortality rate varied from 7.5% at a concentration of 25 mg.L<sup>-1</sup> to 30% at a concentration of 100 mg.L<sup>-1</sup>. The higher mortality rate in nauplii II is related to the complete digestive tract development. In addition, the nanoparticles accumulated in the digestive tract of both nauplii I and II after 48 hours of exposure to the nanoparticles. Thus, the initial tests indicated that the nanoparticles showed low toxicity in biological models, which is an important factor for their use in biomedical applications.

**Keywords:** ecotoxicology; acute toxicity; optical microscopy; scanning electron microscopy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características das reações para a detecção das principais classes de metabólitos nos testes histoquímicos realizados com cortes incluídos em historresina de <i>L. sativa</i> após sete dias de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR.....	26
Figura 2 – Microscopia óptica de cotilédones de <i>L. sativa</i> após sete dias de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR.....	29
Figura 3 – Microscopia óptica de testes histoquímicos realizados em cotilédones de <i>L. sativa</i> após sete dias de exposição a 50 mg.L <sup>-1</sup> de NPOF-PR e 12,5 mg.L <sup>-1</sup> de NPOF-AP.....	30
Figura 4 – Microscopia eletrônica de varredura da zona pilífera de raízes de <i>L. sativa</i> após sete dias de exposição a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR.....	31
Figura 5 – Microscopia óptica de náuplios I e II de <i>A. salina</i> submetidos a diferentes concentrações de NPOF-AP após 48h.....	33
Figura 6 – Microscopia óptica de náuplios I e II de <i>A. salina</i> submetidos a diferentes concentrações de NPOF-PR após 48h.....	34

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Taxa de germinação de sementes de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR, além do controle positivo (água) e negativo ( $K_2Cr_2O_7$ ), após sete dias de exposição..... 27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média do comprimento das plântulas de <i>L. sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR durante o período de sete dias do teste de germinação e crescimento .....	28
Tabela 2 – Média e desvio padrão do peso úmido e seco (mg) de plântulas de <i>L. sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR após sete dias.....	28
Tabela 3 – Taxa de indivíduos imobilizados após 48h de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMA	Água do mar artificial
CF	Cloreto férrico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NPMs	Nanopartículas magnéticas
MO	Microscopia óptica
N I	Náuplio I
N II	Náuplio II
NPOF	Nanopartícula de óxido de ferro
NPOF-AP	Nanopartícula de óxido de ferro funcionalizadas com acrilato polissódico
NPOF-PR	Nanopartícula de óxido de ferro funcionalizadas com polietilenimina ramificada
PAS	Ácido Periódico de Schiff
ROS	Espécies reativas de oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
	....	4
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO</b>	<b>1</b>
	<b>TEÓRICA.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1</b>	<b>Nanotecnologia e</b>	<b>1</b>
	<b>nanopartículas.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2</b>	<b>Nanopartículas de óxido de ferro e</b>	<b>1</b>
	<b>nanoecotoxicologia.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3</b>	<b>Modelos</b>	<b>2</b>
	<b>experimentais.....</b>	<b>0</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
	....	2
<b>3.1</b>	<b>Objetivo</b>	<b>2</b>
	<b>geral.....</b>	<b>2</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos</b>	<b>2</b>
	<b>específicos.....</b>	<b>2</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E</b>	<b>2</b>
	<b>MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>4.1</b>	<b>Ensaaios</b>	<b>2</b>
	<b>ecotoxicológicos.....</b>	<b>3</b>
<b>4.1.</b>	<b><i>Teste de</i></b>	<b>2</b>
<b>1</b>	<b><i>fitotoxicidade.....</i></b>	<b>3</b>
<b>4.1.</b>	<b><i>Teste de toxicidade aguda com Artemia</i></b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b><i>salina.....</i></b>	<b>4</b>
<b>4.2</b>	<b>Análises</b>	<b>2</b>
	<b>microscópicas.....</b>	<b>4</b>
<b>4.2.</b>	<b><i>Microscopia eletrônica de varredura</i></b>	<b>2</b>
<b>1</b>	<b><i>(MEV).....</i></b>	<b>4</b>
<b>4.2.</b>	<b><i>Microscopia óptica</i></b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b><i>(MO).....</i></b>	<b>5</b>
<b>4.3</b>	<b>Testes</b>	<b>2</b>

	histoquímicos.....	5
4.4	Análises	2
	estatísticas.....	6
5	RESULTADOS.....	2
	...	7
5.1	Avaliação de	2
	fitotoxicidade.....	7
5.2	Teste de toxicidade aguda em <i>A.</i>	3
	<i>salina</i> .....	2
6	DISCUSSÃO.....	3
	....	5
6.1	Avaliação de	3
	fitotoxicidade.....	5
6.2	Teste de toxicidade aguda em <i>A.</i>	3
	<i>salina</i> .....	7
7	CONCLUSÃO.....	3
	...	9
8	CONSIDERAÇÕES	3
	FINAIS.....	9
	REFERÊNCIAS.....	4
	...	0

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma área emergente em diversos campos da ciência e tecnologia, e inclui a síntese e o desenvolvimento das nanopartículas (SELVARAJ *et al.*, 2022). Nesse contexto, as nanopartículas de óxido de ferro (NPOF) ganham destaque e estão sendo cada vez mais utilizadas em aplicações biomédicas (AKHTAR *et al.*, 2022) e ambientais, (SHARMA *et al.*, 2022). Isso ocorre devido às suas características de superparamagnetismo, à variedade de formas de síntese, ao revestimento de superfície, às opções de modificação e à capacidade de manipular com precisão as propriedades físicas e químicas em escala atômica (SU, 2017; TOH *et al.*, 2012). Além disso, o óxido de ferro é considerado o único óxido metálico aprovado clinicamente para aplicações biomédicas, devido a sua baixa toxicidade e biodegradabilidade (COTIN *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2010).

Entretanto, a NPOF possui tendência a agregação, principalmente em sistemas iônicos, devido à sua elevada área de superfície (WU; HE; JIANG, 2008). Esses agregados permanecem mais tempo no organismo e podem prejudicar a execução de funções, como a entrega direcionada de drogas, pela diminuição de sua mobilidade e entrada nas células (CHAMPAGNE *et al.*, 2018; LARTIGUE *et al.*, 2013).

Logo, visando aperfeiçoar as funções exercidas por essas nanopartículas, como aumentar a estabilidade coloidal, que representa sua capacidade de resistir à agregação, podem ser realizadas modificações na superfície tornando-as funcionalizadas (LIU *et al.*, 2012). Essa funcionalização pode ser realizada com o enxerto ou revestimento com moléculas orgânicas ou com uma camada inorgânica, como sílica, óxido metálico ou sulfeto metálico (WU; HE; JIANG, 2008).

Apesar dos inúmeros benefícios e utilizações das nanopartículas, também é importante avaliar como esses nanomateriais interagem com o meio ambiente. No entanto, poucos trabalhos relatam a toxicidade dessas nanopartículas funcionalizadas em outros organismos. Então, sua interação com a biota, ecotoxicidade e impacto ambiental estão se tornando mais relevantes, visto que o aumento da produção e uso de NPOF, principalmente as funcionalizadas, pode resultar em um maior risco de exposição para as pessoas e para o meio ambiente (DJURIŠIĆ *et al.*, 2015).

Dessa forma, este estudo avaliou o efeito da interação da nanopartícula de óxido de ferro funcionalizada em sistemas biológicos, utilizando *Artemia salina* L. (camarão-de-salmoura) e *Lactuca sativa* L. (alface) como modelos experimentais, objetivando contribuir

para o entendimento dos potenciais efeitos ecotoxicológicos das referidas nanopartículas.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Nanotecnologia e nanopartículas

O conceito de nanotecnologia iniciou em 1959, pelo físico e ganhador do Prêmio Nobel Richard Feynman, que ficou conhecido posteriormente como o “pai da nanotecnologia”. Esse termo “nanotecnologia” surgiu pela primeira vez em 1974, através do cientista japonês Norio Taniguchi, sendo descrita como a ciência que consiste no processamento, consolidação e deformação de materiais por um átomo ou uma molécula (BAYDA *et al.*, 2020; POKRAJAC *et al.*, 2021; SELVARAJ *et al.*, 2022). Atualmente, a nanotecnologia encontra-se em amplo desenvolvimento e engloba diferentes setores em todo o mundo (MALIK; MUHAMMAD; WAHEED, 2023). Essa ciência, inclui a síntese e o desenvolvimento de vários nanomateriais, dentre eles as nanopartículas, que são materiais com tamanhos que variam entre 1 a 100 nm (HASAN, 2014).

As nanopartículas apresentam propriedades físico-químicas exclusivas, devido, principalmente, ao seu tamanho reduzido e da proximidade de suas partículas. As características únicas dessas nanopartículas comparadas ao seu material a granel, fazem com que sejam amplamente estudadas em pesquisas e desenvolvimento de vários campos, como biomédico, industrial e ambiental (SARAVANAN *et al.*, 2021; SELVARAJ *et al.*, 2022; VANGIJZEGEM; STANICKI; LAURENT, 2019).

As aplicações industriais envolvem, por exemplo, a utilização na indústria do petróleo e gás (ALSABA; AL DUSHAISHI; ABBAS, 2020), geração de energia a partir de fotoeletroquímica e separação eletroquímica de água (AVASARE *et al.*, 2015; NING *et al.*, 2016); além da ampla incorporação dessas nanopartículas em materiais de uso diário, como cosméticos (DRÉNO *et al.*, 2019). Já em relação a aplicações ambientais, as nanopartículas são usadas na nanobiorremediação para a remoção de metais pesados de água contaminada (SHARMA *et al.*, 2022; THEKKUDAN *et al.*, 2017; YADAV *et al.*, 2017) e desinfecção de água potável (BHATTACHARYA *et al.*, 2019).

As aplicações biomédicas incluem a entrega direcionada de drogas (VANGIJZEGEM; STANICKI; LAURENT, 2019), auxílio no diagnóstico e terapia do câncer (SINGH *et al.*, 2018; VANGIJZEGEM *et al.*, 2023). Além disso, devido a pandemia ocasionada pelo COVID-19, as nanopartículas também foram estudadas para o potencial desenvolvimento de vacinas e propriedades antivirais contra o SARS-CoV-2 (KUSUMOPUTRO *et al.*, 2020; VU *et al.*, 2021).

Assim, é bem perceptível que a nanotecnologia proporciona grandes possibilidades de aplicações, principalmente relacionadas as nanopartículas, e promove muitos benefícios para a sociedade, resultando no desenvolvimento de novas tecnologias (POKRAJAC *et al.*, 2021). Entretanto, é fundamental estudar os possíveis danos e efeitos adversos que essas nanopartículas podem promover.

## 2.2 Nanopartículas de óxido de ferro e nanoecotoxicologia

As nanopartículas magnéticas (NPMs) são um grupo de nanopartículas compostas de metais puros, ligas metálicas e óxidos metálicos (CONDE *et al.*, 2014). As nanopartículas de óxido de ferro, ganham destaque em relação a outras NPMs no campo médico e biomédico, devido às suas características de baixa toxicidade e excelentes propriedades físico-químicas, como estabilidade em soluções aquosas, superparamagnetismo e biocompatibilidade (VALDIGLESIAS *et al.*, 2016). Além disso, as nanopartículas de óxido de ferro têm uma vantagem sobre outras nanopartículas metálicas, devido a possibilidade de controle de tamanho e prevenção de agregação por revestimento (MALHOTRA *et al.*, 2020).

As nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas (SPIONs) tem ampla aplicabilidade no setor biomédico, nos últimos anos essas nanopartículas vem sendo bastante estudadas para serem usadas como agente de contraste em ressonância magnética (MONTIEL SCHNEIDER *et al.*, 2023; SOUSA *et al.*, 2017), como agentes de distribuição direcionada de drogas (AKHTAR *et al.*, 2022) e tratamento de células cancerígenas por hipertermia (PUCCI *et al.*, 2022), além disso evidências recentes indicam que essas nanopartículas podem promover a reprogramação de células antitumorais e atuar no tratamento de câncer de mama (NASCIMENTO *et al.*, 2023). No setor da agricultura pesquisas recentes indicam que os SPIONs podem atuar como nanocarreadores de bioherbicidas, reduzindo assim os impactos negativos no solo (PONTES *et al.*, 2023). Já as aplicações ambientais incluem o tratamento de águas para adsorção de metais pesados (SHARMA *et al.*, 2022) e coleta de microalgas por magnetoforese (HU *et al.*, 2013; MOHAMMED *et al.*, 2017).

