UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTERUNIDADES EM BIOENGENHARIA
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

ROGÉRIO ERBERELI

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ÓSSEA DE BOVINOS
Assessment of bone quality of bovine

São Carlos

2017

ROGÉRIO ERBERELI

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ÓSSEA DE BOVINOS
“VERSÃO CORRIGIDA”

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de pós-graduação Interunidades em Bioengenharia – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em ciências.

Área de Concentração: Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. João Manuel Domingos de Almeida Rollo.

São Carlos

2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

E65a Erbereli, Rogério
Avaliação da qualidade óssea de bovinos. / Rogério
Erbereli; orientador João Manuel Domingos de Almeida
Rollo. São Carlos, 2017.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
Interunidades em Bioengenharia e Área de Concentração
em Bioengenharia -- Escola de Engenharia de São Carlos;
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo,
2017.

1. hidroxapatita biológica. 2. estrutura
cristalina. 3. microarquitetura óssea. 4. qualidade
óssea. 5. densidade óssea. 6. difração de raios-X. 7.
método de refinamento de Rietveld. I. Título.

Programa de Pós-Graduação
Interunidades Bioengenharia
EESC / FMRP / IQSC

ROGÉRIO ERBERELI

Título: "AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ÓSSEA DE BOVINOS"

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE
PÓS - GRADUAÇÃO INTERUNIDADES EM
BIOENGENHARIA - EESC/FMRP/IQSC DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS NA ÁREA DE
BIOENGENHARIA.

Data da defesa: 18/08/2017

Prof. Dr. João Manuel Domingos de Almeida Rollo (Orientador)	Escola de Engenharia de São Carlos / USP
Assinatura:	Não votante

Dra. Cintia Righetti Marcondes	Embrapa Pecuária Sudeste
Assinatura:	Resultado: <i>Aprovado</i>

Profa. Dra. Maria Elizete Kunkel	Universidade Federal de São Paulo
Assinatura:	Resultado: <i>aprovado</i>

Profa. Dra. Ana Maria Minarelli Gaspar	Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Assinatura:	Resultado: <i>APROVADO</i>

Homologado em: ____/____/____

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos pelo fornecimento do material desta pesquisa realizada em parceria com a Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos

Aos pesquisadores Dr. Rymer Ramiz Tullio e Dra. Cintia Righetti Marcondes, que sempre foram solícitos em auxiliar a pesquisa.

Agradeço a Deus por me abençoar, guiar meus passos e pela sabedoria necessária para superar as adversidades.

Aos meus pais (Antonio e Iolanda) e aos demais familiares pelo apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. João M. D. de A. Rollo pelo excelente apoio na orientação e pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Aos professores que também auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho: ao Prof. Dr. Carlos Alberto Fortulan pelo apoio no Laboratório de Tribologia e Compósitos da Escola de Engenharia de São Carlos; ao Prof. Dr. Carlos O. Paiva Santos do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho em Araraquara pelo apoio junto ao uso do programa GSAS; à Profa. Dra. Ana M. Minarelli Gaspar da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Odontologia de Araraquara, pelo auxílio com as imagens.

Aos técnicos dos laboratórios da EESC-USP Luiz Adalberto Penazzi e Pedro Luiz di Lorenzo por toda assistência no decorrer da pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Tribologia e Compósitos da Escola de Engenharia de São Carlos.

Ao frigorífico Fribordogue, da cidade de Bariri – SP, por permitir o acesso às suas instalações para acompanhar o abate dos animais e também pela retirada dos ossos.

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

(Ayrton Senna da Silva)

RESUMO

Erbereli, R. **Avaliação da qualidade óssea de bovinos**. 2017. 96p. Dissertação Mestrado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia EESC/FMRP/IQSC, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

A qualidade óssea em grandes animais é avaliada pela densidade mineral óssea (DMO) utilizando a técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas; o objetivo desse trabalho foi avaliar e comparar a qualidade óssea baseada na microarquitetura de uma forma inédita. Foram selecionados 20 bovinos, 10 da raça Canchim e 10 da raça Nelore, com controle dos processos biológicos e bioquímicos do nascimento até o abate aos 24 meses de idade, antes de entrarem na fase adulta. O osso metatarsal foi escolhido por suportar maior carga e amostras da diáfise do osso cortical seco foram obtidas. A avaliação da estrutura cristalina de ossos metatarsais secos foi realizada utilizando difração de raios X com a aplicação do método de refinamento de Rietveld, avaliando parâmetros de rede, tamanho de cristalito e microdeformação. A técnica de nanoindentação permitiu avaliar os módulos de elasticidade e valores de nanoindentação. A composição química razão cálcio e fósforo do material, resistência à deformação plástica, valores de microdureza, e imagens de microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica foram realizadas. A comparação entre os resultados das duas raças, Canchim e Nelore, dos valores de parâmetros de rede da estrutura cristalina da hidroxiapatita, tamanho de cristalito, microdeformações, relação cálcio e fósforo, microdurezas Vickers/Knoop, nanodureza Vickers e módulo de elasticidade indicaram que a qualidade óssea das raças Canchim e Nelore é estatisticamente semelhante para 30% dos parâmetros estudados e que para os demais 70% dos parâmetros estudados não há semelhança.

Palavras-chave: hidroxiapatita biológica, estrutura cristalina, microarquitetura óssea, qualidade óssea, densidade óssea, nanoindentação, microdureza, difração de raios X, método de refinamento de Rietveld.

ABSTRACT

Erbereli, R. **Assessment of bone quality of bovine.** 2017. 96p. Masters Dissertation. Postgraduate Program Interunits in Bioengineering EESC/FMRP/IQSC, University of São Paulo, São Carlos, 2017.

The bone quality in large animals is evaluated by bone mineral density (BMD) using the optical densitometry technique in radiographic images; The objective of this study was to evaluate and compare bone quality based on microarchitecture unpublished. Twenty bovines were selected, 10 from the Canchim breed and 10 from the Nelore breed, with control of the biological and biochemical processes from birth to slaughter at 24 months of age, before entering adulthood. The metatarsal bone was chosen because it supported higher load and samples of the diaphysis of the dry cortical bone were obtained. The evaluation of the crystalline structure of dry metatarsal bones was performed using X - ray diffraction with the application of the Rietveld refinement method, evaluating network parameters, crystallite size and microdeformation. The nanoindentation technique allowed to evaluate the modulus of elasticity and nanoindentation values. The chemical composition calcium and phosphorus ratio of the material, resistance to plastic deformation, values of microhardness, and scanning electron microscopy images and optical microscopy were performed. The comparison between the results of the two races, Canchim and Nelore, of the network parameter values of the hydroxyapatite crystal structure, crystallite size, microdeformations, calcium and phosphorus ratio, Vickers / Knoop microhardness, Vickers nanodness and modulus of elasticity indicated that Quality of the Canchim and Nelore races is statistically similar for 30% of the studied parameters and that for the other 70% of the studied parameters there is no similarity.

Key words: Biological hydroxyapatite, crystal structure, bone microarchitecture, bone quality, bone density, nanoindentation, microhardness, X-ray diffraction, Rietveld refinement method.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Osso cortical e esponjoso. Arranjo da HA e colágeno na formação de tecidos ósseos	19
Figura 2 - Esquema de um osso cortical.	20
Figura 3 - Osso metatarsal sendo seccionado em sala de desossa.....	35
Figura 4 – Vista superior do osso metatarsal.	35
Figura 5 – Osso metatarsal sem excessos de carne e gordura.	36
Figura 6 – Foto representativa das amostras em formato anelar.....	36
Figura 7 – Amostras identificadas e em vácuo; freezer de armazenamento.....	37
Figura 8 – Amostras sendo cortadas no equipamento EXAKT 300CP.	37
Figura 9 – Imagem ilustrativa das amostras do osso cortical descontaminadas.	38
Figura 10 – Imagem ilustrativa das amostras secas do osso cortical.....	38
Figura 11 - Imagem representativa de seção macro transversal da cortical dos ossos metatarsais, com as indicações das regiões 1 e 2 onde foram realizados os ensaios.....	41
Figura 12 – Imagens das cortical do osso metatarsal da raça Canchim (identificada como Canchim 15), região 1 e região 2 (escala 100µm).	42
Figura 13 – Imagem da cortical do osso metatarsal da raça Nelore (identificada como Nelore 30), região 1 e região 2 (escala 100µm).	42
Figura 14 – a-) Canais de Havers, b-) lacunas ocupadas por osteócitos, c-) trincas.....	43
Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Canchim 15.....	44
Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 2 do animal identificado como Canchim 15.....	44
Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas em amostra do animal identificado como Canchim 15.....	45
Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Nelore 30.	45
Figura 19 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Nelore 30.	46
Figura 20 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas em amostra do animal identificado como Nelore 30.	46
Figura 21 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro módulo de elasticidade das raças bovinas Canchim e Nelore.	49
Figura 22 – Imagem ilustrativa das nanoindentações realizadas em amostra do animal Canchim 15.	50
Figura 23 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro nanodureza Vickers das raças bovinas Canchim e Nelore.	52

