

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**ANAIS DO VII WORKSHOP DA REDE DE  
NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

Maria Alice Martins  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Embrapa Instrumentação  
São Carlos, SP  
2013

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
www.cnpdia.embrapa.br  
E-mail: cnpdia.sac@embrapa.br

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Sandra Protter Gouvea  
Valéria de Fátima Cardoso  
Membro Suplente: Dra. Lucimara Aparecida Forato

Revisor editorial: Valéria de Fátima Cardoso  
Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Ângela Beatriz De Grandi  
Imagem da capa: Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus  
Loures Mourão, Viviane Soares

**1a edição**

1a impressão (2013): tiragem 50

Todos os direitos reservados.  
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).  
CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Instrumentação

---

Anais do VII Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio –  
2012 - São Carlos: Embrapa, 2012.

Irregular  
ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Assis, Odílio Benedito Garrido de.  
III. Ribeiro, Caue. IV. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. V. Embrapa Instrumentação.

---

© Embrapa 2013

---

## ANALISE DO TECIDO ÓSSEO POR MICROTOMOGRÁFIA E DENSITOMETRIA DE RATOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO REVESTIDA COM FILMES DE KAFIRINA E NPs 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>, Douglas de Britto<sup>2</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

**Projeto Componente:** PC3 e PC6      **Plano de Ação:** PA1 e PA2

---

### Resumo

O tecido ósseo é considerado um material de construção com a capacidade de formar as estruturas mais resistentes encontradas no corpo de um indivíduo. Para avaliar a morfologia e composição mineral dos ossos como o fêmur, tíbia e vértebras de ratos alimentados com ração revestida com filme comestível de kafirina e NPs de quitosana para avaliar o impacto desses filmes sobre o tecido ósseo, foram utilizadas as técnicas de microtomografia de raio-x e a densitometria. Foi possível observar que o filme não interfere na estrutura óssea desses animais, uma vez que os resultados obtidos não apresentaram diferença significativa quando comparados com grupo controle.

**Palavras-chave:** filmes de Kafirina e NPs de quitosana, microtomografia, densitometria, tecido ósseo.

---

### Introdução

O osso é o tecido conjuntivo mais duro, forte e resistente que existe no corpo. Essas características são devidas à combinação de sais como sódio, magnésio, carbonato de cálcio entre outros necessários para a formação e manutenção do tecido. Além da função estrutural, o osso é fundamental para a locomoção, respiração e proteção dos órgãos internos. Com base na sua organização estrutural, o tecido ósseo pode ser classificado como esponjoso (trabecular ou cancellous) encontrado na parte interior do osso e cortical (compacto, lamelar ou denso) localizado na superfície de todos os ossos (JUNQUEIRA, 2008)

O tecido ósseo esponjoso apresenta uma microestrutura porosa com inúmeras trabéculas interligadas, semelhantes a uma esponja, organizadas sob a forma de uma rede tridimensional. Tanto o tecido ósseo cortical quanto o tecido ósseo trabecular possuem os mesmo elementos em relação às células e à matriz óssea, porém apresentam importantes diferenças estruturais e funcionais (SILVA, et al., 2011).

A avaliação das propriedades macroscópicas e microscópicas dos tecidos biológicos, como o osso, é de grande interesse para a caracterização da

qualidade e detecção de doenças. A microtomografia de raio-x ( $\mu$ TC), é uma técnica de imagens não destrutiva que permite visualizar por meio de cortes transversais (cortes internos ou fatias), em três dimensões, a estrutura morfológica e avaliar a qualidade do tecido ósseo (SALES, 2010). Já a densitometria óssea também é um método não invasivo que permite avaliar a massa óssea (JALEAH HAWKINS, 2009). Contudo, este trabalho teve como meta avaliar o tecido ósseo do fêmur, tíbia e da vértebra (lombar- L4) com o intuito de diagnosticar algum efeito significativo nesses tecidos, uma vez que os ratos aqui estudados foram alimentados com ração revestida com filme comestível a base de kafirinas e NPs de quitosana.

Assim, teve-se como objetivo avaliar o possível impacto dos filmes contendo nanoestruturas sobre o tecido ósseo de tais animais.

---

### Materiais e métodos

---

Após a obtenção das Kafirinas e das NPs de quitosana, uma solução foi preparada 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 já triturada foi então revestida, colocada em bandejas e seca em temperatura ambiente. Para a realização do experimento, foram utilizados ratos machos da variedade Winstler com idade de 3 meses cedidos pelo biotério da UFSCar. O experimento foi dividido em dois grupos: o primeiro grupo era de 10 ratos denominados de controles (alimentados com ração sem revestimento) e o segundo de mais 10 ratos denominados de experimentais (alimentados com ração revestida). Ambos foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, por 34 dias. Após esse período, os animais foram sacrificados e o sítio anatômico escolhido para análise foi o fêmur e a tíbia esquerda e a L4 (vértebra número 4 da lombar) para possíveis análises. Para a obtenção das microtomografias foi utilizado o sistema de raio-x Skay Scan, modelo 1172 localizado no laboratório de técnicas nucleares da Embrapa Instrumentação.

