

---

## AValiação Bioquímica em Animais Submetidos a uma Dieta com Nanofibrilas de Celulose de Pupunha

---

Dayanne Regina Mendes Andrade<sup>1</sup>; Márcia Helena Mendonça<sup>2</sup>; Lorena Benathar Ballod Tavares<sup>3</sup>;  
Washington Luiz Esteves Magalhães<sup>4</sup>; Neli Branco de Miranda<sup>5</sup>; Ester Del Pra Busarello<sup>6</sup>; Kestur G.  
Satyanarayana<sup>7</sup>; Cristiane Vieira Helm<sup>8</sup>

Universidade Federal do Paraná (dayannerm@yahoo.com.br); Universidade Federal do Paraná  
(marmend@ufp.br); <sup>3</sup>FURB (lorena@furb.br); <sup>4</sup>Embrapa Florestas (washington.magalhaes@embrapa.br);  
<sup>5</sup>FURB (neli@furb.br); <sup>6</sup>FURB (esterbusarello@hotmail.com); <sup>7</sup>BMS College of Engineering, Bangalore  
(India); <sup>8</sup>Embrapa Florestas (cristiane.helm@embrapa.br)

---

**Projeto Componente: PC 05 Plano de Ação: PA 06**

---

### Resumo

A área de alimentos muito tem se beneficiado da nanotecnologia, entretanto, ainda não são claros os riscos de nanoestruturas ao organismo. Este trabalho teve como objetivo a investigação dos possíveis efeitos de nanofibrilas de celulose em ratos. Os resultados de glicemia, colesterol, triglicerídeos e histologia do fígado mostraram que a quantidade de nanofibrilas utilizada não causou malefícios ao metabolismo animal.

**Palavras-chave:** Nanocelulose; Colesterol total; Triglicerídeos; Histologia; Ensaio biológico.

---

### Introdução

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

As nanofibrilas são feixes de cadeias de celulose são estabilizadas por meio de ligações de hidrogênio. Elas tem diâmetro de 2 nm a 20 nm e comprimentos geralmente micrométricos (AZEVEDO, 2012)

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

As partículas de dimensões nanométricas podem entrar no corpo humano via pulmões e intestinos, entretanto as chances de penetração dependem do tamanho e das propriedades de superfície das partículas e também do ponto de contato no pulmão ou nos intestinos. A exposição também é possível por via cutânea, como no uso de cosméticos (HOET et. al., 2004) Portanto, nanomateriais, em função de sua área superficial aumentada, poderão causar efeitos tóxicos dentro do organismo, que, por sua vez, poderão não ser

aparentes como nos materiais de tamanho macro (SOZER et al., 2009).

Também não são claros os riscos ao meio ambiente advindos dos produtos em escala nano. Essas partículas, por serem extremamente pequenas, podem adentrar na cadeia alimentar, ou ainda afetar florestas e a qualidade do ar (SHATKIN, 2008).

Não há uma legislação com procedimentos específicos de testes e avaliação desses nanomateriais. Existem poucos dados científicos sobre potenciais efeitos de exposição a diferentes tipos de nanoestruturas sobre a saúde humana, portanto, cabe a investigação bioquímica e histologicamente com *Rattus norvegicus albinus* submetidos a dietas contendo diferentes concentrações de nanofibrilas da bainha da pupunha.

### Materiais e métodos

As nanofibrilas de celulose foram produzidas a partir do resíduo das bainhas de pupunha, obtido de uma agroindústria de palmito pupunha, localizada em Morretes, no Estado do Paraná. O processamento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Produtos Não-Madeiráveis da Embrapa Florestas (Colombo – PR).

A etapa preliminar consistiu em um branqueamento do resíduo com clorito de sódio e ácido acético P.A. Posteriormente foi realizada a fragmentação e moagem em Microprocessador

Super Masscolloider Masuko Sangyo, no Laboratório de Engenharia Florestal da UFPR.

O experimento foi realizado com quatro grupos de oito animais (grupo controle, 1, 2 e 3), de acordo com a variação da concentração de nanofibrilas adicionadas à ração (0, 7, 14 e 21% de suspensão de nanofibrilas respectivamente) e alimentados por 30 dias. Ao final dos 30 dias de experimento, os ratos foram mantidos em jejum de oito horas, com acesso à água *ad libitum* e sacrificados por overdose anestésica, conforme FIOCRUZ (2008), de xilazina, quetamina e barbitúrico. Imediatamente após o momento do sacrifício foram coletadas os fígados dos animais para as análises histológicas e amostras de sangue para as análises bioquímicas.

