

ISSN - 2175.8395



# Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

2014

Editores:  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Caue Ribeiro de Oliveira  
Humberto de Mello Brandão  
Marlene de Barros Coelho  
Daniel Souza Corrêa  
Maria Alice Martins

**Embrapa**

RACHTANAPUN, P.; LUANGKAMIN, S.; TANPRASERT, K.; SURIYATEM, R. Carboxymethyl cellulose film from durian rind. Food Science Technology, Amsterdam, v. 48, n. 1, p. 52-58, 2012.

## ANÁLISE TOXICOLÓGICA EM RATOS WISTAR DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE KAFIRINAS E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA.

\*Juliana Aparecida Scramin<sup>1,2</sup>, Tassiane Regina Alves Corrêa<sup>1,2</sup>, Bruna Biffe<sup>1</sup>, Charles Chenwei Wang<sup>1</sup>, Keico Okino Nonaka<sup>1</sup>, Rubens Bernardes-Filho<sup>2</sup>, José Avelino Santos Rodrigues<sup>3</sup>, Lucimara Aparecida Forato<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação. <sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo  
\*ju.biotec08@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Análises toxicológicas foram realizadas em ratos machos da linhagem Wistar. Os animais do grupo experimental foram alimentados durante 30 dias com ração revestida com uma solução filmogênica contendo 2% de kafirinas com 0,25% de óleo de canola e 0,1% de nanopartículas de quitosana em etanol e comparados com o grupo controle, alimentados com ração sem revestimento durante o mesmo período. Os parâmetros analisados foram: ingestão hídrica e consumo de ração, excreção de fezes e urina, massa corporal e massa dos órgãos, bem como parâmetros bioquímicos realizados pela análise do soro sanguíneo e parâmetros biofísicos e biomecânicos realizados nos ossos coletados após a eutanásia. De acordo com os resultados, não foi possível identificar efeito nocivo pela ingestão da ração revestida, pois os resultados obtidos para o grupo experimental foram semelhantes aos adquiridos para o grupo controle.

**Palavras-chave:** Revestimento Comestível; kafirinas; Nanopartículas de Quitosana; Toxicidade.

### WISTAR RATS TOXICOLOGICAL ANALYSIS OF EDIBLE COATINGS BASED ON KAFIRINS AND CHITOSAN NANOPARTICLES.

#### Abstract

Toxicological tests were performed in Wistar male rats. The experimental group was feed during 30 days with ration (mashed) coated with 2% kafirins with 0,25% canola oil and 0,1% chitosan nanoparticles and compared with the control group feed with ration without coating during the same period. The analyzed parameters were: water intake and feed intake, excretion of feces and urine, body weight, organ weights, and biochemical parameters carried through the blood serum. According to the results, it was not possible to identify harmful effect when ingesting the coating, since the results obtained for the experimental group was very similar to those obtained for the control group.

**Keywords:** Edible coating; kafirins; Chitosan nanoparticles; Toxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

Para a comercialização e o consumo de alimentos “in natura” alguns fatores como aparência, aroma, textura e sabor são cruciais no momento da escolha. Para manter esses fatores por maior tempo, uma alternativa seria a aplicação de revestimentos comestíveis que agem como uma barreira em torno do alimento reduzindo a entrada e saída de gases, água, óleos, atuando como uma membrana contra a proliferação de agentes contaminantes como os fungos e bactérias (KROCTHA; MILLER, 1997). Dentre os materiais estudados, as proteínas, principalmente as hidrofóbicas como as Kafirinas (proteínas de reserva do sorgo) vem sendo utilizadas como matéria-prima para o desenvolvimento desses revestimentos comestíveis. Contudo, revestimentos a base dessas proteínas são geralmente quebradiços sendo necessário adicionar outros materiais que lhes confira flexibilidade como a nanopartículas. O uso de nanopartículas (NPs) na composição dos revestimentos comestíveis é uma forma de melhorar suas propriedades de aumento de tempo de prateleira (FERREIRA, 2011). No caso das nanopartículas de quitosana (NPs de QS), polissacarídeo oriundo de resíduos da indústria pesqueira, vem sendo estudado na aplicação de filmes comestíveis, pois a utilização destas NPs pode melhorar as propriedades mecânicas