Figura 24 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdureza Vickers das raças bovinas Canchim e Nelore.	55
Figura 25 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdureza Knoop das raças bovinas Canchim e Nelore.	58
Figura 26 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro relação dos elementos químicos Cálcio e Fósforo das raças bovinas Canchim e Nelore.....	61
Figura 27 - Difratoograma de uma amostra da raça Canchim. Animal identificado como Canchim 15.	62
Figura 28 - Difratoograma de uma amostra da raça Nelore. Animal identificado como Nelore 30.	63
Figura 29 – Sobreposição dos difratogramas das amostras Canchim e Nelore. Animais identificados como Canchim15 e Nelore30.....	63
Figura 30 - Inserção dos cristais da HA padrão ao programa GSAS.	64
Figura 31 – Inserção do histograma a ser refinado e parâmetros padrão do equipamento. .	65
Figura 32 - Radiação de fundo (background) e fator de polarização (POLA).	66
Figura 33 - Refinamento do fator de escala.....	67
Figura 34 - Controle dos mínimos quadrados.	68
Figura 35 – Refinamento das orientações preferenciais dos planos cristalográficos.	69
Figura 36 - Refinamento do perfil.	70
Figura 37 - Difratoograma de uma das amostras Canchim já refinada.	71
Figura 38 – Figura representativa da função Istview, apresentando os valores de parâmetros de rede e planos cristalográficos.	72
Figura 42 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro tamanho do cristalito das raças bovinas Canchim e Nelore.....	83
Figura 43 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdeformações das raças bovinas Canchim e Nelore.	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Representação das 14 redes de Bravais.	18
Tabela 2 - Principais fosfatos de cálcio	23
Tabela 3 - Valores módulos de elasticidade para as amostras Canchim e Nelore (Valores em GPa)	47
Tabela 4 - Valores de nanodurezas Vickers para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HV).....	50
Tabela 5 - Valores de microdurezas Vickers para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HV).....	53
Tabela 6 - Valores de microdurezas Knoop para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HK).....	56
Tabela 7 - Relação cálcio e fósforo da raça Canchim.....	59
Tabela 8 - Relação cálcio e fósforo da raça Nelore.....	60
Tabela 9 - Valores do parâmetro de rede a da raça Canchim (em Å).	73
Tabela 10 - Valores do parâmetro de rede <i>a</i> da raça Nelore (em Å).....	73
Tabela 11 - Valores do parâmetro de rede b da raça Canchim (em Å).	75
Tabela 12 - Valores do parâmetro de rede b da raça Nelore (em Å).....	76
Tabela 13 - Valores do parâmetro de rede c da raça Canchim (em Å).	78
Tabela 14 - Valores do parâmetro de rede c da raça Nelore (em Å).	79
Tabela 15 - Valores do tamanho do cristalito em Angstrons (Å) da raça Canchim.	81
Tabela 16 - Valores do tamanho do cristalito em Angstrons (Å) da raça Nelore.	82
Tabela 17 - Valores de microdeformações em Ângstrons (Å) da raça Canchim.	85
Tabela 18 - Valores de microdeformações em Ângstrons (Å) da raça Nelore.	85

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

Å	Angstrom
HCO ₃	Bicarbonato
Ca	Cálcio
CO ₃ ²⁻	Carbonato
CPPSE	Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste
Cl	Cloro
λ	Comprimento de onda
cif	Cystallographic information file
DMO	Densidade mineral óssea
XRD	Difratometria de raios X
BSEs	Elétrons de eletroespalhamento
SEs	Elétrons secundários
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Sc	Escândio
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
Sr	Estrôncio
P	Fósforo
F ⁻	Fluoreto
GSAS	General Structure Analysis System
GPa	Giga Pascal

gr	Gramas
°C	Graus Célsius
HPO ₄	Hidrogenofosfato
HA	Hidroxiapatita
CHA	Hidroxiapatita carbonatada
ICSD	Inorganic Crystal Structure Database
Mg	Magnésio
mA	MicroAmpere
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mm	Milímetros
ME	Módulo de elasticidade
K	Potássio
keV	quilo.elétronVolt
REBEM	Recomendações de boas práticas de bem-estar para animais de produção e de interesse econômico
s	Segundos
Na	Sódio
Ti	Titânio
U	Urânio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 OBJETIVOS.....	15
1.2 JUSTIFICATIVA.....	15
2.1 RAÇAS BOVINAS CANCHIM E NELORE.....	16
2.2 ESTRUTURA CRISTALINA.....	17
2.3 TECIDO ÓSSEO.....	19
2.4 HIDROXIAPATITA.....	22
2.5 APLICAÇÕES DA HIDROXIAPATITA.....	23
2.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	24
2.7 RESISTÊNCIA QUE O MATERIAL OFERECE À DEFORMAÇÃO PLÁSTICA E MÓDULO DE ELASTICIDADE POR NANOINDENTAÇÃO.....	24
2.7.1 Módulo de elasticidade.....	25
2.7.2 Dureza superficial.....	25
2.7.3 Tenacidade à fratura.....	25
2.8 ENSAIOS DE MICRODUREZA KNOOP E VICKERS.....	26
2.9 MICROSCOPIA DE LUZ E ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	26
2.10 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X.....	27
2.11 MÉTODO DE REFINAMENTO DE RIETVELD.....	28
2.12 ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS).....	29
2.13 REMODELAMENTO ÓSSEO.....	30
2.14 DENSITOMETRIA MINERAL ÓSSEA.....	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	33
3.2 CONDIÇÕES DE MANEJO.....	33
3.3 MATERIAIS.....	33
3.4 PRÉ-SELEÇÃO DAS AMOSTRAS.....	34
3.5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	34
3.6 PARÂMETROS UTILIZADOS NO DRX E PARA O MÉTODO RIETVELD.....	39
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	39
4 RESULTADOS.....	41
4.1 MICROSCOPIA DE LUZ.....	41
4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	42

4.3 MÓDULO DE ELASTICIDADE	47
4.4 NANODUREZA VICKERS.....	50
4.5 MICRODUREZA VICKERS.....	53
4.6 MICRODUREZA KNOOP	56
4.7 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) – RELAÇÃO CA/P	59
4.8 DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X E MÉTODO DE REFINAMENTO DE RIETVELD ...	62
5 DISCUSSÃO	88
6 CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1 INTRODUÇÃO

O estudo comparativo utilizando ossos metatarsais de bovinos das duas raças Canchim e Nelore visa, em uma primeira aproximação, avaliar e comparar a qualidade óssea pela análise da microarquitetura tendo em vista uma complementação da técnica utilizada que é a densitometria óptica em imagem radiográfica.

Em animais de grande porte a qualidade óssea está relacionada com a densidade mineral óssea (DMO), ou seja, é avaliada pela massa óssea; a proposta deste é trabalho avaliar e também comparar a qualidade óssea baseando-se na microarquitetura óssea como forma alternativa a análise da densidade mineral óssea (DMO) utilizando como modelo animal os bovinos (*Bos tauros indicus*) das raças Canchim e Nelore.

Propriedades mecânicas do osso cortical e parâmetros estruturais que envolvam a estrutura cristalina dos cristais de hidroxiapatita biológica (*in vivo*), provenientes dos ossos corticais de bovinos da mesma raça, oferecem informações a respeito dos cristais de hidroxiapatita, que são indicadores da qualidade óssea, baseadas na sua microarquitetura. (PRAMANIK et al., 2014; PRAMANIK et al., 2015).

Foram arbitrariamente escolhidas duas raças de bovinos que estiveram em pastagem até a recria (aproximadamente 20 meses) e depois foram confinados em sistema Growsafe® (sistema que mede; sem interrupção; durante as 24 horas do dia toda a comida consumida pelos bovinos), recebendo dieta balanceada para ganho de peso, contendo silagem de milho, em grãos, farelo de soja, farelo de trigo, calcário, núcleo mineral e ureia, com relação Ca:P de 1,26 e 17% de proteína bruta. Os 20 animais escolhidos aleatoriamente, 10 da raça bovina Canchim e 10 da raça bovina Nelore, foram selecionados de tal forma que os lotes de animais apresentassem a idade de 24 meses e processos biológicos e bioquímicos análogos. Os animais escolhidos não haviam atingido a puberdade, indício de que a remodelação óssea não tinha sido iniciada.

A regeneração óssea não é somente um processo biológico, mas fatores elétricos, bioquímicos e mecânicos são também de fundamental importância no remodelamento, regeneração e manutenção do osso vivo (PASCHOAL, 2003).

Visando avaliar a qualidade óssea da estrutura cristalina da hidroxiapatita (HA) biológica de amostras das raças Canchim e Nelore, foi realizada a análise por difratometria de raios X (XRD) cujos difratogramas foram refinados pelo método de Rietveld, obtendo parâmetros de rede, tamanho do cristalito e microdeformações (tensão residual) das 20 amostras (ROLLO et al, 2015). Ensaios complementares para a quantificação da resistência óssea foram realizados através de ensaios de microdureza Vickers/Knoop e nanodureza Vickers. A análise por MEV teve por finalidade a visualização da microarquitetura óssea. Todos esses ensaios foram realizados em ossos corticais secos.