Entretanto, apesar dos benefícios proporcionados pelos nanomateriais, estudos revelam efeitos tóxicos relacionados às nanopartículas, tais como estímulo de processos inflamatórios pulmonares e doenças do coração em idosos, devido à redução de funções fisiológicas (LI; ZHANG; YAN, 2014), estresse oxidativo que pode causar danos no DNA, morte celular por indução de apoptose e disfunção na mitocôndria (KHANNA *et al.*, 2015; SARKAR; GHOSH; SIL, 2014). Em relação a outros organismos além dos humanos, Zhu; Tian

e Cai (2012) citam atraso na eclosão, malformação e mortalidade nos primeiros estágios de vida de uma espécie de peixe (*Danio rerio* Hamilton), quando submetidos a concentrações superiores a 10 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF. Barhoumi e Dewez (2013) analisando a toxicidade dessa nanopartícula em *Chlorella vulgaris* Beijerinck, identificaram uma diminuição na atividade fotossintética, estresse oxidativo e inibição da divisão celular.

A fim de reduzir os efeitos tóxicos e melhorar as características das nanopartículas, tornando-as mais estáveis, com maior capacidade de dispersão e especificidade para o tecido alvo, podem ser utilizadas como revestimento camadas compostas por grupos funcionais (pequenas moléculas orgânicas, polímeros ou compostos inorgânicos) (JIANG *et al.*, 2013; NAMGUNG *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2015).

As NPOF funcionalizadas com acrilato polissódico (NPOF-AP) e polietilenimina ramificada (NPOF-PR) foram selecionadas para este estudo devido à sua importância, principalmente, no setor biomédico. Essas nanopartículas foram sintetizadas por uma nova metodologia proposta por Andrade Neto *et al.* (2017). Segundo os autores, as nanopartículas obtidas apresentaram excelentes propriedades magnéticas, estabilidade coloidal e superparamagnetismo à temperatura ambiente, principalmente a NPOF-AP, que também apresentou estabilidade coloidal em condições fisiológicas simuladas. Dessa forma, essas nanopartículas atenderam aos requisitos necessários para serem usadas em aplicações *in vivo*, e são excelentes candidatas ao uso como agente de contraste em ressonância magnética.

Outras aplicações dessas nanopartículas são, por exemplo, a NPOF-AP sendo usada como inibidor de corrosão em ligas metálicas (ATTA *et al.*, 2015) e como agente de extração osmótica para dessalinização de água por processo de osmose direta (DEY; IZAKE, 2015) e a NPOF-PR utilizada como distribuidora de drogas e genes para células e no tratamento de células tumorais (HOANG *et al.*, 2015; NAMGUNG *et al.*, 2010; ZAKERI *et al.*, 2018). Além disso, as NPOF-PR são menos tóxicas em células humanas do que as NPOF superparamagnéticas sem revestimento, além de se ligar rapidamente à membrana celular para aumentar sua absorção (NAMGUNG *et al.*, 2010).

Apesar dos inúmeros benefícios e utilizações das nanopartículas, também é importante avaliar como esses nanomateriais interagem com o meio ambiente. O campo de pesquisa denominado “nanoecotoxicologia” estuda os impactos das nanopartículas nos ecossistemas (SHOKRY *et al.*, 2021).

Contudo, poucos estudos abordam a toxicidade de NPOF-AP e NPOF-PR em outros organismos, em um viés ecotoxicológico (BOMBIN *et al.*, 2015). Todavia, existem trabalhos que abordam a influência de nanopartículas de ferro funcionalizadas com outros materiais, em

diferentes organismos e eles indicam que, a depender do tipo de funcionalização, pode ocorrer consequências mais ou menos tóxicas a esses organismos. Nesse contexto, Toh *et al.* (2016), analisando a toxicidade de NPOF funcionalizada com quitosana em microalgas verificaram uma redução na absorção de luz pelos indivíduos estudados, devido ao efeito físico de sombreamento causado pelas nanopartículas funcionalizadas. Os autores também descrevem que esses efeitos estão ligados às concentrações e, possivelmente, ao tipo de grupo funcional envolto na nanopartícula.

Do mesmo modo, González-Andrés *et al.* (2017), ao estudarem o efeito toxicológico de NPOF funcionalizada com ácido húmico em *Daphnia magna* Straus, um pequeno crustáceo planctônico, verificaram que essas nanopartículas obstruíram o aparato de filtração e também foram encontradas aderidas ao exoesqueleto, dificultando a natação e a muda desses organismos, resultando na imobilização e morte. Nesse caso, o efeito tóxico da nanopartícula está associado, principalmente, à sua interação física com esses organismos.

Além disso, Caixeta *et al.* (2021), analisaram os efeitos de NPOF funcionalizadas com ácido glucônico em caramujos (*Biomphalaria glabrata* Say) e observaram mudanças comportamentais (letargia, reclusão na carapaça, natação) e reprodutivas (redução da fecundidade) nesses organismos. Lu *et al.* (2020) detectaram efeitos deletérios em folhas de trigo após exposição atmosférica por NPOF, tais como a inibição do processo fotossintético devido à degradação da clorofila. Ademais, a interação de plantas, como abóbora (ZHU *et al.*, 2008) e milho (PARIONA *et al.*, 2017), com a NPOF resultou na absorção e translocação da nanopartícula supracitada pelos tecidos vegetais.

Diante disso, é válido ressaltar que com o aumento da produção e utilização da NPOF-AP e NPOF-PR como agentes de contraste em ressonância magnética, eventualmente, essas nanopartículas alcançarão o solo e ecossistemas aquáticos. Dessa forma, é de fundamental importância desenvolver pesquisas ecotoxicológicas e utilizar modelos biológicos para avaliar os efeitos das nanopartículas em diferentes espécies.

Além disso, o destino das NPOF ambientais é constituído, geralmente, do solo aos órgãos das plantas e, portanto, à cadeia alimentar, representando uma tarefa importante para a pesquisa de diversos ecossistemas, como aquático, herbáceo e florestal (HOFFMANN *et al.*, 2022). Pérez-de-Luque (2017) destacou que a funcionalização e revestimento da superfície de nanopartículas podem mudar muito e alterar sua adsorção e acúmulo, dessa forma, NPOF revestidas com polímeros podem promover uma toxicidade adicional, evidenciando uma lacuna de pesquisa interessante para novos estudos relacionado a ecotoxicologia dessas nanopartículas.

### 2.3 Modelos experimentais

Apenas análises químicas não refletem os impactos causados por poluentes, logo há a necessidade da utilização de organismos para a detecção dos efeitos tóxicos desses contaminantes. Entretanto, a seleção de modelos experimentais deve atender a critérios, como organismos sensíveis, apresentar alta disponibilidade no ambiente e ser amplamente conhecido em seus aspectos ecológicos e fisiológicos (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

As plantas são consideradas um importante modelo experimental para ensaios ecotoxicológicos, pois apresentam uma íntima relação com o solo, água e atmosfera, além de serem as principais vias de exposição de contaminantes para outras espécies por meio da biomagnificação (MIRALLES; CHURCH; HARRIS, 2012). Além desses fatores, a facilidade na manipulação das amostras, o baixo custo e as respostas observadas nesses organismos possibilitam sua utilização em teste de toxicidade (IQBAL *et al.*, 2019). Nesse contexto, a alface (*L. sativa*) foi escolhida como um dos modelos biológicos devido à sua ampla distribuição geográfica, por ser uma hortaliça folhosa com elevada importância mundial e alto consumo, e pela facilidade de cultivo *in vitro* (SALA; DA COSTA, 2012). Além disso, *L. sativa* é um modelo bem estabelecido em trabalhos de ecotoxicidade com nanopartículas (LARUE *et al.*, 2014) e já foi comprovado que nanopartículas podem ser internalizadas e transportadas pela parede celular externa dessa espécie (PINHEIRO *et al.*, 2021).

Entretanto, além do ambiente terrestre, o ecossistema aquático também se encontra exposto às nanopartículas. Turan *et al.* (2019) citam, as principais fontes, lançadas direta ou indiretamente, de nanopartículas para os ambientes aquáticos (cosméticos, materiais de construção, incêndios florestais, erupções vulcânicas, fumaça de cigarros) e os impactos, como estresse oxidativo e inibição no crescimento em plantas aquáticas; redução da fertilidade, mudanças comportamentais e fisiológicas em invertebrados; e patologias no cérebro, brânquias e fígado foram observadas em peixes. Ainda, Remya *et al.* (2015) ao avaliarem os efeitos de NPOF em carpas (*Labeo rohita* Hamilton) observaram efeitos adversos na fisiologia do peixe, como diminuição dos leucócitos, que pode afetar a imunidade e mortalidade em peixes tratados com maiores concentrações de NPOF, isso pode ser resultado do acúmulo excessivo de NPOF no corpo dos peixes.

Assim, também visando compreender o efeito da interação da NPOF-AP e NPOF-PR com organismos aquáticos, a segunda espécie escolhida como modelo biológico foi a *A. salina*. Esse organismo possui fundamental importância na cadeia alimentar marinha, sendo fonte de alimento para diversos peixes e crustáceos, o que lhe confere relevância como modelo

em estudos de toxicidade, uma vez que possui disponibilidade ao longo do ano, fácil cultivo, ciclo de vida curto, resistência a manipulação, ampla distribuição geográfica e baixo custo (ARULVASU *et al.*, 2014; ATES *et al.*, 2013; MADHAV *et al.*, 2017; NUNES *et al.*, 2006; PECORARO *et al.*, 2021). Ela pode ingerir partículas menores que 50  $\mu\text{m}$ , e apresenta um comportamento alimentar muito primitivo em comparação com outros crustáceos, é um animal filtrador obrigatório, contínuo e não seletivo (PROVASOLI; SHIRAIISHI, 1959). Partículas suspensas, independentemente de sua natureza, com tamanho adequado são continuamente ingeridas por *A. salina* (REEVE, 1963). Dessa forma, com o aumento da produção de NPOF, essa nanopartícula pode atingir os ecossistemas aquáticos e a ingestão contínua pode causar danos nesses organismos (ZHU *et al.*, 2017).

Além disso, a *A. salina* também é considerada, pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA), uma das espécies de teste para avaliações de toxicidade aguda (NUNES *et al.*, 2006). Vários estudos têm utilizado a *A. salina* como organismo modelo para estudar a ecotoxicidade de nanopartículas (DANABAS *et al.*, 2020; PINHEIRO *et al.*, 2023; PECORARO *et al.*, 2021; SHOKRY *et al.*, 2021).

Dessa forma, apesar dos benefícios associados às nanopartículas em diversos setores industriais, biomédicos e agrícolas, há a necessidade de estudos que analisem a toxicidade desses compostos tanto em organismos terrestres quanto aquáticos para compreender os efeitos causados pelas nanopartículas nesses ambientes.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Testar se as nanopartículas de óxido de ferro funcionalizada com acrilato polissódico (NPOF-AP) e polietilenimina ramificada (NPOF-PR) tem efeito ecotoxicológico em sistemas biológicos.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar se as NPOF-AP e NPOF-PR tem efeito na germinação, no crescimento, no peso e na anatomia de *L. sativa*.
- Caracterizar as macromoléculas e metabólitos presentes nos cotilédones de *L. sativa* após interação com NPOF-AP e NPOF-PR.
- Caracterizar a taxa de mortalidade e alterações morfológicas em *A. salina* após interação com NPOF-AP e NPOF-PR.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com acrilato polissódico (NPOF-AP) e polietilenimina ramificada (NPOF-PR) foram fornecidas pelo Grupo de Química de Materiais Avançados (GQMat) coordenado pelo Dr. Pierre Fachine (Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará – UFC). Estas nanopartículas foram caracterizadas em estudo anterior, onde a NPOF-AP apresentou tamanho de  $11 \pm 3$  nm e potencial zeta ( $\zeta$ ):  $-55.5 \pm 8.6$  mV e a NPOF-PR apresentou tamanho de  $10 \pm 3$  nm e potencial zeta ( $\zeta$ ):  $+44.5 \pm 6.0$  mV (ANDRADE NETO *et al.*, 2017).

### 4.1 Ensaio ecotoxicológicos

#### 4.1.1 Teste de fitotoxicidade

O teste de germinação e crescimento foi realizado com sementes de *L. sativa*, “Crespa Grand Rapids” (ISLA PAK<sup>®</sup>) adquiridas comercialmente em Fortaleza, Ceará, Brasil, esses testes seguiram as recomendações propostas pelas Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2009) para condições sanitárias, temperatura, contagem e outras instruções para superar a dormência. O objetivo desse experimento foi analisar a fitotoxicidade no processo de germinação e crescimento da planta ao ser submetida a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR. As sementes foram expostas, durante 2 horas, em soluções com diferentes concentrações das nanopartículas funcionalizadas (12,5; 25; 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>), sendo 50 sementes por concentração. O controle positivo foi realizado com água destilada e o controle negativo, com solução de dicromato de potássio 0,2 M. Foram utilizadas placas de Petri com dimensões de 90x15 mm, papel Germitest de gramatura 65 g. m<sup>-2</sup> e pH neutro à temperatura de 25° C.

