

AVALIAÇÃO DE MICRO- E NANO-PLÁSTICOS EM ÁGUA TRATADA PARA HEMODIÁLISE

Palavras-Chave: Micro-plásticos, Água, Hemodiálise

Autores(as):

**DANIELA ANNUNZIATA MASARO (MEDICINA-PUCCAMP), LIVIA HOFFMAN (MEDICINA-PUCCAMP), GLAUCO LUSTOSA (CTI), TALITA MAZON (CTI), JAVIER VILLA (IQ-UNICAMP), LEANDRO HANTAO (IQ-UNICAMP), JOSÉ ROMERO (IQ-UNICAMP), CASSIANA MONTAGNER (IQ-UNICAMP), LAUTER PELEPENKO (FCM-UNICAMP), MARIANA CASSANI DE OLIVEIRA (FCM-UNICAMP)
Prof. Dr. RODRIGO BUENO DE OLIVEIRA (orientador), FCM - UNICAMP**

INTRODUÇÃO:

Nos últimos anos, micro-plásticos (MPs) e nano-plásticos (NPs) têm sido motivo de preocupação pela contaminação de produtos de consumo, ar, águas e solo^{1,2,3,4,5}. São pequenas partículas de polímeros orgânicos sintéticos, com tamanhos inferiores a 5 mm e 1 µm, respectivamente³. Presentes em múltiplos aspectos da vida cotidiana, seu descarte inapropriado os torna o poluente antropogênico mais emergente da atualidade e alvo de diversos estudos em centros de pesquisa no mundo⁶. Ainda há muito a entender sobre seus efeitos nocivos ao organismo humano, no entanto, sabe-se que a toxicidade dessas partículas depende da concentração, exposição tecidual, propriedades específicas dos polímeros e contaminantes adsorvidos². Embora sejam difíceis de detectar em humanos, MPs foram encontrados em diversos fluidos e tecidos biológicos, como placenta⁷, pulmão⁸, intestinos⁹, fígado¹⁰, sangue¹¹ e rins¹². A exposição humana aos MPs pode ocorrer por ingestão, inalação ou contato dérmico¹³, podendo causar efeitos biológicos negativos^{14,15}. Estudos experimentais e clínicos mostram que os MPs podem promover inflamação, estresse oxidativo, disfunção orgânica e impactar negativamente os resultados clínicos devido ao seu acúmulo em fluidos e tecidos corporais^{16,17,18,19}.

A onipresença dos plásticos também é notável na área da saúde, por exemplo, em embalagens de medicamentos e equipamentos de proteção individual²⁰. Em especial, coloca-se em foco as rotas de exposição de indivíduos em insuficiência renal que, por dependerem das sessões de hemodiálise, sofrem exposição constante aos plásticos e derivados dentro do sistema de diálise. Este projeto tem como objetivo analisar se as membranas de hemodiálise utilizadas para depuração do sangue de pacientes com insuficiência renal liberam partículas de microplástico, em especial a polietersulfona, que podem contaminar o sangue destes pacientes e possivelmente impactar a saúde humana.

Após a análise do trajeto de distribuição e tratamento da água dentro do sistema de hemodiálise do Centro Integrado de Nefrologia (CIN) do Hospital das Clínicas (HC) da UNICAMP, percebe-se que os fluidos da hemodiálise entram em contato direto com uma diversidade de polímeros plásticos ao longo

do circuito de tratamento e distribuição de todo sistema. Por exemplo, o circuito de alimentação de água potável é revestido por policloreto de vinila (PVC); os filtros para tratamento de água potável são de polipropileno (PP), poliamida (PA) e fiberglass com resina; o tanque de armazenamento da água tratada é de polietileno (PE); o circuito de distribuição da água é de polietileno reticulado (PEX); o principal material do interior do capilar é polietersulfona (PES) e os acessórios do capilar de hemodiálise são compostos principalmente por PP, poliuretano, policarbonato e silicone. Assim, o objeto deste estudo é o polietersulfona por ser o principal material plástico do capilar e o que mais entra em contato com o sangue do paciente, potencializando a chance de contaminá-lo.

Dada a relevância contemporânea do tema, o presente estudo justifica-se ao investigar a liberação de microplásticos pelas membranas de hemodiálise, com foco na polietersulfona. Portanto, é um projeto de pesquisa essencial à construção de novos conhecimentos e descobertas para a literatura.

METODOLOGIA:

Para a avaliação de micro- e nano-plásticos em água tratada para hemodiálise, é necessário realizar o projeto utilizando apenas vidrarias (béqueres de vidro com capacidade de 1L) e objetos que não contenham plástico em sua composição, a fim de evitar contaminação. Antes do uso, todas as vidrarias são lavadas adequadamente com água destilada (Milli-Q) e sulfato dodecil de sódio e cobertas com papel alumínio. Utiliza-se jaleco 100% algodão com punho, touca 100% algodão e luvas nitrílicas durante a realização de todos os procedimentos.