Foram realizados ensaios de espectroscopia (EDS) para avaliar a proporção de cálcio e fósforo (KLEIN *et al.*, 1990; BARRERE *et al.*, 2002; RAYNAUD *et al.*, 2002; DEKKER *et al.*, 2005).

1.1 OBJETIVOS

Avaliar e comparar a qualidade óssea dos ossos metatarsais desidratados de bovinos das raças Canchim e Nelore através da relação cálcio e fósforo, de ensaios mecânicos de microdureza Vickers/Knoop e nanodureza Vickers e da análise da estrutura cristalina da HA utilizando difratometria de raios X, com a aplicação do método de refinamento Rietveld.

1.2 JUSTIFICATIVA

A qualidade óssea em grandes animais é avaliada pela análise da densidade mineral óssea (DMO) utilizando a técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas; a proposta deste trabalho foi avaliar a qualidade óssea com base na

microarquitetura óssea como forma alternativa e inédita à análise da densidade mineral óssea (DMO) utilizando como modelo animal os bovinos (*Bos tauros indicus*) das raças Canchim e Nelore.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RAÇAS BOVINAS CANCHIM E NELORE

A raça Canchim teve o início de seu desenvolvimento a partir do ano 1936 com a importação de touros Charolês provenientes da França e posteriormente realizando o cruzamento entre o próprio Charolês e Zebu obtendo-se assim um bi-mestiço ($5/8$ Charolês + $3/8$ Zebu); sendo a base fêmea utilizada em sua grande maioria da raça Indubrasil, ocorreu uma menor participação das raças Guzerá e Nelore.

O desenvolvimento da raça deu-se basicamente a partir da utilização de reprodutores bi-mestiços e base fêmea da raça Nelore e aneloradas para a formação de seus próprios animais da raça, animais esses do rebanho da fazenda Canchim; que atualmente é a Embrapa Pecuária Sudeste (MARCONDES, 2010). A raça foi somente reconhecida em 1983 a partir da portaria número 130 do ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA); sendo que a partir de 1990 esse mesmo ministério autorizou a formação de novas linhagens.

As principais razões para a formação e desenvolvimento da raça Canchim foram entre outras características o aproveitamento dos efeitos favoráveis da heterose ou vigor híbrido, complementar as características da raça Zebu como adaptação aos trópicos; alta velocidade de crescimento e boa qualidade da carne (MARCONDES, 2010).

A raça Ongole ou Nelore como é conhecida no Brasil, tem sua origem mil anos antes da era cristã. O nome Nelore provém de um antigo distrito indiano de onde foram embarcados os primeiros animais para o Brasil. O primeiro relato da raça no Brasil oriunda de 1868, quando um navio que se dirigia à Inglaterra atracou

em Salvador e um casal de animais da raça foi comercializado e permaneceu no país.

A perfeita adaptação da raça ao clima brasileiro fez com que o rebanho brasileiro estivesse sempre em um processo de expansão atingindo atualmente uma estimativa de um total de 200 milhões de bovinos de corte e leite dessa raça.

A raça Nelore passou então por um intenso melhoramento genético no Brasil, sendo esse desenvolvimento direcionado quase que exclusivamente à produção de carne.

2.2 ESTRUTURA CRISTALINA

Entende-se por estrutura cristalina o arranjo de um conjunto de átomos periodicamente distribuídos no espaço formando assim uma rede. Uma célula unitária pode ser descrita através de um total de três vetores não coplanares, uma vez que a célula unitária é o paralelogramo gerado pela propagação (translação) em uma, duas ou três dimensões independentemente. Sendo assim, tais vetores denominados **a**, **b** e **c** coincidem com as arestas da célula unitária, as quais, além dessas distâncias, são definidas por mais três parâmetros, que são os ângulos contidos entre esses vetores, denominados: α , β e γ (CULLITY, 1978; PECHARSKY, 2005).

A descrição completa da estrutura cristalina não é determinada somente pela geometria da célula unitária, mas também por como os átomos estão distribuídos pela distribuição dos átomos no cristalino. O conteúdo da célula unitária pode ser estabelecido pela sua unidade assimétrica, utilizando uma combinação de diversos operadores de simetria que estão presentes na célula unitária, tais como: rotação, inversão, reflexão, deslizamento, eixo de inversão, eixo helicoidal e eixo giróide (CULLITY, 1978; PECHARSKY, 2005).

O número limitado de elementos de simetria e a forma como eles interagem entre si conduzem a um número limitado de elementos de simetria. O conjunto desses elementos que descrevem um objeto define o que é chamado de grupos de ponto; tais grupos de ponto cristalográficos tridimensionais são divididos em um total de sete sistemas cristalinos, sendo eles denominados por: triclinico, monoclinico,

ortorrômbico, trigonal, tetragonal, hexagonal e cúbico; tais sistemas cristalinos podem ser agrupados em seis famílias cristalinas (CULLITY, 1978; PECHARSKY, 2005).

As seis famílias de cristal associadas aos cinco tipos de redes utilizados em cristalografia (primitiva, de base centrada, de face centrada, de corpo centrado e romboédrica) resultam nos quatorze tipos de redes Bravais, que estão representados na Tabela 1 (PECHARSKY, 2005).

Tabela 1 - Representação das 14 redes de Bravais.

Sistema Cristalino	Primitiva	Base centrada	Corpo centrado	Face centrada	Romboédrica
Triclínico
Monoclínico
Ortorrômbico
Tetragonal
Hexagonal trigonal
Cúbico

Fonte adaptada: PECHARSKY, 2005.

Planos cristalográficos são definidos como uma família de planos que interceptam todos os pontos da rede. É denominada distância interplanar a distância entre dois desses planos contíguos. A descrição desses planos é feita com o uso de três índices inteiros ($h \ k \ l$) que são denominados índices de Miller. Os índices de Miller indicam que o plano que pertence à família ($h \ k \ l$) divide os vetores de rede $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$ e $\mathbf{c}$ em h , k e l partes iguais, respectivamente (CULLITY, 1978; PECHARSKY, 2005).

2.3 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é composto por duas fases: inorgânica (mineral) e orgânica. A fase inorgânica é composta basicamente por hidroxiapatita carbonatada enquanto a fase orgânica é composta majoritariamente por uma proteína denominada colágeno (90%) e o restante por proteínas não colagênicas. Os cristais de hidroxiapatita estão alocados ao longo do comprimento das fibras de colágeno (FUNG, 1993; VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004), de modo que cerca de 2/3 da massa do osso ou 50% do volume são hidroxiapatita. Na figura 1 os cristais de HA estão dispostos ao longo do comprimento das fibras de colágeno.

Figura 1 - Osso cortical e esponjoso. Arranjo da HA e colágeno na formação de tecidos ósseos

Fonte: VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004

O tecido ósseo é uma estrutura rígida que tem por função prover estabilidade estrutural ao corpo, proteger órgãos vitais (pulmões, coração e medula óssea) e proporcionar apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos, constituindo um sistema de alavancas que amplia as forças geradas pelas contrações musculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Cada osso possui uma diferente característica dinâmica e muda de forma e estrutura dependendo da força e função para a qual é designado. A associação da HA (alta dureza) com o colágeno fornece ao osso rigidez e resistência. Ao ser aplicada a descalcificação, o osso mantém sua forma original, contudo torna-se extremamente flexível, enquanto que a retirada do colágeno torna o osso extremamente frágil.

Os ossos também têm a função de ser reservatório de cálcio, fósforo e outros íons, armazenando ou liberando-os de maneira controlada de forma a manter a concentração desses importantes íons nos líquidos corporais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995; KAWACHI et al., 2000).

O tecido ósseo é formado por células e material extracelular calcificado, a matriz óssea; as células são: osteócitos (situados em cavidades ou lacunas no interior da matriz), osteoblastos (produtores da parte orgânica da matriz), fibroblastos (produtores das cadeias fibrosas de colágeno) e osteoclastos (células gigantes, móveis e multinucleadas que reabsorvem o tecido ósseo; tal processo é conhecido como remodelamento ósseo). A figura 2 apresenta a estrutura básica de um osso compacto (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995; JILKA, 2003).

Figura 2 - Esquema de um osso cortical.

