

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em *Palaemon pandaliformis*
submetidos a diferentes temperaturas

Ana Lúzia de Souza Araújo

Orientador: Dr. Edison Barbieri

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo
Maio – 2023

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em *Palaemon
pandaliformis* submetidos a diferentes temperaturas**

Ana Lúzia de Souza Araújo

Orientador: Dr. Edison Barbieri

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo
Maio - 2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca. Instituto de Pesca, São Paulo

A687E

Araújo, Ana Lúzia de Souza

Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em *Palaemon pandaliformis* submetidos a diferentes temperaturas
v, 53f. ;fig.12; tab. 10.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.
Orientador: Edison Barbieri.

1. Nanotoxicologia. 2. Nanomateriais. 3. Bioindicadores. 4. Toxicologia. 5. Excreção de amônia. 6. Consumo específico de oxigênio
I. Barbieri, Edison. II. Título.

CDD 576

Permitida a cópia parcial, desde que citada a fonte – O autor

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

"EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AGNP) EM *PALAEMON PANDALIFORMIS* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS"

AUTOR: Ana Lúzia de Souza Araújo

ORIENTADOR: Dr. Edison Barbieri

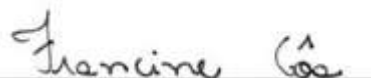
Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM
AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em Aquicultura e Pesca, pela
Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Edison Barbieri



Dra. Cristiane Angélica Ottoni



Dra. Francine Côa

Data de realização: 15 de maio de 2023



Presidente da Comissão Examinadora

Prof^a. Dr. Edison Barbieri

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos ao meu orientador, Dr. Edison Barbieri, pelo apoio, acolhimento e tempo dedicado em um centro de pesquisa de alto nível. Sua disponibilidade para transmitir conhecimentos proporcionou-me um contato valioso com a ciência e o ambiente acadêmico. Tive o privilégio e a oportunidade de evoluir, pois foram dias de dedicação, incentivo, paciência e valiosos ensinamentos. Expresso minha profunda gratidão por tudo....

Ao Sr. Dito, da base Cananéia, expresso meu sincero agradecimento por todo o apoio, assim como a todos os colaboradores envolvidos. Gratidão...

Ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesca – São Paulo, em especial ao Sr. Ocimar, expresso meu profundo agradecimento pela força e pelo suporte valioso fornecidos. Gratidão....

A todos os professores do Instituto de Pesca e ao professor Ronaldo e Gamze da Furg, expresso minha profunda gratidão por toda a dedicação e ensinamentos em cada disciplina. Agradeço também pela formação de laços de amizade, tornando a jornada acadêmica ainda mais enriquecedora.

Aos colegas de mestrados do Instituto de Pesca, que foram fundamentais, que deram maior força, e todos aqueles que fizeram parte nesta trajetória durante este período. Muito Obrigado(a)...

Em especial a minha mãe Madalena pela força, e por fim todos aqueles que direto e indireto contribuí durante esse processo importante na minha vida. Aos professores da minha qualificação a Dra. Cristiane Ottoni, Dr. Marcelo Henriques, e a Dra. Francine Côa, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO GERAL.....	iii
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	3
CAPÍTULO 1.....	8
Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em <i>Palaemon pandaliformis</i> submetidos a diferentes temperaturas.....	9
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1. Reagentes Químicos.....	13
2.2. Organismo teste.....	15
2.3. Ensaio Experimentais.....	15
2.4. Consumo Específico de Oxigênio	16
2.5. Excreção Específica de Amônia.....	17
2.6. Análises Estatísticas.....	17
3. RESULTADOS.....	18
3.1. Concentração Letal CL_{50}	18
3.2. Consumo específico de oxigênio e Excreção de amônia AgNP e AgNO ₃	21
4. DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÃO.....	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
ANEXOS.....	39

RESUMO GERAL

As nanopartículas de prata (AgNP) são os nanomateriais mais amplamente comercializados em todo mundo, pois é incorporado em diversos produtos de uso diário. Visto que com esta expansão de NPs, surgem preocupações, devido ao risco de sua dispersão nos diferentes compartimentos ambientais, mesmo com avanço em sua disponibilidade, há falta de estudos das interações com o meio biológico. Desta forma, tornou-se necessário, avaliações da interação desses nanomateriais com espécies aquáticas, incluindo fatores físicos. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição do camarão *Palaemon pandaliformis*, em diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) e temperatura, analisar a concentração letal média (CL_{50}), e investigar alterações metabólicas, através de efeitos fisiológicos, por meio de ensaios para o metabolismo de rotina (consumo de oxigênio e excreção específica de amônia). Para a realização dos ensaios de toxicidade aguda, foram utilizados 30 camarões por unidade experimental, distribuídos em 6 aquários de 5 litros de água. Considerou-se diferentes doses de exposição (0,1; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25 $\mu\text{g/L}$) de AgNP e temperaturas (15, 20 e 25°C). Os testes realizados com os AgNPs para o metabolismo de rotina, foram utilizados 180 camarões com massa úmida média de $0,45 \pm 0,23$ g e comprimento total médio de $2,55 \pm 0,17$ centímetros. Como indicadores efeitos subletais, utilizou-se os parâmetros biomarcadores de oxigênio e excreção específica de amônia foi exposto a 0,5; 1,0; e 5,0 $\mu\text{g/L}$ de AgNP. Os resultados mostraram que a temperatura causou aumento na toxicidade da AgNP evidenciada pela diminuição dos valores de CL_{50} . Observou-se uma elevação do consumo de oxigênio e diminuição da excreção de amônia, principalmente na maior temperatura de 25 °C e na maior concentração (5,0 $\mu\text{g/L}$). A AgNP afetou o consumo específico de oxigênio e a excreção específica de amônia em 48% e 25%, em relação ao controle, na maior concentração empregada (5,0 $\mu\text{g/L}$), respectivamente. Ao associar AgNP com a temperatura, notou-se aumento de 57% do consumo de oxigênio na temperatura de 25°C, quando comparada a de 15 °C. Em relação a amônia na maior concentração empregada e na temperatura mais alta houve uma diminuição de 27% da excreção. Os resultados revelaram diferenças estatísticas em todas as exposições, demonstrando influência de AgNP e da temperatura na ecotoxicidade

aguda e metabolismo de rotina para a espécie. Desta forma, evidencia que *P. pandaliformis*, demonstra ser um excelente bioindicador para a qualidade da água, incluindo AgNP e temperatura.

Palavras-chave: Nanomateriais; Bioindicador; Biomarcadores. Toxicidade.

ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNP) are the most widely marketed nanomaterials worldwide, as they are incorporated into various everyday products. Given that with this expansion of NPs, concerns arise due to the risk of their dispersion in different environmental compartments, even with advancements in their availability, there is a lack of studies on their interactions with the biological environment. Therefore, it has become necessary to conduct evaluations of the interaction of these nanomaterials with aquatic species, including physical factors. The present study aimed to assess the effects of exposure of the shrimp *Palaemon pandaliformis* to different concentrations of silver nanoparticles (AgNPs) and temperatures. It involved analyzing the average lethal concentration (LC₅₀) and investigating metabolic alterations through physiological effects, using assays for routine metabolism (oxygen consumption and specific ammonia excretion). For the acute toxicity assays, 30 shrimp were used per experimental unit, distributed among 6 aquariums containing 5 liters of water each. Different exposure doses (0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 25 µg/L) of AgNP and temperatures (15, 20, and 25°C) were considered for the study. The tests conducted with AgNPs for routine metabolism involved 180 shrimp with an average wet mass of 0.45 ± 0.23 g and an average total length of 2.55 ± 0.17 centimeters. As indicators of sublethal effects, the biomarker parameters of oxygen and specific ammonia excretion were used, exposed to 0.5, 1.0, and 5.0 µg/L of AgNP. The results showed that the temperature caused an increase in the toxicity of AgNP, as evidenced by the decrease in LC₅₀ values. An increase in oxygen consumption and a decrease in ammonia excretion were observed, especially at the higher temperature of 25 °C and the higher concentration (5.0 µg/L). The AgNP affected the specific oxygen consumption and specific ammonia excretion by 48% and 25%, respectively, compared to the control, at the highest concentration employed (5.0 µg/L). When associating AgNP with temperature, there was a 57% increase in oxygen consumption at a temperature of 25°C compared to 15°C. At the highest concentration used and at the highest temperature, there was a 27% decrease in ammonia excretion. The results revealed statistical differences in all exposures, demonstrating

the influence of AgNP and temperature on acute ecotoxicity and routine metabolism for the species. In this way, it highlights that *P. pandaliformis* proves to be an excellent bioindicator for water quality, including AgNP and temperature.

Keywords: Nanomaterials; Bioindicator; Biomarkers; Toxicity.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As nanopartículas (NPs) são caracterizadas por possuir dimensões que variam entre 1 a 100 nm, (Krysanov et al., 2010; Biswas & Wu, 2012). À medida que se expande a utilização em larga escala desses nanomateriais (NM), surgem preocupações significativas em relação aos seus riscos ao meio ambiente, uma vez que o conhecimento sobre seus efeitos ainda é limitado (Kumar et al., 2022). Neste contexto, surge a necessidade de conduzi-lo estudos ecotoxicológicos abrangentes, com finalidade de compreender os efeitos de toxicidade que pode manifestar em organismos submetidos à exposição de nanopartículas (Damato & Barbieri., 2011; Cavalcante et al., 2017; Gagné, 2020; Eiras et al., 2022).

Nesse contexto, as nanopartículas de prata (AgNP) se destacam como os nanomateriais mais comercializados globalmente (McTeer et al., 2014; Korani et al., 2015; Leon-Silva et al., 2016; Sahu & Hayes, 2017). Sua prevalência e ampla aplicação em diversos setores, tanto industriais quanto comerciais, ressaltam sua relevância e impacto contemporâneo. A disseminação generalizada e a multiplicidade de aplicações das NMs exigem investigações científicas aprofundadas, devido à capacidade dessas partículas de sofrerem modificações em suas propriedades ao serem introduzidas no ambiente, interagindo com diversos elementos, matéria orgânica, cátions, variações no pH e níveis de oxigênio (Liu & Hurt, 2010; Sendra et al., 2017; De Souza et al., 2019). Torna-se evidente a necessidade de investigar a transferência de nanopartículas ao longo da cadeia trófica e suas consequências (Dang et al., 2021).

O organismo experimental escolhido é o camarão *Palaemon pandaliformis*, um crustáceo pertencente à classe Crustacea, ordem Decapoda e família Palaemonidae, um carídeo de tamanho reduzido e coloração amarelo pálida (Bond-Buckup, 1989; Melo, 2003). Este grupo tem ampla distribuição litorânea (Moreira et al., 2022; Alves et al., 2022; Olaia et al., 2022) e tem sido considerado um indicador eficaz em ambientes aquáticos, além de ser empregado para avaliar os efeitos de outros nanomateriais (De Melo et al., 2019; Alves et al., 2022).

Os biomarcadores fisiológicos deste estudo foram o consumo específico de oxigênio e a excreção de amônia. Eles fornecem informações relevantes sobre o funcionamento do organismo modelo, uma vez que são parâmetros que oferecem resultados do metabolismo de rotina (Barbieri et al., 2019). Essas alterações metabólicas permitem a medição do estresse e das alterações ambientais (Barbieri et al., 2013).

Atualmente, há um conhecimento limitado sobre as interações entre NPs e fatores ambientais, o que ressalta a necessidade de investigar os impactos, particularmente no caso das NPs de prata (AgNP). A variação dos fatores abióticos, como temperatura, salinidade e pH, pode influenciar nos efeitos das NPs nos seres vivos (Batista et al., 2017). No entanto, é importante salientar que o conhecimento dos efeitos da temperatura e da interação com nanopartículas permanece carente de uma análise mais aprofundada e completa (Yaqoob et al., 2020).

Nesse sentido, com o aumento da temperatura e das concentrações de NPs, observou-se efeitos tóxicos em *Artemia salina*. A obtenção de informações detalhadas sobre os impactos dessas nanopartículas nas espécies expostas a esses xenobióticos torna-se crucial (Lish et al., 2019). A temperatura emerge como um dos fatores ambientais mais relevantes, exercendo efeitos de diferentes formas, inclusive letais, conforme a classificação proposta por Fry (1971). Portanto, a compreensão das interações entre os organismos, nanomateriais e as variações térmicas é de extrema importância para avaliar os impactos da temperatura no ambiente. A temperatura influencia nos efeitos tóxicos, mesmo que muitos crustáceos tenham a capacidade de regular o oxigênio (Wu e Chen, 2004).

1.1. Fluxograma

Figura 1. Apresenta o fluxograma de realização deste estudo, e suas aplicações dos testes ecotoxicológicos.

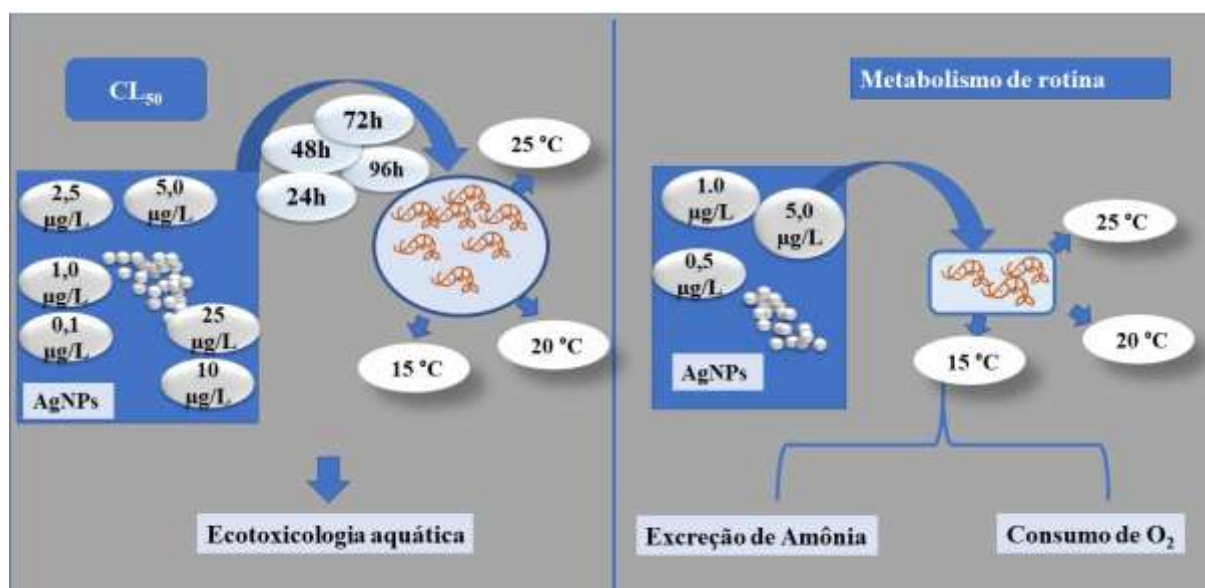


Figura 1. Fluxograma de realização do projeto. Fonte: autor

1.2. Objetivos

O objetivo do presente estudo foi, investigar a toxicidade aguda de AgNP em *Palaemon pandaliformis*, e, avaliar os efeitos no metabolismo de rotina, (consumo específico de oxigênio, excreção de amônia). Considerou-se diferentes concentrações desse xenobióticos e temperaturas. Como objetivo específico avaliou-se a toxicidade aguda (CL₅₀) e metabolismo de rotina através de biomarcadores, em resposta a diferentes concentrações de (AgNP) e influência da temperatura.