COLETA E FILTRAGEM DAS AMOSTRAS:

Para a coleta das amostras de água para análise, simula-se um processo de hemodiálise, totalizando uma solução composta por 4L de soro fisiológico com 36L de água tratada por osmose reversa para hemodiálise infundidos dentro das fibras do capilar (blood inlet) e colhidos na saída do capilar (blood outlet) sempre no primeiro uso. Foram utilizados 5 capilares da marca DORA B-16HF (8L colhidos de cada capilar) cuja composição é polietersulfona ondulada, livres de BPA e esterilizados por irradiação E-Beam. Após a coleta, a água é filtrada dentro de um fluxo laminar utilizando um sistema de filtração composto por um adaptador de porcelanato, no qual se coloca o filtro de membrana de policarbonato 25 mm, 0.4 μ m (Zefron International Inc.), acoplado a um conector que se junta ao kitassato e à bomba a vácuo. Ao término da filtração, tem-se o filtro de membrana de policarbonato armazenado em uma placa de Petri de vidro esterilizada e livre de microplásticos para posterior análise química



Figura 1 – Filtragem das amostras

por microscopia de *Raman*. A figura 1 mostra imagens do processo de coleta e filtragem das amostras.

CONTROLE POSITIVO

Para a obtenção de um controle positivo foi necessário realizar a trituração do interior de um capilar novo, sem prévio uso. Obteve-se 10mg de capilar triturado (0.125 mm) que foram filtrados em diferentes concentrações em novos filtros de policarbonato e armazenados para posterior análise. As concentrações realizadas foram: 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 e 10 mg mL⁻¹.

MICROSCOPIA RAMAN

Os espectros e imagens Raman foram coletados com um microscópio confocal Raman Horiba XploRA ONE, utilizando um laser de 785 nm e objetiva 10X. A membrana com partículas foi mapeada com o software LabSpec6, cobrindo uma área de 200 µm. O mapeamento ponto a ponto (1 segundo por pixel) durou 27,22 minutos em uma escala de 50 µm, com 50% de potência do laser. A análise dos dados envolveu remoção de picos, correção de linha de base e normalização dos espectros. As imagens 2D foram reconstruídas e visualizadas usando bibliotecas Python, com uma resolução de 30 x 40 pixels^{21,22}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados, parciais, são restritos à elaboração de uma curva de calibração para posterior detecção da polietersulfona nas amostras filtradas de água. Nesta etapa, os resultados espectroscópicos revelaram conclusivamente a presença de plásticos com uma composição química correspondente a polímeros de sulfona. Esses polímeros são caracterizados pela presença de grupos -SO₂- como constituintes na estrutura do grupo polimérico predominantemente aromático. Como mostrado na figura 2, a polissulfona também exibiu bandas em 1034 (ácido sulfônico), 1105 (estrutura aromático básico), 1147-1152 (esticar simétrico C-SO₂-C), 1296 (-SO₂-), 1242 (C-Alongamento O-C (éter)), 1320 (estiramento assimétrico C-SO₂-C), 1484 e 1576 (estrutura básica C=C), 1487 (esticamento CH₃-C-CH₃), e 1604-1622 (respiração do anel aromático). Particularmente, a banda a 1145 cm⁻¹ foi tomada como referência à polissulfona diferenciada.

A análise de microscopia confocal Raman com recurso ao modo mosaico revelou a distribuição de partículas plásticas em diferentes concentrações. As figuras 3 e 4 mostram que amostras de controle e concentrações de 0.001 e 0.01 mg/mL não apresentaram partículas visíveis. Já as concentrações de 0.1, 1.0 e 10 mg/mL (Figuras 3, 4 D, E, F) exibiram distribuições heterogêneas, com partículas dispersas ou em aglomerados. As imagens em áreas menores (Figura 4 A-F) e reconstruídas a 1143,01 cm⁻¹ (Figura 4 G-L) confirmam a presença de polissulfona nas concentrações mais altas. As imagens mapeadas com 1200 espectros (40 x 30 pixels) detalham a