Fonte: (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995)

O osso é formado por partes sem cavidades visíveis, denominado compacto, cuja porosidade do volume ocupado por tecido não mineralizado é baixa (da ordem de 5% a 20%) e por partes com muitas cavidades intercomunicantes, denominado osso esponjoso, com uma porosidade da ordem de 40% a 95%. Essa classificação é macroscópica e não histológica, pois a parte compacta e as trabéculas que separam as cavidades do esponjoso têm a mesma estrutura histológica básica. Os ossos podem ser classificados morfológicamente como: ossos longos, curtos, planos, irregulares, pneumáticos e sesamoides (HALL, 1991; GARNET e HIATT, 2003; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

A formação óssea tem início com a atividade dos osteoblastos, que são as células especiais que sintetizam e libertam a matriz de colágeno na forma de uma substância com característica gelatinosa, denominada matriz osteóide, a qual, na sequência, é mineralizada pela deposição controlada de fosfato de cálcio. Os osteoblastos ficam alocados dentro da fase mineral, tornando-se osteócitos, o que mantém contínua a atividade de formação e reabsorções óssea. Por outro lado, os osteoclastos catabolizam o osso destruindo-o, e é exatamente esse processo dinâmico de formação e destruição óssea o responsável pelo crescimento durante as fases de desenvolvimento do corpo, preservando a forma e consistência, além de permitir a regeneração em caso de fratura. Esse processo também está relacionado com o mecanismo de armazenamento e transporte dos dois elementos essenciais: fósforo e cálcio (VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004).

Os osteócitos, que estão localizados no interior da matriz óssea, compartilham íons, nutrientes e fluídos extracelulares sendo, então, uma via de transporte de nutrientes e metabólitos entre os vasos sanguíneos e os osteócitos. Cada lacuna possui um osteócito de onde partem canalículos que estabelecem contato através de junções comunicantes pelas quais ocorre o compartilhamento de íons, nutrientes e fluidos extracelulares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

A matriz óssea se deposita ao redor da célula e seus prolongamentos, formando os assim chamados lacunas e canalículos (Canais de Havers). A matriz óssea recém formada, adjacente aos osteoblastos ativos e ainda não calcificada, recebe o nome de matriz osteóide (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995). Para a completa síntese da matriz óssea é necessário em torno de três meses.

A matriz óssea inorgânica é composta por íons de Ca^{2+} e $(\text{PO}_4)^{3-}$ formando então os cristais de HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), os quais têm a capacidade de fazer

substituições dos íons na estrutura cristalina. Com essas possíveis substituições, podem fazer parte da composição da matriz óssea outros íons como: magnésio (Mg^{2+}), potássio (K^+), sódio (Na^+), estrôncio (Sr^{2+}), hidrogenofosfato ($(\text{HPO}_4)^{2-}$), bicarbonato ($(\text{HCO}_3)^-$), cloro (Cl^-), fluoreto (F^-), carbonato (CO_3^{2-}) além do citrato ($(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^{3-}$). As alterações nos ossos podem acontecer rapidamente (dias), devido à saída ou absorção de sais minerais, ou lentamente (meses ou anos), devido à ação dos osteoclastos.

2.4 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é considerada o modelo estrutural para a fase mineral do osso e mostra imperfeições, diferenciando-se da hidroxiapatita (HA) encontrada nos minerais das rochas. Os íons da superfície do cristal são hidratados, o que gera uma camada de água e íons denominada capa de hidratação, facilitando a troca de íons entre o cristal e o líquido intersticial.

A HA pode sofrer, após o início do remodelamento ósseo, múltiplas substituições e deficiências em todos os sítios iônicos. Dentre as impurezas dos cristais de apatita, a mais notável é a substituição do carbonato tipo B da HA (CHA) no lugar dos grupos fosfato, tendo também substituições de potássio, magnésio, estrôncio e sódio no lugar dos íons cálcio e cloreto e de fluoreto no lugar dos grupos hidroxila. Essas impurezas podem alterar a sua estrutura cristalina, reduzindo a cristalinidade e afetando a elasticidade e a resistência óssea. O tamanho do cristal e a cristalinidade mineral óssea também podem ser alterados devido a certas doenças e terapias (BOSKEY e MARKS, 1985; FRATZL *et al.*, 1996; OU-YANG *et al.*, 2001; LEVANTOURI, 2006; DILWORTH *et al.*, 2008; SHEN *et al.*, 2009; MARCUS *et al.*, 2010; SAITO e MARUMO, 2010; ALLEN e BURR, 2011; NOOR *et al.*, 2011; CUNDY e REID, 2012).

Tabela 2 - Principais fosfatos de cálcio

Name	Formula	Ca/P	Mineral	Symbol
Monocalcium phosphate monohydrate	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.50	-	MCPM
Dicalcium phosphate	CaHPO_4	1.00	Monetite	DCP
Dicalcium phosphate dihydrate	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.00	Brushite	DCPD
Octacalcium phosphate	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33	-	OCP
Precipitated hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1.50-1.67	-	PHA
Tricalcium phosphate	$\text{Ca}_3(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_2(\text{OH})$	1.5	-	TCP
Amorphous calcium phosphate	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}^a$	1.5	-	ACP
Monocalcium phosphate	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.50	-	MCP
α - Tricalcium phosphate	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5	-	α -TCP
β - Tricalcium phosphate	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	-	β -TCP
Sintered hydroxyapatite	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1.67	Hydroxyapatite	HA
Oxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1.67	-	OXA
Tetracalcium phosphate	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2.00	Hilgenstockite	TetCP
Carbonated apatite	$\text{Ca}_{8.8}(\text{HPO}_4)_{0.7}(\text{PO}_4)_{4.5}(\text{CO}_3)_{0.7}(\text{OH})_{1.3}$		Dahlite	CAP

Quanto maior a razão molar Ca/P, menor a solubilidade do material, mas essa taxa também sofre influências da composição química, do pH local, da temperatura, do tamanho das partículas e da cristalinidade (KLEIN *et al.*, 1990; BARRERE *et al.*, 2002; RAYNAUD *et al.*, 2002; DEKKER *et al.*, 2005).

2.5 APLICAÇÕES DA HIDROXIAPATITA

Atualmente a HA e os fosfatos de cálcio são utilizados em uma variedade de aplicações abrangendo todas as áreas do esqueleto, incluindo fusão espinhal, reconstrução craniomaxilofacial, tratamento de defeito ósseo, tratamento de fraturas, substituição total da articulação (aumento ósseo) e cirurgias de revisão (BEST *et al.*, 2008). Devido a sua propriedade bioativa, é utilizada para recobrimento de implantes metálicos permitindo uma ligação direta do osso com o implante, de modo que em um período relativamente curto diversas técnicas de deposição em implantes foram desenvolvidas, como *ion sputtering*, plasma spray, sol-gel, eletrolítico, biomimético entre outras (RIGO *et al.*, 1999).

A hidroxiapatita é muito utilizada na área odontológica como enxerto ósseo em casos de perda óssea, já que possibilita o crescimento de um novo tecido ósseo, e também para correções e ganho de volume com finalidade estética, sendo comercializada na forma de grânulos, blocos porosos e cilindros porosos.

2.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Materiais com aplicações biomédicas estão constantemente sujeitos a esforços mecânicos que exigem atenção quanto à confiabilidade de determinação dos parâmetros desses materiais. Tais parâmetros podem ser obtidos através de experimentos nos quais os resultados dependem diretamente do preparo do equipamento e das amostras. Dentre os fatores a serem considerados nos ensaios estão: as condições de aplicação da carga; tempo de aplicação da carga; temperatura, umidade e condição química do ambiente. As cargas aplicadas podem ser de tração, compressão ou cisalhante e podem ser constantes ou flutuantes ao longo do tempo (BRAGA, 2015).

Quando submetidos a estados de tensões os materiais apresentam dois estados significativos:

- **Regime elástico:** a energia transferida ao material através do estado de tensão aplicado em sua estrutura não é suficientemente grande para romper as ligações atômicas e o deslocamento permanente dos átomos ou dos conjuntos dos átomos.

- **Regime plástico:** após ser alcançado o limite de tensão em que ocorre o rompimento da relação linear de tensão x deformação, a energia fornecida ao material passa a mobilizar as imperfeições atômicas para posições de menor energia.

Os principais parâmetros para uma estrutura sólida submetida a estados de esforços mecânicos são: resistência à tração; resistência à compressão; resistência ao cisalhamento; resistência à flexão; resistência à torção; e resistência à flexão (BRAGA, 2015).

2.7 RESISTÊNCIA QUE O MATERIAL OFERECE À DEFORMAÇÃO PLÁSTICA E MÓDULO DE ELASTICIDADE POR NANOINDENTAÇÃO

A nanoindentação é uma técnica para medir as propriedades elásticas e plásticas em escala de força e/ou profundidade muito pequenas, possibilitando a obtenção de valores de micro e nanodurezas superficiais da ordem de profundidade de alguns décimos de micrômetros em grãos (domínios cristalinos). A técnica de

nanoidentação define a micro e nanodureza em função da carga aplicada e da profundidade de penetração da ponta (indentador) no material (BRAGA, 2015).

Além da obtenção dos valores de micro e nanodureza, a técnica de indentação permite determinar o valor do módulo de elasticidade e a tenacidade à fratura da superfície.

2.7.1 Módulo de elasticidade

O valor do módulo de elasticidade define o quão rígido ou flexível é o material. O alto ou baixo valor do módulo de elasticidade depende basicamente da composição química assim como do tipo de estrutura do material – no caso do osso pode ser cortical ou esponjoso – sendo associado a diversos parâmetros mecânicos comparativos de propriedades mecânicas (BRAGA, 2015).

