

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

AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS FILMES DE ZEÍNA COM ADIÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE NO ORGANISMO DE RATOS MACHOS DA VARIEDADE WISTAR

*CORRÊA, T. R. A.¹, SCRAMIN, J. A.¹, BIFFE, B.², WANG, C.C.², NONAKA, K. O.², FORATO, L.A.¹, BERNARDES-FILHO, R.¹.

¹Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. ²Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Fisiologia, SP.

*tassianecorrea@ig.com.br

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

Resumo

Para avaliar o efeito da ingestão de alimentos revestidos com filmes a base de zeína com adição de nanofibras de celulose, foi realizado um experimento com dois grupos de ratos Wistar. O primeiro grupo foi alimentado com ração revestida com o filme de zeína e nanofibra de celulose e o segundo com ração sem revestimento. Esses animais foram acompanhados diariamente quanto a seus hábitos fisiológicos e, após a eutanásia, analisou-se alguns órgãos e realizou-se teste sanguíneo. Os resultados indicaram que a ingestão da ração revestida com a solução filmogênica apenas alterou a quantidade hídrica ingerida pelos ratos, isso devido a ração após revestida ter um alto teor de proteína, além disso, a taxa de colesterol dos animais que se alimentaram com ração revestida apresentou um pequeno aumento, aumentando assim o tamanho do baço. Com isso, conclui-se que apesar de ter aumentado as concentrações séricas do colesterol total e peso do baço dos ratos experimentais em relação aos ratos controles, não foi observado alterações nos outros parâmetros analisados, o que é um indicativo de que a ração não causou problemas à saúde dos animais.

Palavras-chave: Filmes comestíveis; Nanofibras de celulose; Zeína; Nanotoxicidade.

EVALUATION OF CHRONIC INTERACTION OF ZEIN FILMS WITH CELLULOSE NANOFIBERS ADDITION IN THE ORGANISM OF WISTAR MALE RATS

Abstract

To evaluate the effect of intake based films coated with zein with added cellulose nanofibers, food, an experiment was conducted with two groups of Wistar rats. The first group was fed coated with zein film and cellulose nanofiber and the second with uncoated feed ration. These animals were monitored daily for their daily eating habits and after euthanasia examined whether some organ and blood test was performed. The results indicated that ingestion of the coated food changed only water quantity ingested by rats that feed after coated due to having a high protein content, in addition, the cholesterol of the animals that were fed diet coated presented a little altered, thereby increasing the size of the spleen. Thus, it is concluded that despite increased concentrations serum total cholesterol and spleen weight of the experimental rats compared to control rats, no change was observed in the other parameters analyzed, which is an indication that the diet did not cause health problems of animals.

Keywords: Edible films; Cellulose nanofibers; Zein; Nanotoxicidade.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de revestimentos comestíveis a base de proteínas altamente hidrofóbicas aplicadas diretamente na superfície de alimentos é uma das alternativas que vem sendo estudada para minimizar perdas referentes ao manuseio, armazenamento e transporte oferecendo ao produtor de frutas mais rentabilidade e ao consumidor produtos de maior qualidade.

Dentre os materiais estudados, as proteínas, principalmente as de origem vegetal são as mais promissoras por serem biodegradáveis, atóxicas e obtidas de fontes renováveis. Entre outras vantagens, filmes a base dessas proteínas quando aplicados diretamente nas superfícies de alimentos, não alteram a cor, sabor e formam uma barreira contra umidade e oxigênio diminuindo a troca gasosa com o ambiente, diminuindo as perdas nos processos pós-colheita (SCRAMIN et al., 2007), além de ter potencial para substituir o uso de polímeros sintéticos de uso tradicional nos alimentos, melhorando a integridade mecânica e as características dos alimentos.

Sendo assim, as zeínas (proteínas de reserva do milho) por serem hidrofóbicas se tornam um bom exemplo de matéria-prima para o desenvolvimento de filmes comestíveis. No entanto, o uso desta proteína pura é limitado, pois os filmes produzidos são quebradiços sendo necessário adicionar outros componentes como plastificantes e nanofibra de celulose, que são materiais de baixo custo e boas propriedades mecânicas (OLIVEIRA et al., 2009) que ajudam na homogeneização dos filmes e melhoram suas propriedades mecânicas.

As nanofibras de celulose vêm sendo incorporadas em soluções filmogênicas, pois além de serem biodegradáveis têm sido avaliadas em estudos como agente de reforço para matrizes poliméricas (MOREIRA et. al, 2010).