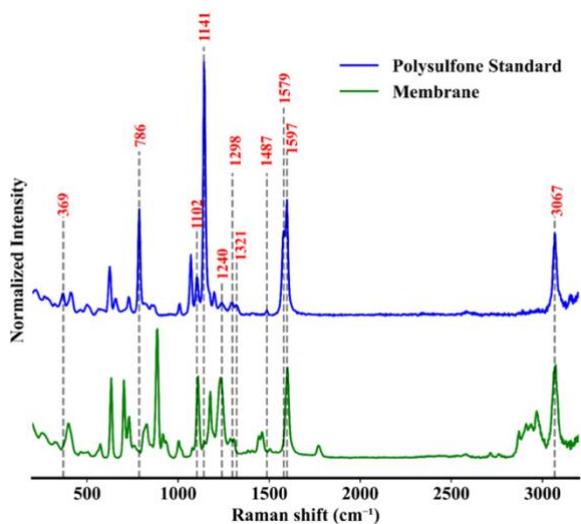


Figura 2 – Comparação dos espectros Raman da membrana e polissulfona

distribuição espacial, e os perfis de intensidade quantificam a presença de polissulfona em diferentes concentrações.

A análise espectroscópica confirmou a presença de polímeros de sulfona nas amostras, com bandas características bem definidas. As imagens hiperespectrais permitiram mapear a distribuição espacial das partículas de polisulfona nas membranas, proporcionando uma visualização clara das concentrações relativas e das localizações das partículas.

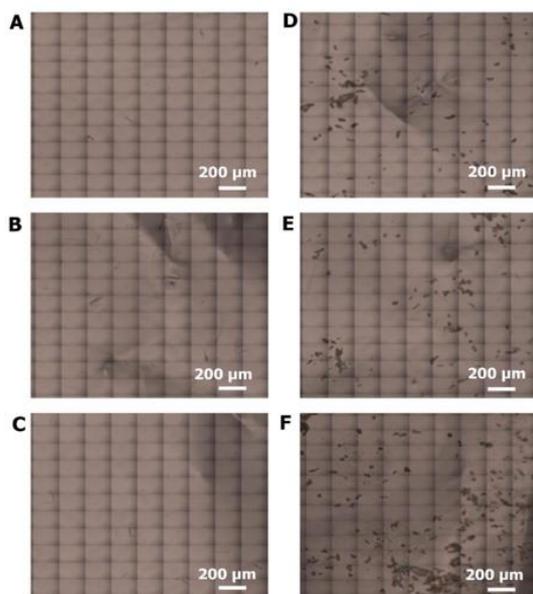


Figura 3 – Análise visual comparativa de partículas de polissulfona suportadas na membrana usando recurso de mosaico A) amostra de controle B) 0,001, C) 0,01, D) 0,1, E) 1,0 e F) 10,0 mg/mL. A, B, C não têm partículas, enquanto D, E e F exibem uma combinação de partículas dispersas e agrupadas (pontos pretos). Barras de escala 200 µm.

CONCLUSÕES:

A polietersulfona pode ser detectada por microscopia de RAMAN, nas concentrações testadas em nossa curva de calibração. A comprovação da liberação de polietersulfona pelas membranas de hemodiálise, por meio da análise das soluções aquosas que transitaram por esse material será objetivo das próximas etapas do estudo, que incluirão testes com RAMAN e espectrometria de massas.

