

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

GIOVANA UBERTI BARBOSA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE
PROVENIENTES DO BAGAÇO DE AZEITONA EM *Artemia salina***

Caçapava do Sul

2024

GIOVANA UBERTI BARBOSA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE
PROVENIENTES DO BAGAÇO DE AZEITONA EM *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Henrique Lugokenski

Coorientador: Profa. Dra. Carolina Ferreira de Matos Jauris

Caçapava do Sul

2024

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

B512a Barbosa, Giovana Uberti

Avaliação da Toxicidade de Nanofibras de Celulose
Provenientes do Bagaço de Azeitona em Artemia salina /
Giovana Uberti Barbosa.

66 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) --
Universidade Federal do Pampa, ENGENHARIA AMBIENTAL E
SANITÁRIA, 2024.

"Orientação: Thiago Henrique Lugokenski".

1. Resíduo agroindustrial. 2. Nanocelulose. 3.
Artemia salina. I. Título.

GIOVANA UBERTI BARBOSA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE
PROVENIENTES DO BAGAÇO DE AZEITONA EM *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 10 de Julho de 2024.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Thiago Henrique Lugokenski
Orientador
(UNIPAMPA)

Profa. Dra. Caroline Wagner
(UNIPAMPA)

Profa. Dra. Mayara Bitencourt Leão
(UNIPAMPA)



Assinado eletronicamente por **THIAGO HENRIQUE LUGOKENSKI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 12/07/2024, às 15:04, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **CAROLINE WAGNER, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 12/07/2024, às 15:18, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **MAYARA BITENCOURT LEO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 12/07/2024, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1489462** e o código CRC **7AC2FBF1**.

Dedico este trabalho a todos os que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTO

Em primeiro momento gostaria de agradecer a todas as motrizes universais que conspiraram para que eu estivesse aqui, concluindo esse objetivo, na busca pelo meu propósito. E por toda a aprendizagem e evolução que essa experiência proporcionou para minha vida.

Agradeço a minha mãe Luciane, por todo o apoio e incentivo, e pelo seu amor incondicional, por sempre estar ao meu lado e nunca me deixar desistir. És a minha maior inspiração. E também, a toda minha família que, de alguma forma, tenha contribuído neste processo.

Agradeço a minha família de afeto, por todo o apoio e todo cuidado, vocês foram imprescindíveis para a realização desta conquista.

Agradeço a todas as amigas aqui feitas, em especial para Anna Paula e Juan Franc's, laços de afeto que levarei para toda a vida, que sem dúvida mostraram o quanto chegar até aqui valeu a pena.

Muito obrigada a todos os professores pela troca de conhecimentos e experiências, e também pelo afeto e amizade, em especial para os professores Daniela de Rosso Tolfo (*in memória*), Suene Bernardes dos Santos e Vitalino Cesca Filho.

Meu agradecimento especial para a professora Carolina Ferreira de Matos Jauris, que me proporcionou oportunidades incríveis, incluindo poder trabalhar com o nanomaterial testado neste trabalho. Sou muito grata por toda a troca de conhecimentos e experiências.

Agradeço ao meu orientador Thiago Henrique Lugokenski, por toda a ajuda, aprendizagem e paciência, durante a realização deste trabalho, sua ajuda foi imprescindível e de grande valia.

Agradeço também aos membros da banca examinadora, Caroline Wagner e Mayara Bitencourt Leão, que também foram muito importantes durante esta trajetória. Obrigada por todo apoio, ajuda e aprendizagem. Ainda, agradeço à Mayara pelos momentos no laboratório, sua amizade é muito especial para mim.

Por fim, e não menos importante, agradeço a Universidade Federal do Pampa, por todo o acolhimento, por esta trajetória que foi fundamental para minha formação e construção. Só quem é da Unipampa sabe o quanto é orgulhoso fazer parte desta comunidade.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido”.

Marie Curie

RESUMO

A degradação ambiental provocada por polímeros sintéticos nos ecossistemas, é uma preocupação emergente, tendo em vista a ameaça letal que representa para a vida no planeta. Diante disso, a busca pelo desenvolvimento de novas tecnologias e produtos sustentáveis, visando a substituição dos plásticos sintéticos tem ganhado cada vez mais espaço. O uso de biopolímeros, derivados de fontes de carbono renováveis, como biomassa lignocelulósica, tem se destacado como alternativa promissora aos polímeros sintéticos, uma vez que são biodegradáveis, não tóxicos e de fontes renováveis. Por sua vez, o bagaço de azeitona, é um subproduto lignocelulósico da extração de azeite, que contém grandes quantidades de celulose, com grande potencial de aproveitamento. Considerado um constituinte em nanoescala da celulose, a nanocelulose é um biopolímero natural, e devido ao seu tamanho em reduzido, dispõe de propriedades aprimoradas, superiores às do material original, como alta tenacidade mecânica e resistividade térmica. Além disso, é considerada como um material de alto desempenho com propriedades equivalentes a plásticos convencionais, proporcionando uma extensa categoria de aplicações. Para garantir a segurança e sustentabilidade um nanomaterial não deve apresentar riscos de toxicidade, com isso, experimentações para avaliar o potencial toxicológico nos organismos devem ser realizadas. Ante o exposto, o uso de organismos como a *Artemia salina*, tem sido amplamente difundido, em virtude da sua sensibilidade a substâncias tóxicas e facilidade de manuseio. Dessa forma, este trabalho objetivou avaliar o potencial de toxicidade de nanofibras de celulose, provenientes do bagaço de azeitona, em náuplios de *Artemia salina*. Para isso, uma série de parâmetros, incluindo taxa de eclosão, movimentação (utilizando o software *ImageJ – TrackMate*) e sobrevivência, foi realizada, a fim de compreender os efeitos do nanomaterial sobre o organismo. Os resultados indicaram que o biopolímero não apresentou efeitos adversos para *Artemia salina*. De maneira geral, as taxas de eclosão, movimentação e sobrevivência foram comparáveis às do grupo controle, sem alterações estatisticamente significativas (ANOVA, $p < 0,05$). Esses achados sugerem que a nanocelulose proveniente do bagaço de azeitona, nas concentrações testadas não dispõe de potencial toxicológico, garantido segurança na sua aplicação. Deste modo, este estudo colabora para a compreensão dos impactos ecotoxicológicos de nanomateriais e contribui para o fomento do desenvolvimento de novas tecnologias sustentáveis.

Palavras-chave: Resíduo agroindustrial. Nanocelulose. *Artemia salina*.

ABSTRACT

Environmental degradation caused by synthetic polymers in ecosystems is an emerging concern, given the lethal threat it poses to life on the planet. Given this, the search for the development of new technologies and sustainable products, aiming to replace synthetic plastics, has gained more and more space. The use of biopolymers, derived from renewable carbon sources, such as lignocellulosic biomass, has stood out as a promising alternative to synthetic polymers, since they are biodegradable, non-toxic and from renewable sources. In turn, olive pomace is a lignocellulosic by-product of olive oil extraction, which contains large amounts of cellulose, with great potential for use. Considered a nanoscale constituent of cellulose, nanocellulose is a natural biopolymer, and due to its small size, it has improved properties, superior to those of the original material, such as high mechanical tenacity and thermal resistivity. Furthermore, it is considered a high-performance material with properties equivalent to conventional plastics, providing an extensive category of applications. To ensure safety and sustainability, a nanomaterial must not present toxicity risks, therefore, experiments to evaluate the toxicological potential in organisms must be carried out. In view of the above, the use of organisms such as *Artemia salina* has been widely spread, due to their sensitivity to toxic substances and ease of handling. Therefore, this work aimed to evaluate the potential toxicity of cellulose nanofibers, from olive pomace, in *Artemia salina* nauplii. For this, a series of parameters, including hatching rate, movement (using the *ImageJ – TrackMate* software) and survival, were carried out, in order to understand the effects of the nanomaterial on the organism. The results indicated that the biopolymer had no adverse effects on *Artemia salina*. In general, hatching, movement and survival rates were comparable to those of the control group, without statistically significant changes (ANOVA, $p < 0.05$). These findings suggest that nanocellulose from olive pomace, at the concentrations tested, does not have toxicological potential, guaranteeing safety in its application. In this way, this study contributes to understanding the ecotoxicological impacts of nanomaterials and contributes to promoting the development of new sustainable technologies.

Keywords: Agroindustrial waste. Nanocellulose. *Artemia salina*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de extração de azeite de oliva pelo método contínuo (centrifugação).....	31
Figura 2 – Estrutura lignocelulósica.....	33
Figura 3 – Molécula de celulose.....	34
Figura 4 – Representação das regiões cristalinas e amorfas da celulose.....	34
Figura 5 – Principais constituintes da hemicelulose.....	35
Figura 6 – Unidades estruturais da lignina.....	36
Figura 7 – Estrutura hierárquica da celulose e seus constituintes em nanoescala....	37
Figura 8 – Nanofibras de celulose.....	38
Figura 9 – Nanocristais de celulose.....	39
Figura 10 – Ciclo de vida <i>Artemia salina</i>	42
Figura 11 – Gráfico taxa de eclosão.....	46
Figura 12 – Gráfico deslocamento.....	47
Figura 13 – Gráfico sobrevivência.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das azeitonas, valores em porcentagem por peso (%).....	32
Tabela 2 – Valores de concentrações ($\mu\text{g/mL}$) e volume (mL) utilizados durante a realização dos experimentos.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

ha – hectares

L – litros

g – gramas

p – peso

v – volume

mL – mililitros

mm – milímetros

cm - centímetros

h – horas

mg – miligramas

µg – microgramas

µL - microlitros

DMSO – dimetilsulfóxido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	25
	2.1 Objetivos gerais.....	25
	2.2 Objetivos específicos.....	25
	2.3 Justificativa.....	25
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	26
	3.1 Desenvolvimento Sustentável.....	26
	3.1.1 <i>Conceito geral.....</i>	26
	3.1.2 <i>A política dos 3R's.....</i>	27
	3.1.3 <i>Materiais sustentáveis.....</i>	28
	3.2 Resíduos agroindustriais.....	28
	3.3 Expansão da produção de azeite de oliva no RS.....	29
	3.3.1 <i>Métodos de extração de azeite.....</i>	30
	3.3.2 <i>Bagaço de azeitona.....</i>	31
	3.4 Biomassa lignocelulósica.....	32
	3.4.1 <i>Celulose.....</i>	33
	3.4.2 <i>Hemicelulose.....</i>	35
	3.4.3 <i>Lignina</i>	35
	3.5 Nanocelulose.....	36
	3.5.1 <i>Nanofibras de celulose</i>	38
	3.5.2 <i>Nanocristais de celulose</i>	38
	3.6 Toxicidade de nanomateriais.....	39
	3.7 Toxicologia aquática.....	40

3.8	Bioensaios de nanotoxicidade em <i>Artemia salina</i>	41
4	METODOLOGIA	42
4.1	Obtenção das nanofibras de celulose.....	42
4.2	Preparo das amostras.....	43
4.3	Avaliação de toxicidade aguda frente aos náuplios de <i>Artemia salina</i>	43
4.3.1	<i>Porcentagem de eclosão dos cistos de Artemia salina</i>	44
4.3.2	<i>Análise de deslocamento</i>	45
4.3.3	<i>Estudo da sobrevivência</i>	45
4.4	Análise estatística.....	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Avaliação de toxicidade aguda frente aos náuplios de <i>Artemia salina</i>	46
5.1.1	<i>Porcentagem de eclosão dos cistos de Artemia salina</i>	46
5.1.2	<i>Análise de deslocamento</i>	47
5.1.3	<i>Estudo da sobrevivência</i>	49
6	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

O recente desenvolvimento tecnológico-industrial dos últimos dois séculos nos trouxe grandes progressos em todas as esferas da vida humana, contudo tem gerado grande dano ao meio ambiente em várias frentes, desde contaminação dos solos e água até mudanças climáticas em escala global (Ahmad et al., 2020; Stearns, 2013). Várias evidências nos mostram que estes danos podem minar os avanços civilizatórios obtidos ou até mesmo inviabilizar civilizações complexas no futuro (Tong; Ebi, 2019). Na esteira deste processo, todo um movimento social vem buscando por opções tecnológicas que mantenham a qualidade de vida, mas que não gerem dano ambiental deletério. Tais processos giram ao redor do conceito central de sustentabilidade (Aksoy; Arli, 2019). Dentro deste contexto, a produção de materiais utilizando processos sustentáveis, com pouco ou nenhum impacto ambiental tem ganhado destaque. Tal necessidade parte do acúmulo de materiais de baixa degradabilidade nos ecossistemas, e a escassez de fontes não-renováveis (Arif et al., 2022).

Devido suas propriedades mecânicas e durabilidade, os polímeros sintéticos têm sido empregados na fabricação de inúmeros tipos de produtos, no entanto, em virtude da grande proporção de material produzido e da gestão incorreta dos resíduos plásticos gerados, esses materiais findaram-se nos ecossistemas, e os perigos oferecidos ao meio ambiente e a saúde humana estão sendo evidenciados (Gowthaman et al., 2021). A morte de espécies aquáticas, a acidificação dos oceanos e os microplásticos têm sido os primeiros vestígios danosos (Gago et al., 2018; Piccardo et al., 2021). Os biopolímeros, derivados de biomassa lignocelulósica, dispõem de propriedades mecânicas semelhantes a dos polímeros sintéticos, além disso, são abundantes, de baixo custo, renováveis e biodegradáveis, tornando-os fortes candidatos à sucessão de polímeros não biodegradáveis. Ademais, o uso de biopolímeros agrega na valorização de subprodutos agroindustriais e florestais (Petersson; Kvien; Oksman, 2007).