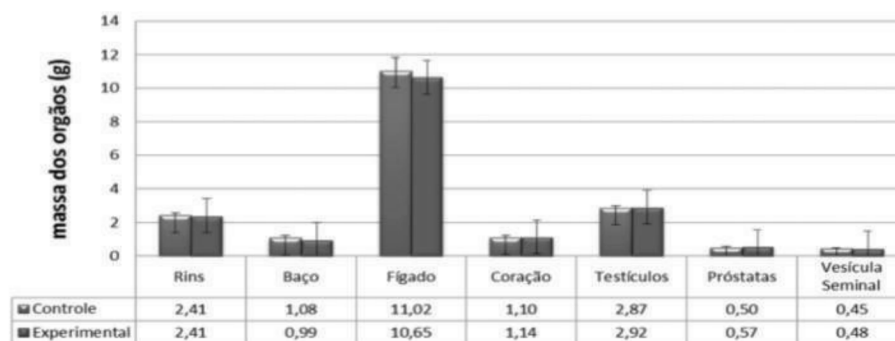
e de barreiras dos filmes (Moura et al., 2009). Além disso, estudos tem mostrado que NPs de QS e NPs de trimetilquitosana (TMQ) são estáveis e apresentam ação antimicrobiana (BLANCO, 2011), podendo evitar a proliferação de microrganismos na superfície dos alimentos. Como as NPs tem área superficial aumentada se comparadas com os materiais de mesma origem em escala maior, o seu comportamento provavelmente não será o mesmo, uma vez que suas propriedades foram modificadas, podendo causar algum efeito prejudicial ao organismo quando ingeridos (SOZER; KOKINI, 2009). Muitos trabalhos realizados sobre nanotoxicologia estão voltados para testes realizados em células “*in vitro*”, porém estes resultados podem não corresponder ou substituir os resultados obtidos em testes “*in vivo*”, havendo, então, a necessidade de se utilizar cobaias para a realização dos testes toxicológicos, pois, dependendo da forma na qual as NPs são administradas (via oral ou respiratória), as NPs podem seguir rotas diferentes no organismo (WANG, 2010).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do experimento toxicológico, inicialmente preparou-se uma solução contendo 2% de Kafirinas + 0,25% óleo de canola (OC) + 0,1% de NPs de quitosana diluídas em etanol absoluto sob agitação magnética por 4 horas. A ração comercial da marca Nuvilab já triturada foi então revestida, colocada em bandejas e seca em temperatura ambiente. As cobaias utilizadas foram ratos machos da variedade Wistar com idade de 3 meses. O experimento foi dividido em grupos de 10 ratos controles (alimentados com ração sem revestimento) e 10 ratos experimentais (alimentados com ração revestida). Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas em um regime de luz (10 horas claro e 14 horas escuro) em temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) para quantificar o consumo de ração, ingestão hídrica bem como realizar a coleta das fezes e urina. As fezes foram pesadas e o volume de urina quantificado. Os animais foram pesados 1 vez por semana, durante as 6 semanas de duração do experimento pesados para a obtenção dos valores referente à massa corporal. Após os 30 dias de experimento, os animais foram sacrificados. No dia do sacrifício, foram coletados os órgãos (rins, baço, fígado, coração, testículos, próstatas e vesícula seminal) e os mesmo foram pesados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A coleta do sangue foi realizada assim que os ratos foram sacrificados, o mesmo foi centrifugado para a obtenção do soro. Os parâmetros bioquímicos foram obtidos pelo laudo elaborado pelo laboratório Mariçondi da cidade de São Carlos. Este protocolo experimental com cobaias foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de São Carlos. Protocolo nº 078/2012. Todos os resultados foram comparados entre o grupo controle e experimental pela análise da variância ANOVA seguido do teste t de Student aplicados pelo software Oringin. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

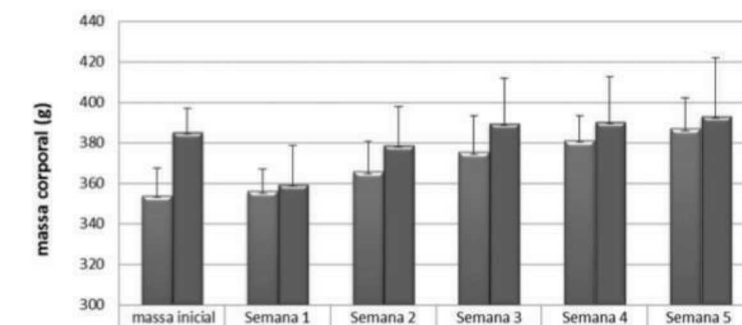
A pesagem dos animais é uma forma de verificar se os mesmos estão perdendo ou ganhando massa corporal (MC). Após uma semana de experimento, o grupo controle não apresentou alteração significativa em sua MC enquanto que o grupo experimental apresentou diminuição de aproximadamente 6,7% no valor médio, como mostra a figura 1.



**Figura 1.** Gráficos representativos da massa corporal dos grupos controle (azul) e experimental (vermelho).

As alterações na MC na primeira semana de experimento já era esperado, devido às mudanças de ambiente e da forma na qual os ratos eram alimentados, pois Segundo Neves et al. (2013) a mudança comportamental e principalmente a alteração na alimentação, são os principais parâmetros que influenciam diretamente no metabolismo dos ratos. Porém, o grupo controle não sofreu perda de MC durante