O experimento teve duração de sete dias e as placas foram reumidificadas diariamente com água destilada, aproximadamente 2mL/placa, de acordo com as normas de RAS, que determinam como quantidade ideal um valor equivalente a 2–3 vezes o peso do substrato utilizado (BRASIL MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2009). As características avaliadas foram: a taxa de germinação, o comprimento da plântula e peso úmido e seco das plântulas germinadas no último dia do experimento. Posteriormente, foram realizadas coletas de raiz e parte aérea para as análises microscópicas.

#### 4.1.2 Teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*

O teste de toxicidade aguda com *A. salina*, foi conduzido com cistos dormentes de alta eclosão, adquiridos comercialmente em Fortaleza, Ceará, Brasil. Para a obtenção dos náuplios instar I e II, os cistos foram hidratados em 350 mL de água do mar artificial, preparada previamente com água destilada e sal marinho (35 g.L<sup>-1</sup>, pH 8), mantidos sob constante aeração e com fotoperíodo de 8h luz/16h escuro, a temperatura de 22 ± 2 ° C por 24h para obtenção do náuplio I e 48h para o náuplio II.

Inicialmente, 10 náuplios foram adicionados em placas de poliestireno de 24 poços, contendo 1 mL de água do mar artificial. Sequencialmente, foram adicionadas 1 mL de NPOF-AP e NPOF-PR com diferentes concentrações (0, 12,5, 25, 50, 100 mg.L<sup>-1</sup>). de acordo com Johari *et al.*, (2019) e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, diretrizes de teste (OCDE, 2004). Todos os testes foram realizados em triplicata e foi utilizado como controle negativo uma solução com dicromato de potássio 0,5 M e para o controle positivo apenas água do mar artificial. As placas foram armazenadas a 22 ± 2° C durante 48 horas sob iluminação constante.

Após 48h de experimento, os animais mortos foram contabilizados com auxílio de um microscópio estereoscópico. A mortalidade dos náuplios I e II ocorreu com a observação da imobilidade, onde larvas que se apresentaram imóveis por mais de 10 segundos foram consideradas mortas. Posteriormente, as porcentagens de mortalidade foram calculadas de acordo com a equação 1. O teste considerado válido apenas quando a taxa de sobrevivência no grupo controle positivo foi ≥90% (OCDE, 2004).

$$\%Mortalidade = \frac{\text{número de } A.salina \text{ mortas}}{\text{número inicial de náuplios vivos}} \times 100 \quad (1)$$

## 4.2 Análises microscópicas

### 4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

No processamento para MEV, as amostras de *L. sativa* foram fixadas em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5% e formaldeído 4% diluídos em solução tampão de cacodilato de sódio (0,05 M), com pH 7,2, e mantidas em temperatura ambiente por 24 horas. Após a fixação, as amostras foram lavadas com a solução tampão por três vezes, com duração

de 45 minutos cada lavagem. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série crescente de acetona (50%, 70%, 90%, 100%), por 45 minutos em cada etapa. Após a desidratação foi feita a secagem do material em equipamento de ponto crítico (K850 *Critical Point Dryer*). As amostras secas foram aderidas à fita de carbono dupla face e coladas em *stubs* de alumínio. As amostras foram cobertas por sputtering com uma camada de 20 nm de ouro, utilizando-se o aparelho Quorum Q150T ES. A observação e documentação foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Quanta FEG 450 (FEI).

#### **4.2.2 Microscopia óptica (MO)**

Já para o processamento de MO, o material fixado passou por três lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, seguido de desidratação em série etílica crescente (50%, 70%, 80%, 90%) e três séries de etanol 100%, sendo o intervalo de 45 minutos entre cada desidratação. Após a desidratação, foi realizada a inclusão das amostras em historresina (LEICA®). Posteriormente, as amostras montadas em blocos, foram cortadas em micrótomo rotativo de avanço semiautomático (Leica RM2255), com cortes de 6 µm para montagem das lâminas. Para coloração das lâminas foi empregada solução aquosa de Azul de Toluidina (AT) 0,025 % pH 4,0, durante 1 minuto, em temperatura ambiente. Este procedimento foi seguido por três lavagens em água destilada. Após a secagem, as lâminas foram montadas com verniz composto de resina acrílica. Por fim, os cortes foram visualizados em fotomicroscópio OLYMPUS BX41, fotografados com câmera digital modelo OLYMPUS UC30 e as imagens foram obtidas utilizando o software “cellSens”.

#### **4.3 Testes histoquímicos**

A análise histoquímica foi realizada com o intuito de observar a presença de macromoléculas e metabólitos nos cotilédones de *L. sativa* submetidos a diferentes concentrações (12,5; 25; 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>) de NPOF-AP e NPOF-PR, após sete dias. Para as análises foram utilizados cortes incluídos em historresina. A metodologia utilizada nas análises foi realizada de acordo com Ventrella *et al.* (2013). Os metabólitos avaliados foram compostos fenólicos e polissacarídeos.

A duração do contato entre os cortes e os reagentes, assim como a coloração esperada de cada reação, estão listadas na Figura 1. Para todos os testes foi realizado o procedimento padrão de controle, em que o corte era exposto à água para comparação com o

material que foi exposto ao reagente.

Macromoléculas e metabólitos	Teste	Duração da reação	Coloração	Referência original
Compostos fenólicos gerais	Cloreto férrico	15 a 30 minutos	marrom a negro	Johansen, 1940
Amido	Lugol	5 a 10 minutos	marrom, roxo ou negro	Johansen, 1940
Carboidratos	Ácido Periódico de Schiff – PAS	- Oxidação com ácido periódico 0,5% por 9 minutos; - Reagente de Schiff por 30 minutos (escuro).	magenta	O'Brien & McCully, 1981

**Figura 1.** Características das reações para a detecção das principais classes de metabólitos nos testes histoquímicos realizados com cortes incluídos em historresina de *L. sativa* após sete dias de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR. Fonte: Adaptado de Cunha (2019).

#### 4.4 Análises estatísticas

Análises de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene) foram realizadas nos dados de crescimento e germinação no organismo *L. sativa* medidos durante os sete dias decorridos da pesquisa, além dos resultados de mortalidade verificados em *A. salina*. Ambos os testes não atenderam aos requisitos para utilização de testes paramétricos. Diferença entre os comprimentos de *L. sativa* durante todo o experimento e entre os pesos (fresco e seco) ao final da pesquisa, sob distintas concentrações de NPOF-PR e NPOF-AP, foram avaliadas através do teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn (post-hoc). Esses testes também foram aplicados nas taxas de germinação de *L. sativa* durante o experimento. Testes de Wilcoxon foram realizados para distinguir qual nanopartícula apresentou maior efeito no crescimento de *L. sativa*, sob mesma concentração, durante os sete dias de verificação na pesquisa. Também foram realizados testes de Wilcoxon para avaliar a influência das nanopartículas no crescimento da planta em relação aos grupos controle. Quanto a espécie *A. salina* foram realizados testes comparativos entre o número de indivíduos imobilizados em cada poço para cada tratamento, porém a reduzida quantidade de organismos afetados impossibilitou a realização de testes estatísticos, sendo feita apenas análise descritiva dos resultados.

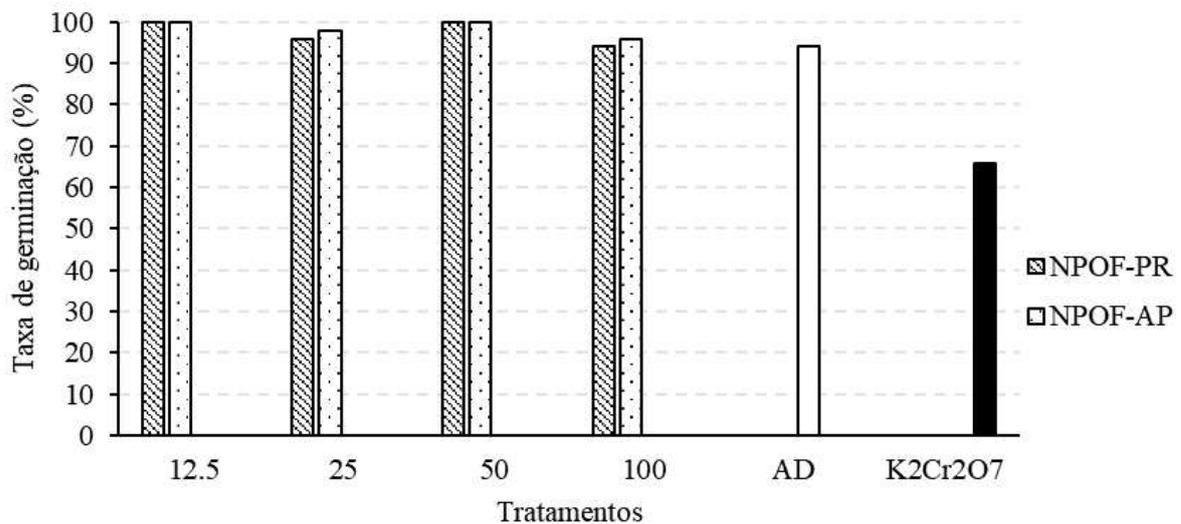
Todos os testes realizados foram aplicados sob um nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). Os testes estatísticos e a confecção de gráficos e tabelas foram elaborados nos programas PAST 3.05 e (Copyright Hammer 1999–2015) e Microsoft® Office 365 (Microsoft Corporation 2019).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Avaliação de fitotoxicidade

Os resultados indicaram que não houve fitotoxicidade no processo de germinação das sementes de *L. sativa* expostas aos tratamentos com NPOF-AP e NPOF-PR, pois não houve diferença significativa na taxa de germinação em comparação com a água destilada (controle positivo), nem entre as nanopartículas ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 1).

**Gráfico 1.** Taxa de germinação de sementes de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR, além do controle positivo (água destilada) e negativo ( $K_2Cr_2O_7$ ), após sete dias de exposição.



O crescimento das plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR (Tabela 1), apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas no segundo dia de exposição, onde as plântulas submetidas a  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de NPOF-AP apresentaram uma média de crescimento menor em relação as outras concentrações avaliadas. Porém, ao final do experimento, não houve diferença significativa entre o crescimento das plântulas em todas as concentrações testadas, apenas em relação ao controle negativo, evidenciando que essas nanopartículas não alteraram o padrão de crescimento da planta.

**Tabela 1.** Média do comprimento das plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR durante o período de sete dias do teste de germinação e crescimento. Os valores em negrito indicam diferença significativa de acordo com o dia. AD: água destilada

Dia	NPOF-PR				NPOF-AP				AD	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
	12,5 mg.L <sup>-1</sup>	25 mg.L <sup>-1</sup>	50 mg.L <sup>-1</sup>	100 mg.L <sup>-1</sup>	12,5 mg.L <sup>-1</sup>	25 mg.L <sup>-1</sup>	50 mg.L <sup>-1</sup>	100 mg.L <sup>-1</sup>		
1	4.8	4.3	4.8	4.4	4.3	4.2	4.7	4.7	4.78	2.4
2	10	9.7	10.8	10.3	<b>10.4<sup>a</sup></b>	<b>9.5<sup>a</sup></b>	<b>11.2<sup>ab</sup></b>	<b>9.1<sup>ac</sup></b>	9.4	4.2
3	15.4	14.5	16.8	15.3	15.5	14.9	16.5	17.1	14.9	5.1
4	22.6	17.9	19.9	17.5	19.2	18.2	20.8	17.6	18.2	5.9
5	22.5	21	23.4	19.8	21.9	20.3	23.2	21	21.3	6.5
6	25.6	23.1	25.8	23	24.9	24.4	26.5	23.2	24.2	7.5
7	26.5	30.7	33.4	23.8	26.7	24.6	27.3	24.6	25.9	7.6

Também não houve diferença significativa no peso úmido em todas as concentrações testadas para NPOF-AP e NPOF-PR. Houve diferença significativa apenas para o peso seco das plântulas submetidas a diferentes concentrações de NPOF-PR, sendo a concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> a que apresentou uma média ligeiramente menor (0,6 mg), em comparação as outras concentrações (0,7 – 0,8 mg).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão do peso úmido e seco (mg) de plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR após sete dias. PU: Peso úmido. PS: Peso seco. NPOF-AP: acrilato polissódico. NPOF-PR: polietilenimina ramificada. AD: água destilada