Para as análises de colesterol total e triglicerídeos foram utilizados kits da marca Analisa<sup>®</sup>. A determinação da glicemia sanguínea foi realizada com o emprego do sistema de monitoramento de Glicemia True Read da Marca HOME Diagnostics. Para as análises histológicas foi utilizado metodologia descrita por Ribeiro e Groztner (2012) e as lâminas foram analisadas por microscopia ótica.

## Resultados e discussão

A taxa de glicemia é fundamental para verificação dos processos homeostáticos do metabolismo. Os dados glicêmicos dos animais estão representados na Fig. 1.

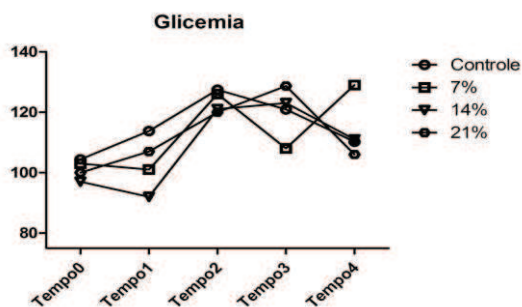


Fig. 1. Resultados da análise de glicemia nos diferentes grupos.

Não houve linearidade dos resultados com o passar do tempo. Os aumentos foram de 5%, 25%, 14,55% e 6% para os grupos controle, 1, 2 e 3, respectivamente. Não houve diferença significativa quando feita análise de interação entre glicose e tempos analisados, com o uso do ensaio Anova.

Quando os grupos foram analisados individualmente, também não houve diferença significativa para os valores no decorrer do tempo.

Embora não tenha sido possível encontrar um padrão de linearidade nos grupos de estudo com o aumento do tempo, todos os valores encontrados corroboram dados de Guimaraes e Mazáro (2004), de 116,1 mg/dL e também ficaram próximos aos dados de Dantas (2006), com 108,0 mg/dL. Tais resultados mostram que o suplemento fornecido para os animais em estudo, não afetou a taxa glicêmica, atestando a adequada manutenção da homeostase dos animais em experimentação.

Foram também determinados os valores de triglicerídeos e de colesterol total e os dados estão expressos na Fig. 2 e 3.

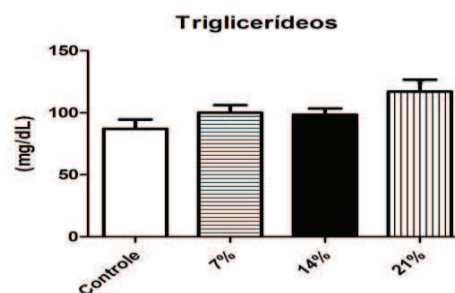


Fig. 2. Resultados da análise de triglicerídeos nos diferentes grupos.

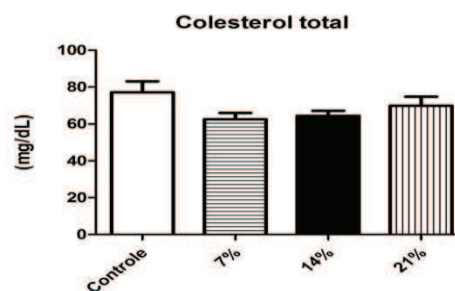


Fig. 3. Resultados da análise de colesterol total nos diferentes grupos.

Conforme mostrado na Fig. 2., os níveis de triglicerídeos encontrados para os animais foram de  $87 \pm 18,65$ ,  $100 \pm 16,24$ ,  $98,42 \pm 12,12$  e  $117 \pm 23,74$  mg/dL para os grupos controle, 1, 2 e 3, respectivamente. Valores que, não apresentaram diferenças significativas, quando comparados aos uns com os outros.

Todos os grupos tiveram valores próximos ao encontrado em estudos de Guimarãe et al.,(2004), (83,7 mg/dL), e também próximo aos resultados de Dantas (2006), com 82,0 mg/dL.

Os valores de colesterol total encontrados para os animais após o término do experimento estão apresentados na Fig. 3. Foram de  $77 \pm 17,06$ ,  $62 \pm 9,66$ ,  $64 \pm 7,87$  e  $70 \pm 13,93$  mg/dL para os grupos controle, 1, 2 e 3 respectivamente. Nenhum desses valores apresentou variações significativas.