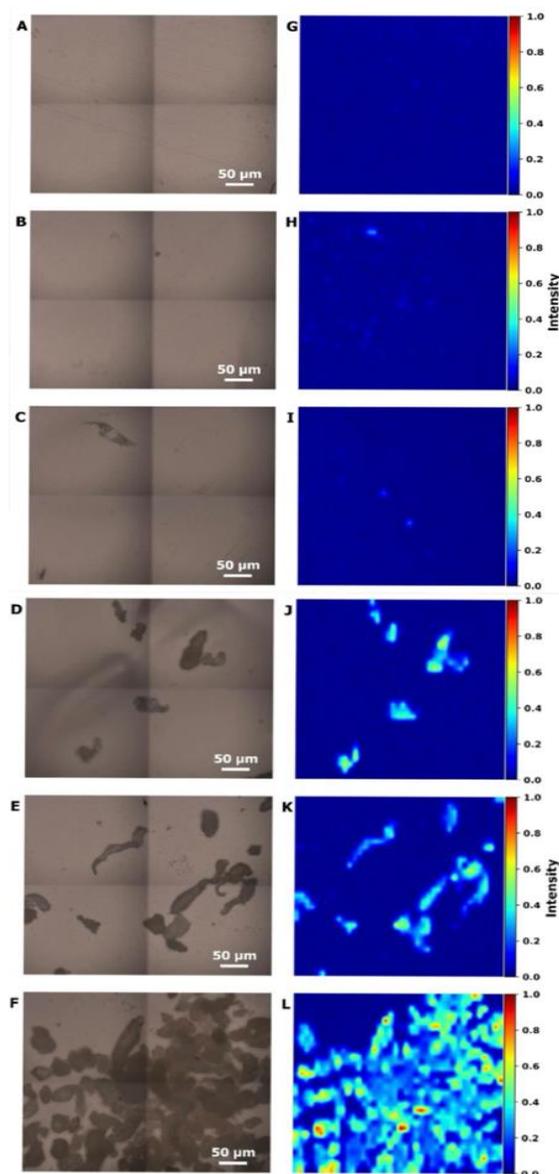


Figura 4 — Imagens ópticas de polissulfona A) amostra de controle, B) 0,001 e C) 0,01, D) 0,1 E) 1,0 e F) 10 mg/mL. Imagens Raman reconstruídas de polissulfona medida em G) controle, H) 0,001, I) 0,01, J) 0,1, K) 1,0 e L) 10,0 mg/mL. Barras de escala 50 µm.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. YONG, C. Q. Y. et al. Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 5, p. 1509, 2020. DOI: 10.3390/ijerph17051509.
2. JIANG, B. et al. Health impacts of environmental contamination of micro- and nanoplastics: a review. **Environmental Health and Preventive Medicine**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12199-020-00870-9>.
3. IVLEVA, N. P. Chemical Analysis of Microplastics and Nanoplastics: Challenges, Advanced Methods, and Perspectives. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 19, p. 11886-11936, 2021. DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00178.
4. AUTA, H. S. et al. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environmental International**, v. 102, p. 165-176, 2017. DOI: 10.1016/j.envint.2017.02.013.
5. MORTENSEN, N. P. et al. Unintended human ingestion of nanoplastics and small microplastics through drinking water, beverages, and food sources. **NanoImpact**, v. 21, p. 100302, 2021. DOI: 10.1016/j.impact.2021.100302.
6. GARCÍA-DEPRAECT, O. et al. Inspired by nature: Microbial production, degradation and valorization of biodegradable bioplastics for life-cycle-engineered products. **Biotechnology Advances**, v. 53, p. 107772, 2021. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2021.107772.
7. KANNAN, K.; VIMALKUMAR, K. A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. **Frontiers in Endocrinology (Lausanne)**, v. 12, p. 724989, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.724989>.
8. JENNER, L. C. et al. Detection of microplastics in human lung tissue using μ FTIR spectroscopy. **Science of the Total Environment**, v. 831, p. 154907, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154907>.
9. HIRT, N.; BODY-MALAPEL, M. Immunotoxicity and intestinal effects of nano- and microplastics: a review of the literature. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 17, p. 57, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00387-7>.
10. SHEN, R. et al. Accumulation of polystyrene microplastics induces liver fibrosis by activating cGAS/STING pathway. **Environmental Pollution**, v. 300, p. 118986, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118986>.
11. WANG, S. et al. Microplastics in the Lung Tissues Associated with Blood Test Index. **Toxics**, v. 11, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics11090759>.
12. PIRONTI, C. et al. First Evidence of Microplastics in Human Urine, a Preliminary Study of Intake in the Human Body. **Toxics**, v. 11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics11010040>.
13. SUN, A.; WANG, W-X. Human Exposure to Microplastics and Its Associated Health Risks. **Environmental Health**, v. 1, p. 139–149, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1021/envhealth.3c00053>.
14. PRATA, J. C. et al. Environmental exposure to microplastics: an overview on possible human health effects. **Science of the Total Environment**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>.
15. OßMANN, B. E. et al. Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water. **Water Research**, v. 141, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.027>.
16. PULVIRENTI, E. et al. Effects of Nano and Microplastics on the Inflammatory Process: In Vitro and In Vivo Studies Systematic Review. **Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)**, v. 27, n. 10, p. 287, 2022. DOI: 10.31083/j.fbl2710287.
17. HU, M.; PALIĆ, D. Micro- and nano-plastics activation of oxidative and inflammatory adverse outcome pathways. **Redox Biology**, v. 37, p. 101620, 2020. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101620.
18. OSMAN, A. I. et al. Microplastic sources, formation, toxicity and remediation: a review. **Environmental Chemistry Letters**, 2023. DOI: 10.1007/s10311-023-01593-3.
19. XU, J. L. et al. A review of potential human health impacts of micro- and nanoplastics exposure. **Science of the Total Environment**, v. 851, Pt 1, p. 158111, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.158111.
20. CHEN, X. et al. Used disposable face masks are significant sources of microplastics to environment. **Environmental Pollution**, v. 285, p. 117485, 2021. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117485.
21. YE J. et al. Baseline correction method based on improved asymmetrically reweighted penalized least squares for the Raman spectrum. **Appl Opt** [Internet], 59(34):10933, 2020. Available from: <https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=ao-59-34-10933>
22. GEORGIEV D. et al. RamanSPy: An open-source Python package for integrative Raman spectroscopy data analysis. 2023. Available from: <http://arxiv.org/abs/2307.13650>