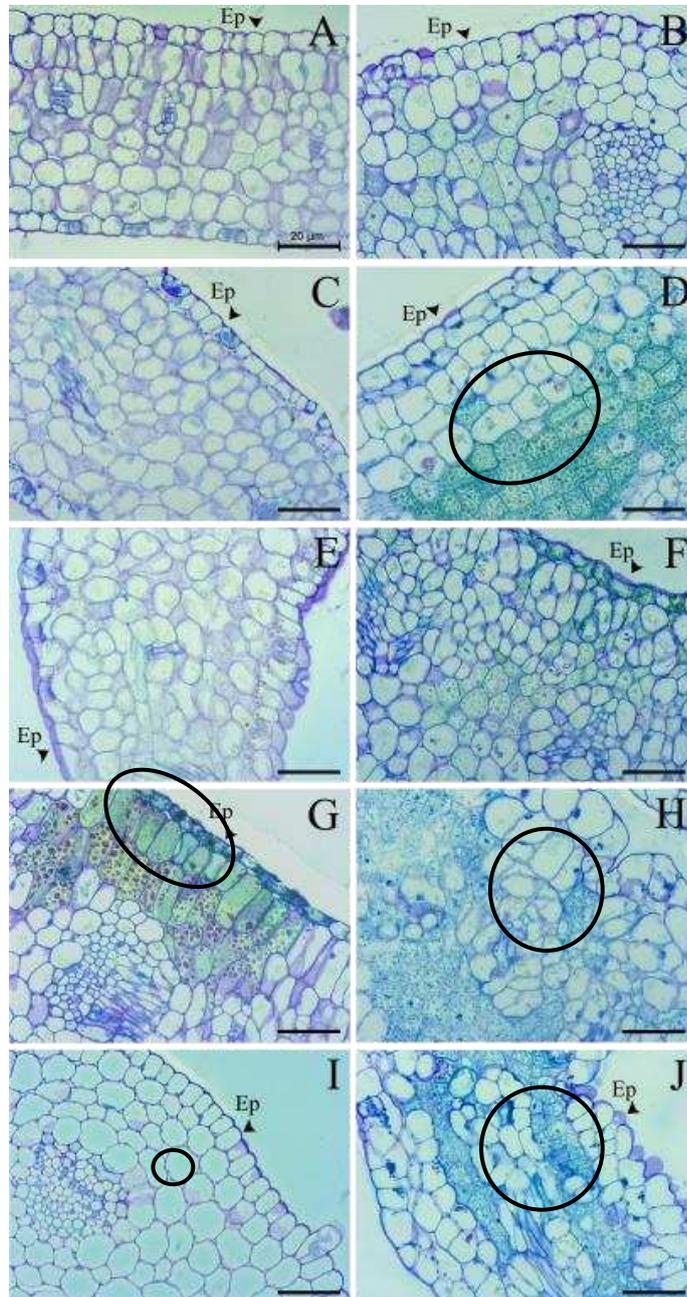
	AD	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	NPOF-PR				NPOF-AP			
			12,5mg.L <sup>-1</sup>	25mg.L <sup>-1</sup>	50mg.L <sup>-1</sup>	100mg.L <sup>-1</sup>	12,5mg.L <sup>-1</sup>	25mg.L <sup>-1</sup>	50mg.L <sup>-1</sup>	100mg.L <sup>-1</sup>
PU	8,8 ± 2,8	4 ± 2,7	9 ± 2,9	9,1 ± 2,9	9,2 ± 2,9	9,9 ± 2,7	9,6 ± 2,5	8,9 ± 2,7	9,5 ± 2,4	9,0 ± 3,0
PS	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,3	<b>0,8 ± 0,2 b</b>	<b>0,6 ± 0,1a</b>	<b>0,7 ± 0,2ab</b>	<b>0,8 ± 0,2b</b>	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2

Através de análises de microscopia óptica, foi possível identificar diferenças morfológicas nas plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR comparadas aos controles com água e dicromato de potássio, que é sabidamente tóxico a essa espécie (Figura 2). É possível observar um aumento no espaço intercelular nas plântulas submetidas a NPOF-PR (Figura 2-I). Houve uma mudança expressiva na morfologia das células das plântulas nas concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP (Figura 2-H e J). Além disso, também foi possível observar a presença de inclusões, principalmente nas plântulas expostas a 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR (Figura 2-G) e 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP.

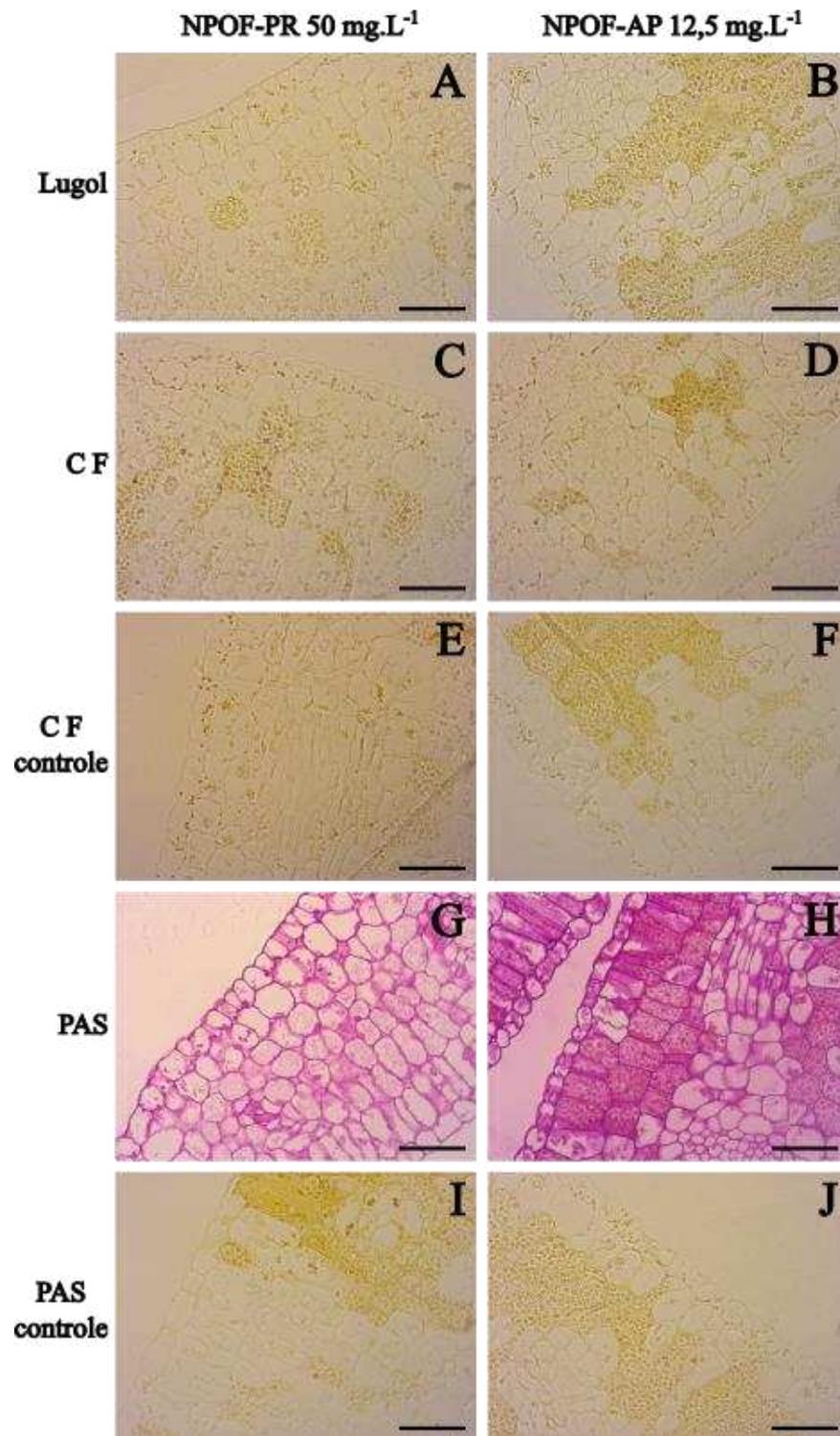
Dessa forma, visando compreender e identificar essas inclusões, foram realizados testes histoquímicos, com PAS, Lugol e Cloreto férrico (Figura 3), porém os testes apresentaram resultados negativos, impossibilitando a identificação desses compostos. Sendo, então,

necessária a realização de outros testes para identificar essas inclusões.

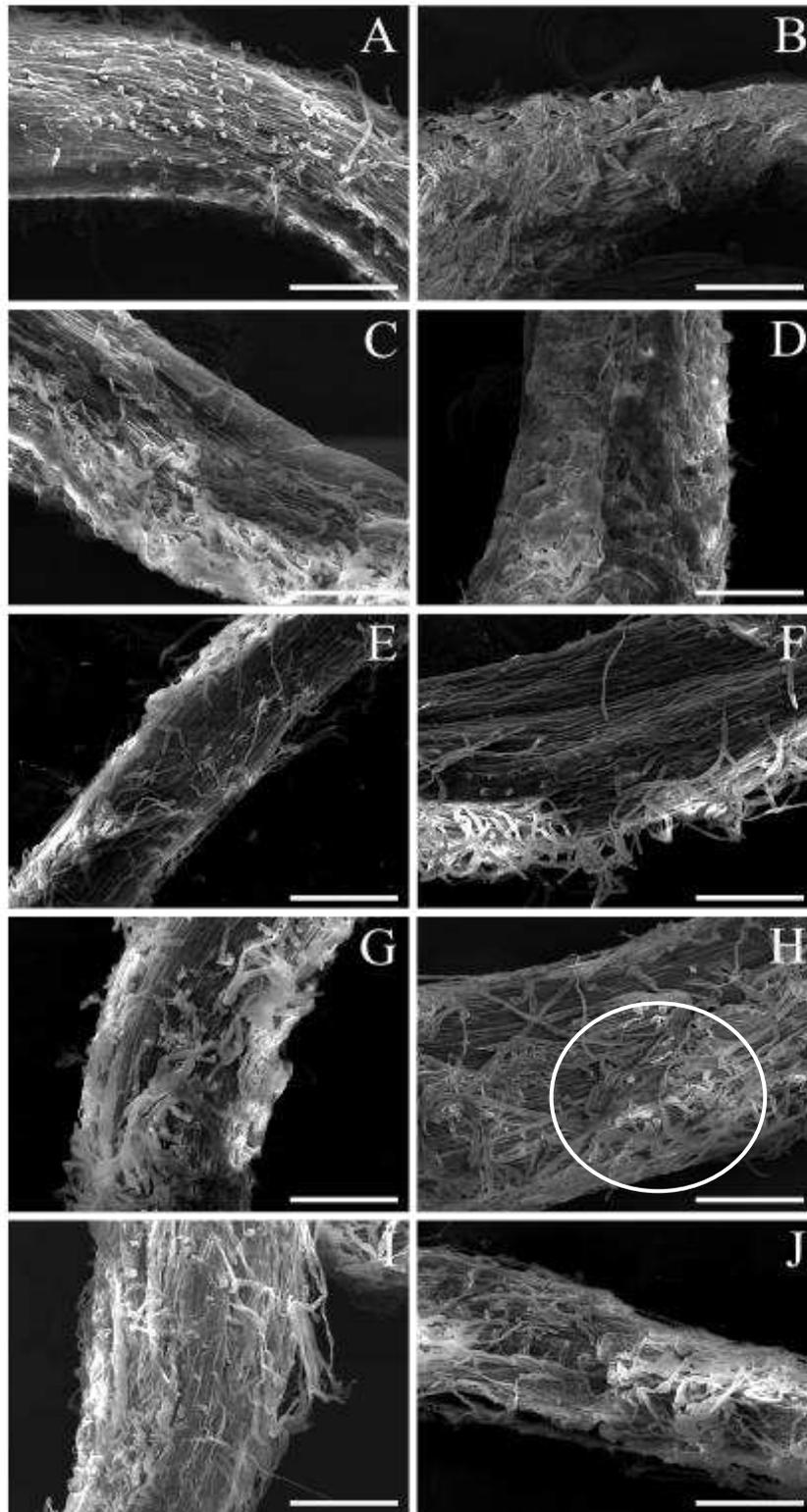
Além disso, as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 4) evidenciaram um aumento na densidade dos pelos radiculares, de forma mais evidente nas plântulas que foram submetidas a concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP, comparada aos controles (Figura 4-H).