A produção de azeite de oliva é um setor agroindustrial em constante expansão, o consumo de azeite é realçado em torno dos inúmeros benefícios proporcionados à saúde (Duman; Ozgen; Üçtuğ, 2020). Na atualidade, o Brasil é o segundo maior país que importa azeite de oliva (Garcia, 2018), o crescente interesse pelo produto tem motivado o cultivo e a produção de azeite em solo brasileiro, em particular, no Rio

Grande do Sul, devido ao ambiente e clima propício (Tejero; Rosa, 2020). O bagaço da azeitona, é classificado como um resíduo semissólido, composto principalmente por polpa e caroço, com altos teores de celulose 49% e 41,6% de lignina (MIRANDA et al., 2019). No entanto, o volume da geração de bagaço residual é uma problemática ambiental a ser explorada, uma vez que aproximadamente 2 milhões de toneladas/ano em todo o mundo sejam produzidas (Lammi et al., 2018).

Derivada da celulose, a nanocelulose é um biopolímero em dimensões nanométricas e, devido ao seu tamanho extremamente reduzido, dispõe de propriedades atrativas que a tornam um material de alta performance. Dentre suas principais qualidades destaca-se por sua baixa densidade, alto desempenho mecânico e resistividade térmica (Lee; Hamid; Zain, 2014; Mondal, 2016; Huang et al., 2019). Em vista disso, dispõe de diversas possibilidades de aplicação, como produtos alimentícios, farmacêuticos, biomédicos, energéticos e de solução ambiental (Phanthong et al., 2018).

Um nanomaterial não deve dispor apenas de funcionalidade e economia, mas também de segurança e sustentabilidade, de modo que não apresente riscos à saúde humana e ao meio ambiente. A avaliação da segurança é um requisito legal para se obter acesso à produção e comercialização de nanomateriais. Sendo assim, testes para averiguação de potencial nanotoxicidade são imprescindíveis para garantir o cumprimento dos regulamentos e sustentabilidade dos nanomateriais (Gottardo et al., 2021).

O microcrustáceo *Artemia salina* tem sido amplamente reconhecido como modelo biológico de referência para testes de toxicidade aquática e nanotoxicidade. O organismo é caracterizado como um zooplâncton invertebrado, encontrado em ecossistemas de água salgada. É uma espécie de filtro alimentador, não seletivo, que pode ingerir partículas menores que $50\mu\text{m}$ de tamanho. Essas propriedades tornam os excelentes ingestores de poluição, incluindo nanopartículas (Sarkheil et al., 2018). Além disso, a facilidade de cultivo, acessibilidade, rápida eclosão e tamanho pequeno são vantagens para o uso de Artêmias (Siddhardha; Dyavaiah; Kasinathan, 2020).

Nessa afirmativa, pretende-se avaliar as nanofibras de celulose quanto a sua toxicidade frente à *Artemia salina*. Ademais, neste trabalho busca-se contribuir para o desenvolvimento de nanomateriais sustentáveis, através da valorização de resíduos

agroindustriais e florestais, e enfatizar a importância dos testes de segurança para a garantia de sustentabilidade do material.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de toxicidade de nanofibras de celulose, provenientes do bagaço de azeitona residual da produção de azeite de oliva, da região de Caçapava do Sul-RS, através de ensaios *in vivo* em *Artemia salina*.

2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar se as nanofibras de celulose alteram a sobrevivência em *Artemia salina*.
- b) Investigar possíveis alterações comportamentais causadas pelas nanofibras de celulose na espécie modelo.
- c) Estabelecer concentração considerada segura para possíveis aplicações na agricultura.

2.3 Justificativa

De maneira preocupante o lixo plástico ultrapassa 90% dos detritos totais depositados nos oceanos, o que implica em severas consequências ao habitat marinho, além disso, a poluição por microplástico é uma ameaça emergente e os efeitos provocados nos organismos ainda são desconhecidos (Suman et al., 2020). Em vista disto, mitigar a poluição por polímeros sintéticos, com o desenvolvimento de novos materiais sustentáveis é cada vez mais urgente. Polímeros naturais têm se mostrado como alternativa sustentável na substituição de plásticos sintéticos, e uma condição favorável atrelada ao uso de polímeros naturais é a possibilidade de obtenção a partir da reciclagem da biomassa residual. Devido a intensificação agrícola milhões de toneladas de biomassa residual são produzidas no mundo todos os anos, como palha de arroz, palha de milho, bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de azeitona (Khalil; Bhat; Yusra, 2012). O processo de fabricação de azeite de oliva, produz

quantidade significativa de resíduos, e o bagaço de azeitona pode ser utilizado na extração de polímero natural, uma vez que dispõe de elevadas quantidades de celulose. A nanocelulose, é uma porção de celulose que se encontra em nano escala, e devido ao seu tamanho nanométrico dispõe de propriedades funcionais semelhantes ao de plásticos sintéticos. Por se tratar de um polímero natural a nanocelulose pode ser obtida de bagaço de azeitona, difundindo o potencial de sustentabilidade do material e valorização de resíduos agroindustriais. Para ser considerado seguro e sustentável um nanomaterial deve ser submetido a testes de nanotoxicidade para averiguar se oferece algum risco à saúde humana e ao meio ambiente. A realização de bioensaios toxicológicos em *Artemia salina* tem sido amplamente utilizadas, uma vez que o organismo é de fácil acesso e cultivo, além disso, é considerado um bom bioindicador e modelo confiável, uma vez que apresenta sensibilidade a uma variedade de poluentes e substâncias tóxicas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Desenvolvimento sustentável

3.1.1 Conceito geral

De acordo com Pisani (2007) o conceito de desenvolvimento sustentável está ligado à busca de um modelo de desenvolvimento econômico, social e ambiental, seguro e equilibrado, de modo que somente com a evolução interdependente de ambas as dimensões, seja possível alcançar o resultado almejado, a sustentabilidade. Tal modelo, tem como objetivo principal a garantia do suprimento das necessidades humanas com os recursos finitos do planeta, promovendo o crescimento das gerações atuais sem comprometer a possibilidade das gerações futuras. O desenvolvimento sustentável é considerado um tema emergente, sendo na Conferência de Desenvolvimento Humano e Meio Ambiente, realizada em Estocolmo, pela ONU, em 1972, que os primeiros relatos foram abordados publicamente pela comunidade internacional, onde foram evidenciadas as necessidades de irromper o desenvolvimento econômico desmesurado e não sustentável, diante das problemáticas ambientais e sociais por ele acrescidas. (Handl, 2012). Somente em 1987, com a publicação do relatório Brundtland, também chamado de “Our Common

Future”, que o conceito de desenvolvimento sustentável foi definido como atualmente é conhecido. Nele foi explicitada a necessidade do mutualismo nos progressos econômicos, sociais e ambientais, além disso, também foram instituídos compromissos com a saúde e segurança da humanidade, e objetivos para que o colapso mundial seja evitado (Sneddon; Howarth; Norgaard, 2006). Desde então, a pauta de desenvolvimento sustentável tem sido cada vez mais discutida em movimentos políticos, sociais e econômicos, destacando a importância sobre o controle das mudanças climáticas, o uso controlado de recursos naturais, energias renováveis e reciclagem, dessa forma, o conceito de desenvolvimento sustentável aos poucos tem se consolidado, promovendo assim, a facilitação da compreensão do tema, da sua importância e suas implicações para a sociedade (Costa, 2019). É indispensável que para a real efetividade do desenvolvimento sustentável, controversas do desenvolvimento econômico sejam ultrapassadas, de maneira que sua evolução não seja sinônimo de ameaça às causas sociais e ambientais e, sim, a base estrutural para a evolução de ambos, promovendo o bem-estar à sociedade e ao meio-ambiente (Dhahri; Omri, 2018).

3.1.2 A política dos 3R's

Com o avanço da modernidade, as mudanças no estilo de vida e padrão de consumo, propiciaram na geração profusa de materiais residuais e, conseqüentemente, na degradação do meio ambiente (Ahmadi, 2017). A política dos 3R's (reduzir, reutilizar e reciclar) surgiu com o intuito de implementar estratégias otimizadas para a gestão de resíduos sólidos, envolvendo todas as partes geradoras, e alertar acerca da importância do equilíbrio na produção, consumo e descarte de materiais. Além disso, os 3R's da sustentabilidade partem da premissa da prevenção do resíduo como fator fundamental no controle do uso de recursos naturais e minimização dos riscos ambientais e de saúde pública ligados a ele (Memon, 2010; Pariatamby; Fauziah, 2013). Conforme Leslie et al., (2021) a verdadeira sustentabilidade concretiza-se somente quando houver a priorização da prevenção, e adoção da redução e reutilização, alternativas à reciclagem. É importante destacar o papel crucial que o governo desempenha diante da conscientização ambiental por meio de políticas públicas efetivas e garantia do direito ao meio ambiente equilibrado (Sakai et al., 2011). Além do mais, empresas privadas também desempenham um

papel fundamental quanto à implementação de um padrão de consumo sustentável diante da sociedade. Vale a pena destacar que as lacunas geradas pela má gestão dos resíduos, a displicência do cidadão frente ao lixo gerado, a má fiscalização e inadimplência diante de agravos ambientais, são fatores que influenciam na limitação e insuficiência do gerenciamento de resíduos frente às problemáticas dos resíduos sólidos (Routray, 2022).

3.1.3 Materiais sustentáveis

À medida que os impactos ambientais provocados pelo uso de materiais convencionais são evidenciados, a sociedade se direciona para a transição da produção e consumo de materiais ecologicamente sustentáveis (Crabbé et al., 2013). Segundo Silva et al. (2017), a sustentabilidade de materiais baseia-se no princípio da gestão aprimorada de resíduos, na integração de tecnologias eficientes, na conscientização do consumo e na economia circular. Além disso, a escolha do insumo empregado na fabricação, é fundamental para o desempenho do material, manutenção, ciclo de vida e conservação de recursos (Hallstedt; Isaksson, 2017). A avaliação do ciclo de vida é uma ferramenta imprescindível que permite mensurar o potencial impacto ambiental provocado por materiais, projetar métodos de produção ambientalmente amigáveis, e controlar o uso e descarte de resíduos (Ibrahim et al., 2018). O emprego de matéria-prima de fonte renovável, como resíduos agrícolas, industriais e de reciclagem, para a produção de materiais sustentáveis, tem se destacado como uma alternativa mitigadora frente às implicações dos materiais convencionais (Rai et al., 2021). Os denominados polímeros de base biológica, caracterizam-se por suas propriedades semelhantes a dos polímeros sintéticos, no entanto podem ser facilmente degradados através de atividade enzimática, transformando-se em compostos naturais (Wróblewska-Krepsztul, 2018). Embora, atualmente os polímeros de origem fóssil apresentem mais facilidade de processamento e menor custo, sua produção é considerada insustentável, promovendo prospecções futuras favoráveis para a ampla utilização de polímeros naturais (Sudesh; Iwata, 2008).

3.2 Resíduos agroindustriais

Com o aumento crescente da população mundial, a expansão da produção nos setores agrícola e alimentício são inevitáveis, e como consequência da produção em larga escala, a geração substancial de resíduos durante as etapas de processamento necessita de soluções inovadoras. Estima-se que aproximadamente 1,6 bilhões de toneladas de resíduos agroindustriais sejam produzidos todos os anos, como sementes, bagaços, cascas e folhas. Estes resíduos dispõem de uma enorme fonte de biomassa, metabólitos, fenóis, carboidratos e minerais, e sua gestão inadequada pode provocar a degradação do meio ambiente, causando a proliferação de microrganismos, contaminação por toxinas e gases poluentes (Freitas et al., 2021; Sadh; Duhan, S; Duhan, J., 2018). Tendo em vista que os subprodutos industriais agroalimentares dispõem de grandes quantidades de compostos valiosos, a reciclagem do material residual para a produção de novos produtos, emerge como alternativa sustentável para agregação de valor e redução do desperdício de matéria orgânica (Rojas; Zapata; Ruiz-Tirado, 2021). A aplicação de subprodutos na produção de biocompósitos, biogás, biocombustíveis e biofertilizantes, já foram relatadas (De et al., 2021; Khalil et al., 2019; Saravanan et al., 2021; Yusuf, 2017). Além disso, a aplicação dos resíduos agroindustriais contribui para geração de energia verde, com pegada de baixo carbono, ou até mesmo nulas (Nair; Agrawal; Verma, 2022). Vale a pena ressaltar que a implementação de novas tecnologias auxilia para a redução da geração de resíduos e promovem compostos com maior valor inerente (Singh, et al., 2022).

3.3 Expansão da produção de azeite de oliva no RS

Proveniente do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*) o azeite de oliva é considerado extremamente benéfico à saúde, uma vez que seus ativos proporcionam efeitos antioxidantes, reduzem o colesterol, previnem doenças cardiovasculares e dispõe de propriedades anti-inflamatórias. A comprovação de tais benefícios tem feito o consumo de azeite de oliva intensificar-se no Brasil, alavancando o setor de importações (Wrege et al., 2009). Conforme a International Olive Council (IOC), só no ano de 2020, cerca de 100 milhões de litros de azeite de oliva foram importados, totalizando quase 100% do consumo. No entanto, o exorbitante uso de azeite no país tem despertado interesse dos agricultores locais, e a fabricação de azeite de oliva em solo brasileiro tem ganhado cada vez mais espaço (Pablo; Rosa, 2020).