1.3. Apresentação da Dissertação

Esta dissertação está apresentado na forma de capítulo. O estudo realizado resultará na produção de artigo científico, seguindo as regras da revista Chemosphere.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Alves, K. V. B., Martinez, D. S. T., Alves, O. L., & Barbieri, E. 2022. Co-exposure of carbon nanotubes with carbofuran pesticide affects metabolic rate in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). *Chemosphere*, 288,132359.<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132359>

Barbieri, E., Ferrarini, A. M. T., Rezende, K. F. O., Martinez, D. S. T., & Alves, O. L. 2019. Effects of multiwalled carbon nanotubes and carbofuran on metabolism in *Astyanax ribeirae*, a native species. *Fish physiology and biochemistry*, 45, 417-426. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0573-2>

Barbieri, E., Branco, J.O., Santos, M.C.F., Hidalgo, K.R. 2013. Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption and ammonia excretion of the sea-bob shrimp, according to the temperature | Efeito do cádmio e zinco na excreção de amônia e consumo de oxigênio do camarão sete-barbas, de acordo com a temperatura. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39(3): 299-309

Barbieri, E. 2007. Use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the sublethal toxicity of cadmium and zinc on *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea). *WaterEnvironment Research*, 79(6), 641-646. <https://doi.org/10.2175/106143006X136775>

Batista, D., Pascoal, C., & Cássio, F. 2017. How do physicochemical properties influence the toxicity of silver nanoparticles on freshwater decomposers of plant litter in streams?. *Ecotoxicology and environmental safety*, 140, 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.039>

Biswas, P., & Wu, C. Y. 2012. Nanoparticles and the environment. *Journal of the air & waste management association*, 55(6), 708-746. <https://doi.org/10.1080/10473289.2005.10464656>

Bond-Buckup, G., & BUCKUP, L. 1989. Os Palaemonidae de águas continentais do Brasil meridional (Crustacea, Decapoda). *Revista brasileira de Biologia*, 49(4), 883-896.

Capparelli, M. V., Abessa, D. M., & McNamara, J. C. 2016. Effects of metal contamination in situ on osmoregulation and oxygen consumption in the mudflat fiddler crab *Uca rapax* (Ocypodidae, Brachyura). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 185, 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.03.004>

Cavalcante, A. K.; Mamede, F. C. S.; Maziero, J. S.; Rogero, S. O.; Rogero, J. R. Lugão, A. B. 2017. A Ecotoxicologia como ferramenta na Nanotecnologia. 14º Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Orgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos - SLABO 5ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Orgãos Artificiais - OBI 20 a 24 de Agosto de - Maresias - SP - Brasil.

Cho, S., & Yoon, J. Y. 2017. Organ-on-a-chip for assessing environmental toxicants. *Current opinion in biotechnology*, 45, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.019>

Damato, M., & Barbieri, E. 2011. Determinação da toxicidade aguda de cloreto de amônia para uma espécie de peixe (*Hyphessobrycon callistus*) indicadora regional. *O Mundo da Saúde*, 35(4), 401-407.

Dang, F., Huang, Y., Wang, Y., Zhou, D., & Xing, B. 2021. Transfer and toxicity of silver nanoparticles in the food chain. *Environmental Science: Nano*, 8(6), 1519-1535. <https://doi.org/10.1039/D0EN01190H>

De Melo, C. B., Côa, F., Alves, O. L., Martinez, D. S. T., & Barbieri, E. 2019. Co-exposure of graphene oxide with trace elements: Effects on acute ecotoxicity and routine metabolism in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). *Chemosphere*, 223, 157-164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.017>

De Souza, T. A. J., Souza, L. R. R., & Franchi, L. P. 2019. Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 171, 691-700. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.095>

Eiras, de Oliveira, M. I., da Costa, L. S., & Barbieri, E. 2022. Copper II oxide nanoparticles (CuONPs) alter metabolic markers and swimming activity in zebra-fish (*Danio*

erio). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 257, 109343. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109343>

Fry, F. E. J. (1971). The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish physiology* (Vol. 6, pp. 1-98). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60146-6](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60146-6)

Gagné, F. 2020. Ecotoxicology of altered fractal organization in cells. *Am. J. Biomed. Sci. Res*, 8, 498-502. 10.34297/ AJBSR.2020.08.001327.

Handy, R. D., Von der Kammer, F., Lead, J. R., Hassellöv, M., Owen, R., & Crane, M. 2008. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17(4), 287-314. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0199-8>

Harris, R. R., & Santos, M. C. F. 2000. Heavy metal contamination and physiological variability in the Brazilian mangrove crabs *Ucides cordatus* and *Callinectes danae* (Crustacea: Decapoda). *Marine biology*, 137, 691-703. <https://doi.org/10.1007/s002270000382>

Korani, M., Ghazizadeh, E., Korani, S., Hami, Z., & Mohammadi-Bardbori, A. (2015). Effects of silver nanoparticles on human health. *European Journal of Nanomedicine*, 7(1), 51-62. <https://doi.org/10.1515/ejnm-2014-0032>

Krysanov, E. Y., Pavlov, D. S., Demidova, T. B., & Dgebuadze, Y. Y. 2010. Effect of nanoparticles on aquatic organisms. *Biology Bulletin*, 37, 406-412. <https://doi.org/10.1134/S1062359010040114>

Kumar, C. V., Karthick, V., Kumar, V. G., Inbakandan, D., Rene, E. R., Suganya, K. U., ... & Sowmiya, P. 2022. The impact of engineered nanomaterials on the environment: Release mechanism, toxicity, transformation, and remediation. *Environmental Research*, 212, 113202. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113202>

León-Silva, S., Fernández-Luqueño, F. & López-Valdez, F. Silver. 2016. Nanoparticles (AgNP) in the Environment: a Review of Potential Risks on Human and Environmental Health. *Water Air Soil Pollut* 227, 306 <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3022-9>

Liu, J., & Hurt, R. H. 2010. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environmental science & technology*, 44(6), 2169-2175. <https://doi.org/10.1021/es9035557>

Lish, R. A. D., Johari, S. A., Sarkheil, M., & Yu, I. J. 2019. On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. *Environmental Pollution*, 255, 11335 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113358>

Melo, C. B. 2016. Efeitos da Interação do Óxido De Grafeno com Cádmio e Zinco no Consumo de Oxigênio e Excreção de Amônia o *Palaemon Pandaliformis* (Stimpson, 1871)(Crustacea, Decapoda, Palaemonidae).

Melo, G.A.S. 2003 Manual de identificação dos crustáceos decapoda de água doce do Brasil. São Paulo: Loyola/FAPESP. 429p.

Mishra, Y. K., Verma, S. K., Nandi, A., Sinha, A., Patel, P., Jha, E., Mohanty, S., Kumar Panda, P., Ahuja, R., & Suar, M. 2021. Zebrafish (*Danio rerio*) as an ecotoxicological model for Nanomaterial induced toxicity profiling. *Precision Nanomedicine*, 4(1), 750-782. <https://doi.org/10.33218/001c.21978>

Moore, M. N. 2002. Biocomplexity: the post-genome challenge in ecotoxicology. *Aquatic toxicology*, 59(1-2), 1-15. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00225-9)

Moreira, T. M. D. O., Moreira, E. D. O., Mendonça, G. S., Damasceno, J. P., Duarte, M. B., Rosa, N. C., ... & Barbieri, E. 2022. Nanopartículas De Óxido de Cobre Ii (Npscuo) causam Toxicidade e Alterações Metabólicas em *Palaemon Pandaliformis*): Efeitos de Nanopartículas de Óxido de Cobre Ii (Npscuo. *Engenharia de Pesca: Aspectos Teóricos E Práticos-Volume 4*, 4(1), 140-153. 10.37885/220609130

McTeer, J., Dean, A. P., White, K. N., & Pittman, J. K. 2014. Bioaccumulation of silver nanoparticles into *Daphnia magna* from a freshwater algal diet and the impact of phosphate availability. *Nanotoxicology*, 8(3), 305-316. <https://doi.org/10.3109/17435390.2013.778346>

Olaia, K. T., da Costa, L. S., de Souza Araújo, A. L., & Barbieri, E. 2022. Nanopartículas de óxido de cobre II (NPs_{CuO}) causam toxicidade e alterações metabólicas em *Palaemon pandaliformis*. <https://dx.doi.org/10.37885/220609130>

Otoni, C. A., Neto, M. L., Léo, P., Ortolan, B. D., Barbieri, E., & De Souza, A. O. 2020. Environmental impact of biogenic silver nanoparticles in soil and aquatic organisms. *Chemosphere*, 239, 124698. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124698>

Sahu, S. C., & Hayes, A. W. 2017. Toxicity of nanomaterials found in human environment: a literature review. *Toxicology Research and Application*, 1, 2397847317726352. <https://doi.org/10.1177%2F2397847317726352>

Sendra, M., Yeste, M. P., Gatica, J. M., Moreno-Garrido, I., & Blasco, J. 2017. Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricornutum*). *Chemosphere*, 179, 279-289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.123>

Wu JP, Chen HC. 2004. Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere* 57:1591–1598. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.033>

Yaqoob, A. A., Umar, K., & Ibrahim, M. N. M. 2020. Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 10(5), 1369-1378. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01318-w>

CAPÍTULO 01

Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em *Palaemon pandaliformis* submetidos a diferentes temperaturas

(Artigo será redigido nas normas da Revista Chemosfere).

Efeitos de Nanopartículas de Prata (AgNP) em *Palaemon pandaliformis* submetidos a diferentes temperaturas

Autores: Ana Lúzia de Souza Araújo ^a, Edison Barbieri^b

^aPrograma de Pós Graduação do Instituto de Pesca-SP-APTA SAA/SP, Caixa 9 Postal 157, 11990-000 - Cananéia, SP, Brazil

^bInstituto de Pesca - APTA SAA/SP, Caixa Postal 157, 11990000 - 15 Cananéia,SP,Brazil.

* Corresponding author at: 18 Instituto de Pesca - APTA- SAA/SP, CaixaPostal 157, SP11900-000 - Cananéia, 19 SP, Brazil. E-mail address: edisonbarbieri@yahoo.com.br (Edison Barbieri).

RESUMO

As nanopartículas de prata (AgNP) são reconhecidas principalmente pela efetiva ação antimicrobiana. Na última década a sua utilização em diversos segmentos industriais se expandiu consideravelmente, entretanto, ainda pouco se sabe sobre os potenciais efeitos deletérios deste nanomaterial em ecossistemas terrestres e aquáticos. Neste trabalho a toxicidade aguda das AgNP e do nitrato de prata foi estudada considerando diferentes doses de exposição (0,1; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25 µg/L) e diferentes temperaturas (15, 20 e 25°C). Como indicadores de efeitos subletais, utilizou-se os parâmetros consumo específico de oxigênio e excreção de amônia. *Palaemon pandaliformis* foi exposto a 0,5; 1,0; e 5,0 µg/L de AgNP e AgNO₃. Supôs-se, como hipótese, que AgNP e AgNO₃ poderiam afetar a toxicidade com a elevação da temperatura no organismo-teste. Os resultados indicaram que a temperatura causou aumento na toxicidade da AgNP evidenciada pela diminuição dos valores de CL₅₀. A CL₅₀ 96 h da AgNP na temperatura de 25 °C (0,004 µg/L) foi 17,5 vezes maior que a CL₅₀ 96 h quando comparada a temperatura de 15 °C (0,07 µg/L). Observou-se uma elevação do consumo de oxigênio e diminuição da excreção de amônia, principalmente na maior temperatura de 25 °C e na maior concentração (5,0 µg/L). A AgNP afetou o consumo específico de oxigênio e a excreção específica de amônia em 48% e 25%, em relação ao controle, na maior concentração empregada (5,0 µg/L), respectivamente. Ao associar AgNP com a temperatura, notou-se aumento de 57% do consumo de oxigênio na temperatura de 25°C, quando comparada a de 15 °C na maior

concentração utilizada. Em relação a amônia na maior concentração empregada e na temperatura mais alta houve uma diminuição de 27% da excreção. Desta forma, esses resultados confirmam a hipótese de que a temperatura pode influenciar a toxicidade da AgNP, sugerindo cautela e maiores investigações quanto ao uso e descarte deste NM nos ecossistemas aquáticos.

Palavras-chave: nanotoxicologia; nanomateriais; bioindicadores; toxicologia; excreção de amônia; consumo específico de oxigênio.

Effects of Silver Nanoparticles (AgNP) on *Palaemon pandaliformis* subjected to different temperatures

ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNP) are primarily recognized for their effective antimicrobial action. Over the past decade, their use in various industrial sectors has significantly expanded. However, little is still known about the potential deleterious effects of this nanomaterial on terrestrial and aquatic ecosystems. In this study, the acute toxicity of AgNP and silver nitrate was investigated considering different exposure doses (0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 25 µg/L) and different temperatures (15, 20, and 25°C). Specific oxygen consumption and ammonia excretion were used as sublethal effect indicators. *Palaemon pandaliformis* was exposed to 0.5, 1.0, and 5.0 µg/L of AgNP and AgNO₃. It was hypothesized that AgNP and AgNO₃ could affect toxicity with increasing temperature in the test organism. The results indicated that temperature caused an increase in AgNP toxicity, as evidenced by the decrease in LC₅₀ values. The 96-hour LC₅₀ of AgNP at 25°C (0.004 µg/L) was 17.5 times higher than the 96-hour LC₅₀ at 15°C (0.07 µg/L). An increase in oxygen consumption and a decrease in ammonia excretion were observed, particularly at the higher temperature of 25°C and the higher concentration (5.0 µg/L). AgNP affected specific oxygen consumption and specific ammonia excretion by 48% and 25%, respectively, compared to the control, at the highest concentration used (5.0 µg/L). When AgNP was combined with temperature, a 57% increase in oxygen consumption was observed at 25°C compared to 15°C at the highest concentration employed. Regarding ammonia, there was a 27% decrease in excretion at the highest concentration and the highest temperature. Thus, these results confirm the hypothesis that temperature can influence the

toxicity of AgNP, suggesting caution and further investigations regarding the use and disposal of this nanomaterial in aquatic ecosystems.

