



PLANO DE TRABALHO

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES – CNEN/IPEN

EDITAL COPDE 6/2020

2020.06.IPEN.33

DADOS DO PROJETO

DESCRIÇÃO DO PROJETO

Título do Projeto:

Validação de metodologia para caracterização físico-química de Nanoplásticos com análise de interações fisiológicas em cultivos celulares: testes *in vitro* e em amostras de necropsias de animais marinhos

Prazo Execução:

36 Meses

Objetivo Geral (Objeto da Proposta):

O presente projeto visará validar metodologia que unirá ensaios bioquímicos (citotoxicidade e quantificação da formação de radicais oxidantes), fisiológicos (genotoxicidade e análise por microscopia) e físicos (espectroscopia Raman) para avaliação futura dos possíveis efeitos que nanoplásticos possam causar em células vivas.

Justificativa Resumida:

O acúmulo ambiental de micro e nanopartículas formadas por material de origem antrópica vem produzindo dúvidas em relação à sua segurança, principalmente em células do corpo humano. É sabido que nanoplásticos (NPs) com tamanho menor que 200 nm, podem penetrar nas membranas celulares e atingir diferentes órgãos. Mas muito pouco é conhecido sobre quais efeitos, citotóxicos ou não, estes NPs causam nos diferentes órgãos. Estudos iniciais mostraram que, por exemplo, NPs de poliestireno provenientes do meio ambiente carregam uma alta carga de toxinas capazes de comprometer células do cérebro humano.

Compreender a relação propriedade-função das nanopartículas em vários campos de aplicação envolve determinar suas propriedades físico-químicas, o que ainda é um desafio até o momento. Embora várias ferramentas de caracterização diferentes estão sendo investigadas atualmente, esses métodos por si só podem fornecer um quadro incompleto. Portanto, novas técnicas analíticas são necessárias, que podem abordar a funcionalidade química e fornecer informações estruturais ao mesmo tempo com alta resolução espacial.

Mapeamento Raman é um método eficaz para identificar o tipo de polímero e determinar o tamanho de partícula e distribuição espacial de partículas de micropolástico (>3 micrometros). Uma vantagem significativa do AFM-Raman (TERS/SNOM) é sua capacidade de identificar partículas muito menores de 500 nm, até o limite de poucos nanômetros.

Enquanto partículas maiores que 500 nm podem ser identificadas por um único espectro Raman, as partículas menores precisam de uma comparação consecutiva do espectro medido com uma biblioteca espectral. Esta biblioteca precisa ser primeiramente estabelecida para futuramente poder identificar as nanopartículas desses materiais. É por este motivo que se faz necessário esta fase de validação e construção do banco de dados em função de tamanho do NP.

Da mesma forma, a validação de uma metodologia se faz necessário para a avaliação de possíveis efeitos cito e genotóxicos de nanopartículas. Este projeto propõe uma metodologia em forma de bateria de testes que possa ser utilizada para avaliação *in vitro* de possíveis efeitos tóxicos de tais materiais, possibilitando análises ambientais futuras.

A validação da metodologia será efetuada, tanto no SELAP (SNOM) quanto no CEBIO, com nanoesferas de poliestireno de tamanho calibrado. O presente projeto utilizará uma abordagem multifatorial para a avaliação de possíveis efeitos cito e genotóxicos de nanopartículas de poliestireno em modelos celulares, além de estudos de translocação e localização das mesmas no ambiente intracelular.

O projeto não se limita a fazer a validação da metodologia mas, também, incorpora uma aplicação prática: a determinação de efeitos de nanoplástico em fígado e rins de exemplares da fauna marítima nacional (pinguins e



PLANO DE TRABALHO

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES – CNEN/IPEN

EDITAL COPDE 6/2020

2020.06.IPEN.33

tartarugas). Mais especificamente, faz parte deste projeto o estudo da incorporação biológica de nanoplásticos e a utilização de nanopartículas plásticas, marcadas com um traçador radioativo, capaz de ser detectado mesmo em baixas concentrações.

Com esta validação de metodologias teremos uma poderosa ferramenta que permita a transição de *micro-* para *nanoplásticos* e sua caracterização físico-química e cito-genotóxica em células de tecido, onde somente entram partículas com tamanho menor que ~200 nm. Em uma segunda fase do projeto haverá o teste desta metodologia para detecção de NPs em amostras de necropsias.

Vale frisar que este projeto se situa em uma fronteira de pesquisa aberta com grande demanda na indústria farmacêutica e cosmética assim como para o monitoramento ambiental.

Palavras-chave: cultivo tridimensional; nanoplásticos; toxicidade; AFM; SNOM; traçadores radioativos