2.7.2 Dureza superficial

A dureza superficial pode ser avaliada pela resistência à penetração ou ao riscamento através da relação carga/área projetada da deformação sob a carga na direção da aplicação da pressão. Essa propriedade expressa às resistências a deformações permanentes e está diretamente relacionada com o tipo e força de ligação entre os átomos que compõem o material (BRAGA, 2015).

2.7.3 Tenacidade à fratura

É a capacidade do material de resistir à propagação de trincas após a aplicação de cargas suficientemente grandes e capazes de provocar deformações plásticas. A tenacidade à fratura está diretamente relacionada à pressão exercida para a propagação das trincas e inversamente à área projetada da deformação na superfície na direção da aplicação da carga (BRAGA, 2015).

2.8 ENSAIOS DE MICRODUREZA KNOOP E VICKERS

A realização desses ensaios ocorre com a utilização de um penetrador de diamante muito pequeno (com formato piramidal) submetido à aplicação de cargas variando de 1g a 1000g. As impressões obtidas são visualizadas em microscópios e medidas; a partir dessa medição é realizada a conversão para um número índice de dureza (CALLISTER, 2006).

Uma cuidadosa preparação da amostra é importante para que a impressão seja bem definida permitindo uma medida mais precisa. A dureza Knoop é designada por HK e a dureza Vickers por HV, sendo as escalas dessas técnicas bastante equivalentes. Ambos os métodos são adequados para medição de dureza em regiões pequenas e selecionadas dos corpos de prova, sendo o ensaio de dureza Knoop muito aplicado a materiais frágeis (CALLISTER, 2006).

2.9 MICROSCOPIA DE LUZ E ELETRÔNICA DE VARREDURA

A microscopia de luz é um processo de baixo custo com uma aplicabilidade bastante comum cuja finalidade é a caracterização de materiais em pequena escala. Contudo, trata-se de uma técnica limitada na resolução em função do comprimento de onda da luz. A ampliação da imagem analisada acontece através da combinação de um conjunto de lentes oculares e objetivas, por meio da luz refletida na superfície polida da amostra em análise. O comprimento das ondas de luz nos microscópios de luz ou ópticos varia de 400 a 700 nanômetros; tais comprimentos de onda são traduzidos em resoluções de um a dois micrômetros. Por outro lado, a geração da imagem na microscopia eletrônica de varredura (MEV) utiliza elétrons no lugar da luz, portanto a imagem é, nesse caso, limitada pelo comprimento de onda dos elétrons, que no caso da aplicação da energia padrão de 5 keV é de 0,55 nm (BRUNDLE, 1992; HOWELL e BOYDE, 2003; EGERTON, LI e MALAC, 2004; ROSCHGER et al., 2008; ROSCHGER et al., 2010; KOURKOUMELIS et al., 2012).

A MEV é baseada em um feixe de elétrons que passa através de bobinas de varredura e que é focado e escaneado pela superfície do material, fazendo os elétrons interagirem com os átomos de forma a propiciar a observação de tamanhos de trincas, fraturas, diâmetros de poros, além da topografia da superfície. A análise da estrutura pode ser obtida pelo uso de três tipos de sinais: elétrons secundários

(SEs), elétrons de retroespalhamento (BSEs) e raios X. Os SEs geram uma imagem quando um elétron incidente colide com um átomo do material e parte da energia desse elétron é transferida para o material, causando a emissão de um elétron ionizado de baixa energia. Tal sinal surge na superfície do material fornecendo um detalhamento topográfico em uma resolução da ordem de 20nm. As imagens de BSEs são geradas quando um elétron incidente colide com um átomo do material e é espalhado de volta, a intensidade desse sinal é proporcional ao número atômico do material e tem uma resolução espacial de aproximadamente 1 μm (BRUNDLE, 1992; HOWELL e BOYDE, 2003; EGERTON, LI e MALAC, 2004; ROSCHGER *et al.*, 2008; ROSCHGER *et al.*, 2010).

2.10 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

O principal método usado no estudo dos sólidos de Bravais é a difratometria de raios X (XRD), uma técnica não destrutiva para analisar estruturas que exibem algum grau de regularidade ou cristalinidade. Estruturas cristalinas, como a hexagonal da HA, são formadas de diversas células unitárias. Devido à periodicidade das células unitárias, há repetidos planos compostos de átomos com diferentes espaços interplanares, cuja densidade eletrônica causa o espalhamento dos raios X (WOOLFSON, 1997; KOHLI, RITHNER e DORHOUT, 2002; ZHENG, YANG e ZHOU, 2003; ZHENG, LI e ZHOU, 2004).

A difração de raios X é uma excelente ferramenta de caracterização, propiciando detalhamento da estrutura cristalina, parâmetros de rede, determinação de tamanho de cristalito e microdeformação (tensão interna) etc. (CULLITY, 1978; PECHARSKY, 2005).

Cristalito normalmente significa um único minúsculo cristal. Cada partícula de um material policristalino geralmente consiste de vários cristalitos que se juntam em diferentes orientações. Uma pequena partícula de pó pode ser um único cristalito. Cristalito também pode ser definido como um conjunto de células sistematicamente agrupadas para formar um domínio coerente de difração (PECHARSKY, 2005).

2.11 MÉTODO DE REFINAMENTO DE RIETVELD

No período de 1967-1969, Rietveld apresentou um método de refinamento de estrutura cristalina, o método de Rietveld, uma ferramenta poderosa para análise estrutural da maioria dos materiais cristalinos na forma de pó e que hoje é usado para resolver os problemas de refinamentos de célula unitária, determinação de tamanho de cristalito, microdeformação de rede etc., utilizando a técnica dos mínimos quadrados. Para sua aplicação, os dados de difração serão usados da maneira que foram obtidos pelo difratômetro, sem sofrer qualquer tipo de alteração, o que segue o critério científico de que as observações não devem ser modificadas para serem analisadas (RIETVELD, 1967).

O tamanho do cristalito e a tensão residual (microdeformações) podem então ser analisados pela forma do pico, mais precisamente pela sua largura, levando em consideração também a natureza instrumental e as condições específicas de cada experimento (largura da fenda do difratômetro, banda de comprimentos de onda emitidos pela fonte, divergência angular do feixe etc.) (PECHARSKY, 2005).

Uma vez que se tem uma rotina para o cálculo do perfil é necessário escolher o método de refinamento a ser adotado. A estratégia quase universalmente aceita é a técnica dos mínimos quadrados, que busca minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre o modelo teórico e os dados obtidos nas medidas, ajustando os valores de parâmetros presentes na teoria e assim encontrar os valores ótimos para esses parâmetros.

Os parâmetros refinados pelo método dos mínimos quadrados são divididos em duas categorias: os **parâmetros estruturais** medem características da amostra, como os parâmetros de rede; e os **parâmetros instrumentais** não dependem das características da amostra e sim das condições experimentais (TEIXEIRA, 2013).

2.12 ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS)

A espectroscopia de energia dispersiva de raios X é uma técnica de análise para a caracterização química dos materiais que tem como fundamentação a investigação da interação entre uma fonte de raios X de excitação e uma amostra.

A capacidade de caracterização da EDS é resultado do princípio fundamental de que cada elemento químico possui sua estrutura atômica única, de modo a ser identificado exclusivamente pelos raios X característicos da estrutura atômica do elemento (BRAGA, 2015).

A emissão de raios X característicos de cada material acontece quando um feixe de alta energia, com partículas carregadas positivamente (prótons) ou negativamente (elétrons), ou até mesmo um feixe de raios X, é incidido sobre o material em análise.

O feixe emitido gera uma excitação em um elétron do material que se encontra em uma camada de menor energia fazendo com que o mesmo seja expulso da última camada. Consequentemente é criado um espaço vazio que passa a ser ocupado por um elétron proveniente de uma camada com maior energia. Verifica-se a variação de energia na camada inicialmente ocupada por esse elétron enquanto a energia de sua nova posição gera uma radiação eletromagnética na forma de raios X. Essa energia ou intensidade do raio X emitido é captada e medida pelo espectrômetro de energia dispersiva.

A diferença de energia entre duas camadas e a estrutura atômica do elemento do qual foram emitidos os raios X determinam a composição química do material em estudo.

O equipamento de EDS é composto por um detector de raios X sensível, um reservatório de nitrogênio líquido utilizado para a refrigeração do equipamento e um *software* de coleta e análise dos espectros de energia. É importante ressaltar que para a detecção de elementos mais leves (números atômicos menores que 11 – Sódio) faz-se necessário o uso de dispositivos especiais.

Normalmente o espectro é apresentado em um gráfico de intensidade de raios X *versus* energia em quilo.eletronVolt (keV), e os picos representam os elementos encontrados na amostra, sendo bastante comum esses picos serem estreitos e bem definidos. No entanto, existem elementos que apresentam picos múltiplos como o ferro (fortes picos $K\alpha$ e $K\beta$); os elementos com pequenas quantidades (“traços”) não podem ser identificados nos espectros em função do ruído de fundo (BRAGA, 2015).