Keywords: nanotoxicology; nanomaterials; bioindicators; toxicology; ammonia excretion; specific oxygen consumption.

1. INTRODUÇÃO

A utilização em larga escala dos nanomateriais (NM) causam preocupações principalmente pelos possíveis efeitos tóxicos ainda pouco conhecidos (Kumar et al., 2022). Por isso a necessidade de utilizar ensaios ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação da toxicidade, como por exemplo, o uso de ensaios *in vivo* com organismos modelo ou ecologicamente representativos (Damato e Barbieri., 2011; Cavalcante et al., 2017; Gagné, 2020; Eiras et al., 2022).

As nanopartículas (NP) de prata (AgNP) são uma dos nanomateriais mais comercializados em todo o mundo, sendo incorporadas a diversos produtos de consumo diário, como medicamentos (Husain et al., 2023) têxteis, plásticos (Beyene et al., 2017), cosméticos, sprays domésticos e armazenamento de alimentos (Sendra et al., 2017; Sibiya et al., 2022). As AgNP também são utilizadas na medicina principalmente na terapia anticâncer e em curativos para auxiliar a cicatrização (De Souza et al., 2019 e Abdulsahib, 2021).

A alta demanda e interesse pela aplicação dos NMs, que são utilizadas em diversos produtos industriais, pode levar a liberação destes materiais nos corpos hídricos e consequente podem propiciar a exposição de diferentes organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos. Uma vez no ambiente, as nanopartículas são capazes de interagir com outros poluentes e com fatores ambientais como a temperatura, impactando os efeitos tóxicos dos nanomateriais. Fenômenos como sinergismo, potenciação ou adição têm sido reportados na literatura (Alves et al., 2022; Zhang et al., 2022).

Os efeitos das interações das nanopartículas com outros contaminantes no ambiente ainda não são totalmente compreendidos, pois o tamanho das NP e forma podem influenciar nos possíveis impactos tóxicos (Moore, 2002; Handy et al., 2008; Cho & Yoon, 2017; Sahu & Hayes, 2017; Mishra et al., 2021). Embora seja evidente a extensa aplicação das AgNP, é consenso também que estes NM quando são lançados no meio ambiente podem alterar as suas propriedades, devido a interações com a matéria orgânica, cátions, diferentes pH, oxigênio

(Liu & Hurt, 2010; Sendra et al., 2017; De Souza et al., 2019). Considera-se que o meio ambiente é complexo e existem outras biomoléculas, que influenciam aos efeitos da NM. Neste sentido, estas biomoléculas ocorrem interações com NPs, e encapsulam e forma uma camada intitulada ecocoronas, que pode alterar as características físico-químicas, dos efeitos das partículas no ambiente (Wheeler et al., 2021; Martinez et al., 2022; Liu et al., 2022; Liu et al., 2023).

Dang et al., (2021) destaca a necessidade de investigar e estabelecer uma melhor compreensão, relacionada à transferência dessa nanopartículas na cadeia trófica, além das suas consequências ao longo da cadeia alimentar. Os efeitos negativos causados pela exposição as AgNP podem incluir danos ao DNA, perturbações genéticas e alterações metabólicas (León-Silva et al., 2016; Ottoni et al., 2020). Neste sentido, Melo (2016), aponta a importância de se estudar crustáceos em testes de nanoecotoxicidade, visto que são os mais numerosos em espécies e de grande importância ecológica em ampla variedade de ambientes. Os crustáceos têm sido amplamente utilizados para bioensaios toxicológicos, uma vez que são sensíveis a poluentes ambientais, incluindo elementos traços (Barbieri, 2007a).

Palaemon pandalirformis, é Crustacea, Decapoda, pertencente à família dos Palaemonidae é um camarão carídeo, de cor amarelo pálida, pequeno porte, os machos atingindo até 29 mm e as fêmeas ovadas de 28 até 36 mm de comprimento (Bond-Buckup, 1989; Melo, 2003). Habitam sítios bentônicos, são conhecidos popularmente como camarões fantasma ou potitinga, são encontrados no substrato de manguezais, próximos às raízes da vegetação, em ambientes de água doce e salgada, sendo a única espécie de água doce desse gênero. São normalmente encontrados desde a Guatemala até o sul do Brasil (Rosa et al., 2015; De Melo et al., 2019; Alves et al., 2022). Possui ampla distribuição na região litorânea com importante papel econômico (Moreira et al., 2022; Alves et al., 2022; Olaia et al., 2022). Possuem grande importância ecológica na ciclagem de nutrientes orgânicos, são importantes para dieta de peixes e aves, e também explorados para a utilização de isca viva em diversas pescarias artesanais (Müller et al., 1996; Rosa et al., 2015). Além de serem considerados excelentes bioindicadores por apresentarem sensibilidade ao serem expostos aos nanomateriais (De Melo et al., 2019; Alves et al., 2022). A temperatura é um fator ambiental que pode, segundo a classificação de Fry, (1971), exercer efeitos sobre os organismos de maneira letal, controladora, dependendo do tempo e/ou intensidade do estímulo, de extensão espacial dessa influência e da capacidade do organismo de se adaptar às variações térmicas. Porém, pouco se sabe sobre a interação de nanopartículas com fatores ambientais como a temperatura.

Estudos de Lish et al., (2019) demonstraram que com o aumento da temperatura de 25° e 30° C e concentrações de 5, 20, 40, 60, 80, 100 e 200 $mg L^{-1}$ AgNP, houve um aumento dos efeitos tóxicos sobre *Artemia salina*. *A. salina* expostas a diferentes concentrações de AgNPs 1000, 1500, 2000, e 2500 mg/L, resultou em obstrução intestinal, acúmulo, danos nas células epiteliais, e hiperplasia das brânquias (Kachenton et al. 2018). Desta forma, estes trabalhos demonstram que é necessário obter informações sobre a influência da temperatura sobre os efeitos das nanopartículas de prata sobre os organismos que podem ser expostos a esse xenobiótico.

Por esse motivo é importante investigar os efeitos das interações, da AgNP nos organismos variando fatores ambientais como temperatura, salinidade pH...etc. (Batista et al., 2017).

O presente estudo é inédito relevante e mais importante, pois seus resultados, demonstraram que com o aumento da temperatura de 15, 20 e 25 °C e concentrações 0,1; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25 $\mu g/L$ de AgNP e $AgNO_3$, resultou em efeitos tóxicos para *Palaemon pandaliformis*. Novos estudos devem ser inseridos explorando com outros organismos.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das AgNPs, do nitrato de prata e da temperatura sobre o *P. pandaliformis* por meio de ensaios de toxicidade aguda e do uso de dois biomarcadores indicativos de alterações metabólicas, o consumo de oxigênio e excreção de amônia.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Caracterizações de Nanopartículas prata

A concentração da dispersão estoque de AgNP utilizada foi na proporção de 1ml/ 100mg de nanopartícula de prata sintética. Armazenada em vidro ambar com papel alumínio na geladeira.

Antes de ser adicionada nos aquários para exposição a solução foi sonificada por 10 minutos.

A concentração estoque do AgNO_3 foi de 1:1, sendo que 1 ml: 1 mg. Também armazenada em vidro ambar com papel alumínio na geladeira.

As substâncias utilizadas foram nanopartículas de prata (AgNP) e nitrato de prata (AgNO_3).

As Nanopartículas de prata utilizadas possui 50 nm revestidas com o polímero polivinilpirrolidona na superfície (PVP-AgNPs). As mesmas foram obtidas comercialmente da empresa NanoComposix Ltd (USA), fornecida pelo Centro Nacional de Pesquisa em energia e materiais (CNPEM).

Para o preparo das análises, as AgNPs foram dispersas em água deionizada na concentração final de 5.0 mg mL^{-1} . Estas nanopartículas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), em que verificou diâmetro médio de $46.1 \pm 6.6 \text{ nm}$, confirmando o tamanho de $\sim 50 \text{ nm}$.

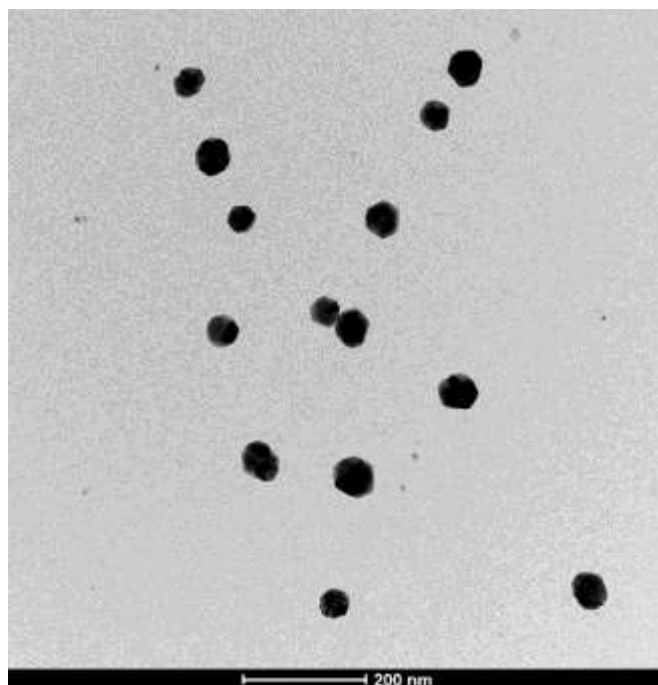


Figura 1: Nanopartículas de prata

Fonte: CNPEM

O nitrato de prata foi utilizado como controle positivo, no sentido de mostrar os efeitos da toxicidade, comparando assim, com o controle negativo a nanopartículas de prata.

2.2. Organismo teste

Os camarões *Palaemon pandaliformis* foram capturados no Rio Retiro, localizado em Cananéia/SP. Os organismos foram encaminhados para o laboratório de Ecotoxicologia do Instituto de Pesca (IP-APTA), do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Sul em Cananéia, São Paulo, onde foram adaptados a temperatura de 20 °C por 2 semanas.

Os animais foram dispostos em tanques previamente higienizados que possuíam aeração contínua e renovação diária da água. Os organismos foram alimentados diariamente com ração peletizada, (comercial extrusada, 2,0 mm com 36% de proteína bruta (PB), 7% de extrato etéreo (EE) e 4% de fibra bruta (CF), colocados nos tanques, na proporção de 2% da carne viva peso). Previamente ao experimento, os camarões foram aclimatados durante 1 semana em 2 tanques circulatórios com capacidade de 500 L. Foram realizados 30 experimentos, totalizando 180 camarões para o metabolismo de rotina, dispostos em 6 aquários com 10 litros de água da torneira.

As temperaturas foram mantidas em 15, 20 e 25°C em sala aclimatizada , e quando necessário as águas foram aquecidas com aquecedores com Termostato, os camarões foram distribuídos na mesma temperatura, aumentando 2° C até chegar 20° e 25°, mantendo o controle da temperatura do laboratório.

2.3. Ensaios de exposição

Os ensaios para obtenção da concentração letal média (CL_{50}) e percentual de letalidade dos organismos foram realizados por um período de exposição de 96 h.

Nos ensaios de toxicidade aguda foram utilizados 30 camarões por unidade experimental, tanto no grupo controle como nos demais tratamentos, totalizando 1260 indivíduos por substância testada, distribuídos em 6 aquários de 5 litros de água, aeração individual constante, e aclimatados durante 2 h nestas condições antes de cada ensaio para atenuar estresse dos animais. Estes testes foram realizados em triplicatas.

Os métodos adotados para os ensaios de toxicidade aguda em camarões foram baseados no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA-American Public Health Association, 1998).

Os ensaios foram realizados em diferentes concentrações de AgNP e AgNO₃ (0,1; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25 µg/L). As concentrações empregadas foram nominais.

Ao longo de todo o período de experimento foi observado o comportamento dos animais para avaliar o índice de letalidade dos indivíduos em cada concentração, tomando-se o cuidado de retirar e contar os espécimes mortos nas 24, 48, 72 e 96 h. Após 96 horas, com os dados obtidos, foi possível determinar os valores de CL₅₀ – com 95% de limite de confiança – para os contaminantes nos camarões com o uso do método estatístico Trimmed Spearman Karber (Hamilton et al., 1977).

2.4. Consumo específico de oxigênio

Para avaliar o Consumo Específico de Oxigênio, nas três temperaturas estudadas (15, 20 e 25 °C) através do metabolismo de rotina, foram utilizados 180 camarões com massa úmida média de 0,45 ±0,23 g e comprimento total médio de 2,55 ±0,17 centímetros de comprimento.

Os camarões foram submetidos aos ensaios para avaliar o consumo específico de oxigênio, no intuito de analisar efeitos no metabolismo provocados por AgNP e AgNO₃.

Utilizou-se 6 organismos em cada 4 grupos para o teste com AgNP e AgNO₃, de acordo com o seguinte delineamento apresentado na Tabela 1.

Tabela 1:

AgNP/AgNO ₃	Temperatura 15°C	Temperatura 20°C	Temperatura 25°C	Total
Controle:	6	6	6	18
Grupo 1: 0,5 µg/L	6	6	6	18
Grupo 2: 1,0 µg/L	6	6	6	18
Grupo 3: 5,0 µg/L	6	6	6	18

Foram separados cinco aquários, sendo um para cada grupo, contendo 4 litros de água filtrada e os contaminantes adicionados com o auxílio de pipetas de precisão, para obter-se a concentração final determinada e garantir a homogeneidade na distribuição.