Devido às condições edafoclimáticas favoráveis, a região sul do Brasil, em especial o estado do Rio Grande do Sul, tem se destacado na produção de azeite (Wrege et al., 2013). Segundo o Sistema Unificado Estadual de Sanidade Agroindustrial Familiar (SUSAF), o estado é na atualidade o maior fabricante de azeite de oliva extra virgem do país, com cerca de 449 mil litros de azeite produzidos no ano de 2022, o que em comparação com o ano de 2017, representa um aumento de quase 700% na produção, uma vez que foram produzidos aproximadamente 57.873 mil litros. O mercado de azeite no estado é considerado recente, dentre os principais municípios em área plantada, podem ser citados: Canguçu com 575,2 ha, Encruzilhada do Sul com 568,5 ha, Pinheiro Machado com 383,7 ha, Cachoeira do Sul com 368,2 ha, Santana do Livramento com 136,0 ha, Bagé com 128,0 ha, Caçapava do Sul com 115,1 ha e Barra do Ribeiro com 103,5 ha (Costa, 2019).

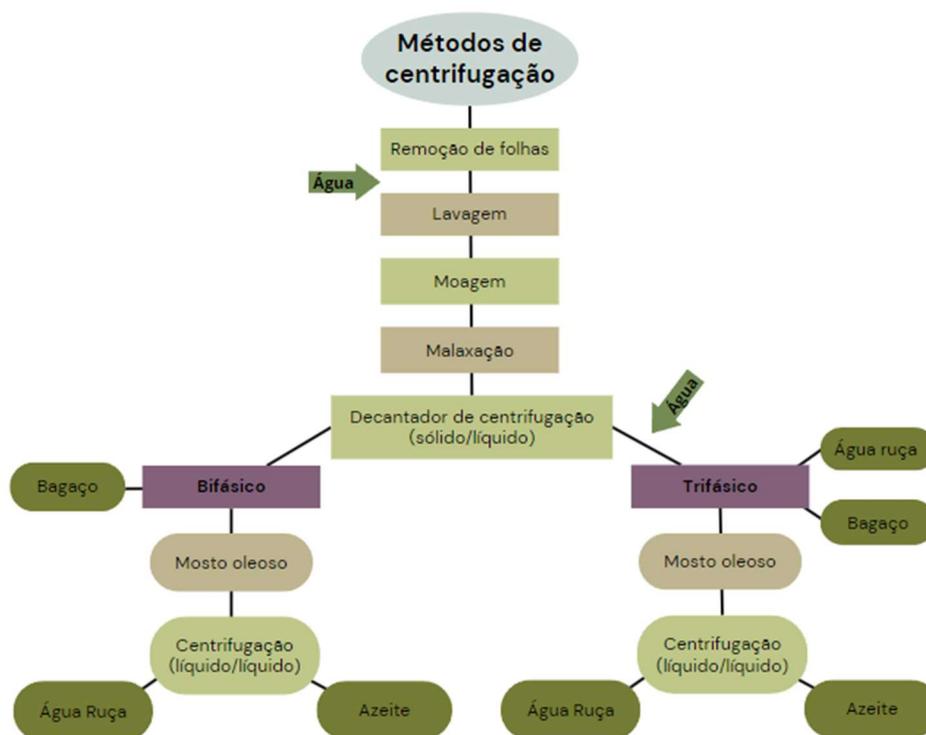
A cidade de Caçapava do Sul, que teve a introdução da olivicultura no ano de 2003, tem se sobressaído no desenvolvimento do cultivo de oliveiras, o desenvolvimento de suas plantações podem ser comparadas a da Espanha, grande referência na produção mundial de azeite, além disso, o azeite produzido no município já conquistou a marca de ser um dos melhores do mundo, ficando no topo do EVOO World Ranking em 2022, em 10º lugar (Caye, 2018; Evoowr, 2022; Mota et al., 2009).

3.3.1 Métodos de extração de azeite

O processamento da azeitona para a obtenção do azeite ocorre por meio de sistema contínuo (centrifugação) ou descontínuo (prensagem), a finalidade é separar a fase líquida (óleo) dos demais componentes. Esses sistemas mecânicos possuem eficiência de 80 a 90% de extração do óleo contido na fruta. A prensagem, método mais tradicional, tem sido substituída devido sua menor eficiência e rendimento (Chiacchierini et al., 2007). De acordo com Domingues et al. (2021) a centrifugação pode ser dividida em dois tipos de processamento, trifásico e bifásico. No processo trifásico grandes volumes de água quente são adicionados na etapa de centrifugação/decantação, cerca de 6m³ por tonelada de azeite produzido, assim, o processo bifásico sendo isento da adição de água, torna-se o meio de produção mais adequado e econômico, com geração de resíduos 60% mais secos. Ao final das etapas são formados dois tipos de subprodutos, o bagaço da azeitona, fração sólida, e um mosto oleoso denominado água ruça, fração líquida (Petraakis, 2006). No

fluxograma (figura 1) têm-se a representação do tipo de extração contínua por centrifugação, dividido em processo bifásico e trifásico.

Figura 1 - Fluxograma de extração de azeite de oliva pelo método contínuo (centrifugação).



Fonte: Adaptado de Petrakis (2006) e Almeida (2022).

3.3.2 Bagaço de azeitona

Obtido a partir do processamento de azeite, o bagaço de azeitona é um subproduto constituído principalmente por casca, polpa e caroço. A grande quantidade de bagaço gerado apresenta-se como desafio significativo no que trata de gestão adequada (Nunes et al., 2018). Seu descarte inapropriado pode ser nocivo ao meio ambiente, uma vez que dispõe em sua composição de fenólicos, ácidos graxos, alta carga orgânica e pH ácido, causando a acidificação de corpos d'água, impermeabilização dos solos, além disso, essas propriedades podem provocar fitotoxicidade e efeitos antimicrobianos (Parascanu et al., 2018). É estipulado que a cada 100kg de azeitona, sejam produzidos 35kg de bagaço residual, 20 L de azeite e 100 L de águas residuais, assim, cerca de 835 kg de resíduos por hectare são produzidos. Só em território nacional, em torno de 1040 toneladas/ano são geradas e,

numa perspectiva global, aproximadamente 2 milhões de toneladas/ano (Lammi et al., 2018).

O bagaço de azeitona, como biomassa lignocelulósica pode ser empregado como uma rica fonte de energia renovável e matéria-prima sustentável, com grande disponibilidade e baixo custo. Sua composição estrutural e química são peças fundamentais para seu aproveitamento eficiente. Essa biomassa contém elevados teores de celulose 35,3-49%, hemiceluloses 18,5-32,5% e lignina 30-41,6%, e a partir do fracionamento desses componentes, novas aplicações podem ser realizadas (Miranda et al., 2019). Alguns dos principais constituintes da azeitona, formante substancial do bagaço residual, são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Composição das azeitonas, valores em porcentagem por peso (%).

Constituintes	Polpa	Caroço	Semente
Água	50-60	9,3	30
Óleo	15-30	0,7	27,3
Minerais	1-2	4,1	1,5
Celulose	3-6	38	1,9
Polifenóis	2,25	0,1	0,5-1
Outros	-	3,4	2,4

Fonte: Adaptado de Awad, Salman e Hung, 2006.

3.4 Biomassa lignocelulósica

Produzida a partir de carbono fixado fotossinteticamente, a biomassa lignocelulósica é composta principalmente por três tipos de polímeros: celulose, hemicelulose e lignina, associados em uma matriz complexa por ligações cruzadas covalentes e ligações não covalentes. Sua função principal é fornecer sustentação e rigidez à parede celular de plantas e seus derivados. Na figura 2, é possível observar o arranjo dos três principais constituintes da biomassa lignocelulósica.

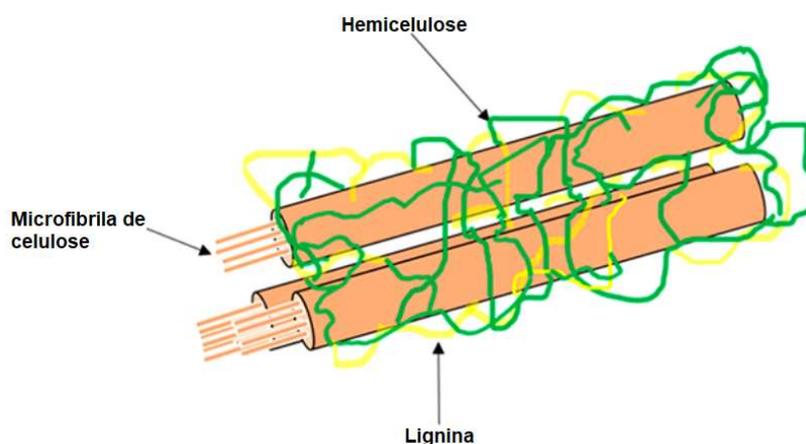
As proporções desses constituintes podem variar de acordo com cada tipo de planta e fases de crescimento, geralmente entre faixas de celulose (30–50%), hemiceluloses (20–40%) e lignina (10–30%) (Sindhu et al., 2016; Yu et al., 2022).

Para Tandon (2014) a grande disponibilidade de biomassa e as propriedades dos componentes lignocelulósicos tornam-a um substrato de enorme valor

biotecnológico na conversão energética, e na produção de baixo carbono, impactando significativamente na fabricação de biomateriais e biocombustíveis. As principais fontes de biomassa residual são lenhosas, como serragem, lascas, galhos de poda e toras indesejadas e, não lenhosa, como palha de arroz, bagaço de cana-de-açúcar, sorgo, caroço de azeitona (Yousuf; Pirozzi; Sannino, 2020). Quantifica-se que mais de 1 trilhão de toneladas de biomassa residual sejam produzidas anualmente em todo o mundo (Woo et al., 2022).

A separação dos componentes lignocelulósicos como intermediários reativos é um processo crítico para transformação da biomassa em produtos de maior valor agregado, a seleção do pré-tratamento é fundamental para a eficácia na obtenção dos produtos. O pré-tratamento é realizado para romper a estrutura compacta e superar a recalcitrância. Dentre as principais técnicas de pré-tratamento lignocelulósico estão a hidrólise alcalina, hidrólise ácida, explosão à vapor e organossolve (Bhutto et al., 2017).

Figura 2 - Estrutura lignocelulósica.



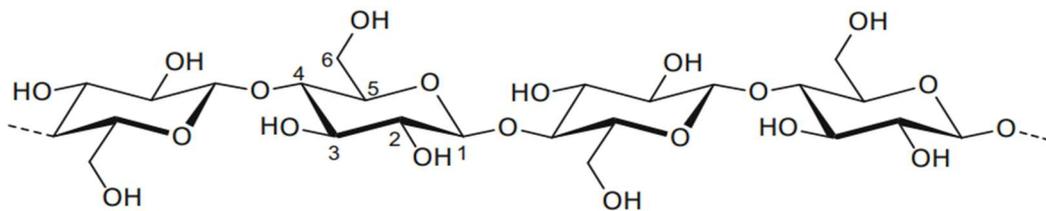
Fonte: Adaptado de Rajinipriya et. al., (2018).

3.4.1 Celulose

A celulose é o biopolímero mais abundante da biosfera, sendo o principal constituinte da parede celular vegetal, e também presente em bactérias, fungos e algas. Devido ser renovável e biodegradável, tem sido cotada como solução para contornar os desafios da produção sustentável. Estruturalmente, esse polissacarídeo dispõe de uma formação super molecular complexa e multinível, quando formada

como homopolímero não ramificado a celulose apresenta-se em unidades de anéis β -D-glucopiranosose, unidas por ligações glicosídicas β -(1,4) que resultam em uma rotação alternada no eixo da cadeia em 180° , com três grupos de hidroxilas reativos em cada unidade (figura 3). As cadeias de celulose são agrupadas em microfibrilas para formar as fibras de celulose, ligadas entre si por pontes de hidrogênio, intramoleculares e intermoleculares, e por forças de van der Waals, fazendo com que as fibras sejam compactadas (Bajpai, 2016; Heinze, 2015).

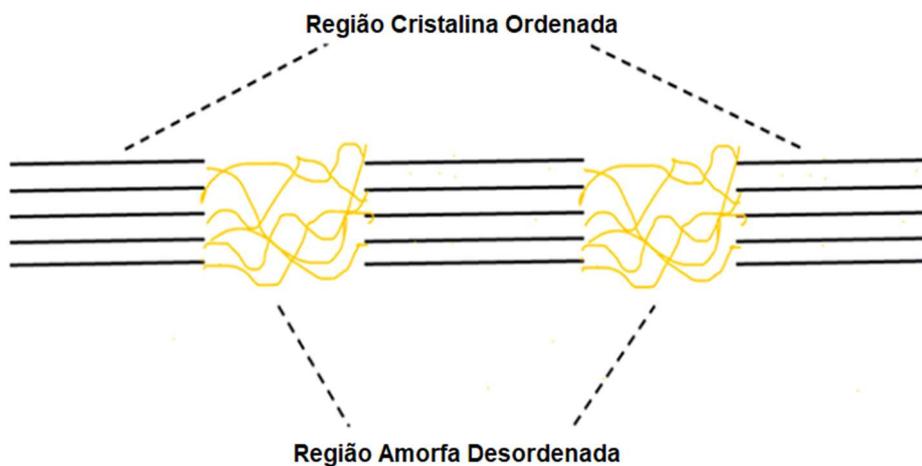
Figura 3 - Molécula de celulose.