2.13 REMODELAMENTO ÓSSEO

Dentre as funções do esqueleto, uma das mais importantes é o remodelamento ósseo, que ocorre de maneira contínua na fase adulta e mantém a massa óssea praticamente constante entre o fim do crescimento esquelético e a insuficiência gonadal (FROST, 1969). Ainda segundo Frost, o remodelamento ósseo acontece em vários locais ao mesmo tempo e em duas fases distintas: a primeira, que consiste na reabsorção óssea realizada pelos osteoclastos, e a segunda, que consiste na formação óssea realizada também pelos osteoclastos.

O processo de remodelamento ósseo possui um mecanismo bastante complexo e apurado em que muitos fatores interferem, de maneira isolada, nos processos de reabsorção ou formação óssea. Pouco se sabe sobre a relação entre esses dois processos que suprem as necessidades sistêmicas do organismo de uma forma geral (KARSENTY, 2000).

2.14 DENSITOMETRIA MINERAL ÓSSEA

A densidade óssea é ainda o principal determinante da resistência mecânica do osso e do risco de fraturas, mesmo não sendo satisfatória na predição do risco da fratura osteoporótica em exames de densitometria óssea (KLEEREKOPER *et al.*, 1985; TURNER *et al.*, 1990; DEMPSTER, 2003; HELGASON *et al.*, 2008; RIGGS *et al.*, 2008).

Métodos não invasivos para análise da mineralização e densidade óssea *in vivo* têm sido desenvolvidos ao longo dos anos, incluindo a absorção direta por

fótons (CAMERON; SORENSON, 1963), análise de ativação por nêutrons (AL-HITI *et al.*, 1976), tomografia computadorizada (REICH *et al.*, 1976) e ultrassom (PRATT JR., 1980). Assim, os métodos não invasivos que avaliam o conteúdo mineral ósseo estimado despertam interesse e são usados, por clínicos e pesquisadores, durante a evolução sequencial da DMO e demais critérios de avaliação óssea. Essas técnicas têm recebido considerável importância pela evolução dos estudos da DMO em pequenos e grandes animais (WILIANS *et al.*, 1991).

A utilização de técnicas densitométricas constitui uma importante ferramenta para melhoria das condições de estudo do esqueleto (SUNNER-SMITH; CAWLEY, 1970). É um método fácil e de baixo custo, mas requer padronizações acuradas para reduzir as variações dos valores encontrados (ANDERSON; SCHIMMINS; SMITH, 1966). Densitometria radiográfica ou fotodensitometria óssea expressa a quantidade de osso mineral, equivalente em densidade, em milímetros de alumínio. Densitometria radiográfica é uma técnica válida para avaliação local do osso *in vivo* e tem se mostrado altamente correlacionada com as cinzas do osso e minerais ósseos (HIMES, 1978).

Mack, Shevock e Tomassetti (1947 apud HIMES, 1978) têm associado mudanças que ocorrem na densidade óssea com outras mudanças bioquímicas e com variações do crescimento de crianças desnutridas devido a diferentes regimes alimentares. Rahal *et al.* (2001 apud SANTOS, 2002), quando estudaram a desmineralização óssea em gatos com hiperparatireoidismo secundário nutricional induzido, pela densitometria óptica em imagem radiográfica, observaram que essa técnica foi mais sensível que quando comparada com as alterações bioquímicas de fosfatase alcalina, fósforo e cálcio séricos.

Oden *et al.* (1998) afirmam que com a determinação da DMO é possível estudar as variações que o osso apresenta em animais em desenvolvimento, até identificar pacientes que apresentem alterações decorrentes de osteopenia. Wilians *et al.* (1991) determinaram *in vitro* o conteúdo mineral ósseo e a resistência óssea no terceiro metacarpal de 14 novilhas Angus alimentadas com dietas diferentes em relação ao nível de fósforo e notaram que tais métodos, os não invasivos, foram sensíveis em prognosticar o conteúdo mineral ósseo e a perda da resistência óssea. Os animais com diminuição da resistência óssea são aqueles alimentados com dietas com baixos níveis de fósforo e são evidenciados por possuírem baixa mineralização do material osteoide do III metacarpal, em baixa percentagem das

cinzas. Essa correlação de DMO e resistência dos ossos foi previamente observada nos estudos de Wilians et al. (1991).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

A coleta dos ossos bovinos metatarsais seguiu procedimentos estabelecidos e aprovados pelo protocolo de pesquisa PRT 05/2015 da comissão de ética no uso de animais da EMBRAPA Pecuária Sudeste, sendo o projeto classificado como um experimento que causa pouco ou nenhum desconforto ou estresse ao animal (Anexo A).

3.2 CONDIÇÕES DE MANEJO

Os animais ficaram em pastagem até a recria (aproximadamente 20 meses) e em seguida ficaram confinados em sistema GrowSafe® (sistema que mede; sem interrupção; durante as 24 horas do dia toda a comida consumida pelos bovinos), recebendo dieta balanceada para ganho de peso, contendo silagem de milho, milho em grãos, farelo de soja, farelo de trigo, calcário, núcleo mineral e ureia, com relação de Ca:P de 1,26 e 17% de proteína bruta.

3.3 MATERIAIS

Os animais são provenientes do Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste (CPPSE) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizada na cidade de São Carlos, na fazenda Canchim, em conformidade com a Instrução Normativa Nº 46, de 06 de outubro de 2011, que contempla requisitos de bem-estar animal dentro das normas técnicas para instalações, manejo, nutrição, aspectos sanitários e ambientes de criação nos sistemas orgânicos de produção animal.

Os animais foram abatidos no frigorífico Fribordogue, situado na cidade de Bariri - SP, de acordo com a Instrução Normativa Nº 3, de 17 de Janeiro de 2000, que regulamenta métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais

de açougue, e com a Instrução Normativa Nº 56, de 06 de Novembro de 2008, que estabelece procedimentos legais gerais de Recomendações de Boas Práticas de Bem-estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico – REBEM e abrange os sistemas de produção e transporte.

A avaliação da estrutura cristalina da HA dos ossos metatarsais de bovinos das raças Canchim e Nelore in vivo foi realizada no Laboratório de Tribologia e Compósitos da Engenharia Mecânica da Escola de Engenharia de São Carlos – EESC-USP.

3.4 PRÉ-SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram utilizados 20 animais, sendo 10 bovinos da raça Canchim e outros 10 bovinos da raça Nelore, todos machos e castrados, avaliados mensalmente em relação ao peso. Os animais foram acompanhados desde o nascimento até completarem 24 meses de idade.

Para os estudos foram escolhidos os ossos metatarsais traseiros dos animais por se tratarem dos ossos que suportam maior carregamento mecânico de cargas.

3.5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a preparação e caracterização das amostras foram adotadas as seguintes etapas:

1 – Secção da perna esquerda traseira dos 20 animais, sendo 10 bovinos da raça Canchim e 10 bovinos da raça Nelore, em sala de desossa devidamente climatizada em temperatura entre 14°C e 16°C.

Figura 3 - Osso metatarsal sendo seccionado em sala de desossa.

Fonte: elaborada pelo autor.

2 – O osso metatarsal (figura 4) de cada um desses membros foi identificado de acordo com o animal ao qual pertencia; tais ossos foram acondicionados em embalagens plásticas independentes, sendo então transportados para a EMBRAPA Pecuária Sudeste, localizada na cidade de São Carlos, na fazenda Canchim, onde ficaram armazenados em câmara frigorífica no laboratório de análises de carne.

Figura 4 – Vista superior do osso metatarsal.

Fonte: elaborada pelo autor.

3 – Os ossos metatarsais (figura 5) passaram por um processo de limpeza dos excessos de carne e gorduras que ainda restavam do processo de desossa.

Figura 5 – Osso metatarsal sem excessos de carne e gordura.

Fonte: elaborada pelo autor.

4 - A partir dos ossos seccionados, foram retiradas amostras em formato anelar conforme ilustra a figura 6.

Figura 6 – Foto representativa das amostras em formato anelar.

Fonte: elaborada pelo autor.

5 – As amostras foram acondicionadas sob vácuo e armazenadas em freezer mantendo a temperatura na ordem de -5°C (figura 7).

Figura 7 – Amostras identificadas e em vácuo; freezer de armazenamento.

Fonte: elaborada pelo autor.

6 – Subsequentemente à obtenção dos corpos de prova foram realizados cortes nas amostras anelares no equipamento EXAKT 300CP (figura 8).

Figura 8 – Amostras sendo cortadas no equipamento EXAKT 300CP.

Fonte: elaborada pelo autor.

7 – Na sequência, as amostras dos ossos foram fervidas a aproximadamente 100°C em peróxido de hidrogênio 100 volumes visando à degradação da parte

orgânica, fragilizando a estrutura. Em seguida as amostras foram descontaminadas em água Milli-Q à temperatura ambiente.

