

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

**ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012**

Maria Alice Martins  
Morsyleide de Freitas Rosa  
Men de Sá Moreira de Souza Filho  
Nicodemos Moreira dos Santos Junior  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Fortaleza, CE  
2012

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452,  
CEP 13560-970 – São Carlos, SP  
Fone: (16) 2107-2800  
Fax: (16) 2107-2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Embrapa Agroindústria Tropical**

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,  
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
<http://www.cnpat.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpat.embrapa.br](mailto:sac@cnpat.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Embrapa  
Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira  
Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra  
Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.  
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula  
Herrmann Júnior

**Comitê de Publicações da Embrapa  
Agroindústria Tropical**

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama  
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim  
Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana  
Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano  
Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley  
Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto  
Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandez Campaner  
Imagens da capa:

- Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares
- Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares
- Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares
- Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares
- Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior
- Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação na publicação.**

**Embrapa Instrumentação**

---

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular  
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa, Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.

---

© Embrapa 2012



---

## TOXICIDADE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE EM CULTURA DE FIBROBLASTOS BOVINOS

---

Michele Munk Pereira<sup>1</sup>; Humberto de Mello Brandão<sup>2\*</sup>; Nádia Rezende Barbosa Raposo<sup>1</sup>; Carolina Capobianco Romano Quintão<sup>2</sup>; Eliangela de Moraes Teixeira<sup>3</sup>; Luiz Sérgio de Almeida Camargo<sup>2</sup>; Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP, Brasil

\*e-mail de contato; humberto@cnpql.embrapa.br

Projeto Componente: PC6 Plano de Ação: PA3

---

### Resumo

As nanofibras de celulose (NFC) possuem características mecânicas excepcionais e são provenientes de fontes renováveis, o que as torna muito atrativa para aplicações na construção de matrizes poliméricas, bioengenharia e em sistemas de liberação controlada de fármacos. Entretanto, antes da sua aplicação, são necessários estudos toxicológicos que garantam a segurança do seu uso. O objetivo deste estudo foi determinar a dose capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população em teste (DL<sub>50</sub>) de NFC em fibroblastos bovinos cultivados *in vitro*. Nas condições testadas, as NFC não apresentaram toxicidade até a concentração de 1,50µg/mL. A DL<sub>50</sub> foi de 5000µg/mL.

Palavras-chave: nanotecnologia, nanofibras de celulose, citotoxicidade.

### Publicações relacionadas

PEREIRA, M. M.; BRANDÃO, H.M.; BARBOSA, N. R.; QUINTÃO, C.C.R.; TEIXEIRA, E.M.; DA SILVA, S.R.; MOREIRA, A.P.; CAMARGO, L.S.A.; MATTOSO, L.H.C. Cell viability in bovine dermal fibroblast cells exposed by nanocellulose fibers. In: 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente. Anais... Rio de Janeiro: 2010, Seminário Internacional de Nanotecnologia.

---

### Introdução

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que tem o potencial de melhorar a vida humana por aprimorar produtos existentes e por gerar novos produtos, utilizando dispositivos que possuem pelo menos uma de suas dimensões menores que 100 nm [1]. Dentre os nanomateriais existentes, destacam-se as nanofibras de celulose (NFC) também conhecidas com “whisker”, as quais possuem características mecânicas excepcionais e são provenientes de fontes renováveis.

As NFC podem ser aplicadas na construção de matrizes poliméricas biodegradáveis, bioengenharia e em sistemas de liberação controlada de fármacos [2].

Entretanto, antes da sua ampla aplicação, são necessários estudos toxicológicos, considerando a toxicidade associada à morfologia de fibra observadas em outros nanomateriais [3].

O objetivo deste estudo foi determinar a DL<sub>50</sub> de NFC em fibroblastos bovinos cultivados *in vitro*.

## Materiais e métodos

As amostras de NFC, obtidas por hidrólise ácida empregando-se solução de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$  60% (v/v), foram produzidas e caracterizadas no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) na sede da Embrapa Instrumentação Agropecuária em São Carlos (SP).

Fibroblastos bovinos adultos foram cultivados em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e incubados a 37°C, 5%  $CO_2$  e 95% de umidade. Após atingir a confluência de 60%, as células foram expostas as NFC (diâmetro: 6-18 nm; comprimento: 85-225  $\mu m$ ) por 24h em diferentes concentrações: 0 (controle); 0,02; 0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 100; 200; 400; 800; 1000; 2000; 3000 e 5000 $\mu g/mL$ . Posteriormente, as células foram coradas com iodeto de propídio (50  $\mu g/mL$ ) e avaliadas por citometria de fluxo, empregando o equipamento FACScalibur (Becton Dickinson, São Jose, CA) equipado com um laser de 585 $\pm$ 42nm. Foram realizadas três repetições em triplicata. A análise foi realizada após contagem de 10.000 eventos por replicata e os dados obtidos foram analisados com o auxílio do software WinMDI versão 2.9.