Fonte: Adaptado de Heinze, 2015.

Além disso, para Rajinipriya e cols. (2018), as fibras de celulose podem ser divididas em duas formas, amorfa e cristalina, como representadas na figura 4. A forma amorfa apresenta pequenas quantidades de cadeias de celulose desorganizadas, muito suscetíveis à hidrólise ácida ou enzimática, segmentada pela forma cristalina que apresenta estrutura altamente condensada e organizada, e maiores concentrações de celulose, pouco suscetíveis à hidrólise.

Figura 4 - Representação das regiões cristalinas e amorfas da celulose.

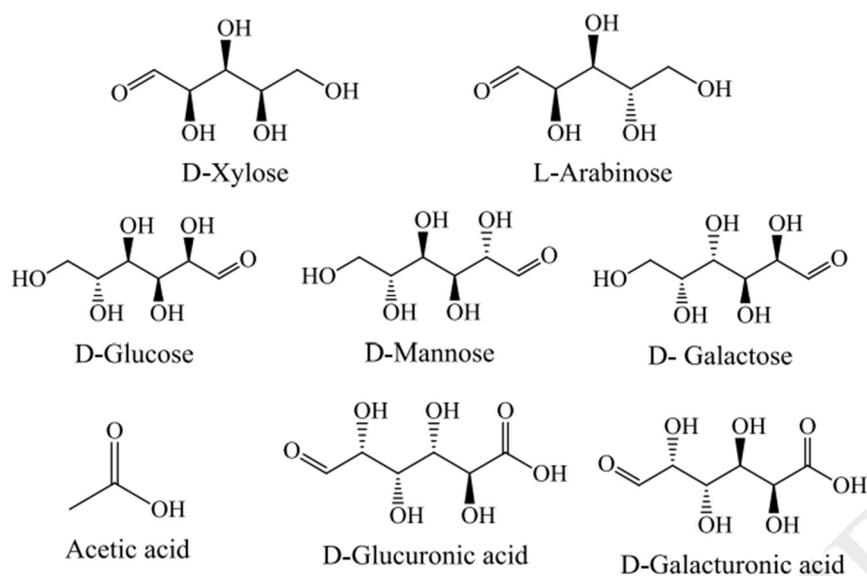


Fonte: Adaptado de Rajinipriya et. al., 2018.

3.4.2 Hemicelulose

Formada por uma estrutura complexa de carboidratos, a hemicelulose consiste em diferentes polímeros, como pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, manose e galactose) e ácidos de açúcares (ácido acético, D-glucurônico e D-galacturônico) (Arcaño et al., 2020). Segundo Hendriks e Zeeman (2009) a hemicelulose é semelhante à celulose, no entanto, o peso molecular da hemicelulose é inferior ao da celulose e, em sua cadeia, dispõe de ramos laterais curtos com açúcares altamente hidrolisáveis. A hemicelulose serve como conexão entre a celulose e a lignina, e por sua baixa densidade, permeia as microfibras de celulose, proporcionando flexibilidade e elasticidade à matéria vegetal (Zhou et al., 2016). Na figura 5, é possível observar a estrutura dos principais polissacarídeos hemicelulósicos.

Figura 5 - Principais constituintes da hemicelulose.

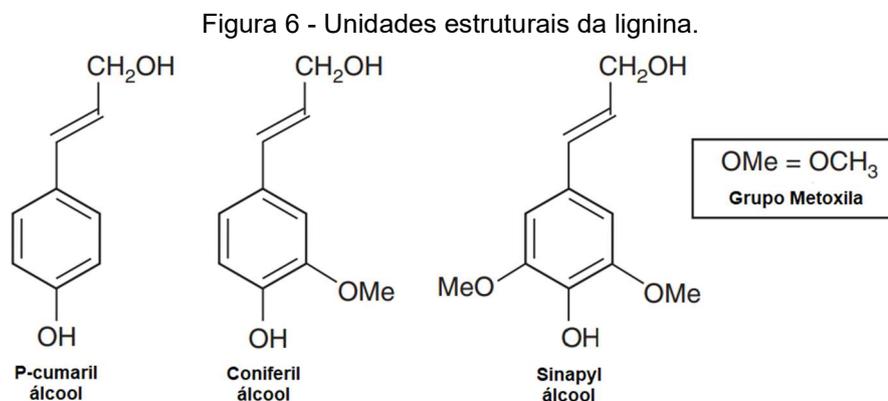


Fonte: Adaptado de Arcãno, 2018.

3.4.3 Lignina

Caracterizada como uma macromolécula tridimensional, a lignina é constituída principalmente por ligações éter entre álcoois coniferílicos, sinapílicos e p-cumarílicos (Watkins et al., 2015), como exemplificado na figura 6. Diversos tipos de polímeros podem ser derivados da lignina, dentre eles, vanilina, poliuretanos e ácido vanílico,

por meio de despolimerização catalítica. Ainda, a lignina pode ser utilizada como reforço polimérico, na produção de compósitos funcionais, com capacidade de absorção UV, resistência ao calor e umidade, e elasticidade (Tan et al., 2023).



Fonte: Adaptado de Watkins, 2014.

3.5 Nanocelulose

Em virtude da organização hierárquica da celulose, que consiste em fibrilas superfina e cristalitos em dimensões nanométricas, nanoestruturas podem ser isoladas desse material. A extração da nanocelulose decorre por meio de processos mecânicos ou químicos, ou pela combinação de ambos. Os principais tipos de nanocelulose se dividem entre nanofibras e nanocristais. As nanofibras de celulose, são longas cadeias finas e flexíveis de celulose, alternadas entre domínios amorfos e cristalinos. Os nanocristais de celulose, tem o formato similar à agulhas ou bastonetes, e são constituídos somente pela fração cristalina da celulose, a partir da separação do domínio amorfo (Chu et al., 2020; Dufresne, 2013; Kargarzadeh et al., 2017).

Conforme Brinchi et al. (2013), devido ao seu tamanho reduzido, a nanocelulose apresenta propriedades superiores à celulose convencional. Este material considerado de alto desempenho é altamente reativo a estímulos do ambiente, e tem sido considerado como uma forte promissora na substituição de polímeros sintéticos. Outro fator positivo é sua origem renovável, biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade.

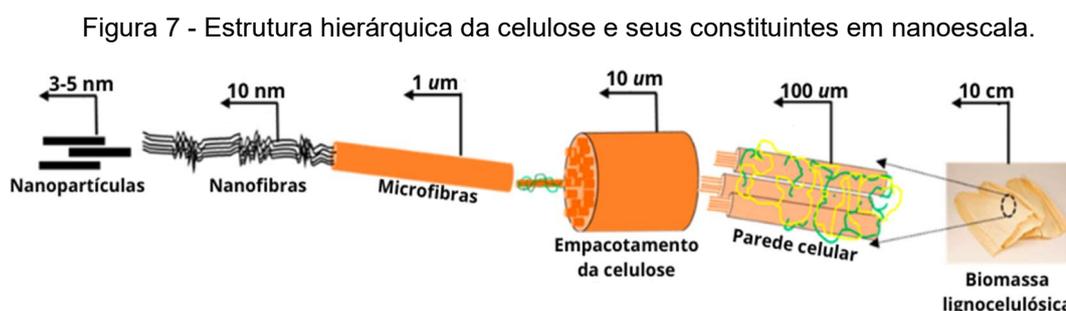
Dispondo de inúmeras características, entre as quais, elevada área de superfície específica, abundantes grupos hidroxila modificáveis, qualidades reológicas, elevada cristalinidade, orientação e alinhamento, etc., a nanocelulose

destaca-se por suas múltiplas propriedades, dentre elas, alta tenacidade mecânica, potencialmente superior à fibra Kevlar; estabilidade térmica, com capacidade de suportar altas temperaturas, 200-300 °C, sem degradação; qualidades ópticas, podendo ser aplicada na síntese de filmes transparentes; e também por sua baixa densidade (Gan et al., 2020; Phanthong et al., 2018; Zinge; Kandasubramanian, 2020).

Sendo assim, a nanocelulose dispõe de diversas possibilidades de aplicações como, por exemplo, na biomedicina, para fabricação de carreadores de medicamentos e curativos, na área farmacêutica, como estabilizante e anticonglomerante, na indústria, como texturizador de alimentos e bebidas, aerogéis super absorventes e termoembalagens, na eletrônica, para a produção de supercapacitores e membranas de alto fluxo, na produção agrícola, com hidrogéis responsivos, na produção automotiva e aeroespacial, com revestimento não inflamável, ademais, como solução ambiental, empregada na fabricação de filtros de purificação de água e materiais adsorventes de contaminantes (Lee et al., 2014; Reshmy et al., 2020; Voisin et al., 2017).

Em razão de sua química de superfície ajustável, a nanocelulose é uma excelente opção para reforço em matrizes poliméricas na produção de compósitos sustentáveis, sua combinação pode proporcionar melhorias nas propriedades mecânicas de outros materiais, além do mais, possui uma excelente dispersão em meio aquoso, e pode ser usada para síntese de materiais com propriedades atrativas, como hidrofobicidade, super hidrofiliicidade, ou até mesmo superfícies anti-corrosivas (Bangar et al., 2022; Phanthong et al., 2018).

Abaixo, na figura 7, têm-se a representação da parede celular vegetal, composta principalmente por celulose estruturada hierarquicamente.



Fonte: Adaptado de Rajinipriya et. al., 2018.

3.5.1 Nanofibras de celulose

Caracterizadas como emaranhados de fibras longas, semelhantes a uma teia, as nanofibras de celulose, constituídas por celulose amorfa e cristalina, podem assumir diâmetros de 2 a 20 nm e micrômetros de comprimento. Existem diversos meios para sua extração, tais como métodos de desintegração mecânica (por exemplo, ultrasonificação, moagem e homogeneização de alta pressão), por meio de processos químicos (por exemplo, oxidação mediada por tempo, carboximetilação), ou processos biológicos (por exemplo, hidrólise enzimática) (ABITBOL et al., 2016; Nechyporchuk; Belgacem; Bras, 2016). De acordo com Xu et al. (2013) em comparação aos nanocristais de celulose, as nanofibrilas se mostram superiores para reforço em compósitos, devido ao seu comprimento e flexibilidade, que proporcionam maior módulo de elasticidade e resistência ao material. As matrizes mais utilizadas para formação de biocompósitos são poliácido lático, polihidroxibutirato e amido (Khalil; Bhat; Yusra, 2012). Na figura 8, é possível observar o emaranhado de nanofibras análogo a uma teia.

Figura 8 - Nanofibras de celulose.



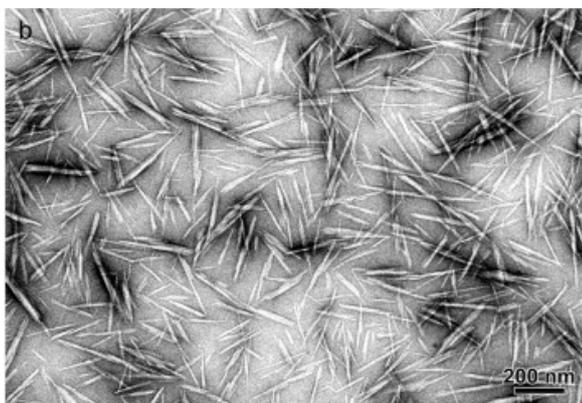
Fonte: Adaptado de Dufresne, 2013.

3.5.2 Nanocristais de celulose

Os nanocristais de celulose assemelham-se à agulhas ou bastonetes (figura 9), formados somente pela fração cristalina da celulose, os nanocristais geralmente apresentam diâmetros de 3 a 35 nm, e comprimento de 100 a 500 nm. Sua obtenção ocorre por meio de processos químicos a partir da hidrólise do domínio amorfo com

ácidos fortes, geralmente, ácido sulfúrico (Almashhadani et al., 2022). Conforme Kargarzadeh et al. (2017) no processo de hidrólise ocorre a formação de éster de sulfato, que aumenta a estabilidade de dispersão das partículas em solução aquosa. Devido sua alta cristalinidade, a nanocelulose cristalina é altamente estável em altas temperaturas, com uma faixa de 257-333 °C para degradação térmica (Gan et al., 2020).

Figura 9 - Nanocristais de celulose.



Fonte: Adaptado de Dufresne, 2013.

3.6 Toxicidade de nanomateriais

A nanotecnologia é um campo promissor multidisciplinar, que tem emergido com a proposta revolucionária de avanços nas mais diversas áreas, desde a medicina e eletrônica, até meio ambiente e energia. Para ser considerado um nanomaterial, uma substância deve possuir pelo menos uma dimensão menor que 100 nm. Em comparação aos materiais de tamanho convencional, os nanomateriais em seu tamanho crítico, apresentam propriedades superiores. Uma das principais características que propiciam tais propriedades é a grande área superficial e o volume por unidade de área, além disso, a mínima alteração no formato de uma nanopartícula é suficiente para alterar suas características (Demir, 2020; Nasrollahzadeh et al., 2019).