Todos os valores de colesterol total foram

inferiores aos relatados por estudos de Guimaraes e Mazáro (2004), que foram de 83,7 mg/dL, e aos valores entre 98,9 e 110,2, mg/dL provenientes de estudos do Centro de Bioterismo da FMUSP (2008), com animais saudáveis não submetidos a nenhum tratamento.

Segundo a American Diabetes Association (2004) e também Botelho et al. (2002), o consumo adequado de fibras alimentares tem como benefícios, entre muitos outros, a redução do colesterol, o que não foi observado de forma significativa nos dados encontrados.

Cabe ressaltar que os parâmetros bioquímicos plasmáticos podem ser influenciados por sexo, linhagem, genótipo, idade, dieta, manuseio, ambiente, entre outros fatores.

As imagens do fígado dos animais estão mostradas na Fig. 4.

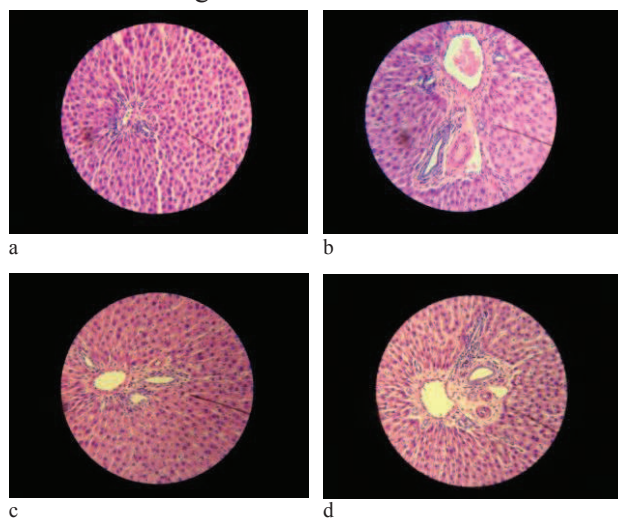


Fig. 4. Imagens histológicas do fígado dos animais após experimento com aumento de 400x. a. Grupos controle; b. Grupo 1; c. Grupo 2; d. Grupo 3.

Nas imagens histológicas de fígado pode-se observar estruturas normais, não sendo possível observar hepatócitos vacuolizados, alterações nos limites citoplasmáticos, cromatina nuclear condensada ou aumento na quantidade de macrófagos presentes na periferia dos sinusóides hepáticos. Esta análise confirma que os fígados dos animais não sofreram alterações.

Sendo assim, todos os resultados sugerem que a quantidade de fibras utilizada no experimento não foi suficiente para causar efeitos maléficis ao metabolismo animal.

### Conclusões

A glicemia sanguínea não sofreu alterações significativas com o tratamento em análise, indicando a manutenção de homeostase dos animais em experimentação.

O perfil lipídico também não mostrou aumento da concentração sérica de triglicerídeos com o aumento do percentual de nanofibrilas na ração e não houve alteração significativa nos níveis de colesterol total.

As análises histológicas não demonstraram diferenças entre os diferentes grupos.

Sendo assim, a quantidade de nanofibrilas utilizadas no presente trabalho não causaram efeitos deletérios no metabolismo animal.

### Agradecimentos

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

### Referências

- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Nutrition Principles and Recommendations in Diabetes. *Diabetes Care*, v. 27, supl.1, p.36-46, jan. 2004.
- AZEVEDO, H. M. C., Fundamentos de estabilidade de alimentos. 2. Ed. Editora técnica, Brasília, DF: Embrapa, 2012.326p.
- BOTELHO, L., CONCEIÇÃO, A., CARVALHO, V.D. Caracterização de fibras alimentares da casca e cilindro central do abacaxi 'Smooth Cayenne'. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v.26, n.2, p.362-367, mar./abr., 2002 .
- FIOCRUZ, Manual de Utilização de animais. Rio de Janeiro, 2008.
- GUIMARÃES, M. A.; MAZÁRO, R. Princípios éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação. São Paulo: UNIFESP (2004).
- MORARU, C.; PANCHAPAKESAN, C.; HUANG, Q.; TAKHISTOV, P.; LIU, S.; KOKINI, J. Nanotechnology: A new frontier in food science. *Food Technology*, Chicago, v. 57, n. 12, p. 24-29, 2003.
- HOET, P. H. M.; BRÜSKE-HOHLFELD, I.; SALATA, O. V. Nanoparticles - known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 2, n. 12, p. 1-15, 2004.
- SHATKIN, J. A. Nanotechnology: Health and Environmental Risks. Nova Iorque: CRC Press - Taylor and Francis Group, 2008. 167 p.
- 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.