

---

## AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA EM *Artemia salina* DE SUSPENSÃO DE NANOFIBRILAS DE CELULOSE A PARTIR DO RESÍDUO DA PUPUNHA

---

Dayanne Regina Mendes Andrade; Cristiane Vieira Helm; Graciela Inês Bolzon de Muniz, Kestur G. Satyanarayana, Washington Luiz Esteves Magalhães

Universidade Federal do Paraná; Embrapa Florestas; Universidade Federal do Paraná; BMS College of Engineering, Bangalore (India)  
dayannerm@yahoo.com.br;  
cristiane.helm@embrapa.br;gbmuniz@ufpr.br;washington.magalhaes@embrapa.br

Projeto Componente: PC6 Plano de Ação: PA6

---

### Resumo

O processamento do palmito pupunha gera uma grande quantidade de resíduo, representando um problema na agroindústria. O objetivo deste projeto é a obtenção e caracterização de nanofibrilas de celulose a partir de bainha de pupunha, seguido de um ensaio de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. Tal ensaiomostrou que até concentrações de 50 g/L de solução, esse composto não é tóxico ao organismo.

**Palavras-chave:** *Bactris gasipae*; nanocelulose; toxicidade; ensaio biológico.

---

### Introdução

---

A palmeira pupunha (*Bactris gasipaes*) é uma planta perene, nativa da região tropical das Américas, utilizada, há séculos, para a produção de palmito e frutos. Em função da redução das reservas naturais e da preocupação em se preservar as espécies remanescentes de palmito nativo, o processamento da pupunha vem sendo uma alternativa para a produção do palmito (GUERREIRO, 2002).

A exploração agroindustrial e industrialização do palmito trazem benefícios socioeconômicos incontestáveis, porém, tem como consequência a geração de grande volume de resíduos, um problema para o meio ambiente e para o setor de alimentos.

Iniciativas no sentido de tratar e/ou aproveitar os resíduos tornam-se essenciais para minimizar problemas ambientais e de saúde pública, bem como para gerar fontes alternativas de renda contribuindo assim, para o desenvolvimento sustentável (FARINA, 2012).

Nanoestruturas de celulose possuem baixo custo, são ambientalmente corretas e exibem características mecânicas excepcionais, o que as tornam uma das mais atraentes classes de materiais para elaboração de nanomateriais (AZEVEDO, 2012).

Entre as inúmeras aplicações da nanotecnologia, a área de alimentos tem se beneficiado muito com desenvolvimento de novos materiais funcionais, além de nanosensores para a segurança alimentar (MORARU *et al.*, 2003).

Estudos para verificar os riscos ao meio ambiente, advindos dos produtos em escala nano são necessários, já que a legislação atual não prevê procedimentos específicos para testes (por exemplo, estudos toxicológicos) e avaliação de nanomateriais, tais como dióxido de titânio, óxido de zinco, óxido de ferro, dióxido de silício ou de negro de fumo.

Ensaio de toxicidade revelam o tempo e/ou a concentração em que o material em estudo é potencialmente prejudicial, pois para qualquer produto o contato com a membrana ou sistema biológico pode não produzir um efeito adverso se a concentração do produto for baixa, ou o tempo de contato for insuficiente. Importante destacar que concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados. (FONSECA, 1991).

Desta forma, os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES *et al.*, 1994).

O objetivo do presente trabalho é a produção e caracterização de uma suspensão de nanofibrilas de celulose e sua utilização em testes de toxicidade com *Artemia salina*.

## Materiais e métodos

A matéria-prima utilizada para a produção da suspensão de nanofibrilas foi o resíduo das bainhas da palmeira *Bactris gasipaes*, obtido de uma agroindústria de palmito pupunha, localizada em Morretes, no Estado do Paraná. O processamento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Produtos Não-Madeiráveis da Embrapa Florestas (Colombo – PR). Foi realizada uma etapa preliminar de branqueamento do resíduo com clorito de sódio e ácido acético, seguido de fragmentação e moagem em Microprocessador Super MASSCOLLOIDER MASUKO SANGYO, no laboratório de Engenharia Florestal da UFPR. As nanofibrilas foram caracterizadas ultraestruturalmente por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e em microscopia eletrônica de transmissão (MET), na UFPR e posteriormente por análises físico-químicas, por metodologias padrões para análise de alimentos do instituto Afolfo Lutz, no Laboratório de Produtos Florestais Não Madeiráveis da EMBRAPA Florestas.

O ensaio de toxicidade com a *Artemia salina* foi realizado com adaptações da metodologia de Meyer et al. (1982), utilizando concentrações de 30 g/L a 110 g/L de suspensão de nanofibrilas de celulose.

## Resultados e discussão

A análise macroscópica do material produzido revelou uma suspensão com consistência gelatinosa e aspecto leitoso, conforme mostrado na Fig. 1.



Fig. 1. Aspecto macroscópico da suspensão de nanofibrilas.

A caracterização ultraestrutural das nanofibrilas foi analisada em MEV, ilustrada na imagem da Fig. 2. As fibrilas encontravam-se todas aglomeradas, impedindo sua visualização individual, não quantificando a espessura da fibra.

Foi realizado o fracionamento a amostra por sonicação, e realizou-se a análise em MET, conforme visualizado na Fig. 3. Com esta análise, constatou-se que a maioria das nanofibrilas,

passíveis de serem visualizadas individualmente no aumento de 50.000x apresentaram diâmetros na faixa de nanômetros ( $10^{-9}$ m).