De acordo com Poduri (2021) à medida que nanomateriais são produzidos e inseridos na sociedade, preocupações surgem acerca da toxicidade das nanopartículas e seus potenciais riscos para os organismos. A exposição do ser humano a nanomateriais pode ocorrer por inalação, ingestão, contato pela pele e

injeção. O pequeno tamanho das partículas permite que elas ultrapassem facilmente a membrana celular e outros tipos de proteção biológica, causando disfunção nas células, ainda, suas proporções área superficial e volume, podem ser catalíticos ou reativos, causando efeitos tóxicos aos organismos (Fu et al., 2014). Em vista disso, a investigação do potencial toxicológico de nanopartículas é essencial para garantir o uso seguro da nanotecnologia, além de ser um requisito obrigatório para a obtenção de licenças de produção e comercialização de nanomateriais (Gottardo et al., 2021).

Conforme Fischer e Chan (2007), nos últimos anos a maioria das pesquisas sobre nanotoxicidade concentrou-se em sistemas *in vitro* como cultura celular, no entanto, essas análises podem apresentar erros, sendo de suma importância a verificação com experimentação em animais. Os sistemas *in vivo* são extremamente complexos e a compreensão das propriedades químicas e físicas das nanoestruturas nos sistemas biológicos podem fornecer informações necessárias sobre respostas toxicológicas de nanomateriais, alguns exemplos de organismos para testes *in vivo* incluem espécies aquáticas e roedores. Modelos aquáticos são amplamente reconhecidos como pré-triagem para rastreamento de toxicidade, a partir desses modelos, mecanismos de toxicidade aguda e crônica podem ser estabelecidos.

Apesar da nanosegurança ser considerada um tema recente, existem diretrizes e regulamentações que fornecem instruções para testes sistemáticos de nanotoxicidade. Conforme o “REACH” (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Substâncias Químicas) a avaliação de toxicidade de um nanomaterial deve adotar os mecanismos empregados na avaliação de produtos químicos convencionais, sendo eles: avaliação dos efeitos, avaliação da exposição e caracterização do risco (Zielińska et al., 2020). Assim, para garantir a segurança de um nanomaterial, e a projeção de novos materiais sustentáveis, ensaios de nanotoxicidade devem ser realizados seguindo as atribuições legais.

3.7 Toxicologia Aquática

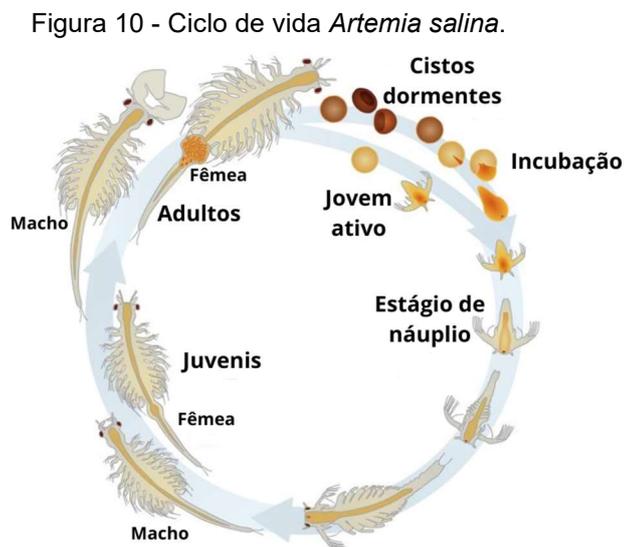
Os ecossistemas aquáticos, incluindo oceanos, rios e lagos, são essenciais para a manutenção da vida na terra, uma vez que contribuem para a biodiversidade, e fornecem serviços para a humanidade, como dessedentação, irrigação e atividades recreativas. No entanto, os ecossistemas aquáticos são os mais prejudicados com as atividades antrópicas e são cada vez mais ameaçados (Poff; Brinson; Day, 2002). De

acordo com Adams e Rowlan (2002), a toxicologia aquática está relacionada à investigação dos efeitos de poluentes tóxicos em organismos aquáticos. A vida aquática é composta por uma diversidade de organismos, desde micróbios a vertebrados, e a preservação desses ecossistemas é de extrema importância no que diz respeito à seguridade ambiental e ao meio equilibrado (Hawkins; Carlisle, 2022). A poluição dos ecossistemas aquáticos, causados por ação antrópica, na maioria das vezes ocorre por fontes difusas. Os organismos aquáticos desempenham papel importante a respeito do alerta precoce e monitoramento da carga poluente no ambiente aquático. Sendo assim, o uso de organismos representativos e sensíveis para a investigação do potencial toxicológico de agentes químicos, mostra-se como uma alternativa eficiente e viável (Oliveira; Vaz, 2018; Pritchard, 1993).

3.8 Bioensaios de toxicidade em *Artemia salina*

A *Artemia salina* é uma espécie de microcrustáceo, filo artrópode, da família Artemiidae, considerada uma espécie primitiva, que habita ecossistemas aquáticos salinos há mais de 100 milhões de anos. Destaca-se por características como a capacidade de sobreviver em águas hipersalinas de 10 a 340 g/L, sendo raramente encontrada em concentrações inferiores a 45 g/L, suportar variabilidades de temperatura (6 a 40 °C), e baixos níveis de oxigênio. Tem como origem as regiões mediterrâneas, mas está presente em todos os continentes (Dumitrascu, 2011; Nunes et al., 2006). Seu ciclo de vida é dividido em 3 fases: embrião na forma de cisto, que pode permanecer dormente em condições como ausência de água, náuplios em estágio de larva (instar) e adulto, podendo medir até 1 cm de comprimento (Stappen, 1996). De acordo com Lish (2019), este microcrustáceo invertebrado é classificado como um zooplâncton, do tipo filtro alimentador, não seletivo. Tem capacidade de ingerir micropartículas, o que os torna excelentes para testes ecotoxicológicos, incluindo nanotoxicidade. Além disso, outros *endpoints*, como curto ciclo de vida, facilidade no cultivo, bioacumulação, inibição do crescimento e alteração do comportamento (velocidade de natação), fazem esse organismo como um modelo reconhecido e amplamente difundido para realização de bioensaios de toxicidade (Libralato, 2014). Dessa forma, em 2017 foi lançada a ISO/TS 20.787, visando a padronização de procedimentos para testes de nanotoxicidade, tendo a larva de artêmia (*Artemia salina*), como modelo aquático de referência (Varó et al., 2019). A

ISO prevê a especificação de métodos que maximizem a confiança e repetição dos testes, para verificar se nanopartículas apresentam potencial toxicológico em náuplios de *Artêmia*. Vale salientar que o uso de náuplio no estágio de larva, mais precisamente, nas primeiras 48 horas de vida, tem maior conveniência nos testes, devido seu fácil manuseio e custo (Johari, 2018). A figura 10, mostra o ciclo de vida do microcrustáceo *Artemia salina*, desde a fase de cistos dormentes, até a fase adulta, onde é possível observar a fêmea adulta com o desenvolvimento da bolsa de cistos.



Fonte: Adaptado de Casanova, 2011.

4 METODOLOGIA

Neste tópico está delineada a abordagem metodológica adotada para realização deste trabalho. Nele são descritos todos os procedimentos, etapas, materiais e equipamentos utilizados. Esta pesquisa foi desenvolvida nos laboratórios do Centro de Ciência e Tecnologia Ambiental (CCTA), da Unipampa, campus Caçapava do Sul.

4.1 Obtenção das nanofibras de celulose

A avaliação toxicológica foi realizada nas as nanofibras de celulose, desenvolvidas pelo Grupo de Química de Materiais do Pampa (GQMate). Seguindo o método de Barbosa (2022), a síntese da nanocelulose empregou como fonte de matéria-prima, o bagaço de azeitona proveniente da empresa Prosperato - Empório

e Lagar, localizada no município de Caçapava do Sul - RS, que utiliza o método bifásico no processamento. O bagaço foi pré-tratado segundo a técnica organossolve de Teramoto, Lee e Endo (2008). Resumidamente, esta técnica baseia-se no uso de solventes orgânicos e renováveis, como etanol e ácido acético, para deslignificação da biomassa, seguido do branqueamento realizado sem uso de derivados de cloro. Por fim, o material é submetido a desfibrilação mecânica para a separação das nanofibras de celulose.

4.2 Preparo das amostras

Visando facilitar a aplicação da nanocelulose frente aos náuplios de *Artemia salina*, o material foi submetido a uma série de diluições. Inicialmente a nanocelulose, em forma de suspensão (9,3%), tratada pelo método explosão à vapor organossolve, foi seca em estufa, em vidro de relógio, a uma temperatura de 105°C, por cerca de uma hora. Em seguida, o material foi raspado e pesado. Para a segunda etapa, foram preparadas as diluições do material com dimetilsulfóxido (DMSO) a um teor de 0,5%.

4.3 Avaliação de toxicidade aguda frente aos náuplios de *Artemia salina*

Conforme a ISO/TS 207:87 (2017), náuplios de *Artemia salina* podem ser utilizados como confiáveis bioindicadores para a avaliação dos efeitos nanotoxicológicos de nanomateriais em água salgada. Seu baixo custo, fácil manuseio e não exigência de técnicas assépticas, são vantagens que difundem ainda mais seu uso em testes de toxicidade. O modelo empregado para a avaliação de toxicidade frente a náuplios de *Artemia salina* foi adaptado conforme o proposto por Lima et al. (2011) e Sousa et al. (2023). As avaliações toxicológicas foram realizadas em um sistema com solução salina 3,5%, pH 8, oxigenação controlada, fotoperíodo e disponibilidade de alimento. Para isso, foram utilizados recipientes cilíndricos de vidro com dimensões de 4 cm de altura, 4,5 cm de diâmetro, aerador de aquário, pHmetro, estufa de foto período (12 horas, 28 °C), spirulina (0,05%). Todas as amostras foram realizadas em triplicata, incluindo os controles, e os controles contendo somente DMSO (0,5%). Os cistos foram adquiridos de origem comercial. A solução salina utilizada em todo o experimento foi prepara com água deionizada. A seguir na tabela 2, são expressos os valores de concentração e volume das

substâncias utilizadas no experimento.

Tabela 2 - Valores de concentrações ($\mu\text{g/mL}$) e volume (mL) utilizados durante a realização dos experimentos.

Amostras	Concentração de		
	Nanofibras de celulose ($\mu\text{g/mL}$)	DMSO (mL)	Solução salina (mL)
Controle	0	0	10
DMSO	0	0,05	9,95
1	5	0,05	9,95
2	10	0,05	9,95
3	50	0,05	9,95
4	100	0,05	9,95

Fonte: A autora, 2024.

4.3.1 Porcentagem de eclosão dos cistos de *Artemia salina*.

Para o teste de eclodibilidade, foi adaptado o modelo sugerido por Libralato et al. (2016) e Lima et al. (2011). De maneira geral, os cistos de *Artemia salina*, foram inicialmente tratados com hipoclorito de sódio (NaClO), para a remoção da casca involucra, que propicia maior homogeneidade no processo de eclosão. Dessa forma, 75 mg de cistos foram pesados, e adicionados a 10 mL de solução de NaClO (10%), e deixados de molho por 15 minutos, até o clareamento do cisto. Em seguida, os cistos foram filtrados e enxaguados em solução salina (3,5%) abundante. Posteriormente, os cistos foram adicionados em 20 mL de solução salina, e a coleta para o ensaio ocorreu a partir da pipetagem dos cistos em solução. Assim, realizando movimentos circulares com o recipiente para homogeneização, foram pipetados 250 μL de solução, contendo aproximadamente 25 cistos, em cada amostragem. Os cistos foram dispostos no sistema ideal citado (4.3), onde as nanofibras de celulose já haviam sido incluídas. A contagem dos cistos eclodidos em náuplios ocorreu para o tempo de 24, 48 e 72 horas.

As concentrações adotadas do material para o ensaio de eclosão consistiram em 5, 10, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$, além do controle e controle de DMSO (0,5%). Para determinar a porcentagem de eclosão de cistos (E) utilizou-se a seguinte fórmula

descrita por Sellami, Naceur e Kacem (2020):

$$E\% = N/NT \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, E é a porcentagem de eclosão, N é o número de cistos eclodidos, e NT é quantidade total de cistos.

4.3.2 Análise de deslocamento

Para a análise de deslocamento, foi seguido o proposto por Nagai et al., (2023). Em primeiro momento a movimentação foi registrada a partir de gravações de vídeo, feitas sob um sistema elaborado com a câmera fixada em uma base com haste, e fundo milimetrado. Para analisar quantitativamente a movimentação dos náuplios de *Artemia salina*., a trajetória foi medida através do software ImageJ/Fiji, fazendo o uso do *plug-in* de rastreamento TrackMate. O TrackMate é uma ferramenta especificamente elaborada para realizar rastreamento e análise de objetos em movimento, integrando algoritmos de última geração para detecção de segmentação. Para o rastreamento foi escolhido o detector de ponto por diferença Gaussiana (Dog), e o rastreador de segmentação (Simple LAP tracker). Os vídeos foram realizados por 10 segundos e sequenciados em imagens, com 10 FPS e intervalo de frame de 0,1 segundos, assim, resultando num sequenciamento de 100 imagens. Foi escolhido um indivíduo de forma aleatória para a medição do deslocamento, foram utilizados os náuplios do experimento de sobrevivência.