A análise estatística foi realizada por ANOVA e as medias comparadas pelo teste de *Student Newman Keus*.

## Resultados e discussão

NFC são nanomaterias que apresentam grandes resistência, área de superfície, flexibilidade e são leves. Porém, relatos científicos que avaliam a toxicidade de NFC são numericamente escassos. Suwantong, Ruktanonchai e Supaphol [4], observaram que não houve toxicidade de fibroblastos expostos à fibras de acetato de celulose (301-545 nm). Clift e colaboradores [5] demonstraram baixa citotoxicidade de NFC em células pulmonares humanas. Todavia, um único ensaio isolado é insuficiente para assegurar a inocuidade de uma nova substância.

No presente estudo, as NFC também não alteraram ( $P>0,05$ ) a viabilidade de fibroblastos bovinos nas concentrações de 0,02 (92,37  $\pm$  1,31); 0,2 (94,00  $\pm$  1,29); 0,5 (92,33  $\pm$  1,35); 1,0 (92,25  $\pm$  1,37) e 1,5  $\mu g/mL$  (89,93  $\pm$  1,17) quando comparado ao grupo controle (94,27  $\pm$  1,52) (Figs. 1 e 2).

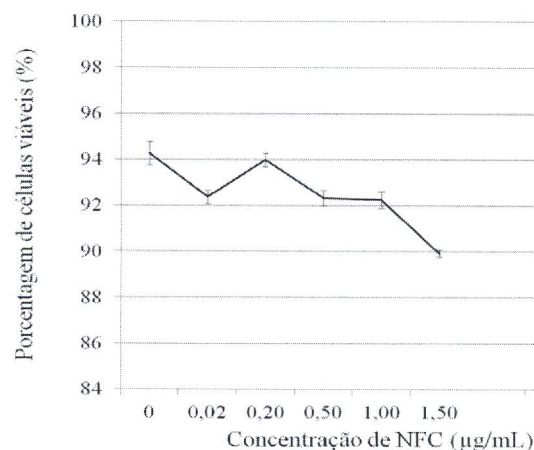


Fig. 1. Médias das porcentagens de células viáveis após exposição às concentrações de 0 (controle); 0,02; 0,20; 0,50; 1,00 e 1,50 $\mu g/mL$  de NFC por 24h.

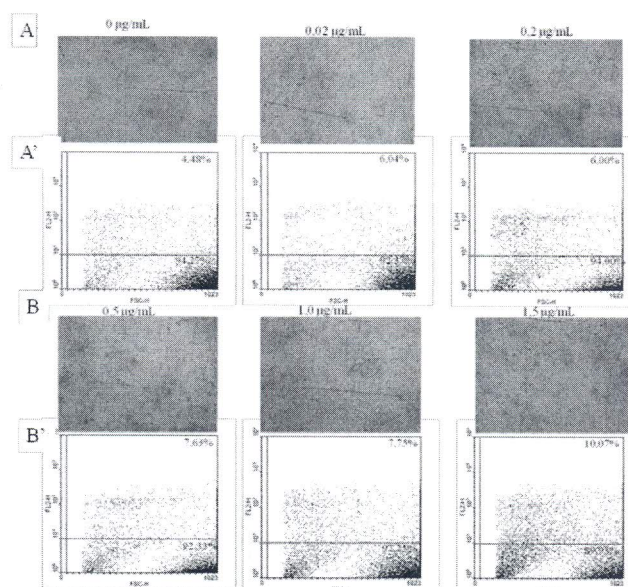


Fig. 2. (A, B) Fibroblastos bovinos derivados de animais adultos após exposição às concentrações de 0,00 (controle); 0,02; 0,2; 0,5; 1,0 e 1,5  $\mu g/mL$  de NFC por 24h. (A', B') Gráficos citométricos da viabilidade celular. Tamanho (FSC) *versus* fluorescência com marcação do iodeto de propídio (FL2).

Adicionalmente, a fim de determinar a  $DL_{50}$  para NFC foram testadas maiores concentrações que alteraram a viabilidade celular ( $P<0,001$ ) nas concentrações de 100 (90,78%  $\pm$  3,20), 200 (86,41%  $\pm$  5,37), 400 (86,32%  $\pm$  1,31), 800 (76,79%  $\pm$  2,74), 1000 (71,94%  $\pm$  2,76), 2000 (67,99%  $\pm$  4,63), 3000  $\mu g/mL$  (55,97%  $\pm$  2,37), comparado com o grupo controle (95,75%  $\pm$  0,96) sendo que a  $DL_{50}$  foi estimada na concentração de 5000  $\mu g/mL$  (36,51%  $\pm$  2,58 - Figs. 3 e 4).