Passados 10 minutos desse procedimento, foram inseridos os indivíduos de *P. pandaliformis* nos aquários e, após 2 h de exposição aos contaminantes, os camarões foram separados individualmente em respirômetros cilíndricos com volume de 200 mL, os quais foram mantidos em sistema fechado com circulação constante de água por 30 minutos.

Em seguida, os respirômetros foram fechados, interrompendo o fluxo interno de água a fim de isolar o sistema fechado da circulação contínua. Após uma hora, coletaram-se imediatamente as amostras de água dos respirômetros, para a análise do consumo de oxigênio.

O consumo específico de oxigênio foi determinado segundo o método de Winkler, (1888), através da diferença das concentrações de oxigênio dissolvido entre o início e o final de uma hora com o volume do respirômetro, a massa úmida dos indivíduos e o tempo de confinamento ($\text{mLO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

2.5. Excreção específica de amônia

A coleta da amostra de água para análise da excreção de amônia foi realizada simultaneamente juntamente com a coleta das amostras para análise de consumo específico de oxigênio. Portanto, para cada tratamento com as concentrações empregadas e grupo controle foram realizadas quintuplicatas.

A excreção de amônia foi determinada pela diferença entre as concentrações de nitrogênio amoniacal inicial e final após uma hora, de acordo com o volume do respirômetro, a massa úmida do *P. pandaliformis* e o tempo de confinamento ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). O nitrogênio amoniacal foi determinado pelo método de Nessler (Greenberg, 1995).

2.6. Análise estatística:

As médias do consumo específico de oxigênio e da excreção de amônia dos camarões foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com confiabilidade de 95%, e ao teste de homocedasticidade de Levene. Posteriormente, aplicou-se o teste ANOVA para comparar os tratamentos e o teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Ensaio agudo

A toxicidade de AgNP e AgNO₃ para *Palaemon pandaliformis*, expostos em diferentes concentrações, por período de 96 horas, foi expressa pelo valor da CL₅₀. Os resultados de porcentagem de mortalidade (%) e de CL₅₀ com 95% de limite de confiança calculados por análise Spearman-Kärber estão expressos nas Tabelas 2, 3, 4, 5, 6, 7. Os resultados demonstraram, aumento da toxicidade, conforme o aumento das concentrações, tempo de exposição e temperatura.

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nanopartículas de prata (AgNP) na temperatura de 15 °C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNP µg/L								Intervalo Confiança
	0,0	0,1	1,0	2,5	5,0	10	25	CL ₅₀	
24	0,00	16,66	33,3	40	53,3	76,6	93,3	2,016	0,885- 4,596
48	0,00	30	40	43,3	66,6	83,3	96,6	0,991	0,414-2,372
72	0,00	36,6	50	53,3	76,6	90	100	0,562	0,189-1,671
96	0,00	60	66,6	80	93,3	100	100	0,070	0,017-0,284

As CL₅₀ correspondem a 2,016, 0,991, 0,562 e 0,070, respectivamente. Observou-se que, durante as 24 horas de exposição, na menor concentração de 0,1 µg/L de AgNP, a taxa de mortalidade foi de 16,6%, enquanto na concentração de 25 µg/L, atingiu 93,3%.

Tabela 3. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nitrato de prata (AgNO₃) na temperatura de 15 °C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNO ₃ µg/L								Intervalo Confiança
	0,0	0,1	1,0	2,5	5,0	10	25	CL ₅₀	
24	0,00	33,3	43,3	60	66,6	86,6	100	0,757	0,245- 2,336
48	0,00	43,3	50	66,6	73,3	93,3	100	0,365	0,118-1,129
72	0,00	50	56,6	73,3	86,6	96,6	100	0,217	0,075-0,625
96	0,00	60	66,6	76,6	90	100	100	0,055	0,011-0,280

As CL₅₀ foram, respectivamente, 0,757, 0,365, 0,217 e 0,055. No entanto, a toxicidade para AgNO₃ em 24 horas demonstrou taxas de letalidade de 33,3%; 86,6% e 100% nas concentrações de 0,1 µg/L, 10 µg/L e 25 µg/L.

Tabela 4. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nanopartículas de prata (AgNP) na temperatura de 20°C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNP µg/L								Intervalo Confiança
	0,0	0.1	1,0	2.5	5,0	10	25	CL ₅₀	
24	0,00	23,3%	36,6	40	63,3	90	100	1,467	0,585-3,682
48	0,00	33,3	46,6	50	73,3	93,3	100	0,699	0,264-1,855
72	0,00	40	56,6	63,3	83,3	96,6	100	0,365	0,141- 0,942
96	0,00	66,6	70	83,3	96,6	100	100	0,046	0,011-0,185

As CL₅₀ correspondem a 1,467, 0,699, 0,365 e 0,046. Foram observadas taxas de letalidade de 100% nas concentrações de 25 µg/L de AgNP nas primeiras 24, 48, 72 e 96 horas. Além disso, na concentração de 10 µg/L, a letalidade atingiu 100% em 96 horas, demonstrando resultados significativos.

Tabela 5. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nitrato de prata (AgNO₃) na temperatura de 20 °C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNO ₃ µg/L								Intervalo Confiança
	0,0	0.1	1,0	2.5	5,0	10	25	CL ₅₀	
24	0,00	40	53,3	73,3	80	90	100	0,341	0,113-1,034
48	0,00	50	60	80	86,6	96,6	100	0,188	0,065-0,546
72	0,00	60	66,6	90	93,3	96,6	100	0,091	0,027-0,302
96	0,00	73,3	76,6	96,6	100	100	100	0,019	0,004-0,089

As CL₅₀ foram, respectivamente, 0,341, 0,188, 0,091 e 0,019, confirmando que a toxicidade ocorreu de acordo com o aumento da concentração, tempo de exposição e temperatura. Constata-se que, nas concentrações de 25 µg/L, a taxa de mortalidade foi de

100% nas 24, 48, 72 e 96 horas. Já nas concentrações de 5 µg/L e 10 µg/L, a taxa de mortalidade atingiu 100% em 96 horas.

Tabela 6. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nanopartículas de prata (AgNP) na temperatura de 25°C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNP µg/L							
	0,0	0,1	1,0	2,5	5,0	10	25	CL ₅₀
24	0,00	33,3	43,3	56,6	76,6	96,6	100	0,622
48	0,00	43,3	56,6	66,6	83,3	100	100	0,276
72	0,00	50	66,6	76,6	90	100	100	0,136
96	0,00	76,6	83,3	93,3	100	100	100	0,004

As CL₅₀ foram 0,622, 0,276, 0,136 e 0,004, indicando um aumento significativo da toxicidade contra os camarões em diversas concentrações. Taxas de mortalidade de 100% foram observadas nas concentrações de 25 µg/L desde as 24 horas até 96 horas. Em 10 µg/L, a mortalidade atingiu 100% em 48, 72 e 96 horas, enquanto em 5 µg/L, ocorreu em 96 horas.

Tabela 7. Porcentagem de mortalidade em (%) e CL₅₀ de *Palaemon pandaliformis* expostos a nitrato de prata (AgNO₃), na temperatura de 25 °C.

Tempo de Exposição (h)	Concentração AgNO ₃ µg							
	0,0	0,1	1,0	2,5	5,0	10	25	CL ₅₀
24	0,00	50	63,3	83,3	93,3	100	100	0,153
48	0,00	66,6	73,3	93,3	96,6	100	100	0,052
72	0,00	73,3	76,6	96,6	100	100	100	0,019
96	0,00	83,3	83,3	96,6	100	100	100	0,001

As CL₅₀ foram, respectivamente, 0,153, 0,052, 0,019 e 0,001. O aumento da toxicidade ocorreu em função da temperatura, do tempo de exposição e da concentração da substância. Em concentrações de 0,1 µg/L, houve uma taxa de mortalidade de 50% dos camarões nas últimas 24 horas, de 66,6% em 48 horas, de 73,3% em 72 horas e de 83,3% em 96 horas, especialmente em 10 µg/L. A taxa de mortalidade foi de 100% nas últimas 24, 48, 72 e 96 horas para 25 µg/L e 5 µg/L, ocorrendo nas 72 e 96 horas. A temperatura é um fator importante a

ser destacado, pois, quanto mais alta, maior é a influência toxicológica no organismo, principalmente durante a exposição ao AgNO_3 a uma temperatura de 25°C .

Foi constatada toxicidade desde as 24 horas de exposição em todas as concentrações estudadas, tanto para AgNO_3 quanto para AgNP (0,1; 2,5; 5,0; 10; e 25 $\mu\text{g/L}$). Observa-se que o AgNO_3 foi mais tóxico do que o AgNP .

3.2. Parâmetros subletais de toxicidade - consumo específico de oxigênio e excreção de amônia

A média e os respectivos desvios padrão do consumo específico de oxigênio e excreção de amônia nas temperaturas de 15° , 20° e 25°C , em indivíduos expostos às concentrações de 0,5 $\mu\text{g/L}$; 1 $\mu\text{g/L}$; e 5 $\mu\text{g/L}$ de AgNP e AgNO_3 , é demonstrado nas tabelas 8, 9 e 10.

Em AgNP o consumo de oxigênio aumentou os efeitos de toxicidade de acordo com a elevação das concentrações. Observou-se uma diferença estatística nas concentrações de 1,0 e 5,0 $\mu\text{g/L}$ em relação ao controle. Os resultados da excreção específica de amônia demonstraram uma tendência de diminuição, de acordo com o aumento da concentração, com diferença estatística.

No consumo específico de oxigênio para os organismos expostos a AgNO_3 , observou-se aumento do consumo específico de oxigênio com diferença significativa em 1,0 $\mu\text{g/L}$. Porém, nota-se que na concentração 5,0 $\mu\text{g/L}$ foram observadas declínio, o que demonstra que os indivíduos expostos a esse xenobiótico despendam maior quantidade de energia na tentativa de manter a homeostase. Os resultados da amônia, demonstrou que houve diminuição da excreção, com diferença significativa, de acordo a concentração e temperatura.

Tabela 8. Números de organismo (N), Médias (M) e desvio padrão (DP) do consumo específico de oxigênio (mLO₂/g/h) e excreção de amônia (mg L⁻¹) durante a exposição de *Palaemon pandaliformis* a AgNP e AgNO₃ na temperatura de 15 °C. Os asteriscos indica diferença estatística em relação ao controle.

AgNP						
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Consumo específico de oxigênio (mL O ₂ /g/L)			Excreção específica de amônia (mg L ⁻¹)		
	N	M	DP	N	M	DP
Controle	6	0.1295	0.00944	6	0.16283	0.01221
0,5	6	0.13283	0.0127	6	0.14483*	0.00794
1,0	6	0.1495*	0.0086	6	0.14233*	0.01239
5,0	6	0.18233*	0.00843	6	0.12983*	0.00943

AgNO ₃						
Controle	6	0.12617	0.01777	6	0.13333	0.01111
0,5	6	0.1445	0.01178	6	0.11817*	0.01261
1,0	6	0.15867*	0.00755	6	0.119*	0.00932
5,0	6	0.14067*	0.00728	6	0.1105*	0.00836

A média do consumo específico de oxigênio aumentou de acordo com a elevação da concentração, com diferença estatística em relação ao controle. Observou-se uma queda em AgNO₃, porém elevada em relação ao controle.

Quanto à excreção específica de amônia, demonstrou uma tendência de diminuição de acordo com o aumento da concentração, especialmente no grupo de 5,0 $\mu\text{g/L}$, pois este difere dos demais e do controle.

Tabela 9. Números de organismo (N), Médias (M) e desvio padrão (DP) do consumo específico de oxigênio (mLO₂/g/h) e excreção de amônia (mg L⁻¹) durante a exposição de *Palaemon pandaliformis* a AgNP e AgNO₃ em temperatura de 20 °C. Os asteriscos indica diferença estatística em relação ao controle.

AgNP						
Concentração (µg/L)	Consumo específico de oxigênio (mL O ₂ /g/L)			Excreção específica de amônia (mg L ⁻¹)		
	N	M	DP	N	M	DP
Controle	6	0.154	0.02112	6	0.16283	0.01221
0,5	6	0.1615	0.03672	6	0.14483*	0.00794
1.0	6	0.199	0.07011	6	0.14233*	0.01239
5,0	6	0.26233*	0.02559	6	0.12983*	0.00943
AgNO ₃						
Controle	6	0.151	0.01442	6	0.15283	0.01221
0,5	6	0.17617	0.02565	6	0.1375	0.01258
1.0	6	0.24743*	0.03172	6	0.1335*	0.01048
5,0	6	0.12733	0.01792	6	0.12483*	0.00854

Os resultados apresentaram aumento significativo do consumo de oxigênio, com exceção da concentração de 5,0 µg/L de AgNO₃, no qual foi observado um declínio. As reduções na excreção específica de amônia foram constatadas à medida que a concentração aumentou.

Tabela 10. Números de organismo (N), Médias (M) e desvio padrão (DP) do consumo do consumo específico de oxigênio (mLO₂/g/h) e excreção de amônia (mg L⁻¹) durante a exposição de *Palaemon pandaliformis* a AgNP e AgNO₃ em temperatura de 25 °C. Os asteriscos indica diferença estatística em relação ao controle.

AgNP						
Concentração (µg/L)	Consumo específico de oxigênio (mL O ₂ /g/L)			Excreção específica de amônia (mg L ⁻¹)		
	N	M	DP	N	M	DP
Controle	6	0.17717	0.0217	6	0.19583	0.00891
0,5	6	0.19483	0.01196	6	0.1615*	0.00826
1.0	6	0.239*	0.0374	6	0.16067*	0.01534
5,0	6	0.28133*	0.02868	6	0.1465*	0.01069
AgNO ₃						
Controle	6	0.177	0.02276	6	0.19117	0.01072
0,5	6	0.19083	0.01353	6	0.1515*	0.00826
1.0	6	0.18043	0.0199	6	0.139*	0.01633
5,0	6	0.112*	0.01236	6	0.12317*	0.00671

Houve um aumento do consumo específico de oxigênio em ambas as concentrações. Em relação ao AgNO₃, observou-se uma taxa de queda na concentração de 5,0 µg/L, o que fez com que os indivíduos expostos a esses xenobióticos dependessem de uma maior quantidade de energia na tentativa de manter a homeostase.