4.3.3 Estudo da sobrevivência

No estudo de sobrevivência, adotou-se, de maneira similar, o sistema citado (4.3). No entanto, no que diz respeito à eclosão dos cistos, aplicou-se o procedimento proposto por Lish e cols. (2019). De maneira geral, os cistos previamente tratados com NaClO, foram dispostos em um bécker de 200 mL com solução salina, aeração constante, e spirulina. Após a eclosão dos cistos, uma quantidade de 10 larvas na fase instar II (48h após a eclosão) foram coletadas e expostas a faixa de concentração de (5 – 100 µg/mL) do nanomaterial. A contagem foi realizada após 24 e 48h de exposição. A mortalidade do náuplio foi evidenciada por sua falta de movimento e

sedimentação.

4.4 Análise estatística

Para análise estatística e representação gráfica foi utilizado o software GraphPad Prism 10. Foi aplicado análise ANOVA, seguido do teste pós hoc de Tukey, de uma e duas vias, sendo os valores de $p < 0,05$ considerados como estatisticamente significativos.

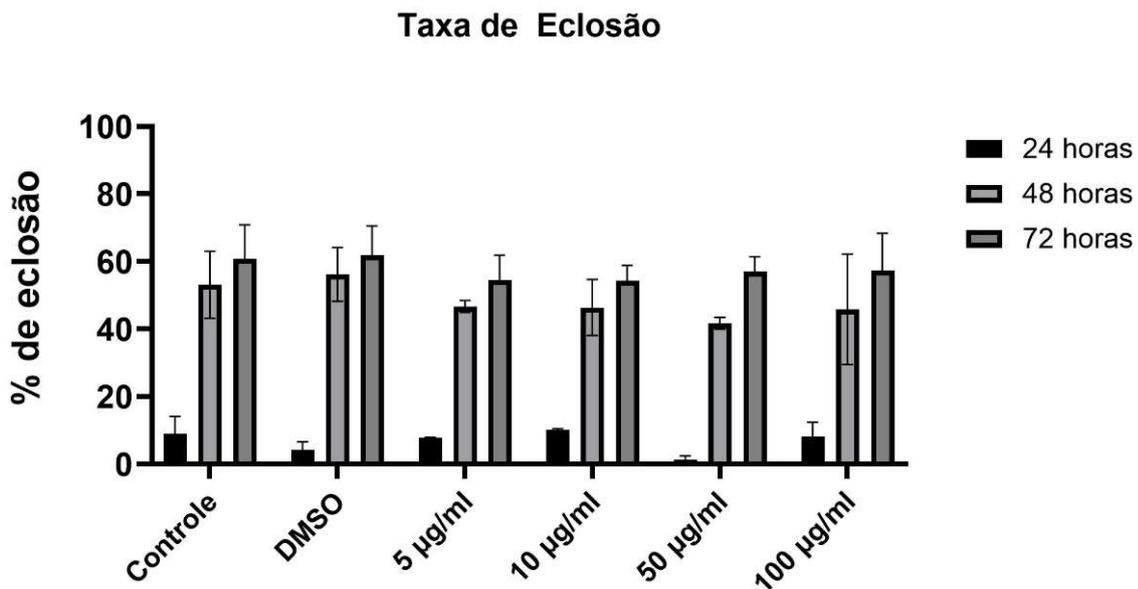
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação de toxicidade aguda frente aos náuplios de *Artemia salina*

5.1.1 Porcentagem de eclosão dos cistos

Na figura 11 é expresso graficamente os resultados obtidos para a taxa de eclosão dos cistos de *Artemia salina*.

Figura 11 – Efeito da exposição à nanocelulose sobre a taxa de eclosão dos cistos de *Artemia salina*. Resultados expressos como máxima, média e variância.



Fonte: A autora, 2024.

De modo geral, uma boa porcentagem de eclosão pode ser observada para

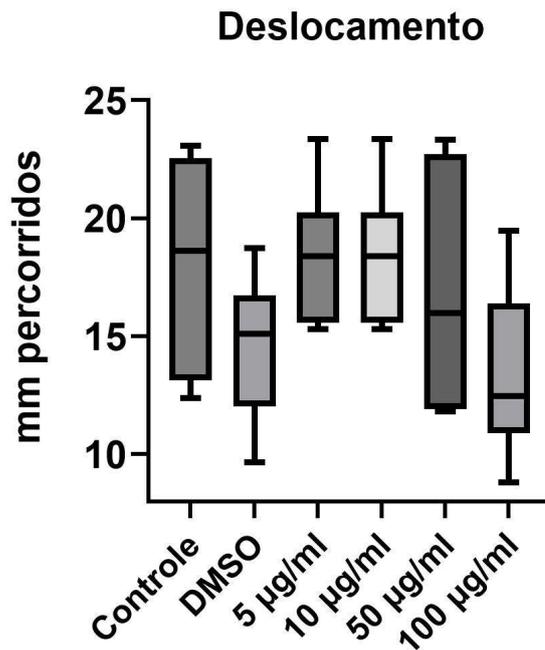
todos os grupos. Nas primeiras 24 horas, os valores de eclosão não foram muito expressivos, com média de 6,71% ($1,354 \pm$ erro padrão) de cistos eclodidos. No entanto, para 48 e 72 horas, obteve-se melhores resultados, com média de 48,33% ($2,165 \pm$ erro padrão) e 57,64% ($1,287 \pm$ erro padrão), respectivamente. Foi realizada análise estatística por ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey-Kramer, e a comparação entre cada um dos grupos tratado com o grupo controle não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em nenhum deles, mostrando que o material testado não implica potencial efeito de inibição sobre a eclosão de cistos.

Embora a análise de eclodibilidade seja semelhante à de letalidade, os efeitos nas propriedades da eclosão podem variar de acordo com a substância testada. Vale a pena destacar que mesmo com a ausência de resposta toxicológica do material sobre a eclosão, existem outros parâmetros fundamentais associados ao sucesso da eclodibilidade. Dentre eles destacam-se a salinidade, o pH e a temperatura. Todavia, para este estudo, foram adotadas condições ideais, e os resultados obtidos são compatíveis aos já relatados. Segundo Kumar e Babu (2015), que realizou um levantamento sobre a influência destes parâmetros sobre a eclosão de cistos de *Artêmia*, com uma salinidade de 35 g/L, pH 8 e temperatura próxima de 27 °C, a taxa de eclosão deve resultar em aproximadamente 58%, estando em conformidade ao obtido neste experimento. Dessa forma, é possível afirmar que a substância testada é segura e não houve interferência de fatores externos sobre a taxa de eclosão.

5.1.2 Análise de deslocamento

Os registros de deslocamento foram realizados durante os ensaios de sobrevivência, e os resultados de rastreamento obtidos através do *plug-in* Trackmate, são expressos na figura 12.

Figura 12 – Efeitos da exposição à nanocelulose sobre o deslocamento dos náuplios de *Artemia salina*. Os resultados expressam a máxima, mínima, média e variância do deslocamento percorrido em milímetros.



Fonte: A autora, 2024.

Com base nos resultados obtidos para a análise comportamental, não foi observado redução significativa no deslocamento dos náuplios expostos à nanocelulose. Para a concentração mais alta de 100 µg/mL observou-se uma tendência de queda na movimentação, com média de 13,35 mm, seguida pelo controle de DMSO (0,5%) que, por sua vez, apresentou deslocamento semelhante, com média de 14,58 mm. Além disso, as demais concentrações testadas não demonstraram efeito tóxicos sobre os organismos, sendo registrada média de 18,38 mm para as concentrações de 5 µg/mL e 10 µg/mL, e 16,32 mm para a concentração de 50 µg/mL, valores estes próximos ao obtido para o controle 18,08 mm. Ainda, observou-se que no todo a movimentação registrada para o tempo de 48 horas foi maior quando comparada à 24 horas, com 18,46 mm e 14,24 mm, respectivamente.

Realizou-se ANOVA ($p < 0,05$) de via única seguida de teste pos hoc de Tukey. Entre os valores de deslocamento para os grupos controle e teste. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística significativa entre as médias de deslocamento, sugerindo, dessa forma, que a nanocelulose não implica efeitos toxicológicos sobre a movimentação dos náuplios de *Artemia salina*.

Em virtude da ausência de estudos sobre o efeito da nanocelulose na locomoção de Artêmias, uma comparação com dados da literatura é dificultada. Entretanto, segundo Anufriieva e Shadrin (2014), a análise comportamental é um

parâmetro válido, e indica que deslocamento é uma medida sensível do estresse tóxico para uma ampla gama de contaminantes ambientais. Dessa forma, diante a ausência da observação de alterações na locomoção dos organismos, em contraste dos controles com grupos testes, existe um forte indicativo de que a substância não dispõe de toxicidade.

Por outro lado, (Lie et al., 2017) abordam uma investigação sobre efeitos toxicológicos de nanofibras de celulose em um diferente tipo de microcrustáceo, denominado *Daphnia magna*, mais conhecido como pulga d'água, amplamente encontrado em ecossistemas aquáticos doces. Embora o estudo tenha sido testado em outro organismo, os resultados validam que em concentrações baixas e moderadas, tidas como concentrações ambientais relevantes, não foram encontrados efeitos significativos sobre a natação dos organismos. Ainda, neste mesmo estudo é mostrado, que a presença das nanofibras de celulose na solução, pode ser um fator relacionado à redução da movimentação, o que justifica a tendência de menor deslocamento na concentração mais alta.

Em contraste, Kim et al. (2022), avaliou os efeitos de nanoplásticos sintéticos sobre náuplios de *Artêmia* e constatou que a exposição direta à nanopartículas de poliestireno provoca efeitos neurotóxicos e baixa capacidade de natação, reforçando os benefícios do nanopolímero natural, que, de maneira oposta aos polímeros sintéticos, não apresenta toxicidade significativa.

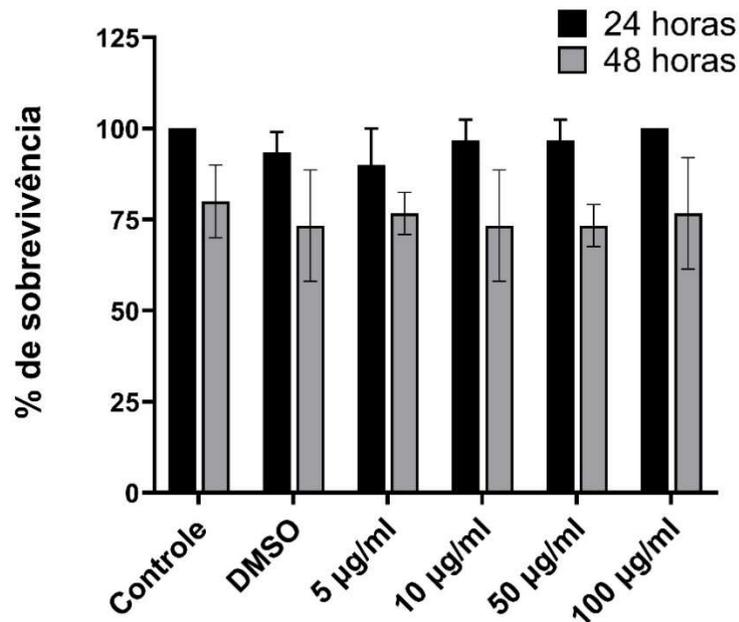
Em relação a movimentação ser superior para 48 horas, segundo Libralato et al. (2016), a justificativa se dá a partir da morfologia do organismo, sendo que a medida que o organismo cresce, é adquirido membros ao longo do tronco, que possibilitam uma maior quantidade de movimentação. Ainda, não somente associada aos membros, mas também a maiores reservas energéticas.

Dessa forma, diante da ausência da observação de alterações na locomoção sobre os náuplios de *Artemia salina*, durante a exposição à nanocelulose, é possível sugerir que o nanopolímero testado é uma substância aparentemente segura e biocompatível, que não detém de potencial toxicológico sobre a movimentação dos náuplios de *Artemia salina*. No entanto, devido à maior concentração de 100 µg/mL ter apresentado tendência de redução, recomenda-se que outros estudos sejam realizados adotando concentrações superiores.

5.1.2 Estudo da sobrevivência

A figura 13 mostra os resultados obtidos dos testes de toxicidade, nela é expressa o gráfico de mortalidade dos náuplios de *Artemia salina*, em função da concentração da nanocelulose após 24 e 48 horas de exposição.

Figura 13 – Efeitos da exposição à nanocelulose sobre a sobrevivência dos náuplios de *Artemia salina*. Os resultados expressam a máxima, média e variância.



Fonte: A autora, 2024.

Os ensaios de letalidade mostraram que praticamente todos os náuplios sobreviveram para todas as concentrações (5 -100 µg/mL), incluindo o controle e DMSO (0,5%), no tempo de 24 horas, com média total de 96,8% de organismos sobreviventes. No tempo de 48 horas, houve uma tendência maior de mortalidade, para todas as concentrações, incluindo o controle e DMSO (0,5%), com aproximadamente 75,56% para a média total de organismos sobreviventes.