este mesmo período. Essa diferença entre os grupos pode ser explicada com base nos dados obtidos na quantificação do consumo de ração. Na primeira semana o grupo experimental teve um consumo de ração inferior (94,64 g – média do acumulo de cada semana) quando comparado com o grupo controle (118,02). Sendo assim, essa perda de MC observada no grupo experimental durante a primeira semana de experimento pode então ser atribuída ao odor da ração revestida e a até mesmo ao gosto, uma vez que estes animais apresentam fatores sensoriais como olfato e paladar extremamente sensíveis, sendo capazes de detectar no ar odores de determinadas substâncias (ANDRADE et al., 2002). Entretanto, uma semana é considerada o tempo hábil para a readaptação destes animais. Nas semanas seguintes foi possível observar ganho de MC para ambos os grupos, como já esperado, indicando adaptação ao novo ambiente e crescimento de ambos os grupos e o mesmo foi observado no consumo de ração. O volume de água consumido pelos animais de ambos os grupos manteve-se num padrão durante todo o experimento para ambos os grupos e não houve diferença significativa de acordo com o teste Levene (teste t). O mesmo pode-se observar nos resultados obtidos pela quantificação das fezes e urina. Após os 30 dias de experimento, tanto o grupo controle quanto o grupo experimental foram eutanasiados, por decapitação, e foram retirados os seguintes órgãos: rins, baço, fígado, coração, testículos, próstata e as vesículas seminais onde os mesmo foram pesados para a obtenção de suas massas. As vesículas seminais foram esvaziadas para a pesagem. A análise mostrou que não houve diferença de massa entre os órgãos do grupo controle com os do grupo experimental.



**Figura 2.** Massa dos órgãos coletados após a eutanásia dos animais

Pela análise bioquímica sanguínea não se observou qualquer diferença significativa de acordo com o cálculo de Levene (teste t) e também não houve diferença significativa entre os grupos controle e experimental para todas as concentrações séricas aqui estudadas pela avaliação dos resultados apresentados na tabela 1.

**Tabela 1.** Concentrações séricas dos parâmetros bioquímicos analisados dos animais do grupo controle e experimental. Os dados estão apresentados como MED ± DP.

	Unidade	Controle	Experimental	
Triglicérides	mg/dL		64,44 ±27,08	78,89 ±27,57
Colesterol Total	mg/dL		62,78 ±6,61	69,44 ±7,60
Glicose	mg/dL		94 ±8,46	95,89 ±10,49
Ácido Úrico	mg/dL		1,41 ±0,46	1,31 ±0,32
Creatinina	mg/dL		0,58 ±0,07	0,51 ±0,03
AST	U/L		296,33 ±144,12	231,67 ±53,24
ALT	U/L		67,56 ±19,36	56,89 ±11,57
Fosfatase Alcalina	U/L		136,67±30,12	139,11±43,00
Fosforo	mg/dL		6,99 ±0,78	8,68 ±0,37
Cálcio	mg/dL		6,61±0,74	9,08 ± 0,54
Bilirrubinas Totais	mg/dL		0,2	0,2

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pelos testes toxicológicos indicaram que não houve diferença significativa nos parâmetros analisados entre os grupos controle e experimental. Isto indica que, neste pré diagnóstico, o revestimento contendo NPs de QS, não é nocivo, porém outros tipos de teste, como análise dos tecidos dos órgãos deverão ser realizados.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa Instrumentação; Profa. Dra. Keico Okino. – UFSCar e Dr. José Avelino Santos Rodrigues- Embrapa Milho e Sorgo.

#### REFERÊNCIAS

ANDRADE, A., PINTO, SC., OLIVEIRA, RS., *Animais de Laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p. 388, 2002.

BLANCO, M. A., *Avaliação da incorporação de nanopartículas de quitosana ao cimento endodôntico AH PLUS™*. 2011, 66 f. Dissertação de Mestrado (Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

FERREIRA, M. D. *Tecnologias Pós Colheita em Frutas e Hortaliças*. Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, 2011.

KROCHTA, J.; MILLER, K. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, v. 8, p. 228-237, 1997.

MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; ROBERTO J. AVENA-BUSTILLOS, TARA H. MCHUGH, JOHN M. KROCHTA, LUIZ H.C. MATTOSO. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *Journal of Food Engineering.*, v. 92, p. 448–453, 2009.

NEVES, S. M. P.; ONG, F. de M. P.; RODRIGUES, L. D.; SANTOS, R. A. dos; FONTES, R. S.; SANTANA, R. de O. *Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP*. São Paulo, 2013.

SOZER, N.; KOKINI, J. L. Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, Oxford, v. 27, n. 2, p. 82-89, 2009.

Wang, Charles Chenwei. *Efeito da administração crônica de nanopartículas de óxido de ferro magnético em ratos adultos jovens*. 2010, 77 p. Tese (Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

---

### **AVALIAÇÃO DE FILMES CELULÓSICOS, COM FUNÇÃO ATIVA ANTIOXIDANTE, COMO EMBALAGEM PARA CARNE COZIDA**

**Joice C. Resende, \*Victor G. L. Souza, Nilda de Fátima Ferreira Soares, Eber Antonio A. Medeiros, Ana Flávia R. Costa, Lucas P. Domenez, Luciano B. Rusciollelli**

Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

\* victorlauriano@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.