Os filmes comestíveis a base de zeínas com nanofibras de celulose, podem reduzir perdas e agregar valores em frutos e outros alimentos; contudo, mesmo os filmes sendo obtidos de fontes naturais e provavelmente não oferecerem qualquer riscos ao serem ingeridas, é necessário investigar o seu comportamento quando ingerida, se é retida em algum órgão, se é absorvida em nosso sistema digestivo ou se simplesmente ela é excretada. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a interação crônica dos filmes finos com o organismo de ratos machos da variedade Wistar.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanofibras de celulose foram gentilmente cedidas pelo grupo de Novos Materiais da Embrapa Instrumentação. Estas foram dispersas em água em uma ponteira ultrassônica. Após a dispersão das nanofibras adicionou-se etanol P.A. até obter uma solução de etanol 70%, em seguida foram adicionadas as zeínas em quantidade para se obter uma solução com 4% de massa. Após a adição da zeína, adicionou-se também o plastificante, no caso, ácido oleico (AO) e a solução foi homogeneizada sob agitação por 20 minutos.

Em seguida, foi misturado na ração triturada a solução filmogênica até obter uma massa molhada. Colocou-se essa ração para secar em estufa em temperatura de $\pm 28^{\circ}\text{C}$ por 2 dias até a total secagem.

Para o teste de toxicidade foi utilizado ratos da linhagem Wistar. Foram utilizados 20 ratos machos com idade de três meses de vida e tiveram a dieta padronizada com ração Nuvilab-Manutenção® e água, ambos à vontade. Os animais foram divididos em dois grupos. Um grupo de animais foram tratados, com ração revestida com filme de 4% de zeína, 0.1% de nanofibra de celulose e 0.25% de ácido oleico e o outro grupo de animais foram alimentados com a ração sem revestimento.

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas e acompanhados diariamente quanto a seus hábitos alimentares. Após o tratamento, os animais foram eutanasiados por decapitação

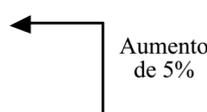
Os resultados apresentam-se como média acumulada da semana \pm EPM (Erro Padrão da Média), comparados entre o grupo de ratos experimental e o controle pela análise de variância ANOVA seguido do teste t de Student aplicados utilizando o software Origin Pro 9.0. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de água dos animais foi quantificado diariamente, durante todo o experimento. O volume de água consumido pelos animais não manteve um padrão durante todo o período, porém ao analisarmos o consumo acumulado médio de água dos animais, observamos que o grupo experimental consumiu volume maior do que o grupo controle, e isso foi significativamente diferente. Isto pode ser explicado, pelo aumento no consumo de proteína dos animais, pois segundo Freudenberg et. al (2012), ratos que foram tratados com uma dieta rica em proteínas houve um aumento considerável na ingestão hídrica e excreção de urina dos mesmos. O que condiz com os resultados de teor de proteína realizado na Embrapa Pecuária Sudeste na ração revestida oferecida aos ratos, onde mostrou que a ração revestida aumentou o teor proteico da mesma em aproximadamente 5%.

Tabela 1. Teor de proteína realizado em rações revestida e não revestida.

Análise do Teor de Proteína		
Nº. Lab.	SETEMBRO – 2013	g/Kg
1	Ração Revestida (Zeína + Nanofibra de Celulose)	37,14
2	Ração sem Revestimento	36,41


 Aumento de 5%

Como descrito por Oberdorster et al (2006), uma das possíveis rotas das NFCs é a absorção pelo trato gastrointestinal podendo ser eliminada pelas fezes ou circular na linfa e sangue e ser distribuídos para vários órgãos como rim, baço, fígado e coração. Na análise do peso do rim, baço, fígado e coração, se mantiveram com pesos semelhantes entre os dois grupos, no entanto o baço apresentou um aumento significativo segundo o teste T de Student em relação ao grupo controle.

Esse aumento no peso do baço do grupo experimental, pode ser explicado pelo aumento no nível do colesterol (tabela 3), pois segundo estudos realizados, normalmente as concentrações elevadas de gorduras podem provocar aumento no tamanho do baço.

Tabela 2. Tabela de peso dos órgãos: Rim, Baço, Fígado e Coração.

	Rim	Baço	Fígado	Coração
Experimental	2,4 g	11,4 g	1,2 g	1,3 g
Controle	2,3 g	10,2 g	1,3 g	

3.1 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS

Como mostrado na tabela 3, a análise bioquímica sanguínea do grupo de ratos experimental mostrou que a ingestão da ração revestida com filmes de zeína com adição de nanofibras de celulose não provocaram nenhuma alteração significativa nos parâmetros sanguíneos, exceto o colesterol total que no grupo experimental houve um aumento significativo.

Provavelmente a taxa metabólica dos animais foi aumentada, isto é, o gasto energético foi maior. Segundo Lei et. al (2008) isto pode ser devido à alteração fisiológicas das glândulas da tireóide, das adrenais ou da hipófise.

A demanda energética pode ser suprida pela lipólise, o que poderia acarretar o aumento dos níveis séricos de colesterol como foi observado nestes animais. O aumento do colesterol não afetou o fígado, pois os níveis de TGO, TGP e fosfatase alcalina não foram alteradas.