Os resultados mostram uma redução na excreção de amônia à medida que a concentração foi elevada. As temperaturas utilizadas para as análises de toxicidade e efeito no metabolismo em *P. pandaliformis* foram 15 °C, 20 °C e 25 °C, associando-as a AgNP e AgNO₃. Os resultados demonstraram influências da temperatura no consumo de oxigênio e na excreção de amônia nessa espécie, bem como na toxicidade. À medida que a temperatura foi elevada, a toxicidade aumentou, o consumo de oxigênio também foi maior e, consequentemente, a excreção de amônia diminuiu.

Os efeitos da AgNP e AgNO₃ sobre os camarões foram comparativamente pequenos na menor temperatura empregada (15 °C) e em concentrações abaixo de 1,0 µg/L para AgNP e 0,5 µg/L para AgNO₃. Porém, na temperatura de 25°C e nas maiores concentrações empregadas de AgNP e AgNO₃, os efeitos foram bastante pronunciados.

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo de toxicidade aguda, consumo de oxigênio e excreção de amônia indicam que a espécie de camarão *P. pandaliformis* foi sensível tanto às AgNP quanto ao AgNO₃, além de apresentar sensibilidade ao aumento da temperatura. Outros invertebrados também demonstraram sensibilidade a nanopartículas e elementos traço em estudos anteriores (Baun et al., 2008; Barbieri, 2009; Mesarič et al., 2013; Guo e Mei, 2014; Tavares et al., 2014; Durán et al., 2015).

Diversos organismos já foram utilizados para estudar a toxicidade de AgNP e do AgNO₃, por exemplo, *Pangasianodon hypophthalmus* (Pournori et al., 2017); *Perca fluviatilis* (Bilberg et al., 2010); *Danio rerio* (Cambier et al., 2018); *Daphnia magna* e *Raphidocelis subcapitata* (Falanga et al., 2020); *Oreochromis mossambicus* (Sibiya et al., 2022). A CL₅₀ para *D. magna* expostas a AgNP foi de 1,8 µg/L no estudo de Falanga et al., (2020), resultado próximo ao do presente estudo na temperatura de 20 °C, com a CL₅₀ (24h) de 1,46 µg/L. Ribeiro et al. (2014) realizaram um estudo expondo *Daphnia magna* a diferentes concentrações de AgNP e AgNO₃. De acordo com os autores, a CL₅₀ (24h) para AgNP e AgNO₃ foi de 11,41 e 1,36 µg/L, respectivamente. Do mesmo modo, no presente estudo, a toxicidade do AgNO₃ foi maior para *P. pandaliformis* quando comparada à toxicidade apresentada pelas AgNP.

Em consideração aos efeitos de letalidade AgNO₃ foi mais tóxica que AgNP, pode ter ocorrido pelo motivo de possuir maior capacidade de dissociação iônica, evidenciado pelo contato com água, e fatores físicos.

Os efeitos de AgNP e AgNO₃ na respiração de crustáceos decápodes vêm sendo amplamente estudados por vários pesquisadores, pois podem alterar o metabolismo destes organismos sob a influência de fatores físico-químicos (concentração, pH, temperatura, salinidade e tempo de exposição) e biológicos (peso e fase do ciclo de vida) (De Melo et al., 2019; De Medeiros et al., 2020; Alves et al., 2022, Eiras et al., 2022). No presente estudo, constatarem-se alterações no consumo de oxigênio à medida que as concentrações de AgNP e AgNO₃ aumentaram, refletindo elevação no metabolismo do *P. pandaliformis*.

A toxicidade de uma dada nanopartícula pode ser observada em um organismo quando a taxa de captação é superada pelas taxas de excreção e desintoxicação combinadas, assim sendo, a concentração interna de nanopartículas metabolicamente disponível aumenta e desencadeia efeitos tóxicos (Rainbow, 2002). Os efeitos tóxicos de AgNP e AgNO₃ nas superfícies branquiais dos crustáceos interferem em sua função respiratória e transporte iônico, acarretando em redução da transferência de gases e podendo alterar o consumo de oxigênio (Harris e Santos, 2000; Matsuo et al., 2005).

Respostas metabólicas de crustáceos a diferentes concentrações de xenobiontes são altamente variáveis entre as espécies (Kinne, 1966; Huni e Aravindan, 1985). Alves et al., (2022) também constataram um aumento do consumo de oxigênio para o *P. pandaliformis*, à medida que se aumentou a concentração de nanotubo de carbono. Entretanto De Melo et al., (2019), verificou uma diminuição do consumo de oxigênio para a mesma espécie com o aumento da concentração de Grafeno, Cádmio e zinco. A discrepância entre os resultados pode ser devido ao uso aos diferentes xenobiontes utilizados, os quais podem afetar o camarão de forma diferentes.

Neste estudo *P. pandaliformis* apresentou um pronunciado aumento no consumo de oxigênio à medida que as concentrações de AgNP e AgNO₃ aumentaram. Provavelmente, nas concentrações utilizadas, durante o curto período de tempo experimental, o efeito tóxico foi suficiente para alterar o funcionamento dos órgãos respiratórios a ponto de comprometê-los na absorção do gás.

Os resultados obtidos no presente estudo também demonstram que houve diminuição da excreção específica da amônia em *P. pandaliformis* à medida que elevou-se as concentrações de AgNP e AgNO₃. Alterações na excreção de amônia também ocorreram quando camarões *Farfantepenaeus paulensis* foram expostos ao Pb (Doi et al., 2012).

Santos et al., (2014), avaliaram o efeito do Pb no camarão branco, *Litopenaeus schimitti*, em diferentes salinidades e observou-se que na maior concentração empregada de Pb houve aumento de 88,2% da excreção específica de amônia, em relação ao controle. Wu e Chen, (2004) e Barbieri et al., (2013), também observaram aumento da excreção de amônia ao expor os camarões *L. vanamei* e *X. kroyeri* ao Cd e ao Zn. Wu e Chen, (2004) consideraram que as elevações da excreção de amônia estariam relacionadas à queda da pressão osmótica da hemolinfa do *L. vanamei*. A redução da excreção de amônia de até 95% observada neste estudo sugere menor pressão osmótica na hemolinfa (Wu e Chen, 2004) e falência do sistema de osmoregulação dos organismos teste.

As brânquias dos crustáceos são os primeiros órgãos expor a poluentes, quando em contato com água em ambiente contaminado (Wu & Chen, 2004). Assim, pode resultar em espessamento do epitélio brânquico e alterações profundas nos padrões da hemolinfa (Barbieri, 2007). Destaca que os efeitos tóxicos de AgNP afetam os crustáceos através do contato com as brânquias, resultando na diminuição da transferência de gases e na alteração do consumo de oxigênio (Harris & Santos, 2000). E pode causar até danos histológicos e citológicos (Wu & Chen, 2004). Desta forma, isso ocorre devido à função das brânquias ser um órgão fundamental na fisiologia deste animal. Neste sentido, as alterações na respiração de crustáceos, afetam o metabolismo e desencadeia efeitos tóxicos quando em contato com NM, e sob influência de fatores físico-químicos, e biológicos (Alves et al., 2022). Portanto, a amônia é um dos produtos finais, após catabolismo de aminoácido, que podem ser de origem alimentar ou muscular (Wu & Chen, 2004). Assim, os aminoácidos desempenham função na manutenção da pressão osmótica (Barbieri, 2007). No entanto, a desregulação da excreção de amônia ocorre, devido à resposta ao catabolismo de aminoácidos, quando expostos aos xenobióticos. A excreção de amônia ocorre após o dano branquial, resultando em maiores concentrações na água ambiente, e menor pressão osmótica na hemolinfa (Wu & Chen, 2004).

Além disso, esses distúrbios metabólicos refletem diretamente nas mudanças de comportamento e na taxa de sobrevivência, exigindo ajustes fisiológicos e gasto energético (Capparelli et al., 2016). A taxa metabólica é um indicador sensível e útil do consumo diário de energia (Barbieri, 2007).

Fatores intrínsecos, como tamanho do corpo e estágio de muda (Schmidt-Nielsen, 1983) assim como fatores extrínsecos como temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade (Spanopoulos-Hernández et al., 2005) desempenham papéis importantes na biologia de muitas espécies de crustáceos. Em crustáceos, a respiração geralmente aumenta com o aumento da temperatura, o que tem sido observado em muitas espécies de camarão, incluindo *Litopenaeus stylirostris* (Spanopoulos-Hernández et al., 2005) e *Penaeus chinensis* (Chen e Nan, 1993), bem como copépodes como *Pseudodiaptomus hessei* (Isla e Perissinotto, 2004).

O efeito da interação da temperatura com nanopartículas ainda é pouco entendido (Yaqoob et al., 2020). Estudos de Lish et al., (2019) demonstraram o aumento da temperatura e das concentrações de NPs influenciaram nos efeitos tóxicos de AgNP sobre *Artemia salina*. Assim como no presente estudo, no qual constatou-se aumento da toxicidade e do metabolismo com o aumento da temperatura e das concentrações de AgNP.

No presente estudo na maior temperatura e nas maiores concentrações de AgNP e AgNO₃ empregadas, constatou-se um aumento significativo do metabolismo dos animais, à medida que elevou-se a temperatura. A interação da temperatura com as concentrações de AgNP e AgNO₃ sobre os camarões provocou um aumento da toxicidade. Sendo assim, o que pode ser explicado pelo aumento do metabolismo dos organismos em geral (Swedmark et al., 1971, Barbieri et al., 2016, Alves et al., 2022).

O aumento da taxa respiratória de *P. pandaliformis*, e da temperatura observado durante este estudo corresponde aos resultados obtidos em estudos anteriores (Achituv e Cook, 1984; Emmerson, 1985). Como temperatura afeta diretamente a taxa de todos os processos biológicos principalmente o aumento da taxa de respiração (Schmidt-Nielsen, 1983), não é de se surpreender que com o aumento da temperatura os efeitos tóxicos da AgNP também aumentam.

Vários estudos investigaram a interação dos efeitos da temperatura da água na faixa de 6 °C a 25 °C e a toxicidade de várias substâncias químicas como detergentes (Barbieri, 2007b), metais (Barbieri et al., 2013), pesticidas (Barbieri et al., 2016; Henriques et al., 2021). Em todos esses casos, com o aumento da temperatura aumentou, também, a toxicidade e efeitos no metabolismo. Entretanto, quase não existem estudos que relatam a interação de NPs com a temperatura. Outros estudos são necessários para estabelecer a relação de toxicidade da AgNP e interações desses xenobióticos para outros organismos. Percebe-se que diversos estudos com metais, em diferentes concentrações e temperaturas causaram efeitos toxicológicos para o organismo aquático.

Assim, essas são informações relevantes que mostram resultados do contato destes animais com os contaminantes, ocasionando efeito para o organismo, com a utilização da ecotoxicologia e nanotoxicologia, no sentido de analisar tais efeitos na saúde dos animais e nos impactos no ecossistema, uma vez que todo ambiente pode ser modificado. Vale salientar, que é de extrema importância ter o conhecimento dos efeitos desses poluentes para os animais aquáticos como os camarões, pois eles fazem parte da cadeia alimentar de humanos.

O aumento da temperatura por si só já interfere no metabolismo do camarão. Além disso, o aumento da temperatura pode causar modificações no comportamento das nanopartículas (NPs) na água da torneira em questão, o que também pode ter influenciado o efeito tóxico observado.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que com, os resultados deste trabalho sugerem que a espécie de camarão *P. pandaliformis* pode ser utilizada como bioindicador da qualidade da água, pois demonstrou sensibilidade quando exposta a AgNP e AgNO₃. Todas as exposições do camarão *P. pandaliformis*, nas concentrações de AgNP e AgNO₃, causaram efeitos toxicológicos, pois foi constatado taxa de letalidade para o organismo desde as 24 h, tornando-se significativo no decorrer do tempo, com influência da temperatura e aumento da concentração do xenobiótico utilizado. Os efeitos tóxicos de AgNP e do AgNO₃ foram mais pronunciados na temperatura de 25 °C. O consumo de oxigênio aumentou dose dependente, sendo maior na mais alta temperatura. Já em relação a excreção de amônia, houve diminuição, sobretudo na temperatura de 25 °C. Isso significa que a temperatura influenciou na toxicidade para o organismo teste, à medida que elevou as concentrações, obteve maiores taxas de letalidades.

A toxicidade observada, mostra a necessidade de maior controle destas nanopartículas no meio ambiente, uma vez que de alguma forma, estes nanomateriais chega até o ecossistema aquático, interferindo na qualidade da água, e dos organismos que fazem parte, ou seja em toda cadeia alimentar.

Portanto, este estudo mostra os efeitos de AgNP e AgNO₃ para o camarão *P. pandaliformis*, serve de alerta, pois os resultados das interações e concentrações com fatores ambientais, ou seja, destas nanopartículas no meio ambiente e a temperatura, favorecem efeitos tóxicos para o organismo. Para isso, novos estudos devem ser inseridos explorando as interações com outros nanomateriais e organismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdulsahib, S. S. (2021). Synthesis, characterization and biomedical applications of silver nanoparticles. *Biomedicine*, 41(2), 458-464. <https://doi.org/10.51248/.v41i2.1058>
- Alves, K. V. B., Martinez, D. S. T., Alves, O. L., & Barbieri, E. (2022). Co-exposure of carbon nanotubes with carbofuran pesticide affects metabolic rate in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). *Chemosphere*, 288, 132359. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132359>

Achituv, Y., & Cook, P. A. (1984). The influence of temperature variations and thermal pollution on various aspects of the biology of the prawn *Palaemon pacificus* (Stimpson). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 74(3), 291-302. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(84\)90131-X](https://doi.org/10.1016/0022-0981(84)90131-X)

APHA, A. WEF (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water . Prepared and published by the American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF).