Quando analisado estatisticamente, (ANOVA de duas vias, seguido do teste de Tukey-Kramer), não houve diferença significativa com $p < 0,05$ em nenhum dos grupos tratados quando comparados ao grupo controle. Isto sugere que o material testado não apresenta efeito letal significativo sobre o organismo testado. Hossen et al. (2024), avaliaram em sua pesquisa a citotoxicidade de nanofibras de celulose da fibra do quiabo, em condições semelhantes à adotadas neste estudo, com faixa de concentração (5 - 100 µg/mL), fazendo uso de DMSO (0,01%), com 10 náuplios (instar II), e constataram que em concentrações baixas e moderadas a nanocelulose

produzida não apresentou toxicidade, com (LD50 - 60 µg/mL). Por outro lado, Helm et al. (2020) avaliou a toxicidade de nanocelulose proveniente do resíduo de pupunha, em concentrações muito superiores às adotadas neste estudo, e verificaram que até 50 g/L, a nanocelulose não apresentou efeitos tóxicos significativos sobre náuplios de *Artemia salina*. Ainda, Arvidsson et al. (2022), realizaram uma estimativa da ecotoxicidade aquática para diferentes tipos de materiais avançados, incluindo nanocelulose, e obtiveram que dentre os materiais analisados, a nanocelulose foi o de menor preocupação, com menor nível de ecotoxicidade. Diante disso, esses resultados indicam que de fato, a nanocelulose, mesmo que proveniente de outras fontes de biomassa, não apresenta potencial tóxico significativo sobre o organismo testado.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, é possível afirmar que as nanofibras de celulose derivadas do bagaço de azeitona, não apresentam potencial toxicológico significativo sobre o organismo *Artemia salina*, uma vez que esta não apresentou efeitos adversos à substância testada durante os ensaios realizados. Este resultado atende as expectativas iniciais deste estudo, uma vez que é extensamente relatado na literatura a biocompatibilidade da substância, em virtude de sua origem biológica. Assim, é possível concluir que dentro das concentrações testadas a nanocelulose proveniente do bagaço de azeitona é considerado um material seguro, podendo ter suas aplicações amplamente desenvolvidas.

Ainda, recomenda-se que em estudos posteriores, o material seja testado em diferentes níveis tróficos e maiores concentrações para segurança. Além disso, a realização de análises mais aprofundadas, como o desenvolvimento morfológico e os efeitos citológicos em maiores tempos de exposição.

Ademais, este trabalho contribuiu de maneira significativa para o fomento do desenvolvimento de novas tecnologias e materiais ecológicos, que impactam de maneira positiva todas as esferas do desenvolvimento sustentável.

REFERÊNCIAS

ABITBOL, T. et al. Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 39, p. 76–88, 1 jun. 2016.

ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic Toxicology Test Methods. p. 43–68, 13 nov. 2002.

ADEL, A.; SALMAN, H.; HUNG, Y. –T. Olive Oil Waste Treatment. **Handbook of Industrial and Hazardous Wastes Treatment**, *E-book*: (p. 119-192), 2 ed., 2006. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203026519-23/olive-oil-waste-treatment-adel-awad-hana-salman-yung-tse-hung>. Acesso em: 3 mai 2023.

AHMAD, M. et al. The dynamic impact of natural resources, technological innovations and economic growth on ecological footprint: An advanced panel data estimation. **Resources Policy**, v. 69, p. 101817-101817, 1 dez. 2020.

AHMADI, M. Evaluating the Performance of 3Rs Waste Practices: Case Study-Region One Municipality of Tehran. **Advances in Recycling & Waste Management**, v. 2, p.1000130- 0001303, mai. 2017.

AKSOY, F.; ARLI, N. B. Evaluation of sustainable happiness with Sustainable Development Goals: Structural equation model approach. **Sustainable Development**, v. 28, n. 1, p. 385–392, 22 ago. 2019.

ALMASHHADANI, A. Q. et al. Nanocrystalline cellulose isolation via acid hydrolysis from non-woody biomass: Importance of hydrolysis parameters. **Carbohydrate Polymers**, v. 286, p. 119285–119285, 1 jun. 2022.

ALMEIDA, M. S. F. **OBTENÇÃO DE LIGNINA A PARTIR DO CAROÇO DO BAGAÇO DA AZEITONA ORIUNDO DA EXTRAÇÃO DO AZEITE**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia de Alimentos, Bagé, 2022. Disponível em: [https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/bitstream/riu/6917/1/TCC II Michaela FIN AL BIBLIOTECA.pdf](https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/bitstream/riu/6917/1/TCC%20II%20Michaela%20FIN%20AL%20BIBLIOTECA.pdf). Acesso em: 2 jun. 2023.

ANUFRIIEVA, E. V.; SHADRIN, N. V. The swimming behavior of Artemia (Anostraca): new experimental and observational data. *Zoology*, v. 117, n. 6, p. 415–421, 1 dez. 2014.

ARCAÑO, Y. D. et al. Xylitol: A review on the progress and challenges of its production by chemical route. **Catalysis Today**, v. 344, p. 2–14, 1 mar. 2020.

ARIF Z. U. et al. Biopolymeric sustainable materials and their emerging applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 4, p. 108159-108159, 1 ago. 2022.

ARVIDSSON, R. et al. Prospective environmental risk screening of seven advanced materials based on production volumes and aquatic ecotoxicity. **NanoImpact**, v. 25, p. 100393–100393, 1 jan. 2022.

BAJPAI, P. Structure of Lignocellulosic Biomass. **Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production**, p. 7–12, 1 jan. 2016.

BANGAR, S. P. et al. Surface modifications of cellulose nanocrystals: Processes, properties, and applications. **Food Hydrocolloids**, v. 130, p. 107689–107689, 1 set. 2022.

BARBOSA G. U; JAURIS, C. F. M. **DESENVOLVIMENTO DE ROTAS SUSTENTÁVEIS PARA OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE**. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 2, n. 14, 23 nov. 2022. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/115830>. Acesso em: 10 jun. 2023.

BHUTTO et al. Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass. **Energy**, v. 122, p. 724–745, 1 mar. 2017.

BRINCHI, L. et al. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 154–169, 1 abr. 2013.

CASANOVA, -L. M. **The Brine Shrimp of Great Salt Lake**. Wild About Utah. jan. 2011. Disponível em: <https://wildaboututah.org/the-brine-shrimp-of-great-salt-lake/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

CAYE, A. O desenvolvimento de um sistema setorial de inovação: a produção de azeite de oliva no Rio Grande do Sul. 2018, Dissertação (Mestrado em Economia) - Universidade do Vale do Rio dos Sinos. Programa de Pós-Graduação em Economia, São Leopoldo, 2018. Disponível em: <http://www.repositorio.jesuita.org.br/handle/UNISINOS/7007>. Acesso em: 30 mai. 2023.

CHIACCHIERINI, E. et al. Impact evaluation of innovative and sustainable extraction technologies on olive oil quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 6, p. 299–305, 1 jun. 2007.

CHU, Y. et al. Dispersion Properties of Nanocellulose: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, p. 116892–116892, 1 dez. 2020.

COSTA, B. S. L. M. **UM ESTUDO SOBRE A SUSTENTABILIDADE**. 2019. Especialização (Produção e Gestão do Ambiente Construído do Departamento de Engenharia de Materiais e Construção) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/30920/1/MONOGRRAFIA%20BIANCA%20ENCADERNADA%20C3%87%20C3%83O.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2023.

COSTA, L. T. Desempenho competitivo da cadeia produtiva do azeite de oliva extravirgem no Rio Grande do Sul. 2019, Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Agronegócios, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/248497>. Acesso em: 29 mai. 2023.

CRABBÉ, A. et al. Transition towards sustainable material innovation: evidence and evaluation of the Flemish case. **Journal of Cleaner Production**, v. 56, p. 63–72, 1 out. 2013.

DE, D. et al. Strategic biorefinery platform for green valorization of agro-industrial residues: A sustainable approach towards biodegradable plastics. **Journal of Cleaner Production**, v. 290, p. 125184–125184, 1 mar. 2021.

DEMIR, E. A review on nanotoxicity and nanogenotoxicity of different shapes of nanomaterials. **Journal of Applied Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 118–147, 27 out.

2020.

DHAHRI, S.; OMRI, A. Entrepreneurship contribution to the three pillars of sustainable development: What does the evidence really say? **World Development**, v. 106, p. 64–77, 1 jun. 2018.

DOMINGUES, E. et al. Olive oil extraction industry wastewater treatment by coagulation and Fenton's process. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, p. 101818–101818, 1 fev. 2021.

DUFRESNE, A. Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, v. 16, n. 6, p. 220–227, 1 jun. 2013.

DUMAN, A. K; OZGEN, G. O; ÜÇTUĞ, F. G. Environmental life cycle assessment of olive pomace utilization in Turkey. **Sustainable Production and Consumption**, v. 22, p. 126–137, 1 abr. 2020.

DUMITRASCU, M. Artemia salina. **Balneo Research Journal**, v. 2, n. 4, p. 119–122, 20 dez. 2011.

Ershov, D., Phan, M.-S., Pylvänäinen, J. W., Rigaud, S. U., Le Blanc, L., Charles-Orszag, A., ... Tinevez, J.-Y. (2022). TrackMate 7: integrating state-of-the-art segmentation algorithms into tracking pipelines. *Nature Methods*, 19(7), 829–832. doi:10.1038/s41592-022-01507-1

EVOOWR. **EVOO WORLD RANKING**, 2022. Disponível em: http://www.evooworldranking.org/_EN/top_25_soc_flavored.php. Acesso em: 16 jun. 2023.

FISCHER, H.; CHAN W. C. Nanotoxicity: the growing need for in vivo study. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 6, p. 565–571, 1 dez. 2007.

FREITAS et al. From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products? **Resources, Conservation and Recycling**, v. 169, p. 105466–105466, 1 jun. 2021.

FU, P. P. et al. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 22, n. 1, p. 64–75, 1 mar. 2014.

GAGO, J. M. et al. Synthetic microfibers in the marine environment: A review on their occurrence in seawater and sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 127, p. 365–376, 1 fev. 2018.

GAN, P. et al. Thermal properties of nanocellulose-reinforced composites: A review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 11, p. 48544–48544, 15 mar. 2020.

GARCIA, J.S. **Produção de oliveiras com foco na produção de azeite de oliva extravirgem – Olivas do Sul**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201902/27094056-tcc-producao-de-oliveiras-com-foco-na-producao-de-azeite-de-oliva-extravirgem.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2018.

GOTTARDO, S. et al. Towards safe and sustainable innovation in nanotechnology: State-of-play for smart nanomaterials. **NanoImpact**, v. 21, p. 100297–100297, 1 jan. 2021.

GOWTHAMAN, N.S.K. et al. Advantages of biopolymers over synthetic polymers. **Biopolymers and their Industrial Applications**, p. 351–372, 1 jan. 2021.

HALLSTEDT, S.; ISAKSSON, O. Material criticality assessment in early phases of sustainable product development. **Journal of Cleaner Production**, v. 161, p. 40–52, 1 set. 2017.

HANDL, G. **Declaration of the United Nations Conference on the Human Environment (Stockholm Declaration), 1972 and the Rio Declaration on Environment and Development, 1992**. [S. l.: s. n.], 2012. Disponível em: <https://www.globalhealthrights.org/wp-content/uploads/2014/06/Stockholm-Declaration1.pdf>. Acesso em: 06 mai. 2023.

HAWKINS, C. P.; CARLISLE, D. M. Biological Assessments of Aquatic Ecosystems.

Encyclopedia of Inland Waters, 2 ed., p. 525–536, 1 jan. 2022.

HEINZE, T. Cellulose: Structure and Properties. **Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials**, p. 1–52, 1 jan. 2015.

HELM, C. V. et al. **AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA EM *Artemia salina* DE SUSPENSÃO DE NANOFIBRILAS DE CELULOSE A PARTIR DO RESÍDUO DA PUPUNHA**. Embrapa. jun. 2013.

HENDRIKS, A.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10–18, 1 jan. 2009.

HOSSEN, M. T. et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity studies of nanocellulose extracted from okra (*Abelmoschus Esculentus*) fiber. **Heliyon**, v. 10, n. 3, p. e25270–e25270, 1 fev. 2024.

HUANG, J. et al. Introduction to Nanocellulose. **Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Materials**, p. 1–20, 29 mar. 2019.

IBRAHIM, M. S. et a. Biodegradable polymers for sustainable environmental and economic development. **MOJ Bioorganic & Organic Chemistry**, v.2, n.4, p. 192 – 194, 2018.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **BRAZIL OLIVE OIL IMPORTS**. Disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/02/IOC-Import-profiles-Brazil-2019-20-rev0.html>. Acesso em: 29 mai. 2023.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TS 20787:2017(en)**: Nanotechnologies - Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artemia* sp. Nauplii. Geneva: Novembro, 2017.

JOHARI, S. A. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artemia* sp. nauplii. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 2, 16 ago. 2018.

KARGARZADEH, H. et al. Methods for Extraction of Nanocellulose from Various Sources. **Handbook of Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites**, v. 1, p. 1–49, 3 mar. 2017.

KHALIL, A.; BHAT, A. H.; A.F. IREANA YUSRA. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 963–979, 1 jan. 2012.

KHALIL, M. et al. Waste to energy technology: The potential of sustainable biogas production from animal waste in Indonesia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 105, p. 323–331, 1 maio 2019.

KIM, M. et al. Advanced tracking system of multiple *Artemia* and various behavioral endpoints for ecotoxicological analysis. **Ecological indicators**, v. 116, p. 106503–106503, 1 set. 2020.

KUMAR, G. R; BABU, D. E. Effect of Light, Temperature and salinity on the growth of ARTEMIA. **International Journal of Engineering Science Invention**, v. 4, p. 07-14, dez 2015.

LAMMI, S. et al. Dry fractionation of olive pomace as a sustainable process to produce fillers for biocomposites. **Powder Technology**, v. 326, p. 44–53, 15 fev. 2018.

LEE, H.; HAMID, S.; ZAIN, S. K. Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process. **The Scientific World Journal**, p. 1–20, 1 jan. 2014.