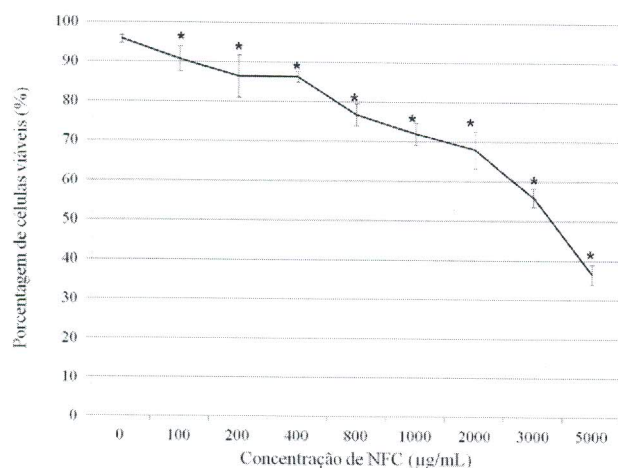


Fig. 3. Médias das porcentagens de células viáveis após exposição às concentrações de 0 (controle); 100; 200; 400; 800; 1000; 2000; 3000 e 5000µg/mL de NFC por 24h.

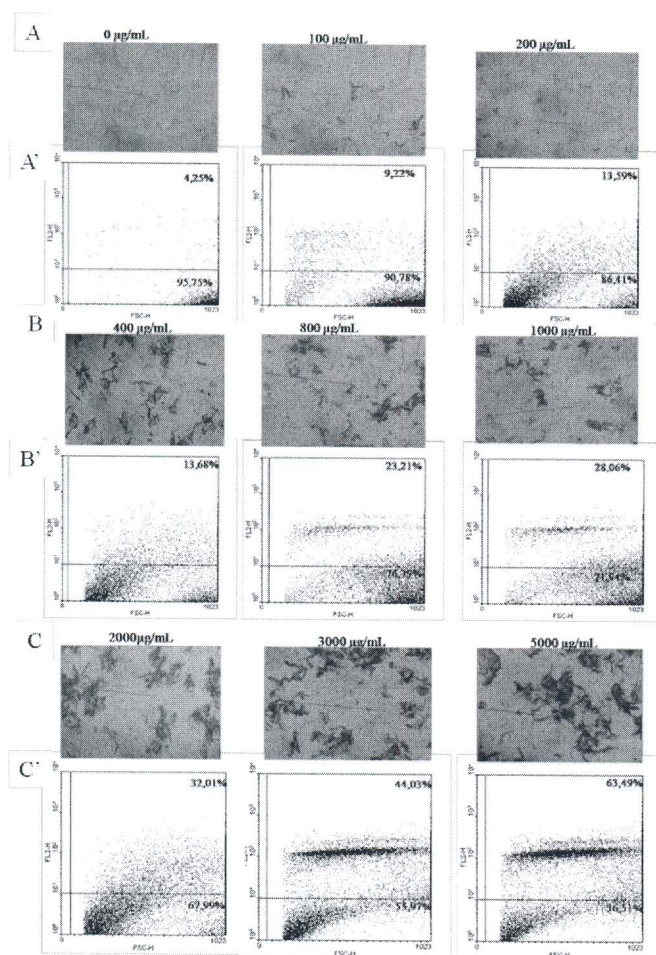


Fig. 4. (A, B e C) Fibroblastos bovinos derivados de animais adultos após exposição às concentrações de 0,00; 100; 200; 400; 800; 1000; 2000; 3000 e 5000 µg/mL de NFC por 24h. (A', B', C'). Gráficos citométricos da viabilidade celular. Tamanho (FSC) versus fluorescência com marcação do iodeto de propídio (FL2).

## Conclusões

Nas condições testadas, as NFC não apresentaram toxicidade até a concentração de 1,50µg/mL. A DL<sub>50</sub> estimada foi de 5000µg/mL.

## Agradecimentos

À CAPES Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES 04/CII-2008), CNPQ, FINEP, EMBRAPA, Rede AgroNano e ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA).

## Referências

1. K. Donaldson; R. Aitken; L. Tran; V. Stone; R. Duffin; G. Forrest; A. Alexander. *Toxicol. Sci.* 2006, *92*, 5.
2. J.C.O. Villanova; E. Ayres; S.M. Carvalho; P.S. Patrício; F.V. Pereira; R.L. Oréfice. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2011, *42*, 406.
3. N. Doshi; S. Mitragotri. *J. R. Soc. Interface.* 2010, *7*, 403.
4. O. Suwanton; U. Ruktanonchai; P. Supaphol. *Polymer.* 2008, *49*, 4239.
5. M.J.D. Clift; E.J. Foster; D. Vanhecke; D. Studer; P. Wick; P. Gehr; B. Rothen-Rutishauser, Christoph Weder. *Biomacromolecules.* 2011, *12*, 3666.