Baun A, Hartmann Nb, Grieger K, Kusk Ko. (2008) Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology*. Jul;17(5):387-95. **Epub.** <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0208-y>

Barbieri, E., Moreira, P., Luchini, L.A., Ruiz Hidalgo, K., Muñoz, A.(2016). Assessment of acute toxicity of carbofuran in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) at different temperature levels. *Toxicology and Industrial Health*, 2016, 32(1), pp. 7-14

Barbieri, E., Branco, J.O., Santos, M.C.F., Hidalgo, K.R. (2013). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption and ammonia excretion of the sea-bob shrimp, according to the temperature | Efeito do cádmio e zinco na excreção de amônia e consumo de oxigênio do camarão sete-barbas, de acordo com a temperatura. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39(3): 299-309

Barbieri, E. (2009). Effects of zinc and cadmium on oxygen consumption and ammonium excretion in pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967, Crustacea). *Ecotoxicology*, 18(3), 312-318. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0285-y>

Barbieri, E. (2007a). Use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the sublethal toxicity of cadmium and zinc on *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea). *Water Environment Research*, 79(6), 641-646. <https://doi.org/10.2175/106143006X136775>

Barbieri, E. (2007b) The use of active metabolism and swimming activity to evaluate the toxicity of dodecyl benzene sodium sulfonate (LAS-C12) on the *Mugil platanus* (Mullet) according to temperature and salinity. *Water Environment Research*, 79(7): 707-719

Batista, D., Pascoal, C., & Cássio, F. (2017). How do physicochemical properties influence the toxicity of silver nanoparticles on freshwater decomposers of plant litter in streams?. *Ecotoxicology and environmental safety*, 140, 148-155.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.039>

Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable materials and technologies*, 13, 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>

Bilberg, K., Malte, H., Wang, T., & Baatrup, E. (2010). Silver nanoparticles and silver nitrate cause respiratory stress in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquatic Toxicology*, 96(2), 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.10.019>

Bond-Buckup, G. E. O. R. G. I. N. A., & BUCKUP, L. (1989). Os Palaemonidae de águas continentais do Brasil meridional (Crustacea, Decapoda). *Revista brasileira de Biologia*, 49(4), 883-896.

Cambier, S., Røgeberg, M., Georgantzopoulou, A., Serchi, T., Karlsson, C., Verhaegen, S., ... & Gutleb, A. C. (2018). Fate and effects of silver nanoparticles on early life-stage development of zebrafish (*Danio rerio*) in comparison to silver nitrate. *Science of the Total Environment*, 610, 972-982. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.115>

Cavalcante, A. K.; Mamede, F. C. S.; Maziero, J. S.; Rogero, S. O.; Rogero, J. R. Lugão, A. B. A. (2017). Ecotoxicologia como ferramenta na Nanotecnologia. 14º Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos - SLABO 5ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI 20 a 24 de Agosto de - Maresias - SP - Brasil.

Chen, J. C., & Nan, F. H. (1993). Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. *Journal of Crustacean Biology*, 13(4), 706-712. <https://doi.org/10.1163/193724093X00273>

Cho, S., & Yoon, J. Y. (2017). Organ-on-a-chip for assessing environmental toxicants. *Current opinion in biotechnology*, 45, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.019>

Chinni, S., Khan, R. N., & Yallapragada, P. R. (2000). Oxygen consumption, ammonia-N excretion, and metal accumulation in *Penaeus indicus* postlarvae exposed to lead. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(1), 144-151. DOI : [10.1007/s001289910022](https://doi.org/10.1007/s001289910022)

Damato, M., & Barbieri, E. (2011). Determinação da toxicidade aguda de cloreto de amônia para uma espécie de peixe (*Hyphessobrycon callistus*) indicadora regional. *O Mundo da Saúde*, 35(4), 401-407.

Dang, F., Huang, Y., Wang, Y., Zhou, D., & Xing, B. (2021). Transfer and toxicity of silver nanoparticles in the food chain. *Environmental Science: Nano*, 8(6), 1519-1535. <https://doi.org/10.1039/D0EN01190H>

De Melo, C. B., Côa, F., Alves, O. L., Martinez, D. S. T., & Barbieri, E. (2019). Co-exposure of graphene oxide with trace elements: Effects on acute ecotoxicity and routine metabolism in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). *Chemosphere*, 223, 157-164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.017>

De Souza, T. A. J., Souza, L. R. R., & Franchi, L. P. (2019). Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and

toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 171, 691-700.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.095>

De Medeiros, A. M. Z., Côa, F., Alves, O. L., Martinez, D. S. T., & Barbieri, E. (2020). Metabolic effects in the freshwater fish *Geophagus iporangensis* in response to single and combined exposure to graphene oxide and trace elements. *Chemosphere*, 243, 125316.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125316>

Doi, S. A., Collaço, F. L., Sturaro, L. G. R., & Barbieri, E. (2012). Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade. *O Mundo da Saúde*, 36(4), 594-601.

Durán, N., Martinez, D. S., Justo, G. Z., de Lima, R., de Castro, V. L., Umbuzeiro, G. A., ... & Fávaro, W. J. (2015, May). Interlab study on nanotoxicology of representative graphene oxide. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 617, No. 1, p. 012019). IOP Publishing. DOI 10.1088/1742-6596/617/1/012019

Eiras, de Oliveira, M. I., da Costa, L. S., & Barbieri, E. (2022). Copper II oxide nanoparticles (CuONPs) alter metabolic markers and swimming activity in zebra-fish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 257, 109343.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109343>

Emmerson, A. M., Lamport, P. A., Reeves, D. S., Bywater, M. J., Holt, H. A., Wise, R., ... & Hall, M. J. (1985). The in vitro antibacterial activity of ceftriaxone in comparison with nine other antibiotics. *Current medical research and opinion*, 9(7), 480-493.
<https://doi.org/10.1185/03007998509109622>

Falanga, A., Siciliano, A., Vitiello, M., Franci, G., Del Genio, V., Galdiero, S., ... & Galdiero, E. (2020). Ecotoxicity evaluation of pristine and indolicidin-coated silver nanoparticles in aquatic and terrestrial ecosystem. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 8097.
doi: [10.2147/IJN.S260396](https://doi.org/10.2147/IJN.S260396)

Fry, F. E. J. (1971). The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish physiology* (Vol. 6, pp. 1-98). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60146-6](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60146-6)

Gagné, F. (2020). Ecotoxicology of altered fractal organization in cells. *Am. J. Biomed. Sci. Res*, 8, 498-502. 10.34297/ AJBSR.2020.08.001327.

Greenberg, A.E. (Ed.), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th edition. ed. Amer Public Health Assn, Washington, DC

Guo, X., & Mei, N. (2014). Assessment of the toxic potential of graphene family nanomaterials. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 105-115.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.009>

- Hamilton, R. W. (1977). Role of Nongovernmental Standards in the Development of Mandatory Federal Standards Affecting Safety or Health. *Tex. L. Rev.*, 56, 1329.
- Korani, M., Ghazizadeh, E., Korani, S., Hami, Z., & Mohammadi-Bardbori, A. (2015). Effects of silver nanoparticles on human health. *European Journal of Nanomedicine*, 7(1), 51-62. <https://doi.org/10.1515/ejnm-2014-0032>
- Handy, R. D., Von der Kammer, F., Lead, J. R., Hassellöv, M., Owen, R., & Crane, M. (2008). The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17(4), 287-314. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0199-8>
- Harris, R. R., & Santos, M. C. F. (2000). Heavy metal contamination and physiological variability in the Brazilian mangrove crabs *Ucides cordatus* and *Callinectes danae* (Crustacea: Decapoda). *Marine biology*, 137, 691-703. <https://doi.org/10.1007/s002270000382>
- Henriques, M.B., Rezende, K.F.O., Castilho-Barros, L., Barbieri, E.(2021). Sublethal effects of propiconazole on the metabolism of lambari *Deuterodon iguape* (Eigenmann 1907), a native species from Brazil. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(4):1165–1177
- Huni, A. A., & Aravindan, C. M. (1985). The effect of salinity on the oxygen consumption of two intertidal crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 81(4), 869-871. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(85\)90921-1](https://doi.org/10.1016/0300-9629(85)90921-1)
- Husain, S., Nandi, A., Simnani, F. Z., Saha, U., Ghosh, A., Sinha, A., ... & Verma, S. K. (2023). Emerging Trends in Advanced Translational Applications of Silver Nanoparticles: A Progressing Dawn of Nanotechnology. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(1), 47. <https://doi.org/10.3390/jfb14010047>
- Isla, J. A., & Perissinotto, R. (2004). Effects of temperature, salinity and sex on the basal metabolic rate of the estuarine copepod *Pseudodiaptomus hessei*. *Journal of plankton research*, 26(5), 579-583. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh049>
- Kachenton, S., Whangpurikul, V., Kangwanransan, N., Tansatit, T., & Jiraungkoorskul, W. (2018). Silver nanoparticles toxicity in brine shrimp and its histopathological analysis. *International Journal of Nanoscience*, 17(06), 1850007. <https://doi.org/10.1142/S0219581X18500072>
- Kinne, O. (1966). Physiological aspects of animal life in estuaries with special reference to salinity. *Netherlands Journal of Sea Research*, 3(2), 222-244. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(66\)90013-5](https://doi.org/10.1016/0077-7579(66)90013-5)
- Kumar, C. V., Karthick, V., Kumar, V. G., Inbakandan, D., Rene, E. R., Suganya, K. U., ... & Sowmiya, P. (2022). The impact of engineered nanomaterials on the environment: Release mechanism, toxicity, transformation, and remediation. *Environmental Research*, 212, 113202. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113202>

León-Silva, S., Fernández-Luqueño, F. & López-Valdez, F. Silver (2016). Nanoparticles (AgNP) in the Environment: a Review of Potential Risks on Human and Environmental Health. *Water Air Soil Pollut* 227, 306 <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3022-9>

Liu, S., Zhang, X., Zeng, K., He, C., Huang, Y., Xin, G., & Huang, X. (2023). Insights into eco-corona formation and its role in the biological effects of nanomaterials from a molecular mechanisms perspective. *Science of The Total Environment*, 858, 159867. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159867>

Liu, S., Junaid, M., Liao, H., Liu, X., Wu, Y., & Wang, J. (2022). Eco-corona formation and associated ecotoxicological impacts of nanoplastics in the environment. *Science of the Total Environment*, 155703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155703>

Liu, J., & Hurt, R. H. (2010). Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environmental science & technology*, 44(6), 2169-2175. <https://doi.org/10.1021/es9035557>

Lish, R. A. D., Johari, S. A., Sarkheil, M., & Yu, I. J. (2019). On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. *Environmental Pollution*, 255, 11335 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113358>

Martinez, D. S. T., Côa, F., & Knobel, M. (2022). Nanossegurança para inovação sustentável: a avaliação da toxicidade e ciclo de vida de um nanoproduto é essencial para garantir que a sua produção e aplicações prosperem; sem provocar impactos negativos aos trabalhadores, consumidores e ao meio ambiente. *Ciência e Cultura*, 74(4), 01-11. <http://dx.doi.org/10.5935/2317-6660.20220062>

Matsuo, A. Y., Wood, C. M., & Val, A. L. (2005). Effects of copper and cadmium on ion transport and gill metal binding in the Amazonian teleost tambaqui (*Colossoma macropomum*) in extremely soft water. *Aquatic Toxicology*, 74(4), 351-364. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.06.008>

Melo, C. B. (2016). Efeitos da Interação do Óxido De Grafeno com Cádmio e Zinco no Consumo de Oxigênio e Excreção de Amônia o *Palaemon Pandaliformis* (Stimpson, 1871)(Crustacea, Decapoda, Palaemonidae).

Melo, G.A.S. 2003 Manual de identificação dos crustáceos decapoda de água doce do Brasil. São Paulo: Loyola/FAPESP. 429p.

Mesarič, T., Sepčič, K., Piazza, V., Gambardella, C., Garaventa, F., Drobne, D., & Faimali, M. (2013). Effects of nano carbon black and single-layer graphene oxide on settlement, survival and swimming behaviour of *Amphibalanus amphitrite* larvae. *Chemistry and Ecology*, 29(7), 643-652. <https://doi.org/10.1080/02757540.2013.817563>

Mishra, Y. K., Verma, S. K., Nandi, A., Sinha, A., Patel, P., Jha, E., Mohanty, S., Kumar Panda, P., Ahuja, R., & Suar, M. (2021). Zebrafish (*Danio rerio*) as an ecotoxicological model for Nanomaterial induced toxicity profiling. *Precision Nanomedicine*, 4(1), 750-782. <https://doi.org/10.33218/001c.21978>

Moore, M. N. (2002). Biocomplexity: the post-genome challenge in ecotoxicology. *Aquatic toxicology*, 59(1-2), 1-15. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00225-9)

Moreira, T. M. D. O., Moreira, E. D. O., Mendonça, G. S., Damasceno, J. P., Duarte, M. B., Rosa, N. C., ... & Barbieri, E. (2022). Nanopartículas De Óxido de Cobre Ii (Npscuo) causam Toxicidade e Alterações Metabólicas em *Palaemon Pandaliformis*: Efeitos de Nanopartículas de Óxido de Cobre Ii (Npscuo). *Engenharia de Pesca: Aspectos Teóricos E Práticos-Volume 4*, 4(1), 140-153. 10.37885/220609130

Müller, Y.M.R.; Nazari, E.M.; Bressan, C.; Ammar, D. 1996 Aspectos da reprodução de *Palaemon pandaliformis* (Stimpson) (Decapoda, Palaemonidae) no Manguezal de Ratoles, Florianópolis, Santa Catarina. *Revista Brasileira de Zoologia*, 13(3): 633-642.

Olaia, K. T., da Costa, L. S., de Souza Araújo, A. L., & Barbieri, E. (2022). Nanopartículas de óxido de cobre II (NPs_{CuO}) causam toxicidade e alterações metabólicas em *Palaemon pandaliformis*. <https://dx.doi.org/10.37885/220609130>

Otoni, C. A., Neto, M. L., Léo, P., Ortolan, B. D., Barbieri, E., & De Souza, A. O. (2020). Environmental impact of biogenic silver nanoparticles in soil and aquatic organisms. *Chemosphere*, 239, 124698. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124698>

Pournori, B., Dorafshan, S., & Heyrati, F. P. (2017). Bioaccumulation of water-borne silver nanoparticles and silver nitrate in striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*, fed dietary nucleotides. *Iranian Journal of Ichthyology*, 4(1), 31-40. doi: 10.7508/iji.2017

Rajan, R., Huo, P., Chandran, K., Dakshinamoorthi, B. M., Yun, S. I., & Liu, B. (2022). A review on the toxicity of silver nanoparticles against different biosystems. *Chemosphere*, 292, 133397. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133397>

Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental pollution*, 120(3), 497-507. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00238-5)

Ribeiro, F., Gallego-Urrea, J. A., Jurkschat, K., Crossley, A., Hassellöv, M., Taylor, C., ... & Loureiro, S. (2014). Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment*, 466, 232-241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.101>

Rosa, L. C. D., Passos, A. C., & Corrêa, M. F. M. (2015). Aspectos populacionais e reprodutivos de *Palaemon pandaliformis* (Crustacea: Palaemonidae) em uma marisma subtropical no sul do Brasil. *São Paulo. Bol. Inst. Pesca*, 41(4), 849-857.

Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2017). Toxicity of nanomaterials found in human environment: a literature review. *Toxicology Research and Application*, 1, 2397847317726352. <https://doi.org/10.1177%2F2397847317726352>

Santos, D. B., Barbieri, E., Bondioli, A. C. V., & de Melo, C. B. (2014). Effects of Lead in white shrimp (*Litopenaeus schmitti*) metabolism regarding salinity. *O Mundo da Saúde*, 38(1), 16-23. DOI: 10.15343/0104-7809.20143801016023

Sendra, M., Yeste, M. P., Gatica, J. M., Moreno-Garrido, I., & Blasco, J. (2017). Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricornutum*). *Chemosphere*, 179, 279-289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.123>

Sibiya, A., Gopi, N., Jeyavani, J., Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A., Sultana, S., ... & Vaseeharan, B. (2022). Comparative toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate in freshwater fish *Oreochromis mossambicus*: A multi-biomarker approach. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 109391. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109391>

Spanopoulos-Hernández, M., Martínez-Palacios, C. A., Vanegas-Pérez, R. C., Rosas, C., & Ross, L. G. (2005). The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874). *Aquaculture*, 244(1-4), 341-348. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.023>

Swedmark, M., Braaten, B., Emanuelsson, E., & Granmo, A. (1971). Biological effects of surface active agents on marine animals. *Marine biology*, 9(3), 183-201. <https://doi.org/10.1007/BF00351378>

Schmidt-Nielsen, B. O. D. I. L., Graves, B. R. U. C. E., & Roth, J. O. A. N. N. A. (1983). Water removal and solute additions determining increases in renal medullary osmolality. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 244(5), F472-F482. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1983.244.5.F472>

Tavares, K. P., de Oliveira, Á. C., Vicentini, D. S., Melegari, S. P., Matias, W. G., Barbosa, S., & Kummrow, F. (2014). Acute toxicity of copper and chromium oxide nanoparticles to *Daphnia similis*. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 9(1), 43-50. <https://doi.org/10.5132/eec.2014.01.006>

Weihrauch, D., Morris, S., & Towle, D. W. (2004). Ammonia excretion in aquatic and terrestrial crabs. *Journal of Experimental Biology*, 207(26), 4491-4504. <https://doi.org/10.1242/jeb.01308>

Winkler, L. W. (1888). The determination of dissolved oxygen in water. *Berlin DeutChem Gas*, 21, 2843-2855.

Wu JP, Chen HC (2004) Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere* 57:1591–1598. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.033>

Wheeler, K. E., Chetwynd, A. J., Fahy, K. M., Hong, B. S., Tochihuitl, J. A., Foster, L. A., & Lynch, I. (2021). Environmental dimensions of the protein corona. *Nature Nanotechnology*, 16(6), 617-629. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00924-1>

Yaqoob, A. A., Umar, K., & Ibrahim, M. N. M. (2020). Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 10(5), 1369-1378. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01318-w>

Zhang, F., Wang, Z., Peijnenburg, W. J., & Vijver, M. G. (2022). Review and prospects on the ecotoxicity of mixtures of nanoparticles and hybrid nanomaterials. *Environmental Science & Technology*, 56(22), 15238-15250. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c03333>

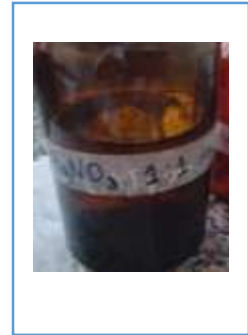
CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo traz conclusões importantes para a ecotoxicologia, haja visto que obteve respostas significativas dos efeitos toxicológicos de AgNP e AgNO₃ para *P. Pandaliformis*, principalmente sobre influência da temperatura e das diferentes concentrações. Apresenta assim perspectivas futuras, para outros experimentos que podem ser feitos para avaliar mecanismos de toxicidade, diante do que já foi encontrado nesse trabalho, explorando com outros organismos, diferentes níveis trófico da cadeia alimentar e fatores físicos, químicos e biológicos, como: a salinidade e pH, interações com diferentes xenobiótico, e com isso avaliar internalização de Ag.

É evidente que, o camarão é muito utilizado para o consumo alimentar. Nesse contexto, é imperativo estabelecer um controle mais rigoroso na dispersão de nanopartículas no meio ambiente, considerando os riscos potenciais para a saúde humana.

Desta forma, estas nanopartículas deve possuir controle mais rigoroso na sua dispersão para o meio ambiente, assim, precisa urgentemente de melhor ser avaliado. Com medidas de segurança mais eficaz no uso de AgNP, uma vez que foi encontrado dados suficientes que as mesmas são tóxicas aos camarões, representando uma ameaça significativa para a aquicultura e pesca. Essa constatação destaca a necessidade imediata de ações preventivas e regulamentações mais rigorosas para proteger a saúde dos camarões, bem como garantir a sustentabilidade dessas importantes atividades econômicas.

ANEXOS



Concentração Letal Média (CL_{50})

Fonte: Pesquisa

Metabolismo de rotina

Contendo 4 litros de água filtrada e os contaminantes adicionados.



2h



Método de Winkler, (1888)



Massa úmida média



Após uma hora

Sistema fechado com circulação constante de água.



Método de Nessler (Greenberg, 1995)

Sistema circulatório



30 minutos



Fonte: Pesquisa

Testes experimentais

Consumo
Específico de
Oxigênio



Método de Winkler, (1888)



Excreção
específica de
amônia



Método de Nessler (Greenberg, 1995)



Fonte: Pesquisa

Análise estatística

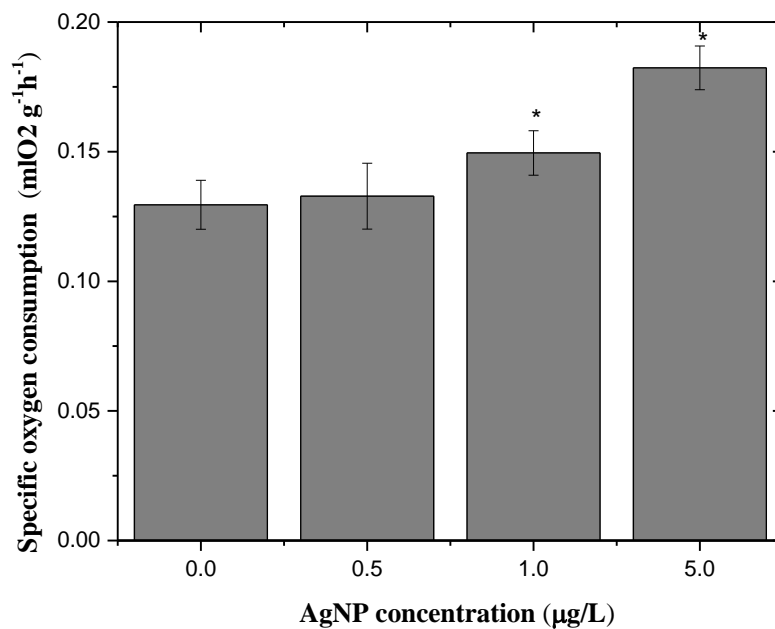


Figura 1. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de Nanopartículas de Prata (AgNP) na temperatura de 15° C de *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

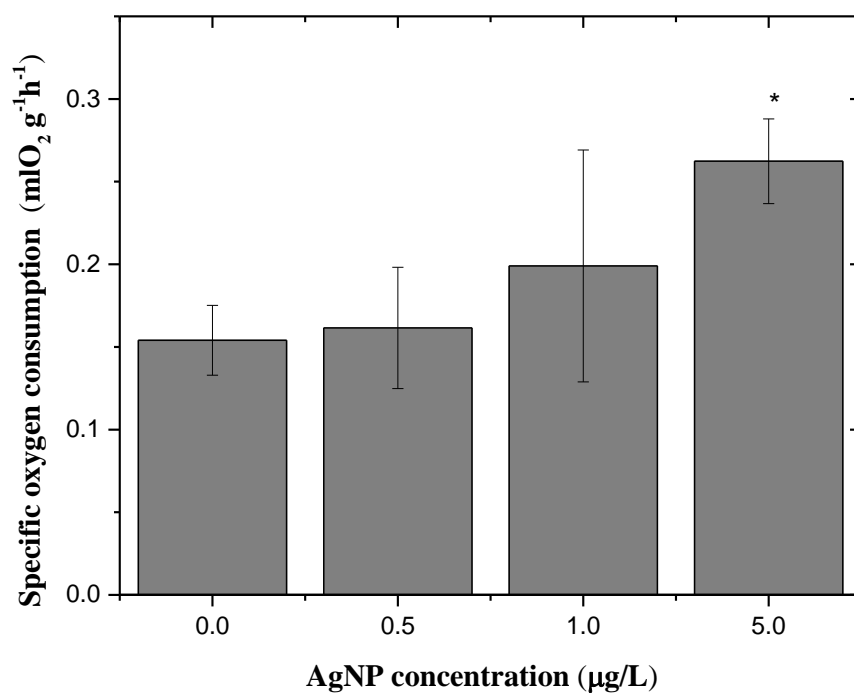


Figura 2. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de Nanopartículas de Prata AgNP na temperatura de 20° C em *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

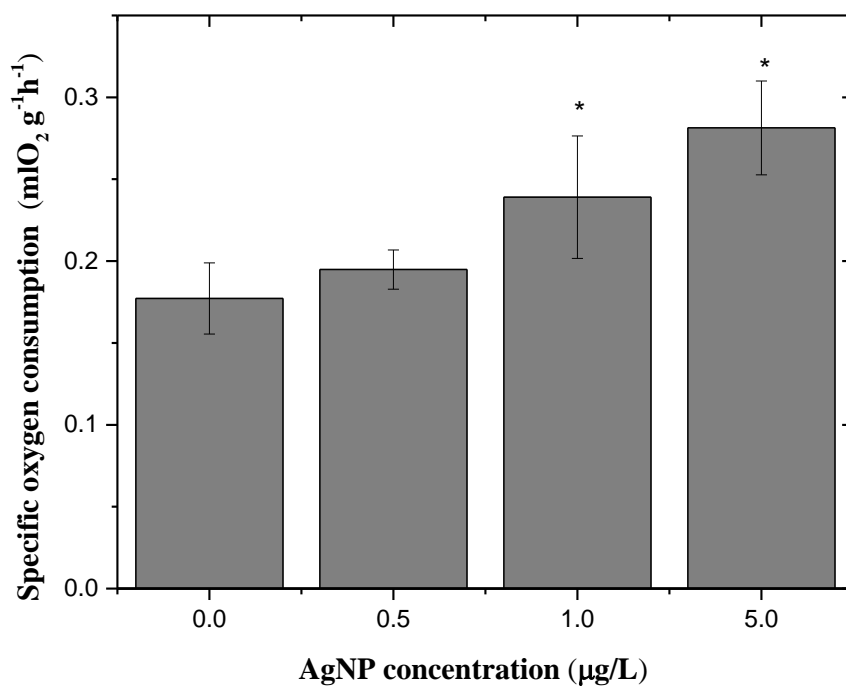


Figura 3. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de Nanopartículas de Prata AgNP na temperatura de 25° C em *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

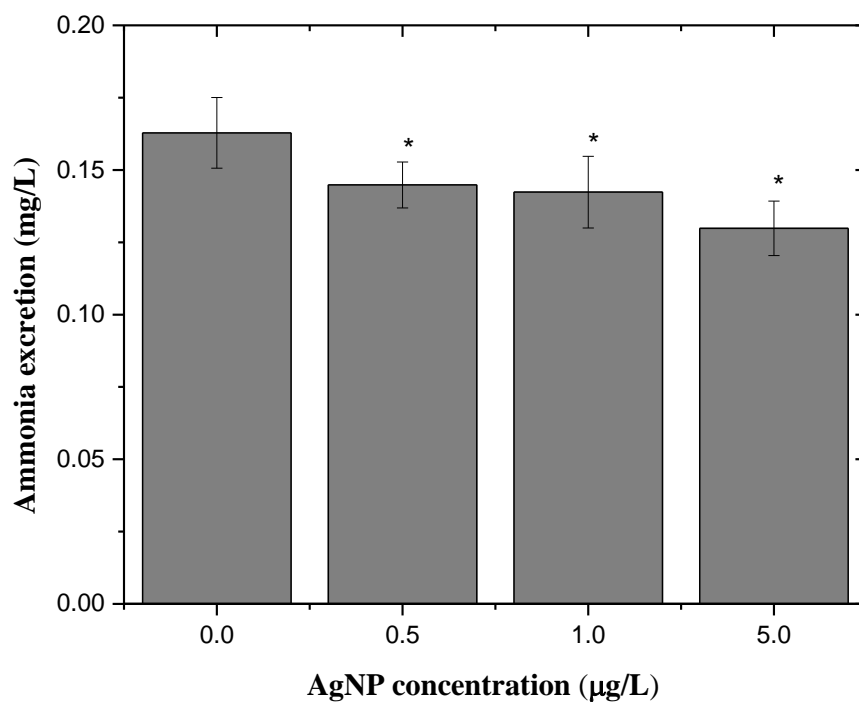


Figura 4. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de Nanopartículas de Prata na Temperatura de 15°C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

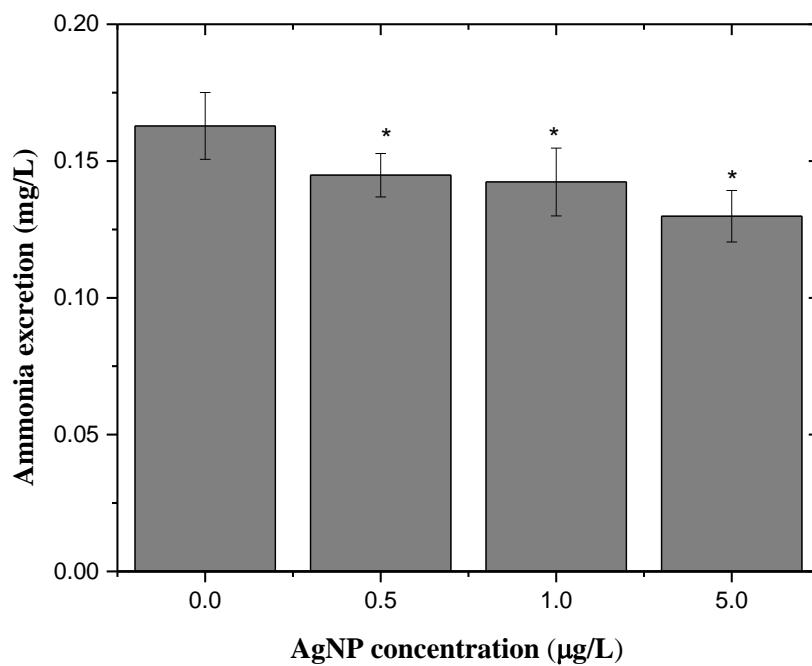


Figura 5. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de Nanopartículas de Prata na Temperatura de 20°C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões, $p > 0,05$. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