**Figura 2.** Microscopia óptica de cotilédones de *L. sativa* após sete dias de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR. A: Cotilédone de *L. sativa* em H<sub>2</sub>O. B: Cotilédone de *L. sativa* em K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. C : Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. D : Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. E : Cotilédone de *L. sativa* em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. F : Cotilédone de *L. sativa* em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. G : Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. H: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. I : Cotilédone de *L. sativa* em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. J : Cotilédone de *L. sativa* em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. Ep : Epiderme. NPOF-AP : acrilato polissódico. NPOF-PR : polietilenimina ramificada. Barra: 20 μm



**Figura 3.** Microscopia óptica de testes histoquímicos realizados em cotilédones de *L. sativa* após sete dias de exposição a 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR e 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. A: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR corado com lugol. B: Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP corado com lugol. C: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR corado com cloreto férrico. D: Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP corado com cloreto férrico. E: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR cloreto férrico – controle. F: Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP cloreto férrico – controle. G: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR corado com PAS. H: Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP corado com PAS. I: Cotilédone de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR PAS – controle. J: Cotilédone de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP PAS – controle. CF: cloreto férrico, PAS: Ácido Periódico de Schiff. Barra: 20 µm



**Figura 4.** Microscopia eletrônica de varredura da zona pilifera de raízes de *L. sativa* após sete dias de exposição a diferentes concentrações de NPOF-AP e NPOF-PR. A : Raiz de *L. sativa* em H<sub>2</sub>O. B : Raiz de *L. sativa* em K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. C : Raiz de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. D : Raiz de *L. sativa* em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. E : Raiz de *L. sativa* em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. F : Raiz de *L. sativa* em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. G : Raiz de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. H: Raiz de *L. sativa* em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. I : Raiz de *L. sativa* em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. J : Raiz de *L. sativa* em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. NPOF-AP : acrilato polissódico. NPOF-PR : polietilenimina ramificada. Barra: 200 μm

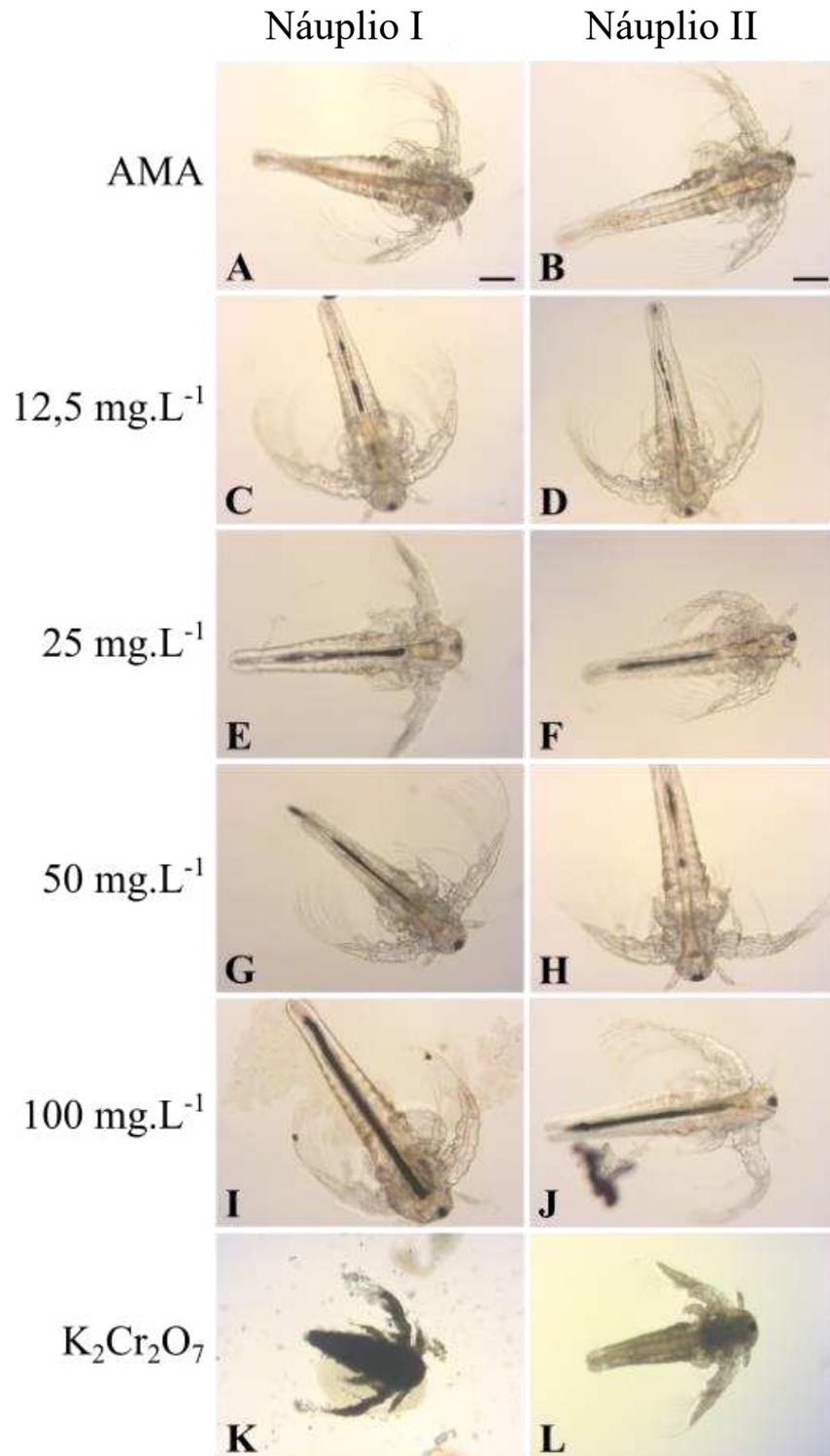
## 5.2 Teste de toxicidade aguda em *A. salina*

A taxa de imobilização, que é um dos principais critérios na avaliação de toxicidade aguda de nanomateriais, foi zero no grupo controle positivo (apenas água do mar artificial) e se manteve estável durante todo o experimento, indicando que a privação de alimento durante esse período não teve efeito adverso na viabilidade dos náuplios (Tabela 3). As taxas de imobilização para os náuplios I, tanto em relação a NPOF-AP como a NPOF-PR foram baixas, variando de 0 a 7,5% (Tabela 3). Enquanto que para os náuplios II, foram observadas discretas variações de mortalidade para a NPOF-PR, de 2,5% na concentração 12,5 mg.L<sup>-1</sup> e 12,5% na concentração de 100mg.L<sup>-1</sup>. Em relação aos os náuplios II, submetidos a diferentes concentrações de NPOF-AP, houve uma variação de 7,5% de taxa de mortalidade na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> a 30% na maior concentração testada, de 100 mg.L<sup>-1</sup> (Tabela 3).

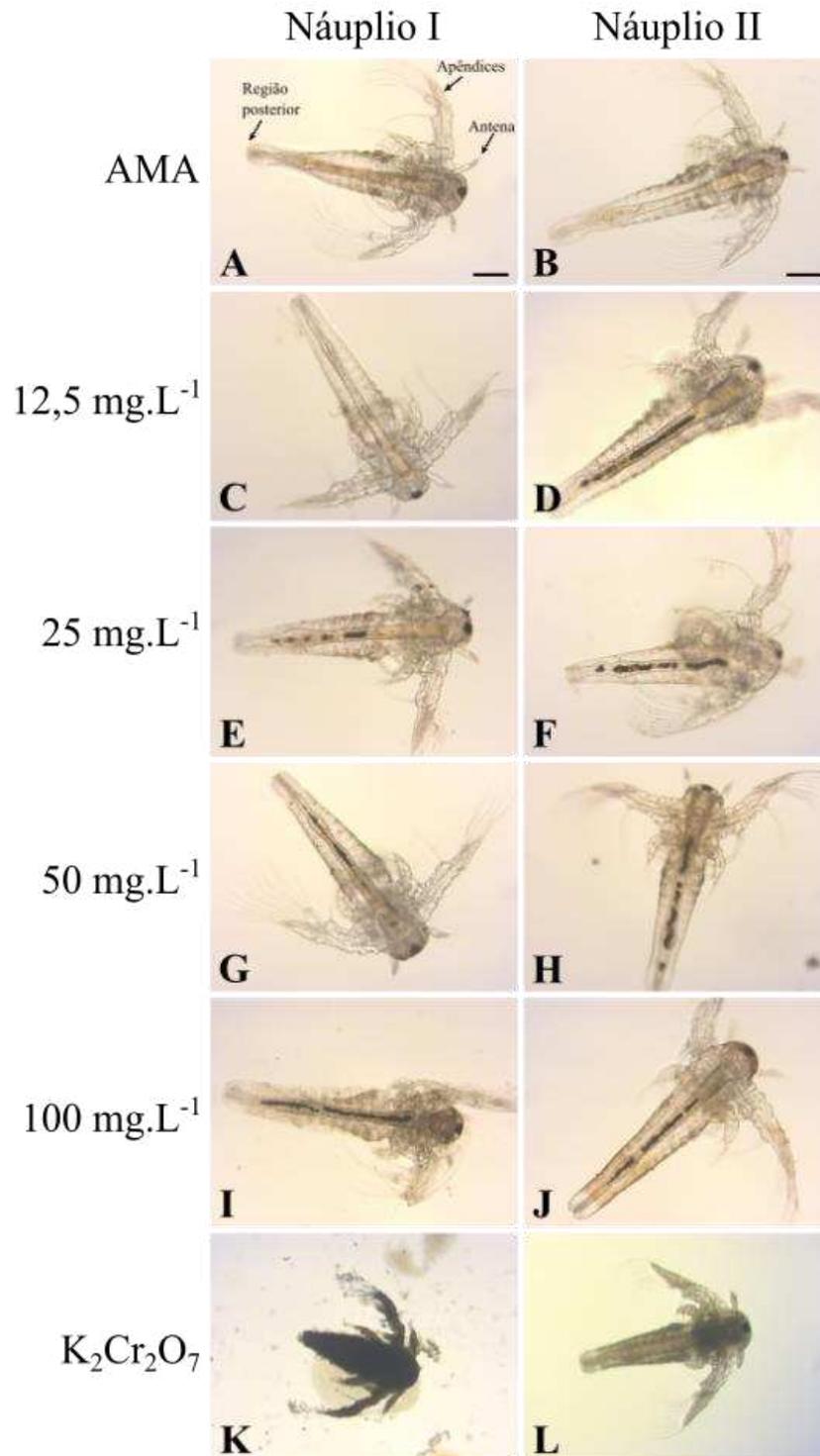
**Tabela 3.** Taxa de indivíduos imobilizados após 48h de exposição a NPOF-AP e NPOF-PR. AMA: Água do mar artificial; N I: Náuplio I; N II: Náuplio 2. C+:Controle positivo. C-: Controle negativo.

	C+ (AMA)	C- (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Concentração de NPOF-PR (mg.L <sup>-1</sup> )				Concentração de NPOF-AP (mg.L <sup>-1</sup> )			
			12,5	25	50	100	12,5	25	50	100
N I	0%	100%	7,5%	0%	0%	0%	5%	0%	5%	0%
N II	0%	100%	2,5%	0%	5%	12,5%	10%	7,5%	12,5%	30%

Apesar da baixa taxa de mortalidade, houve a acumulação das nanopartículas no trato digestivo tanto dos náuplios I quanto dos náuplios II após as 48h de exposição às nanopartículas (Figuras 5 e 6), entretanto no controle, apenas com água do mar artificial, o animal não apresentou nenhum traço de agregação; as peças bucais e a região do intestino apareceram claras (Figuras 5-A e 6-A). As figuras 5-I e J e 6-I e J mostram que houve acumulação de nanopartículas em todo o trato digestivo dos náuplios na concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup> tanto de NPOF-AP, quanto de NPOF-PR. As nanopartículas ingeridas apareceram como uma longa faixa escura no interior do animal.



**Figura 5.** Microscopia óptica de náuplios I e II de *A. salina* submetidos a diferentes concentrações de NPOF-AP após 48h. AMA: água do mar artificial. A: Náuplio I em água do mar artificial. B: Náuplio II em água do mar artificial. C: Náuplio I em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. D: Náuplio II em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. E: Náuplio I em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. F: Náuplio II em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. G: Náuplio I em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. H: Náuplio II. em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. I: Náuplio I em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. J: Náuplio II em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-AP. K: Náuplio I em dicromato de potássio 0,5M. L: Náuplio I em dicromato de potássio 0,5M. Barra: 20  $\mu$ m



**Figura 6.** Microscopia óptica de náuplios I e II de *A. salina* submetidos a diferentes concentrações de NPOF-PR após 48h. AMA: água do mar artificial. A: Náuplio I em água do mar artificial. B: Náuplio II em água do mar artificial. C: Náuplio I em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. D: Náuplio II em 12,5 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. E: Náuplio I em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. F: Náuplio II em 25 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. G: Náuplio I em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. H: Náuplio II. em 50 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. I: Náuplio I em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. J: Náuplio II em 100 mg.L<sup>-1</sup> de NPOF-PR. K: Náuplio I em dicromato de potássio 0,5M. L: Náuplio I em dicromato de potássio 0,5M. Barra: 20  $\mu$ m

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Avaliação de fitotoxicidade

Os resultados evidenciaram que não houve diferenças em relação a taxa de germinação nas sementes expostas a NPOF-AP e NPOF-PR, quando comparadas a sementes que foram expostas somente a água. Alguns autores também concluíram que nanopartículas de óxido de ferro não prejudicam a germinação. Por exemplo, sementes de *L. sativa*, ao serem submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de SPIONS, no intervalo de 0 a 1000 mg.L<sup>-1</sup>, não apresentaram diferenças significativas em relação a taxa de germinação quando comparadas ao controle com água (HOFFMANN et al., 2022). Da mesma forma, Liu; Zhang; Lal, (2016) concluíram em seus estudos que as nanopartículas de ferro não tiveram nenhum efeito ou foram ligeiramente positivas em relação a germinação de sementes de *L. sativa*, com taxas variando de 76,7–90% em todas as concentrações testadas (1–50 mg.L<sup>-1</sup>). No trabalho realizado por Iannone et al. (2016) sobre germinação de plantas de trigo, os autores concluíram que metais pesados, como o óxido de ferro, também não têm efeito negativo na taxa de germinação. Além disso, Yasmeen *et al.* (2015) ao estudarem sobre o efeito da exposição de sementes de trigo em nanopartículas de prata, cobre e ferro na germinação das plântulas, observaram que houve uma redução na porcentagem de germinação das sementes expostas às nanopartículas de prata e cobre, enquanto a maior taxa de germinação foi obtida na aplicação de nanopartículas de ferro, indicando que o ferro também pode ser benéfico nesse processo de germinação.