Já as análises de densitometria foram realizadas no laboratório da UNESP de Araçatuba. O equipamento utilizado foi da marca LUNAR modelo DPX ALPHA Software: Versão 4.7 específico para pequenos animais.

## Resultados e discussão

Pela análise de densitometria óssea é possível verificar a quantidade de todos os minerais ósseos presentes numa área projetada no conteúdo mineral ósseo (CMO), e a densidade mineral óssea (DMO) é medida pela relação entre a massa e o volume presentes no tecido, dado pela unidade  $g/cm^3$ . Na tab. 1 estão os valores de CMO e DMO encontrados no fêmur e na tíbia do o grupo controle e experimental. Como visto, não existe diferença significativa nos valores encontrados quando comparados os dois grupos. Sabendo que o grupo controle foi alimentado com ração sem revestimento e o grupo experimental com ração revestida, é possível pontuar que o filme aqui utilizado não apresenta nenhuma influência na perda ou no ganho excessivo de minerais presentes no osso.

Tab.1: Valores de CMO e DMO encontrados no fêmur e a tíbia dos grupos controle e experimental.

		Fêmur		
		CMO	Área	DMO
Controle		0,362 ±0,02	1,733	0,210±0,01
Experimental		0,353 ±0,04	1,682	0,210±0,01
		Tíbia		
		CMO	Área	DMO
Controle		0,262 ±0,01	1,548	0,170±0,01
Experimental		0,269 ±0,02	1,530	0,176±0,01

Fazendo uma comparação com os resultados da quantificação morfológica pela  $\mu TC$ , apresentados na tab. 2, entre os grupos controle e experimental, nota-se que os valores para o volume do tecido ósseo, a espessura, o número e o espaçamento das trabéculas são semelhantes.

Tab. 2: Resultado da quantificação morfológica 3D das amostras da vértebra L4 do grupo controle e experimental.

	Controle	Experimental
	Média	Média
Volume do Tecido ósseo(mm <sup>3</sup> )	177,58 ±11,70	181,45±45,29
Volume do osso (mm <sup>3</sup> )	19,05±6,63	19,56±1,27
Volume do osso em porcentagem (%)	10,73±1,31	11,38±3,68
Espessura da Trabécula (mm <sup>3</sup> )	0,19±0,05	0,21±0,01
Número de Trabéculas (mm <sup>3</sup> )	0,56±0,06	0,53±0,15
Separação das Trabéculas (mm <sup>3</sup> )	1,74±0,19	1,87±0,39

Também é importante notar que a porcentagem do volume ósseo do grupo controle,  $10,73 \pm 1,31$  e do grupo experimental,  $11,38 \pm 3,68$  estão bem próximos. Caso o grupo experimental apresentasse uma porcentagem menor, isso seria um indicativo que o osso estaria mais poroso, isto é, mais fraco podendo apresentar algumas doenças como a osteoporose (SALES, 2010). Contudo, pela  $\mu$ TC não foi possível verificar alguma diferença significativas entre os grupos, como também já visto pela análise de densitometria.

## Conclusões

Sendo assim, pode-se concluir que, como o grupo experimental não apresentou nenhuma anomalia na morfologia e na quantidade de minerais presentes nos ossos, visto pelas análises de densitometria e  $\mu$ TC, pode-se dizer que, em relação ao tecido ósseo, os filmes de kafirinas com NPs de quitosana não influenciam na formação e desenvolvimento do tecido ósseo.

## Agradecimentos

CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa

## Referências

- JALEAH HAWKINS, M., CIFLUENTES, N. L., PLESHKO, H. AMBIA-SOBHAN, SUE, A. S..Energy Restriction Is Associated with Lower Bone Mineral Density of the Tibia and Femur in Lean but Not Obese Female Rats. The Journal of Nutrition Nutrition and Disease. p. 31-37, 2009.
- JUNQUEIRA, L.C.C.J. Tecido ósseo. In: Koogan G, editor Histologia Básica. 11ª edição ed; p. 108-26, 2008.
- SALES, E. S. Estudo da qualidade óssea através das técnicas de microtomografia e microfluorescência de raios-X. Tese (Doutorado em Engenharia Nucler. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, 2010.
- SILVA, A. M. H., ALVES, J. M., DA SILVA, O. L., SILVA JUNIOR, N. F., GAZZIRO, M., PEREIRA, J. C., LASSO, P. R. O., VAZ, C. M. P., PEREIRA, C. A. M., LEIVA, T. P., GUARNIERO, R. Microstructural Assessment of Cancellous Bone Using 3D Microtomography. XVII Argentine Congress of Bioengineering: Clinical Engineering Conference. Journal of Physics: Conference Series 313, 2011.