Figura 9 – Imagem ilustrativa das amostras do osso cortical descontaminadas.

Fonte: elaborada pelo autor.

8 – Subsequentemente, as amostras foram mantidas em estufa a 100°C por 24 horas e por fim pulverizadas em almofariz (figura 10), quando foi obtida granulometria semelhante para o pó.

Figura 10 – Imagem ilustrativa das amostras secas do osso cortical.

Fonte: elaborada pelo autor.

3.6 PARÂMETROS UTILIZADOS NO DRX E PARA O MÉTODO RIETVELD

Para a realização dos ensaios de DRX foi utilizado o equipamento Shimadzu XDR-7000, cujo DRX de pós possui potência de 40 kV e 30 mA, radiação k- α e comprimento de onda $\lambda = 1.54056\text{\AA}$, e as amostras foram analisadas em um ângulo $\theta = 2\theta$ de 5 a 90 graus passo de $0,02^\circ$ de 0,6 segundos.

Os difratogramas obtidos pelo DRX foram refinados através da utilização do método de Rietveld, com o auxílio do software General Structure Analysis System (GSAS) utilizando a interface gráfica EXPGUI. Foi utilizado o programa POWDLL Converter para converter os dados para o formato aceito pelo programa GSAS, e o Inorganic Crystal Structure Database (ICSD) para o arquivo .cif (difratograma padrão do banco de dados) da hidroxiapatita. Foi utilizado o padrão quartzo para calibrar o software ao aparelho, refinando células unitárias, deslocamentos atômicos (Uisos), fator de escala, a radiação de fundo (background), shft, GW, GV, GU, LX, S/L e H/L. Para refinar os difratogramas, utilizou-se a função Shifted Chebyshev com 10 termos para considerar a anisotropia do osso; em seguida, a célula unitária, os deslocamentos atômicos (Uisos), o fator de escala, a radiação de fundo (background), o shft, o GU, o GP, o ptec, o sfec e o LX foram refinados em ciclos de 10 com Marquardt Damping igual a 1 e corrigiu-se os efeitos causados pela orientação preferencial utilizando-se o modelo de Marc-Dollase para os planos ***h k l***.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa Statistica[®] versão 13.2 (trial version application).

Primeiramente foi realizada a análise descritiva dos dados, obtendo médias, desvios padrões, medianas, valores mínimos e máximos; na sequência foi verificado se os dados obtidos apresentavam uma distribuição normal, para tal verificação da distribuição foi realizado o teste de Shapiro-Wilk, que é considerado o melhor teste de aderência à normalidade (CIRILLO E FERREIRA, 2003); esse teste foi desenvolvido por Shapiro e Wilk em 1965, e mostra que esse teste é eficiente para diferentes distribuições e tamanhos de amostras; comparativamente à outros testes;

como por exemplo Kolmogorov-Sminov; o teste de Shapiro-Wilk mostra-se mais eficiente.

Após a verificação da normalidade os grupos amostrais foram analisados para a comprovação estatística da semelhança; ou não; dos parâmetros estudados, duas possibilidades ocorreram; sendo a primeira a realização de testes para distribuição normal, onde foi aplicado o teste t de amostras dependentes; e a segunda realização de testes para distribuições não normais; onde foi aplicado o teste de Wilcoxon para amostras pareadas. A aplicação de ambos os testes respeitaram um intervalo de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

4.1 MICROSCOPIA DE LUZ

A Microscopia de luz (ML) foi realizada em duas regiões diferentes das amostras da cortical dos ossos metatarsais dos animais das raças Canchim e Nelore. A figura 11 exibe duas diferentes regiões onde foram realizadas as análises microscópicas.

Figura 11 - Imagem representativa de seção macro transversal da cortical dos ossos metatarsais, com as indicações das regiões 1 e 2 onde foram realizados os ensaios.

Fonte: elaborada pelo autor.

As imagens das microscopias ópticas foram obtidas no Departamento de engenharia de materiais – USP; no laboratório de transformação de fase com o uso do microscópio LEICA, modelo Leitz DM-RX e captação de imagens com o programa *motic images* versão plus 2.0. Imagens de amostras das raças Canchim e Nelore estão ilustradas nas figuras 12 e 13. As microscopias apresentadas são de amostras dos animais identificados como: Canchim 15 e Nelore 30.

Figura 12 – Imagens das cortical do osso metatarsal da raça Canchim (identificada como Canchim 15), região 1 e região 2 (escala 100µm).

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 13 – Imagem da cortical do osso metatarsal da raça Nelore (identificada como Nelore 30), região 1 e região 2 (escala 100µm).

Fonte: elaborada pelo autor.

As imagens por ML foram retiradas na região longitudinal da aplicação da carga das amostras dos animais Canchim 15 e Nelore 30 e possibilitam verificar características semelhantes, apresentando canais de Havers, osteócitos (lamelas) e trincas inerentes à formação óssea de bovinos.

4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As amostras para a realização da MEV foram preparadas de tal forma a estarem alinhadas com o sentido de maior aplicação de cargas nos ossos metatarsais dos animais, a saber, o sentido axial do osso.

As distintas colorações são as diferentes direções cristalográficas (posições de deposição) da HA. As regiões compreendidas estão entre os canais de Havers e as lacunas (lamelas), que compõem o sistema de Havers fornecendo resistência aos ossos. Os canais de Havers representados pela letra “a”, as lacunas ocupadas por osteócitos representadas pela letra “b” e trincas representadas pela letra “c” estão ilustrados na figura 14.

Figura 14 – a-) Canais de Havers, b-) lacunas ocupadas por osteócitos, c-) trincas.

Fonte: elaborada pelo autor.

Imagens das microscopias eletrônicas de varreduras que foram obtidas nas amostras do animal Canchim15 e Nelore30 estão ilustradas nas figuras 15 a 20.

Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Canchim 15.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 2 do animal identificado como Canchim 15.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Canchim: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas em amostra do animal identificado como Canchim 15.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Nelore 30.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 19 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas na região 1 do animal identificado como Nelore 30.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 20 - Microscopia eletrônica de varredura da cortical do osso metatarsal da raça Nelore: canais de Havers, lacunas ocupadas por osteócitos e trincas – Imagens obtidas em amostra do animal identificado como Nelore 30.

Fonte: elaborada pelo autor.

As imagens por MEV, extraídas da região longitudinal da aplicação da carga das amostras dos animais Canchim 15 e Nelore 30, proporcionam verificar características semelhantes, apresentando canais de Havers, osteócitos (lamelas) e trincas inerentes à formação óssea de bovinos.

4.3 MÓDULO DE ELASTICIDADE

Os valores de nanoindentação foram obtidos com a utilização do microscópio *Inspect F-50* do Departamento de Engenharia de Materiais da EESC-USP. A técnica de nanoindentação foi utilizada para medir simultaneamente a força e o deslocamento de uma esfera de diamante pressionada 500nm no osso.

Os valores do módulo de elasticidade foram calculados provenientes de uma curva de descarregamento na qual foi assumido o coeficiente de Poisson de 0,3, de maneira que a nanodureza foi definida como a máxima força dividida pela área de contato com a ponta de diamante.

Os valores do módulo de elasticidade foram obtidos através de 10 indentações realizadas na região 1 e outras 10 indentações na região 2 (indicadas na figura 11), totalizando 20 indentações em cada uma das raças de bovinos.

Na tabela 3, é possível verificar os valores dos módulos de elasticidade das raças Canchim e Nelore nas regiões 1 e 2.

Tabela 3 - Valores módulos de elasticidade para as amostras Canchim e Nelore (Valores em GPa)

Raça bovina	Canchim		Nelore	
Região óssea	1	2	1	2
	21,74	16,61	15,48	15,44
	22,16	17,95	14,72	13,65
Medidas	14,76	12,93	14,19	10,34
	20,67	15,88	14,77	14,05
	15,27	13,96	15,00	20,51

	17,10	15,73	13,91	16,33
	14,65	14,97	16,61	14,71
	20,11	18,33	13,93	9,61
	13,86	15,25	16,19	11,97
	14,32	14,16	14,30	13,36
Média	17,46	15,58	14,81	14,00
Desvio padrão	3,34	1,72	0,76	3,12

Na figura 21 estão representadas as distribuições normais para os valores do módulo de elasticidade de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 21 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro módulo de elasticidade das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões dos módulos de elasticidade de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $16,5205 \pm 2,7622$ GPa.
- Nelore: $14,4535 \pm 2,2901$ GPa.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores do módulo de elasticidade foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,0278.
- Nelore: 0,106.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição dos valores do módulo de elasticidade da raça Canchim apresenta uma distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); enquanto a raça Nelore não apresenta distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); o fato de uma das raças não apresentar distribuição normal conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar a semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores do módulo de elasticidade com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,0187 ($p\text{-valor} < 0,05$); e, portanto estatisticamente não há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro módulo de elasticidade.