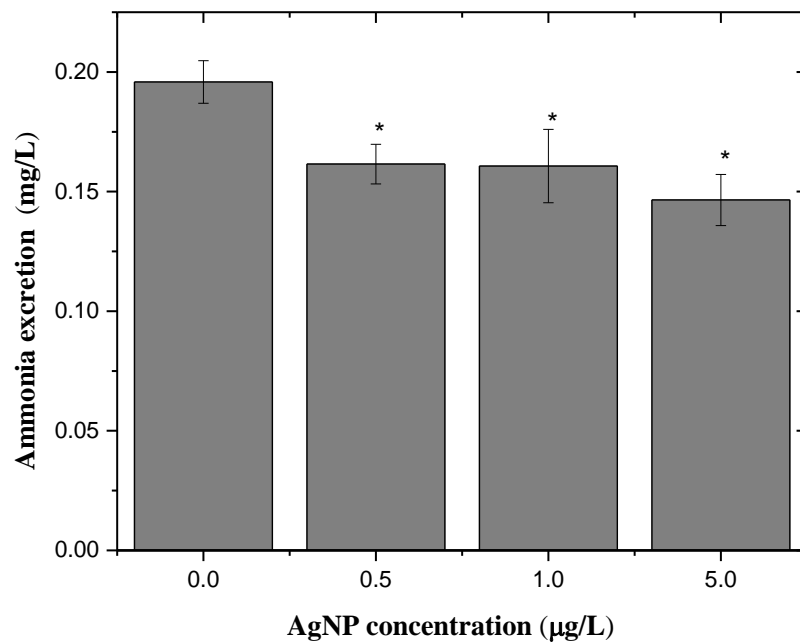


Figura 6. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de Nanopartículas de Prata na Temperatura de 25°C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões, $p > 0,05$. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

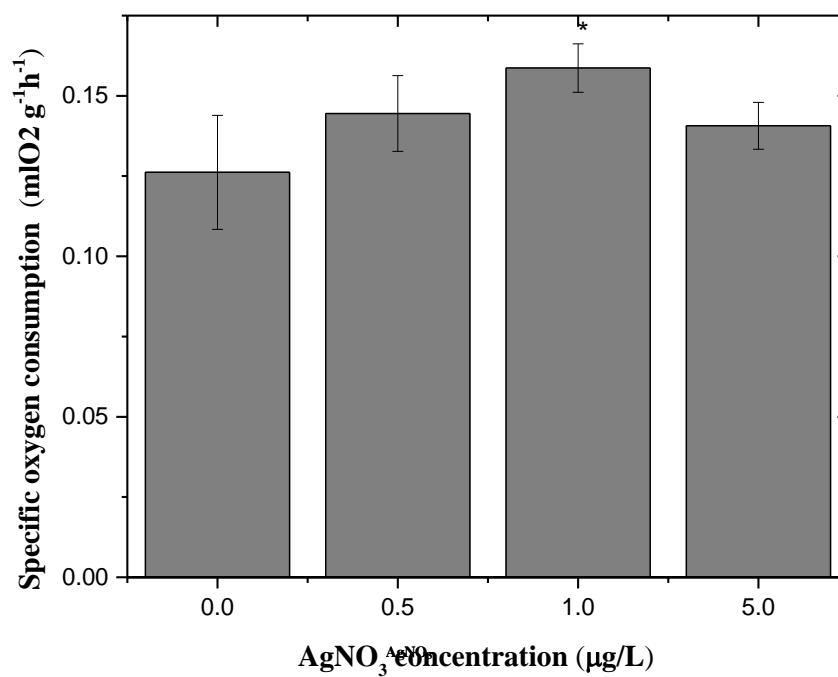


Figura 7. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de AgNO₃ na temperatura de 15° C em *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

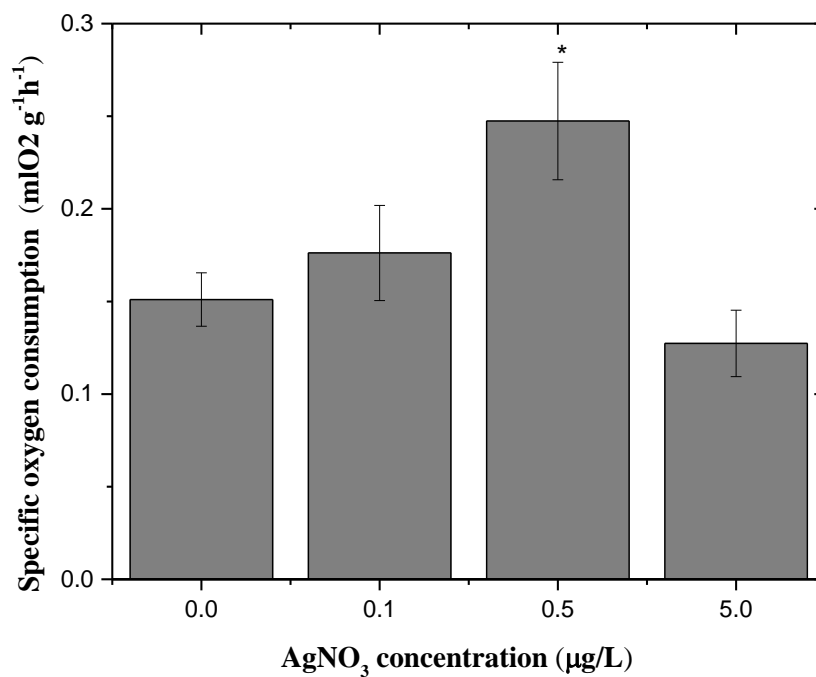


Figura 8. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de AgNO₃ na temperatura de 20° C em *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

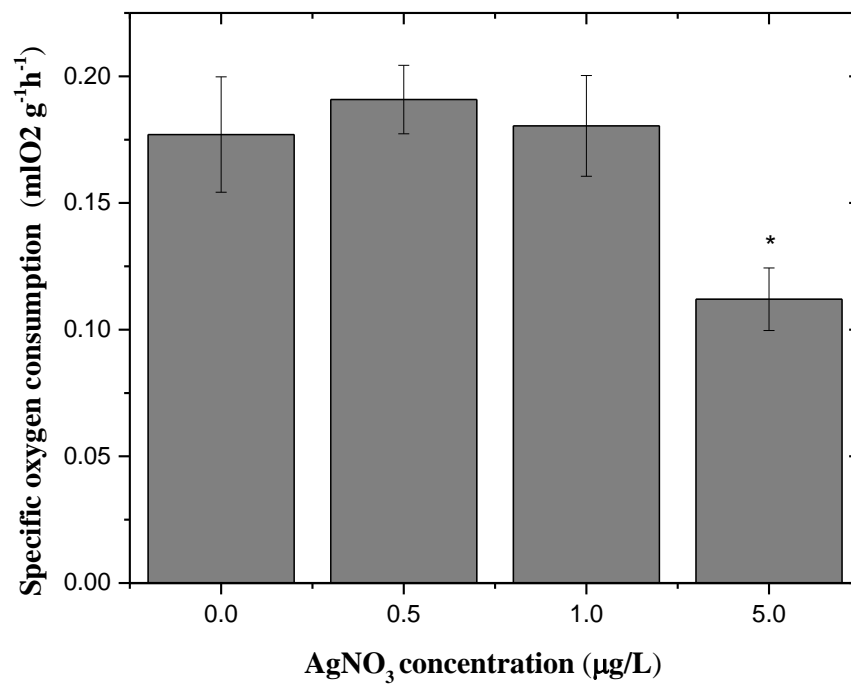


Figura 9. Consumo específico de oxigênio em relação a concentração de AgNO₃ na temperatura de 25° C em *P. pandalirformis*. As colunas são as médias (n=6) e as barras representam os desvios padrões. Asterico indica diferença estatística em relação ao controle.

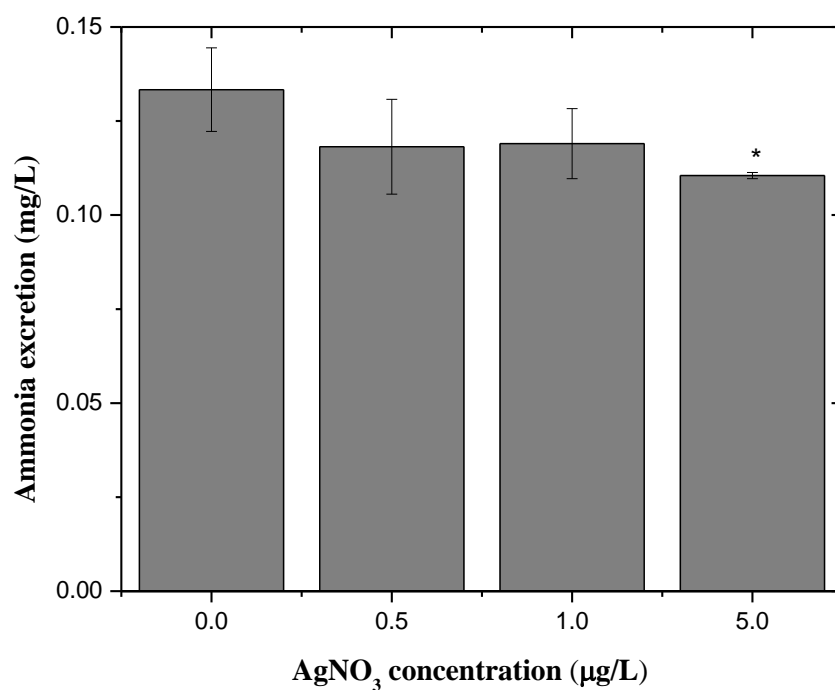


Figura 10. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de AgNO₃ na Temperatura de 15 °C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões.

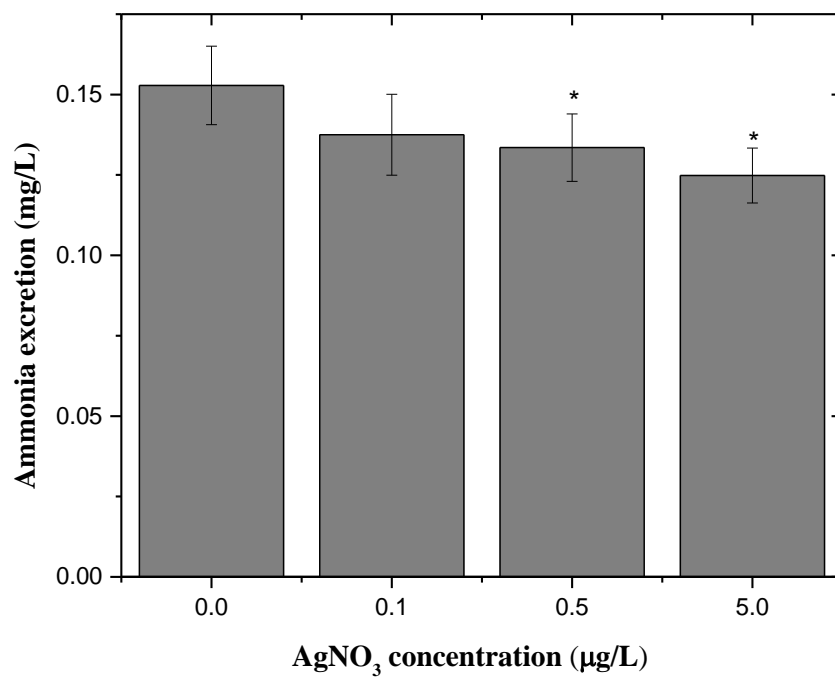


Figura 11. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de AgNO_3 na Temperatura de 20 °C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões.

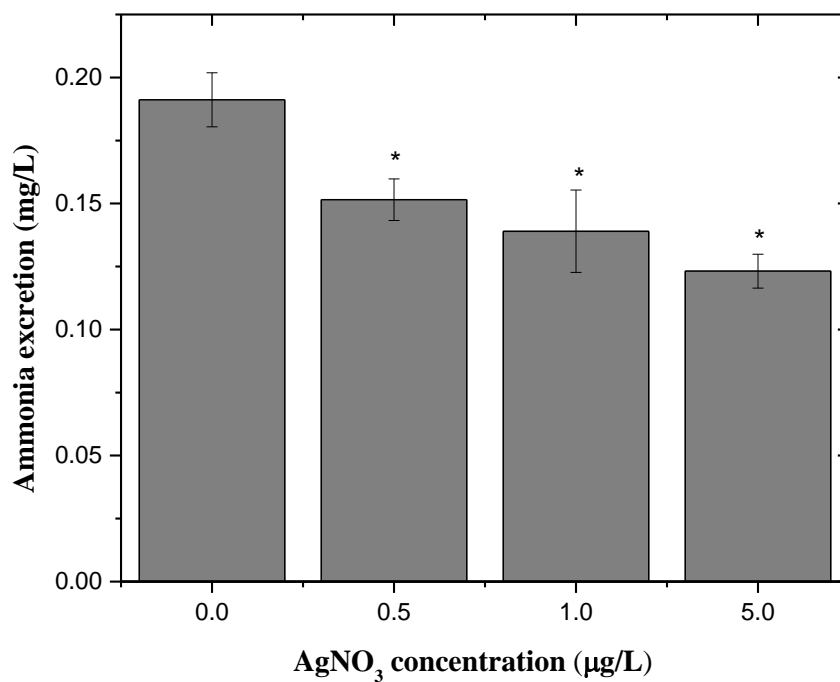


Figura 12. Excreção específica de amônia de *P. pandalirformis* em relação as concentrações de AgNO_3 na Temperatura de 25 °C. As colunas representam as médias (n=6) e as barras são os desvios padrões.