A ausência de efeitos da NPOF-AP e NPOF-PR na germinação de sementes de *L. sativa* pode ser explicada pelo fato do tegumento das sementes exercerem um papel fundamental na proteção do embrião contra fatores externos potencialmente prejudiciais, ele pode ter permeabilidade seletiva (WIERZBICKA; OBIDZINSKA, 1998). Então, embora as nanopartículas possam ter um efeito inibitório ou atuar no favorecimento do crescimento das plântulas, podem não afetar a germinação se não conseguirem passar através do tegumento.

Como mencionado, em geral as nanopartículas de óxido de ferro não alteram o processo de germinação de *L. sativa*, mas podem ter influência em relação ao crescimento radicular, podendo ter um efeito tóxico, inibindo o crescimento ou podem atuar como fertilizante, favorecendo o crescimento radicular, a depender da concentração, forma de síntese da nanopartícula, tamanho, funcionalização e as espécies de plantas utilizadas (ALKHATIB *et al.*, 2019; FENG *et al.*, 2022; HOFFMANN *et al.*, 2022). Liu, Zhang e Lal (2016) estudaram

os efeitos de nanopartículas de ferro no alongamento radicular de *L. sativa* e observaram que as concentrações de 20 e 50 mg.L<sup>-1</sup> causaram reduções significativas no comprimento da raiz (em 66,1%, de 24,2 para 8,2 mm), no entanto, nanopartículas de ferro em concentrações de 5–20 mg.L<sup>-1</sup> contribuíram com o alongamento da parte aérea para 27,1–30,5 mm, aumentos significativos de 12–26%.

Ambas as nanopartículas utilizadas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao controle positivo em relação ao comprimento e o peso de *L. sativa*, demonstrando que estes compostos não afetam o desenvolvimento da planta, principalmente em seu estágio inicial. Uma hipótese para o resultado observado está relacionada ao fato de o ferro ser um micronutriente essencial para processos fisiológicos em plantas, dentre eles a fotossíntese, síntese de DNA e respiração (transporte de elétrons), sendo também necessário em estruturas reprodutivas para auxiliar na embriogênese (AFZAL; SHARMA; SINGH, 2021).

Ao comparar o crescimento de plântulas de trigo expostas a nanopartículas de ferro e cobre, Yasmeeen *et al.*, (2015) observaram que houve um melhor resultado no crescimento na presença de nanopartículas de ferro. Já no trabalho de Hoffmann *et al.* (2022), os pesquisadores relataram um aumento no comprimento da raiz de *L. sativa* exposta as concentrações de 200 a 500 mg.L<sup>-1</sup> de SPIONS, com um comprimento máximo na concentração de 300 mg.L<sup>-1</sup>, essas concentrações não exerceram nenhuma toxicidade em mudas de alface e aumentaram seu crescimento, evidenciando que a toxicidade apresenta um comportamento dose-dependente.

Em relação ao peso, outros autores observaram resultados diferentes aos que foram encontrados neste trabalho, Rizwan *et al.* (2019) relataram que nanopartículas de ferro aumentaram significativamente o peso seco de plantas de trigo em relação ao controle e El-Desouky *et al.* (2021), ao compararem nanopartículas de ferro com outras fontes de ferro, concluíram que as nanopartículas tem um melhor desempenho no incremento de peso em plantas de tomate.

Além do ferro atuar como um micronutriente, alguns trabalhos apontam que sua aplicação como nanopartícula reduz a produção de ROS, sintetizadas pela planta durante períodos de estresse (DURAN *et al.*, 2018; FENG *et al.*, 2022; HAYDAR; GHOSH; MANDAL, 2022; IANNONE *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2017). Além de atuar no estresse oxidativo, as NPOF contribuem com a produção de enzimas antioxidantes, como ascorbato peroxidase, guaiacol peroxidase, superóxido dismutase e catalase (HAYDAR; GHOSH; MANDAL, 2022; IANNONE *et al.*, 2016). Logo, provavelmente seus benefícios fisiológicos sejam a explicação para os resultados encontrados.

Além disso, as análises microscópicas também indicaram que as nanopartículas

estudadas não apresentaram efeito tóxico às plântulas de *L. sativa*. Isso também foi encontrado por Alkhatib *et al.* (2019), que ao estudarem o efeito fitotóxico de nanopartículas de óxido de ferro de diferentes tamanhos (5, 10 e 20 nm) em tabaco (*Nicotiana tabacum*) observaram que a nanopartícula de menor tamanho é absorvida de forma excessiva em comparação com outros tamanhos utilizados no estudo, e isso está relacionado aos efeitos tóxicos, como irregularidades na divisão celular. Entretanto, assim como neste estudo, as nanopartículas maiores que 10 nm, por não conseguirem ser muito absorvidas pela plântula, não apresentaram fitotoxicidade.

Nas análises de MEV foi possível observar um aumento de pelos radiculares em plântulas submetidas a NPOF-AP, isso sugere que essa nanopartícula contribuiu para o bom desenvolvimento das plântulas, pois em outro estudo onde foram avaliados os efeitos fitotóxicos de micropartículas de dióxido de titânio no processo de germinação e crescimento de sementes de *L. sativa*, nas mesmas condições deste trabalho, foram observados danos morfológicos e estruturais ocasionados pela micropartícula, dentre eles a ausência ou diminuição de pelos radiculares, como uma característica de toxicidade (LIMA *et al.*, 2023).

## 6.2 Teste de toxicidade aguda em *A. salina*

O estágio de desenvolvimento náuplio I de *A. salina* geralmente apresenta baixa sensibilidade às nanopartículas, devido ao desenvolvimento incompleto da boca, não conseguindo comer de forma ativa nessa fase (SORGELLOOS; REMICHE-VAN DER WIELEN; PERSOONE, 1978), dessa forma esses materiais não são ingeridos e não causam a morte por toxicidade ou obstrução. Esse resultado também foi observado por Pinheiro *et al.* (2023) ao avaliarem a toxicidade aguda de micropartículas de dióxido de titânio em náuplios I de *A. salina* por 48h. Os autores constataram que não houve toxicidade, em razão do desenvolvimento incompleto da boca e do ânus. Além disso, Gambardella *et al.* (2014) avaliaram a toxicidade de nanopartículas de óxidos metálicos, dentre eles o óxido de ferro por 48h, em náuplios I de *A. salina*, nas concentrações de 0,01 a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> e, embora as nanopartículas não tenham induzido nenhuma mortalidade nas larvas, elas causaram alterações nas respostas comportamentais e bioquímicas.

Mesmo no estágio de náuplio II, onde os animais já apresentam o desenvolvimento completo da boca e ânus, as taxas de imobilização foram baixas, evidenciando que as nanopartículas estudadas não apresentam efeito tóxico para esses animais. Entretanto, houve uma variação na taxa de mortalidade mais expressiva nos náuplios que foram expostos a NPOF-AP do que em NPOF-PR, isso indica que o material usado na funcionalização da nanopartícula

de óxido de ferro tem influência na toxicidade, porém quando comparado a testes de mortalidade aguda que utilizaram NPOF sem funcionalização (RAGURAMAN; SUTHINDHIRAN, 2020), as taxas deste trabalho foram mais baixas, dessa forma esses resultados indicam que a funcionalização utilizada nas nanopartículas deste estudo promoveu compatibilidade com sistemas biológicos.

É válido ressaltar que mesmo com as taxas de imobilização baixas, foi possível observar que, principalmente em concentrações mais elevadas, todo o trato digestivo de *A. salina* estava preenchido pelas nanopartículas, e essa captação e posterior agregação no intestino do animal causa obstrução, podendo levar à morte (REKULAPALLY et al., 2019). Resultado semelhante foi obtido por Pecoraro *et al.* (2021), esses autores analisaram a toxicidade das nanopartículas de ouro, prata e dióxido de titânio em náuplios II de *A. salina*, em 24h de exposição e obtiveram taxas de mortalidade variando de 4 a 6% para as contrações de ouro, 10,5 a 34,5% para a nanopartícula de prata e 1,5 a 4,0% para as de dióxido de titânio, entretanto, apesar da taxa de mortalidade ser relativamente baixa, os autores concluíram que as nanopartículas são ingeridas e se acumulam no trato digestivo do animal, o que pode causar obstrução e levar a morte. Então, mesmo essas nanopartículas não sendo tóxicas, o contato da *A. salina* com as NPOF-AP e NPOF-PR por um tempo prolongado pode ocasionar a morte desse animal.

## **7. CONCLUSÃO**

As NPOF-AP e NPOF-PR tem baixa toxicidade.

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É necessário investigar os efeitos ecotoxicológicos em concentrações mais elevadas e incluir outros testes, como quantificar ROS, testes bioquímicos para medir o estresse oxidativo e uso de microscopia eletrônica de transmissão para melhor entender os efeitos da interação entre NPOF-AP e PR e modelos biológicos.

## REFERÊNCIAS

- AFZAL, S.; SHARMA, D.; SINGH, N. K. Eco-friendly synthesis of phytochemical-capped iron oxide nanoparticles as nano-priming agent for boosting seed germination in rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 30, p. 40275–40287, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12056-5>. Acesso em: 10 mai. 2023.
- AKHTAR, N.; MOHAMMED, H. A.; YUSUF, M.; AL-SUBAIYEL, A.; SULAIMAN, G. M.; KHAN, R. A. SPIONs Conjugate Supported Anticancer Drug Doxorubicin's Delivery: Current Status, Challenges, and Prospects. **Nanomaterials**, v. 12, n. 20, p. 1–38, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nano12203686>. Acesso em: 16 abr. 2023.
- ALKHATIB, R.; ALKHATIB, B.; ABDO, N.; AL-EITAN, L.; CREAMER, R. Physio-biochemical and ultrastructural impact of (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles on tobacco. **BMC Plant Biology**, v. 19, n. 1, p. 1–12, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1864-1>. Acesso em: 10 jul. 2023.
- ALSABA, M. T.; AL DUSHAISHI, M. F.; ABBAS, A. K. A comprehensive review of nanoparticles applications in the oil and gas industry. **Journal of Petroleum Exploration and Production Technology**, v. 10, n. 4, p. 1389–1399, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13202-019-00825-z>. Acesso em: 12 abr. 2023.
- ARULVASU, C.; JENNIFER, S. M.; PRABHU, D.; CHANDHIRASEKAR, D. Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp artemia. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/256919>. Acesso em: 12 jun. 2023.
- ATES, M.; DANIELS, J.; ARSLAN, Z.; FARAH, I. O. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on Artemia salina: Assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 4, p. 3339–3348, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2794-7>. Acesso em: 10 abr. 2023.
- ATTA, A. M.; EL-MAHDY, G. A.; AL-LOHEDAN, H. A.; EL-SAEED, A. M. Preparation and application of crosslinked poly(sodium acrylate)-coated magnetite nanoparticles as corrosion inhibitors for carbon steel alloy. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 1244–1261, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules20011244>. Acesso em: 12 mai. 2023.
- AVASARE, V.; ZHANG, Z.; AVASARE, D.; KHAN, I.; QURASHI, A. Room-temperature synthesis of TiO<sub>2</sub> nanospheres and their solar driven photoelectrochemical hydrogen production. **INTERNATIONAL JOURNAL OF ENERGY RESEARCH**, p. 1714–1719, 2015. Acesso em: 10 mai. 2023.
- BARHOUMI, L.; DEWEZ, D. Toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles on green alga *Chlorella vulgaris*. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/647974>. Acesso em: 18 jun. 2023.
- BAYDA, S.; ADEEL, M.; TUCCINARDI, T.; CORDANI, M.; RIZZOLIO, F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>. Acesso em: 18 abr. 2023.
- BHATTACHARYA, P.; SWARNAKAR, S.; GHOSH, S.; MAJUMDAR, S.; BANERJEE, S.