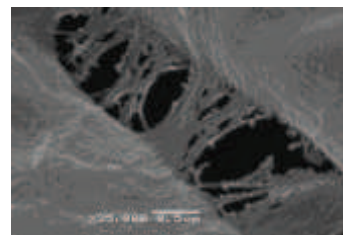


Fig. 2. Imagem obtida por MEV aumento de 35.000 x.

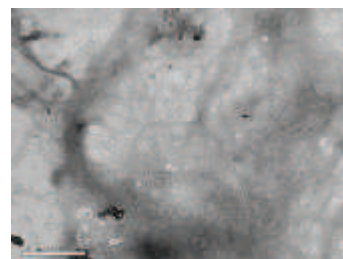


Fig. 3. Imagem obtida por MET aumento de 50.000 x.

A análise físico-química realizada no material resultou nos dados apresentados na Tab. 1.

Tab. 1 Composição centesimal das nanofibrilas produzidas (base úmida).

Parâmetro (g/100 g)	(média ± DP)
Umidade	97,79 ± 0,034
Cinzas	0,06 ± 0,003
Fibras Solúveis	0,54 ± 0,012
Fibras Insolúveis	1,67 ± 0,003
Proteína	0,11 ± 0,015
Lipídeos	N.D.

O constituinte presente em maior quantidade foi a umidade (na forma de água livre), seguido pelas fibras, com um valor total de 2,21 g/100g.

A etapa de branqueamento teve a finalidade de remover grande parte dos compostos presentes na bainha de pupunha, inclusive carboidratos simples e a lignina residual, desta forma, os valores de lipídeos, minerais (na forma de cinzas) e proteínas não representaram quantidades significativas.

O teste de toxicidade avaliou o efeito de diferentes concentrações de nanofibrilas nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os resultados do referido ensaio podem ser visualizados na Fig. 4.

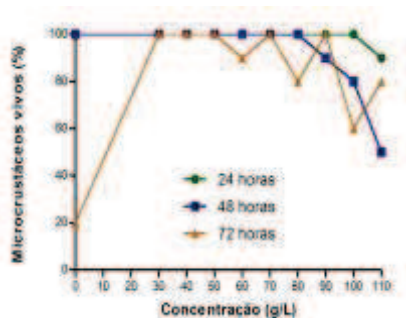


Fig. 4. Gráfico da toxicidade das nanofibrilas frente a *Artemia salina* nos tempos de 24, 48 e 72 horas, nas concentrações de 30 a 110 g/L.

No tempo de 24 horas, praticamente todos os animais permaneceram vivos em todas as concentrações, exceto na última, onde apenas 90% dos animais permaneceram vivos.

Na leitura de 48 horas, houve um aumento gradativo de mortes a partir da concentração de 80 g/L, justificando a tendência decrescente no gráfico a partir desta concentração. Não houve diferenças significativas com o aumento da concentração, mostrando variação significativa com  $p$  de 0,0022 apenas para a concentração de 110 g/L, quando comparadas com as demais.

No tempo de 72 horas, porém, foi observada uma tendência a um maior número de mortes.

No ensaio branco, nos tempos 24 e 48 horas, todos os animais colocados no tubo sem a solução em estudo sobreviveram. No tempo de 72 horas, 83,33% dos animais morreram e esse resultado foi significativamente diferente dos valores encontrados nas diferentes concentrações.

Esses resultados indicam que em pequenas concentrações, como as de 30, 40 e até 50 g/L da solução, o material produzido não apresentou efeitos tóxicos sobre o microcrustáceo, e sim, provavelmente, serviu como fonte de nutrientes, garantindo sua sobrevivência. Porém, se adicionado em grandes concentrações, acabaria provocando um aumento drástico na densidade do meio, que possivelmente interferiria nos movimentos básicos e, por consequência, no metabolismo do animal.

## Conclusões

A suspensão de nanofibrilas produzida apresentou aspecto de gel e em análise de MET foi confirmado que as fibrilas encontraram-se em escala nanométrica. O teste de toxicidade com a *Artemia salina* mostrou que a suspensão de nanofibrilas não apresentou caráter tóxico para este micro crustáceo em concentrações de até 50

g/L de suspensão, servindo inclusive como fonte de nutrientes. Sugere-se, em estudos posteriores, ensaios de toxicidade utilizando maiores concentrações da suspensão de nanofibrilas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## Referências

- AZEVEDO, H. M. C., Fundamentos de estabilidade de alimentos. 2. Ed. Editora técnica, Brasília, DF: Embrapa, 326p., 2012
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico Químicos para análise de alimento/ Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. - Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- FARINA, M. Z.; SOARES, T. E.; CHILOMER, S. K.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K. Análise da aplicação de resíduos do corte de palmito pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) em compósitos de matriz poliéster com diferentes proporções. Revista Eletrônica de Materiais e Processos. v.7, n° 2, 2012.
- FONSECA, AL. A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubi silvestris* (Crustacea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Piscis, Poecileidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluente industriais. Dissertação de Mestrado em Hidráulica e Saneamento. USP São Carlos 1991.
- FORBES, V. E.; FORBES, T. L. Ecotoxicology in theory and practice. Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.
- GUERREIRO, L. F.; Palmito de Pupunha. Estudo de Mercado 01/02, Agencia de Fomento do Estado da Bahia, mar. 2002.
- MORARU, c.; Panchapakesan, c.; Huang, Q.; takhistov, p.; liu, s.; kokini, J. Nanotechnology: A new frontier food science. Food Technology, Chicago, v. 57, n. 12, p. 24-29, 2003.