Tabela 3. Testes Sanguíneos dos animais.

Teste Sanguíneo dos animais			Teste Sanguíneo dos animais		
Tipo	Controle	Experimental	Tipo	Controle	Experimental
Ácido Úrico (mg/dL)	1,4	1,4		123,5	107,9
Creatinina (mg/dL)	0,6	0,5	Fósforo (mg/dL)	6,4	6,3
Triglicérides (mg/dL)	72,4	84,4	Cálcio (mg/dL)	9	8,9
			Bilirrubina Total (mg/dL)	0,2	0,2
Glicose (mg/dL)	95,6	88,7	Bilirrubina direta (mg/dL)	0,1	0,1
	286,8	260,9	Bilirrubina indireta (mg/dL)		
	71	61,3			

4 CONCLUSÃO

No experimento com os ratos Wistar alimentados por 7 semanas com filmes de zeína, com adição de nanofibras de celulose, para avaliar a nanotoxicidade, conclui-se que aumentaram as concentrações séricas do colesterol total e peso do baço dos ratos experimentais em relação aos ratos controles. Porém não foi observado alterações nos demais parâmetros analisados, além disso, tanto o grupo controle como o grupo experimental manteve um ganho na massa corporal durante todo o experimento, consumiram ração e ingeriram água de forma normal e excretaram também de forma normal, o que é um indicativo de que a ração revestida não alterou a saúde dos animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. A professora Keico Okino Nonaka por auxiliar e emprestar as dependências do laboratório de Neuroendocrinologia para a realização do experimento com os animais.

REFERÊNCIAS

FREUDENBERG, A.; PETZKE, K. J.; KLAUS, S. Dietary L-leucine and L-alanine supplementation have similar acute effects in the prevention of high-fat diet-induced obesity. *Amino Acids*, vol. 44, n. 2, p. 519–528, 2012.

LEI, R., WU, C., YANG, B., MA, H., SHI, C., WANG, Q., YUAN, Y., LIAO, M. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: a rapid in vivo screening method for nanotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 232, n. 2, p. 292-301, Oct 15 2008.

MOREIRA, F. K. V. Desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos biodegradáveis a partir de pectina, amido e nanofibras de celulose. São Carlos: UFSCar, 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 181 p., São Carlos, 2010.

OBERDÖRSTER, E.; ZHU, S.; BLICKLEY, T. M.; MCCLELLAN-GREEN, P.; HAASCH, M. L. Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C 60) on aquatic organisms. *Carbon*, v. 44, p. 1112–1120, 2006.

OLIVEIRA, F.B.; TEIXEIRA, E.M.; TEODORO, K.B.R.; MARCONCINI, J.M.; MATTOSO, L.H.C. Obtenção de nanofibras de celulose a partir de fibras de sisal para atuar como reforço em matrizes biodegradáveis. In *Anais do 10º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, CBPol, 10, 2009, Foz do Iguaçu. Anais...* São Carlos: ABPol, 2009. 1 CD-ROM.

SCRAMIN, J.A.; BRITTO, D. de; ASSIS, O.B.G.; COLNAGO, L.A.; FORATO, L.A. Caracterização da ação protetora de filmes à base de zeínas e ácido oléico aplicados em maçãs in natura. *Circular Técnica Embrapa Instrumentação*, v. 37, 3 p., 2007.

OTIMIZAÇÃO NO MÉTODO DE PREPARO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO POLPA DE CACAU

***Marcia R. de Moura¹, Thainara L. Castro¹, Luiz H. C. Mattoso²**

¹Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. ²LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

*marciadqi@gmail.com

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

Resumo

A produção de filmes comestíveis a partir de biopolímeros com polpas de fruta tem-se mostrado uma alternativa para produção de novas embalagens. O intuito de diminuir o descarte de materiais não degradáveis no ambiente tem impulsionado o desenvolvimento de matérias-primas a partir de materiais naturais e renováveis para a aplicação em embalagens para alimentos. O objetivo do trabalho foi produzir filmes comestíveis de pectina contendo polpa de fruta, nesse caso o cacau, para análises das melhores condições de síntese que serão estudadas posteriormente em trabalhos futuros no nosso grupo de pesquisa.

Palavras-chave: Polpa de cacau; Filme comestível; Pectina.

Abstract

The production of edible films from biopolymers with fruit puree has been an alternative for production of new packaging. The purpose of reducing the disposal of non-degradable materials in the environment has driven the development of raw materials from natural and renewable materials for application in food packaging. The objective was to produce edible films containing pectin and fruit puree, in this case cocoa, for analysis of the best synthesis conditions that will be studied later in future work in our research group.

Keywords: Cocoa Puree; Edible films; Pectin.