- Disinfection of drinking water via algae mediated green synthesized copper oxide nanoparticles and its toxicity evaluation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 1, p. 102867, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102867>. Acesso em: 18 ago. 2023.
- BOMBIN, S.; LEFEBVRE, M.; SHERWOOD, J.; XU, Y.; BAO, Y.; RAMONELL, K. M. Developmental and reproductive effects of iron oxide nanoparticles in arabidopsis thaliana. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 24174–24193, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms161024174>. Acesso em: 25 abr. 2023.
- CAIXETA, M. B.; ARAÚJO, P. S.; RODRIGUES, C. C.; GONÇALVES, B. B.; ARAÚJO, O. A.; BEVILAQUA, G. B.; MALAFAIA, G.; SILVA, L. D.; ROCHA, T. L. Risk assessment of iron oxide nanoparticles in an aquatic ecosystem: A case study on *Biomphalaria glabrata*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, n. June 2020, p. 123398, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123398>. Acesso em: 23 jul. 2023.
- CHAMPAGNE, P. O.; WESTWICK, H.; BOUTHILLIER, A.; SAWAN, M. Colloidal stability of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the central nervous system: A review. **Nanomedicine**, v. 13, n. 11, p. 1385–1400, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/nmm-2018-0021>. Acesso em: 26 abr. 2023.
- CONDE, J.; DIAS, J. T.; GRAZÚ, V.; MOROS, M.; BAPTISTA, P. V.; DE LA FUENTE, J. M. Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for nanomedicine. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, n. JUL, p. 1–27, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00048>. Acesso em: 12 ago. 2023.
- COTIN, G.; PIANT, S.; MERTZ, D.; FELDER-FLESCHE, D.; BEGIN-COLIN, S. **Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: Synthesis, Functionalization, and Application**. [S. l.]: Elsevier Ltd., 2018. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101925-2.00002-4>. Acesso em: 25 mai. 2023.
- CUNHA, G. O. da S. Estudos químico, histoquímico e anatômico das folhas de *Eugenia pitanga* (O. BERG) NIED e *Eugenia dysenterica* DC. 2019. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019. Acesso em: 19 abr. 2023.
- DANABAS, D.; ATES, M.; ERTIT TASTAN, B.; CICEK CIMEN, I. C.; UNAL, I.; AKSU, O.; KUTLU, B. Effects of Zn and ZnO Nanoparticles on *Artemia salina* and *Daphnia magna* Organisms: Toxicity, Accumulation and Elimination. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134869, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134869>. Acesso em: 27 abr. 2023.
- DE PAIVA PINHEIRO, S. K.; LIMA, A. K. M.; MIGUEL, T. B. A. R.; PIREDA, S.; FECHINE, P. B. A.; SOUZA FILHO, A. G.; DE CASTRO MIGUEL, E. Acute toxicity of titanium dioxide microparticles in *Artemia* sp. nauplii instar I and II. **Microscopy Research and Technique**, v. 86, n. 6, p. 636–647, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jemt.24312>. Acesso em: 10 jun. 2023.
- DEY, P.; IZAKE, E. L. Magnetic nanoparticles boosting the osmotic efficiency of a polymeric FO draw agent: Effect of polymer conformation. **Desalination**, v. 373, p. 79–85, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2015.07.010>. Acesso em: 10 abr. 2023.
- DJURIŠIĆ, A. B.; LEUNG, Y. H.; NG, A. M. C.; XU, X. Y.; LEE, P. K. H.; DEGGER, N.;

WU, R. S. S. Toxicity of metal oxide nanoparticles: Mechanisms, characterization, and avoiding experimental artefacts. **Small**, v. 11, n. 1, p. 26–44, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/sml.201303947>. Acesso em: 11 abr. 2023.

DRÉNO, B.; ALEXIS, A.; CHUBERRE, B.; MARINOVICH, M. Safety of titanium dioxide nanoparticles in cosmetics. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. S7, p. 34–46, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jdv.15943>. Acesso em: 14 ago. 2023.

DURAN, N. M.; MEDINA-LLAMAS, M.; CASSANJI, J. G. B.; DE LIMA, R. G.; DE ALMEIDA, E.; MACEDO, W. R.; MATTIA, D.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W. Bean Seedling Growth Enhancement Using Magnetite Nanoparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 23, p. 5746–5755, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00557>. Acesso em: 28 mai. 2023.

EL-DESOUKY, H. S.; ISLAM, K. R.; BERGEFURD, B.; GAO, G.; HARKER, T.; ABD-EL-DAYEM, H.; ISMAIL, F.; MADY, M.; ZEWAIL, R. M. Y. Nano iron fertilization significantly increases tomato yield by increasing plants' vegetable growth and photosynthetic efficiency. **Journal of Plant Nutrition**, v. 44, n. 11, p. 1649–1663, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1871749>. Acesso em: 18 jun. 2023.

FENG, Y.; KRESLAVSKI, V. D.; SHMAREV, A. N.; IVANOV, A. A.; ZHARMUKHAMEDOV, S. K.; KOSOBRYUKHOV, A.; YU, M.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; SHABALA, S. Effects of Iron Oxide Nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) on Growth, Photosynthesis, Antioxidant Activity and Distribution of Mineral Elements in Wheat (*Triticum aestivum*) Plants. **Plants**, v. 11, n. 14, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11141894>. Acesso em: 28 abr. 2023.

GONZÁLEZ-ANDRÉS, V.; DIEZ-ORTIZ, M.; DELPIVO, C.; JANER, G.; FRITZSCHE, A.; VÁZQUEZ-CAMPOS, S. Acute ecotoxicity of coated colloidal goethite nanoparticles on *Daphnia magna*: Evaluating the influence of exposure approaches. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 172–179, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.047>. Acesso em: 29 jun. 2023.

HASAN, S. A Review on Nanoparticles : Their Synthesis and Types. **Research Journal of Recent Sciences Res . J . Recent . Sci . Uttar Pradesh ( Lucknow Campus )**, v. 4, n. February, p. 1–3, 2014. Acesso em: 13 abr. 2023.

HAYDAR, M. S.; GHOSH, S.; MANDAL, P. Application of Iron Oxide Nanoparticles as Micronutrient Fertilizer in Mulberry Propagation. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 41, n. 4, p. 1726–1746, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10413-3>. Acesso em: 12 mai. 2023.

HOANG, M. D.; LEE, H. J.; LEE, H. J.; JUNG, S. H.; CHOI, N. R.; VO, M. C.; NGUYEN-PHAM, T. N.; KIM, H. J.; PARK, I. K.; LEE, J. J. Branched Polyethylenimine-Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (bPEI-SPIONS) Improve the Immunogenicity of Tumor Antigens and Enhance Th1 Polarization of Dendritic Cells. **Journal of Immunology Research**, v. 2015, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/706379>. Acesso em: 15 mai. 2023.

HOFFMANN, N.; TORTELLA, G.; HERMOSILLA, E.; FINCHEIRA, P.; DIEZ, M. C.;

LOURENÇO, I. M.; SEABRA, A. B.; RUBILAR, O. Comparative Toxicity Assessment of Eco-Friendly Synthesized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs) in Plants and Aquatic Model Organisms. **Minerals**, v. 12, n. 4, p. 1–12, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/min12040451>. Acesso em: 12 jul. 2023.

HU, Y. R.; WANG, F.; WANG, S. K.; LIU, C. Z.; GUO, C. Efficient harvesting of marine microalgae *Nannochloropsis maritima* using magnetic nanoparticles. **Bioresource Technology**, v. 138, p. 387–390, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.016>. Acesso em: 12 mai. 2023.

IANNONE, M. F.; GROPPA, M. D.; DE SOUSA, M. E.; FERNÁNDEZ VAN RAAP, M. B.; BENAVIDES, M. P. Impact of magnetite iron oxide nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) development: Evaluation of oxidative damage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 131, p. 77–88, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.07.004>. Acesso em: 19 ago. 2023.

IQBAL, M.; ABBAS, M.; NISAR, J.; NAZIR, A.; QAMAR, A. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1–80, 2019. Acesso em: 16 mai. 2023.

JIANG, S.; WIN, K. Y.; LIU, S.; TENG, C. P.; ZHENG, Y.; HAN, M. Y. Surface-functionalized nanoparticles for biosensing and imaging-guided therapeutics. **Nanoscale**, v. 5, n. 8, p. 3127–3148, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3nr34005h>. Acesso em: 19 abr. 2023.

JOHARI, S. A.; RASMUSSEN, K.; GULUMIAN, M.; GHAZI-KHANSARI, M.; TETARAZAKO, N.; KASHIWADA, S.; ASGHARI, S.; PARK, J. W.; YU, I. J. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artemia* sp. nauplii. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 2, p. 95–109, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15376516.2018.1512695>. Acesso em: 24 mai. 2023.

KHANNA, P.; ONG, C.; BAY, B. H.; BAEG, G. H. Nanotoxicity: An interplay of oxidative stress, inflammation and cell death. **Nanomaterials**, v. 5, n. 3, p. 1163–1180, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nano5031163>. Acesso em: 22 jul. 2023.

KUSUMOPUTRO, S.; TSENG, S.; TSE, J.; AU, C.; LAU, C.; WANG, X.; XIA, T. Potential nanoparticle applications for prevention, diagnosis, and treatment of COVID-19. **View**, v. 1, n. 4, p. 1–9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/VIW.20200105>. Acesso em: 27 mai. 2023.

LARTIGUE, L.; ALLOYEAU, D.; KOLOSNIJAJ-TABI, J.; JAVED, Y.; GUARDIA, P.; RIEDINGER, A.; PÉCHOUX, C.; PELLEGRINO, T.; WILHELM, C.; GAZEAU, F. Biodegradation of iron oxide nanocubes: High-resolution in situ monitoring. **ACS Nano**, v. 7, n. 5, p. 3939–3952, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/nn305719y>. Acesso em: 22 jun. 2023.

LARUE, C.; CASTILLO-MICHEL, H.; SOBANSKA, S.; CÉCILLON, L.; BUREAU, S.; BARTHÈS, V.; OUERDANE, L.; CARRIÈRE, M.; SARRET, G. Foliar exposure of the crop *Lactuca sativa* to silver nanoparticles: Evidence for internalization and changes in Ag speciation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 264, p. 98–106, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.10.053>. Acesso em: 28 mai. 2023.

LI, Y.; ZHANG, Y.; YAN, B. Nanotoxicity overview: Nano-threat to susceptible populations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 3671–3697, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms15033671>. Acesso em: 13 ago. 2023.

LIMA, A. K. M.; CARVALHO, A. V. F.; DE PAIVA PINHEIRO, S. K.; TORRES, Y.; MIGUEL, T. B. A. R.; PIREDA, S. F.; FECHINE, P. B. A.; FREGOLENTE, L. G.; DE CASTRO MIGUEL, E. Effect of TiO<sub>2</sub> Microparticles in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Seeds and Seedlings. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 110, n. 6, p. 1–9, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03752-2>. Acesso em: 29 mai. 2023.

LIU, J.; LEGROS, S.; MA, G.; VEINOT, J. G. C.; VON DER KAMMER, F.; HOFMANN, T. Influence of surface functionalization and particle size on the aggregation kinetics of engineered nanoparticles. **Chemosphere**, v. 87, n. 8, p. 918–924, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.045>. Acesso em: 30 mai. 2023.

LIU, R.; ZHANG, H.; LAL, R. Effects of Stabilized Nanoparticles of Copper, Zinc, Manganese, and Iron Oxides in Low Concentrations on Lettuce (*Lactuca sativa*) Seed Germination: Nanotoxicants or Nanonutrients? **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2738-2>. Acesso em: 30 jun. 2023.

LU, K.; SHEN, D.; LIU, X.; DONG, S.; JING, X.; WU, W.; TONG, Y.; GAO, S.; MAO, L. Uptake of iron oxide nanoparticles inhibits the photosynthesis of the wheat after foliar exposure. **Chemosphere**, v. 259, p. 127445, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127445>. Acesso em: 30 mai. 2023.

MADHAV, M. R.; DAVID, S. E. M.; KUMAR, R. S. S.; SWATHY, J. S.; BHUVANESHWARI, M.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Toxicity and accumulation of Copper oxide (CuO) nanoparticles in different life stages of *Artemia salina*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 52, n. November 2016, p. 227–238, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.03.013>. Acesso em: 11 jun. 2023.

MAGALHÃES, D. de P.; FERRÃO FILHO, A. da S. A ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA NO BIOMONITORAMENTO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS Danielly. **Computational Statistics and Data Analysis**, n. 12, p. 355–381, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.csda.2007.02.027>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MALHOTRA, N.; LEE, J. S.; LIMAN, R. A. D.; RUALLO, J. M. S.; VILLAFLORE, O. B.; GER, T. R.; HSIAO, C. Der. Potential toxicity of iron oxide magnetic nanoparticles: A review. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 1–26, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25143159>. Acesso em: 11 mai. 2023.

MALIK, S.; MUHAMMAD, K.; WAHEED, Y. Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. **Molecules**, v. 28, n. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28020661>. Acesso em: 18 mai. 2023.

MIRALLES, P.; CHURCH, T. L.; HARRIS, A. T. Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 17, p. 9224–9239, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es202995d>. Acesso em: 13 jun. 2023.