LEE, K.-Y. et al. On the use of nanocellulose as reinforcement in polymer matrix composites. **Composites Science and Technology**, v. 105, p. 15–27, 1 dez. 2014.

LESLIE, C. M. et al. Shifting the Balance among the “Three Rs of Sustainability:” What Motivates Reducing and Reusing?. **Sustainability**, v. 13, n. 18, p. 10093–10093, 9 set. 2021.

LIBRALATO, G. et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. **Ecological indicators**, v. 69, p. 35–49, 1 out. 2016.

LIBRALATO, G. The case of *Artemia* spp. in nanoecotoxicology. **Marine Environmental Research**, v. 101, p. 38–43, 1 out. 2014.

LIE, E; ALANDER, E; LINDSTROM, Possible toxicological effects of nanocellulose. **Inventia Research Programme**, 2017 Disponível em: <<https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1266175/FULLTEXT01.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2024.

Lima, C. P. et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Botanica Brasilica**, 25(2), 331–336, 2011.

LISH, R. A. D. et al. 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**, v. 255, p. 113358–113358, 1 dez. 2019.

MEMON, M. A. Integrated solid waste management based on the 3R approach. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 12, n. 1, p. 30–40, 1 abr. 2010.

MIRANDA, I. et al. Valorization of lignocellulosic residues from the olive oil industry by production of lignin, glucose and functional sugars. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121936-121936, 1 nov. 2019.

MONDAL, S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 301–316, 1 maio 2017.

MOTA, M. et al. **DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE ECONÔMICA DE UMA INDÚSTRIA DE AZEITE DE OLIVA NO RIO GRANDE DO SUL**. out. 2009.

Disponível em: https://www2.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/EN/EN_00800.pdf.

Acesso em: 16 jun. 2023.

NAGAI, M. Y. D. O. et al. Highly Diluted Glyphosate Mitigates Its Effects on *Artemia salina*: Physicochemical Implications. *International journal of molecular sciences*, v. 24, n. 11, p. 9478–9478, 30 maio 2023.

NAIR, L. G.; AGRAWAL, K.; VERMA, P. An overview of sustainable approaches for bioenergy production from agro-industrial wastes. **Energy Nexus**, v. 6, p. 100086–100086, 1 jun. 2022.

NASROLLAHZADEH, M. et al. An Introduction to Nanotechnology. **Interface Science and Technology**, p. 1–27, 1 jan. 2019.

NECHYPORCHUK, O.; BORDES, R.; BELGACEM, M. N.; BRAS, J. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 2–25, 1 dez. 2016.

NUNES B. P. et al. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 2, p. 453–462, 1 nov. 2006.

NUNES, M. A. et al. Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid- and water-soluble components. **Science of The Total Environment**, v. 644, p. 229-236, 10 dez. 2018.

OLIVEIRA T. M. N., M.; VAZ, C. Marine toxicology: Assays and perspectives for developing countries. *Bioassays*, p. 387–401, 1 jan. 2018. *Glance. International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 13, p. 4657–4657, 28 jun. 2020.

Olivicultura cresce, apontam dados do Cadastro Olivícola do RS. **SUSAF**, Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/olivicultura-cresce-aponta-dados-do-cadastro-olivicola-do-rs#:~:text=O%20Rio%20Grande%20do%20Sul,litros%20de%20azeite%20no%20Est>

ado. Acesso em: 29 mai. 2023.

PABLO, I.; ROSA A. L. T. POTENCIAL DA OLIVICULTURA NO SUL DO BRASIL. **Revista Científica Agropampa**, v. 1, n. 1, p. 114–123, 2020.

PARASCANU, M. M. et al. Life cycle assessment of olive pomace valorisation through pyrolysis. **Renewable Energy**, v. 122, p. 589–601, 1 jul. 2018.

PARIATAMBY, A.; FAUZIAH, S. H. Sustainable 3R Practice in the Asia and Pacific Regions: The Challenges and Issues. **Municipal Solid Waste Management in Asia and the Pacific Islands**, p. 15–40, 5 set. 2013.

PETERSSON, L.; KVIEN, I; OKSMAN, K. Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. **Composites Science and Technology**, v. 67, n. 11-12, p. 2535–2544, 1 set. 2007.

PETRAKIS, C. Olive Oil Extraction. **Olive Oil (Second Edition)**, p. 191–223, 1 jan. 2006.

PHANTHONG, P. et al. Nanocellulose: Extraction and application. **Carbon Resources Conversion**. v. 1, n. 1, p. 32–43, 1 abr. 2018.

PICCARDO, M. et al. Impacts of Plastic-Made Packaging on Marine Key Species: Effects Following Water Acidification and Ecological Implications. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 9, n. 4, p. 432-432, 1 abr. 2021.

PISANI, J. A. D. Sustainable development – historical roots of the concept. **Environmental Sciences**, v. 3, p. 83-96, 26 fev. 2007. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15693430600688831>. Acesso em: 06 mai. 2023.

PODURI, R. **Drug Discovery and Development**. Singapore: Springer Nature, 2021. *E-book*: (393-415 p.). Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-15-5534-3>. Acesso em: 07 jun. 2023.

POFF N. L.; BRINSON, M. M.; DAY, J. W. Aquatic Ecosystems & Global Climate Change – Potential Impacts on Inland Freshwater and Coastal Wetland (...). Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/248528187_Aquatic_Ecosystems_Global_Climate_Change_-_Potential_Impacts_on_Inland_Freshwater_and_Coastal_Wetland_Ecosystems_in_the_United_States. Acesso em: 25 set. 2023.

RAI, P. et al. Recent advances in the sustainable design and applications of biodegradable polymers. **Bioresource Technology**, v. 325, p. 124739–124739, 1 abr. 2021.

RAJINIPRIYA, M. et al. Importance of Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 3 fev. 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322923675_Importance_of_Agricultural_and_Industrial_Waste_in_the_Field_of_Nanocellulose_and_Recent_Industrial_Developments_of_Wood_Based_Nanocellulose_A_Review. Acesso em: 3 jun. 2023.

RESHMY, R. et al. Nanocellulose-based products for sustainable applications-recent trends and possibilities. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 19, n. 4, p. 779–806, 3 out. 2020.

ROJAS, L.; ZAPATA, P.; RUIZ-TIRADO, L. Agro-industrial waste enzymes: Perspectives in circular economy. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 34, p. 100585–100585, 1 dez. 2021.

ROUTRAY, S. Building Sustainable Businesses with the 3 R (Reduce, Reuse, Recycle) Philosophy—Emerging Economic Models in the Solid Waste Management Sector. **Emerging Economic Models for Sustainable Businesses**, p. 83–97, 1 jan. 2022.

SADH, P. K.; DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, 2 jan. 2018.

SAKAI, S. et al. International comparative study of 3R and waste management policy developments. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 13, n. 2, p. 86–102, 18 maio 2011.

SARAVANAN, A. et al. A review on bioconversion processes for hydrogen production from agro-industrial residues. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 88, p. 37302–37320, 30 ago. 2021.

SARKHEIL, M. et al. Acute toxicity, uptake, and elimination of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using saltwater microcrustacean, *Artemia franciscana*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 57, p. 181–188, 1 jan. 2018.

SELLAMI, I.; NACEUR, H. B.; KACEM, A. Study of Cysts Biometry and Hatching Percentage of the Brine Shrimp *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) from [...]. **Aquaculture Studies**, v. 21, p. 41-46, dez. 2022.

SIDDHARDHA, B.; DYAVAIAH, D.; KASINATHAN, K. Model Organisms to Study Biological Activities and Toxicity of Nanoparticles. Singapore: Springer Nature, 2020. *E-book*: (401-415 p.). Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-15-1702-0>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SILVA, A. et al. From waste to sustainable materials management: Three case studies of the transition journey. **Waste Management**, v. 61, p. 547–557, 1 mar. 2017.

SINDHU, R. et al. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 76–82, 1 jan. 2016.

SINGH, T. A. et al. Valorization of agro-industrial residues for production of commercial biorefinery products. **Fuel**, v. 322, p. 124284–124284, 1 ago. 2022.

SNEDDON, C.; HOWARTH, R. B.; NORGAARD, R. B. Sustainable development in a post-Brundtland world. **Ecological Economics**, v. 57, n. 2, p. 253–268, 1 maio 2006.

SOUSA, H. R. et al. Innovative hydrogels made from babassu mesocarp for technological application in agriculture. **Journal of Molecular Liquids**, v. 376, p. 121463–121463, 1 abr. 2023.

STAPPEN, G. V. **Introduction, biology and ecology of Artemia. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture**. 1996. Disponível em: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0m.htm#4.1.%20Introduction,%20biology%20and%20ecology%20of%20Artemia>. Acesso em: 8 jun. 2023.

STEARNS, P. N. **The Industrial Revolution in World History**. Boulder: Westview Press, 4. ed, p. 53-68, 2013.

SUDESH, K.; IWATA, T. Sustainability of Biobased and Biodegradable Plastics. **Special Issue: Green and Sustainable Chemistry and Technology in South and East Asia**, v. 36, n. 5-6, p. 433–442, 1 jun. 2008.

SUMAN, T. Y. et al. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on brine shrimp: First evidence highlighting the molecular mechanism through transcriptome analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123220–123220, 1 dez. 2020.

TAN, Y. K. et al. High-purity lignin from selective biomass fractionation with ternary deep eutectic solvents. **Green Chemistry**, v. 25, p. 3137-3151, 1 jan. 2023.

TANDON, G. Bioproducts from residual lignocellulosic biomass. **Advances in Biotechnology**, 2014. *E-book*. p.52-75. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268509053_Bioproducts_from_residual_lignocellulosic_biomass. Acesso em: 2 jun. 2023.

TEJERO, I. P. T; ROSA, A. L. T. POTENCIAL DA OLIVICULTURA NO SUL DO BRASIL. **Revista Científica Agropampa**, v. 1, n. 1, p. 114-123, 1 jul. 2020.

TERAMOTO, Y.; LEE, S.-H.; ENDO, T. Pretreatment of woody and herbaceous biomass for enzymatic saccharification using sulfuric acid-free ethanol cooking. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8856–8863, 1 dez. 2008.

TONG, S. Y.; EBI, K. L. Preventing and mitigating health risks of climate change. **Environmental Research**, v. 174, p. 9–13, 1 jul. 2019.

VARÓ, I. et al. Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp *Artemia franciscana* at physiological, biochemical and molecular levels. **Science of The Total Environment**, v. 675, p. 570–580, 1 jul. 2019.

VOISIN, H. et al. Nanocellulose-Based Materials for Water Purification. **Nanomaterials**, v. 7, n. 3, p. 57–57, 5 mar. 2017.

WATKINS, D. et al. Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. **Journal of Materials Research and Technology** v. 4, n. 1, p. 26–32, 1 jan. 2015.

WOO, W. et al. An overview on cell and enzyme immobilization for enhanced biohydrogen production from lignocellulosic biomass. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 96, p. 40714–40730, 1 dez. 2022.

WREGGE, M. S. et al. Zoneamento agroclimático para oliveira no estado do Rio Grande do Sul. **Portal Embrapa**, Pelotas, mai. 2009. ISSN 1806-9193. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/747040/zoneamento-agroclimatico-para-oliveira-no-estado-do-rio-grande-do-sul>. Acesso em: 29 mai. 2023.

WREGGE, M. S. et al. ZONEAMENTO EDAFOCLIMÁTICO DA OLIVICULTURA PARA O RIO GRANDE DO SUL. **Embrapa Clima Temperado**, Brasília, 2013. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/202107/28143415-zoneamento-edafoclimatico-oliveira-2013.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2023.

WRÓBLEWSKA-KREPSZTUL, J. et al. Recent progress in biodegradable polymers and nanocomposite-based packaging materials for sustainable environment. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, v. 23, n. 4, 2018.

XU, X. et al. Cellulose Nanocrystals vs. Cellulose Nanofibrils: A Comparative Study on Their Microstructures and Effects as Polymer Reinforcing Agents. **American**

Chemical Society, v. 5, n. 8, p. 2999–3009, 22 mar. 2013.

YOUSUF, A.; PIROZZI, D.; SANNINO, F. Fundamentals of lignocellulosic biomass. *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*, 2020. *E-book*. p. 1–15. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128159361000010?via%3Dihub>. Acesso em: 2 jun. 2023.

YU, X. et al. Harnessing the power of cellulolytic nitrogen-fixing bacteria for biovalorization of lignocellulosic biomass. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115235–115235, 1 out. 2022.

YUSUF, M. Agro-Industrial Waste Materials and their Recycled Value-Added Applications: Review. **Handbook of Ecomaterials**, *E-book*: (p. 1–11), 1 jan. 2017. Disponível em: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-319-48281-1_48-1. Acesso em: 2 jun. 2023.

ZHOU, X. et al. A Critical Review on Hemicellulose Pyrolysis. **Energy Technology: Generation, Conversion, Storage, Distribution**, v. 5, n. 1, p. 52–79, 2 ago. 2016.

ZHU, S. et al. Developmental toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artemia salina*. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 683–691, 1 nov. 2017.

ZIELIŃSKA, A. et al. Nanotoxicology and Nanosafety: Safety-by-Design and Testing at a Glance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 13, p. 4657–4657, 28 jun. 2020.

ZINGE, C.; KANDASUBRAMANIAN, B. Nanocellulose based biodegradable polymers. **European Polymer Journal**, v. 133, p. 109758–109758, 1 jun. 2020.