- MOHAMMED, L.; GOMAA, H. G.; RAGAB, D.; ZHU, J. Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: A review. **Particuology**, v. 30, n. August, p. 1–14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.partic.2016.06.001>. Acesso em: 11 mai. 2023.
- MONTIEL SCHNEIDER, M. G.; RIVERO, P. S.; MUÑOZ MEDINA, G. A.; SANCHEZ, F. H.; LASSALLE, V. L. Gd(OH)<sub>3</sub> as Modifier of Iron Oxide Nanoparticles—Insights on the Synthesis, Characterization and Stability. **Colloids and Interfaces**, v. 7, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/colloids7010008>. Acesso em: 19 jul. 2023.
- NAMGUNG, R.; SINGHA, K.; YU, M. K.; JON, S.; KIM, Y. S.; AHN, Y.; PARK, I. K.; KIM, W. J. Hybrid superparamagnetic iron oxide nanoparticle-branched polyethylenimine magnetoplexes for gene transfection of vascular endothelial cells. **Biomaterials**, v. 31, n. 14, p. 4204–4213, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.123>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- NASCIMENTO, C.; CASTRO, F.; DOMINGUES, M.; LAGE, A.; ALVES, É.; DE OLIVEIRA, R.; DE MELO, C.; EDUARDO CALZAVARA-SILVA, C.; SARMENTO, B. Reprogramming of tumor-associated macrophages by polyaniline-coated iron oxide nanoparticles applied to treatment of breast cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 636, n. February, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122866>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- NETO, D. M. A. *et al.* Rapid Sonochemical Approach Produces Functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles with Excellent Magnetic, Colloidal, and Relaxivity Properties for MRI Application. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 121, n. 43, p. 24206–24222, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b04941>. Acesso em: 15 set. 2023.
- NING, F.; SHAO, M.; XU, S.; FU, Y.; ZHANG, R.; WEI, M.; EVANS, D. G.; DUAN, X. TiO<sub>2</sub>/graphene/NiFe-layered double hydroxide nanorod array photoanodes for efficient photoelectrochemical water splitting. **Energy and Environmental Science**, v. 9, n. 8, p. 2633–2643, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c6ee01092j>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; VAN STAPPEN, G. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 2, p. 453–462, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.037>. Acesso em: 16 jun. 2023.
- PARIONA, N.; MARTINEZ, A. I.; HDZ-GARCÍA, H. M.; CRUZ, L. A.; HERNANDEZ-VALDES, A. Effects of hematite and ferrihydrite nanoparticles on germination and growth of maize seedlings. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 7, p. 1547–1554, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.06.004>. Acesso em: 17 jun. 2023.
- PECORARO, R.; SCALISI, E. M.; MESSINA, G.; FRAGALÀ, G.; IGNOTO, S.; SALVAGGIO, A.; ZIMBONE, M.; IMPELLIZZERI, G.; BRUNDO, M. V. *Artemia salina*: A microcrustacean to assess engineered nanoparticles toxicity. **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 3, p. 531–536, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jemt.23609>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- PÉREZ-DE-LUQUE, A. Interaction of nanomaterials with plants: What do we need for real applications in agriculture? **Frontiers in Environmental Science**, v. 5, n. APR, p. 1–7, 2017.

Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00012>. Acesso em: 17 mai. 2023.

POKRAJAC, L. *et al.* Nanotechnology for a Sustainable Future: Addressing Global Challenges with the International Network4Sustainable Nanotechnology. **ACS Nano**, v. 15, n. 12, p. 18608–18623, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c10919>. Acesso em: 18 jul. 2023.

PONTES, M. S. *et al.* Assessing the Fate of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Carrying Usnic Acid as Chemical Cargo on the Soil Microbial Community. **ACS Nano**, v. 17, n. 8, p. 7417–7430, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c11985>. Acesso em: 13 jun. 2023.

PROVASOLI, L.; SHIRAISHI, K. AXENIC CULTIVATION OF THE BRINE SHRIMP *ARTEMIA SALINA* LUIGI. v. 136, n. 3, p. 434–453, 1959. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/epdf/10.2307/1538914>. Acesso em: 11 ago. 2023.

PUCCI, C.; DEGL'INNOCENTI, A.; BELENLI GÜMÜŞ, M.; CIOFANI, G. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia: recent advancements, molecular effects, and future directions in the omics era. **Biomaterials Science**, v. 10, n. 9, p. 2103–2121, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d1bm01963e>. Acesso em: 20 jun. 2023.

RAGURAMAN, V.; SUTHINDHIRAN, K. Comparative ecotoxicity assessment of magnetosomes and magnetite nanoparticles. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 30, n. 1, p. 13–25, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1570489>. Acesso em: 19 mai. 2023.

REEVE, M. R. THE FILTER-FEEDING OF ARTEMIA II. In suspensions of various particles. **Journal of Experimental Biology**, v. 40, p. 207–214, 1963. Acesso em: 12 jun. 2023.

REMYA, A. S.; RAMESH, M.; SARAVANAN, M.; POOPAL, R. K.; BHARATHI, S.; NATARAJ, D. Iron oxide nanoparticles to an Indian major carp, *Labeo rohita*: Impacts on hematology, iono regulation and gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase activity. **Journal of King Saud University - Science**, v. 27, n. 2, p. 151–160, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.11.002>. Acesso em: 21 jul. 2023.

RIZWAN, M.; ALI, S.; ALI, B.; ADREES, M.; ARSHAD, M.; HUSSAIN, A.; ZIA UR REHMAN, M.; WARIS, A. A. Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. **Chemosphere**, v. 214, p. 269–277, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.120>. Acesso em: 17 mai. 2023.

SALA, F. C.; DA COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacultura Brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187–194, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>. Acesso em: 17 abr. 2023.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; KARISHMA, S.; VO, D. V. N.; JEEVANANTHAM, S.; YAASHIKAA, P. R.; GEORGE, C. S. A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. **Chemosphere**, v. 264, p. 128580, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128580>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SARKAR, A.; GHOSH, M.; SIL, P. C. Nanotoxicity: Oxidative stress mediated toxicity of metal and metal oxide nanoparticles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 730–743, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8752>. Acesso em: 18 mai. 2023.

SELVARAJ, R.; PAI, S.; VINAYAGAM, R.; VARADAVENKATESAN, T.; KUMAR, P. S.; DUC, P. A.; RANGASAMY, G. A recent update on green synthesized iron and iron oxide nanoparticles for environmental applications. **Chemosphere**, v. 308, n. P2, p. 136331, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136331>. Acesso em: 26 jul. 2023.

SHARMA, V.; SINGH, H.; GULERIA, S.; BHARDWAJ, N.; PURI, S.; ARYA, S. K.; KHATRI, M. Application of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for heavy metal adsorption: A 10-year meta-analysis. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 18, n. June, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100716>. Acesso em: 22 abr. 2023.

SHOKRY, A.; KHALIL, M.; IBRAHIM, H.; SOLIMAN, M.; EBRAHIM, S. Acute toxicity assessment of polyaniline/Ag nanoparticles/graphene oxide quantum dots on *Cypridopsis vidua* and *Artemia salina*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84903-5>. Acesso em: 21 jun. 2023.

SINGH, N.; JENKINS, G. J. S.; ASADI, R.; DOAK, S. H. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). **Nano Reviews**, v. 1, n. 1, p. 5358, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3402/nano.v1i0.5358>. Acesso em: 21 jun. 2023.

SINGH, P.; PANDIT, S.; MOKKAPATI, V. R. S. S.; GARG, A.; RAVIKUMAR, V.; MIJAKOVIC, I. Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19071979>. Acesso em: 13 jul. 2023.

SOUSA, F. *et al.* Superparamagnetic nanoparticles as high efficiency magnetic resonance imaging T2 contrast agent. **Bioconjugate Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 161–170, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00577>. Acesso em: 12 jul. 2023.

SU, C. Environmental implications and applications of engineered nanoscale magnetite and its hybrid nanocomposites: A review of recent literature. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, p. 48–84, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.06.060>. Acesso em: 12 ago. 2023.

THEKKUDAN, V. N.; VAIDYANATHAN, V. K.; PONNUSAMY, S. K.; CHARLES, C.; SUNDAR, S. L.; VISHNU, D.; ANBALAGAN, S.; VAITHYANATHAN, V. K.; SUBRAMANIAN, S. Review on nanoadsorbents: A solution for heavy metal removal from wastewater. **IET Nanobiotechnology**, v. 11, n. 3, p. 213–224, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0114>. Acesso em: 15 jul. 2023.

TOH, P. Y.; TAI, W. Y.; AHMAD, A. L.; LIM, J. K.; CHAN, D. J. C. Toxicity of bare and surfaced functionalized iron oxide nanoparticles towards microalgae. **International Journal of Phytoremediation**, v. 18, n. 6, p. 643–650, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1086300>. Acesso em: 15 abr. 2023.

TOH, P. Y.; YEAP, S. P.; KONG, L. P.; NG, B. W.; CHAN, D. J. C.; AHMAD, A. L.; LIM, J. K. Magnetophoretic removal of microalgae from fishpond water: Feasibility of high

gradient and low gradient magnetic separation. **Chemical Engineering Journal**, v. 211–212, p. 22–30, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.051>. Acesso em: 17 jun. 2023.

TURAN, N. B.; ERKAN, H. S.; ENGIN, G. O.; BILGILI, M. S. Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation and toxicity—A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 130, p. 238–249, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.08.014>. Acesso em: 16 mai. 2023.

VALDIGLESIAS, V.; FERNÁNDEZ-BERTÓLEZ, N.; KILIÇ, G.; COSTA, C.; COSTA, S.; FRAGA, S.; BESSA, M. J.; PÁ SARO, E.; TEIXEIRA, J. P.; LAFFON, B. Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 38, p. 53–63, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.03.017>. Acesso em: 19 jul. 2023.

VANGIJZEGEM, T.; LECOMTE, V.; TERNAD, I.; VAN LEUVEN, L.; MULLER, R. N.; STANICKI, D.; LAURENT, S. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPION): From Fundamentals to State-of-the-Art Innovative Applications for Cancer Therapy. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010236>. Acesso em: 12 jul. 2023.

VANGIJZEGEM, T.; STANICKI, D.; LAURENT, S. Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: applications and characteristics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 16, n. 1, p. 69–78, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1554647>. Acesso em: 18 jul. 2023.

VENTRELLA, M. C.; ALMEIDA, A. L.; NERY, L. A.; COELHO, V. P. de M. Métodos histoquímicos aplicados às sementes. **Conhecimento**, p. 40, 2013. Acesso em: 15 abr. 2023.

VU, M. N.; KELLY, H. G.; KENT, S. J.; WHEATLEY, A. K. Current and future nanoparticle vaccines for COVID-19. **EBioMedicine**, v. 74, p. 103699, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103699>. Acesso em: 15 jul. 2023.

WIERZBICKA, M.; OBIDZINSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. v. 137, p. 155–171, 1998. Acesso em: 14 mai. 2023.

WU, W.; HE, Q.; JIANG, C. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies. **Nanoscale Research Letters**, v. 3, n. 11, p. 397–415, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9174-9>. Acesso em: 25 jul. 2023.

WU, W.; WU, Z.; YU, T.; JIANG, C.; KIM, W. S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 16, n. 2, p. 23501, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501>. Acesso em: 15 ago. 2023.

XU, J. B.; WANG, Y. L.; LUO, X. S.; FENG, Y. Z. Influence of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and soil bacterial community structure. **Chinese Journal of Applied Ecology**, v. 28, n. 9, p. 3003–3010, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.201709.033>. Acesso em: 17 jul. 2023.

YADAV, K. K.; SINGH, J. K.; GUPTA, N.; KUMAR, V. A review of nanobioremediation technologies for environmental cleanup: A novel biological approach. **Journal of Materials**

**and Environmental Science**, v. 8, n. 2, p. 740–757, 2017. Acesso em: 15 jun. 2023.

YASMEEN, F.; RAZZAQ, A.; IQBAL, M. N.; JHANZAB, H. M. Effect of silver, copper and iron nanoparticles on wheat germination. **International Journal of Biosciences (IJB)**, v. 6, n. 4, p. 112–117, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.12692/ijb/6.4.112-117>. Acesso em: 25 abr. 2023.

ZAKERI, A. *et al.* Polyethylenimine-based nanocarriers in co-delivery of drug and gene: a developing horizon. **Nano Reviews & Experiments**, v. 9, n. 1, p. 1488497, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20022727.2018.1488497>. Acesso em: 21 jun. 2023.

ZHU, H.; HAN, J.; XIAO, J. Q.; JIN, Y. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 6, p. 713–717, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/b805998e>. Acesso em: 25 jun. 2023.

ZHU, S.; XUE, M. Y.; LUO, F.; CHEN, W. C.; ZHU, B.; WANG, G. X. Developmental toxicity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artemia salina*. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 683–691, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.065>. Acesso em: 20 mai. 2023.

ZHU, X.; TIAN, S.; CAI, Z. Toxicity Assessment of Iron Oxide Nanoparticles in Zebrafish (*Danio rerio*) Early Life Stages. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. 1–6, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046286>. Acesso em: 15 ago. 2023.