Pelo fato de os animais terem sido abatidos com 24 meses, no limite puberdade-adulto, observou-se uma mineralização incompleta e a ocorrência de uma diminuição dos valores das propriedades mecânicas: módulo de elasticidade, microdureza e nanodureza (KIM *et al.*, 2002).

4.4 NANODUREZA VICKERS

Os valores de nanodureza Vickers estão representados na tabela 04. As regiões 1 e 2 representadas na figura 11. A figura 22 apresenta as indentações realizadas. Os valores de nanodureza Vickers foram obtidos através de 10 indentações realizadas na região 1 e outras 10 indentações na região 2, e as medidas obtidas com microdurômetro LEICA VMHT MOT.

Figura 22 – Imagem ilustrativa das nanoindentações realizadas em amostra do animal Canchim 15.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 4 - Valores de nanodurezas Vickers para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HV).

Raça bovina	Canchim		Nelore	
Região óssea	Interna	Externa	Interna	Externa
Medidas	61,22	96,35	41,47	42,46

	48,71	56,56	43,87	72,28
	69,48	62,29	59,10	55,02
	53,54	55,24	49,31	78,73
	52,25	99,92	58,17	77,80
	65,13	56,20	40,36	57,20
	52,20	66,84	52,09	98,91
	77,39	83,06	70,33	85,69
	62,87	51,47	73,49	37,07
	68,79	79,55	73,52	55,97
Média	61,16	70,75	56,17	66,11
Desvio padrão	9,32	17,78	12,89	19,72

Na figura 23 estão apresentadas as distribuições normais dos valores de nanodureza Vickers de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 23 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro nanodureza Vickers das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões da nanodureza Vickers de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: 65,953±14,671 HV.
- Nelore: 61,141±16,999 HV.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores de nanodureza Vickers foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,0281.
- Nelore: 0,384.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição da nanodureza Vickers da raça Canchim apresenta uma distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); enquanto a raça Nelore não apresenta distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); o fato de uma das raças não apresentar distribuição normal conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar a semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores de nanodureza Vickers com um intervalo de confiança de 95% apresentou $p\text{-valor}$ de: 0,2790 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro nanodureza Vickers.

4.5 MICRODUREZA VICKERS

Os valores de microdureza Vickers estão representados na tabela 05.

As regiões 1 e 2 estão representadas na figura 11. Os valores de microdureza foram obtidos através de 10 indentações realizadas na região 1 e outras 10 indentações na região 2. As indentações ocorreram com uma carga de 200gr e a visualização das imagens feitas com aumento de 200 vezes em equipamento microdurômetro LEICA VMHT MOT.

Tabela 5 - Valores de microdurezas Vickers para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HV).

Raça bovina	Canchim		Nelore	
Região óssea	1	2	1	2
Medidas	51,1	46,6	42,7	49
	49,4	44,7	49,2	51,6
	52,4	40,1	38,8	51,7
	53,3	46,2	50,5	50,1

	52,1	46,5	45,6	48,3
	45,4	44,3	52	53,9
	51,5	47,4	51,7	48,5
	48,8	45,9	46,1	43
	52,5	52,1	45,3	48,6
	54,4	39,9	49,2	54,4
Média	51,09	45,37	47,11	49,91
Desvio padrão	2,61	3,53	4,22	3,28

Na figura 24 estão apresentadas as distribuições normais dos valores de microdureza Vickers de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 24 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdureza Vickers das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões da microdureza Vickers de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $48,23 \pm 4,2131$ HV.
- Nelore: $48,51 \pm 3,9506$ HV.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores de microdureza Vickers foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,207.
- Nelore: 0,314.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição da microdureza Vickers das raças Canchim e Nelore não apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); tal fato conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores de microdureza Vickers com um intervalo de confiança de 95% apresentou $p\text{-valor}$ de: 0,9702 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro microdureza Vickers.

4.6 MICRODUREZA KNOOP

As regiões 1 e 2 estão representadas na figura 11. Os valores de microdureza Knoop foram obtidos através de 10 indentações realizadas na região 1 e 10 indentações na região 2, com carga de 200gr e período de aplicação da carga de 15s. O aumento de 200 vezes das imagens foi realizado em microdurômetro LEICA VMHT MOT.

Os valores de microdureza Knoop estão representados na tabela 06.

Tabela 6 - Valores de microdurezas Knoop para as amostras das raças Canchim e Nelore (valores em HK).

Raça bovina	Canchim		Nelore	
Região óssea	1	2	1	2
Medidas	37,5	31,9	34,9	37,8
	32,3	32,7	39	31,9
	32,5	32,5	35,1	39,6
	28,8	36,3	33,6	42,9
	37,1	36	31,4	35,5
	39,1	34,8	29,9	36,1

	31,1	35,7	33,2	42,2
	41,2	33,5	38,0	36,4
	39,9	31,9	37,5	36,8
	36,7	34,2	37,6	37,6
Média	35,62	33,95	37,5	37,68
Desvio padrão	4,16	1,69	3,02	3,24

Na figura 25 estão apresentadas as distribuições normais dos valores de microdureza Knoop de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 25 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdureza Knoop das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões da microdureza Knoop de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $34,785 \pm 3,2114$ HK.
- Nelore: $36,35 \pm 3,3406$ HK.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores de microdureza Knoop foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,798.
- Nelore: 0,912.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição da microdureza Knoop das raças Canchim e Nelore não apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); tal fato conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores de microdureza Knoop com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,0966 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro microdureza Knoop.

4.7 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) – RELAÇÃO CA/P

Amostras de ossos metatarsais de cada raça foram submetidas a três ensaios denominados ensaio 01, ensaio 02 e ensaio 03, totalizando 60 ensaios, sendo 30 deles para a raça Canchim e outros 30 para a raça Nelore. No apêndice A é possível verificar o espectro representativo da amostra Canchim 15 e as quantidades significativas dos elementos químicos da mesma amostra.

Nas tabelas 7 e 8 são apresentados os resultados da relação dos elementos Cálcio e Fósforo, valores médios e desvios-padrões para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore.

Tabela 7 - Relação cálcio e fósforo da raça Canchim.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	2,3289	2,4912	2,3338	2,3846	0,0923
Canchim 21	2,3634	2,4539	2,3867	2,4013	0,0470
Canchim 25	2,2849	2,3858	2,2831	2,3179	0,0588
Canchim 28	2,2954	2,4423	2,2951	2,3442	0,0849
Canchim 31	2,3430	2,4190	2,3852	2,3824	0,0381
Canchim 33	2,3033	2,3995	2,3165	2,3398	0,0521
Canchim 34	2,3074	2,4591	2,3058	2,3574	0,0880
Canchim 40	2,2318	2,3723	2,2639	2,2893	0,0736
Canchim 41	2,2902	2,4653	2,2974	2,3510	0,0990
Canchim 44	2,2773	2,4059	2,2780	2,3204	0,0741

Tabela 8 - Relação cálcio e fósforo da raça Nelore.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	2,2876	2,3510	2,3138	2,3175	0,0318
Nelore 27	2,3477	2,2899	2,3511	2,3296	0,0344
Nelore 28	2,3828	2,3491	2,4011	2,3777	0,0264
Nelore 29	2,3433	2,3366	2,3498	2,3432	0,0066
Nelore 30	2,2762	2,4475	2,2896	2,3378	0,0953
Nelore 31	2,3329	2,3188	2,3566	2,3361	0,0191
Nelore 32	2,2811	2,3108	2,2951	2,2957	0,0149
Nelore 34	2,2824	2,3084	2,3386	2,3098	0,0281
Nelore 35	2,3842	2,3655	2,4019	2,3839	0,0182
Nelore 36	2,3031	2,3053	2,2987	2,3024	0,0033

Na figura 26 estão apresentadas as distribuições normais dos valores da relação cálcio/fósforo de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 26 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro relação dos elementos químicos Cálcio e Fósforo das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões da relação cálcio/fósforo de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $2,3488 \pm 0,0695$.
- Nelore: $2,3333 \pm 0,0419$.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores da relação cálcio/fósforo foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,0979.
- Nelore: 0,0892.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição da relação cálcio/fósforo das raças Canchim e Nelore não apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); tal fato conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores da relação cálcio/fósforo com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,3709 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro relação cálcio/fósforo.

4.8 DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X E MÉTODO DE REFINAMENTO DE RIETVELD

Para cada amostra de osso foram realizados três ensaios denominados ensaio 01, ensaio 02 e ensaio 03. Foram obtidos um total de 30 difratogramas para a raça Canchim e outros 30 difratogramas para a raça Nelore, perfazendo um total de 60 difratogramas.

Em caráter ilustrativo, a seguir são apresentados um difratograma da raça Canchim 15 (Figura 27) e outro da raça Nelore 30 (Figura 28).

Figura 27 - Difratograma de uma amostra da raça Canchim. Animal identificado como Canchim 15.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 28 - Difratograma de uma amostra da raça Nelore. Animal identificado como Nelore 30.

Fonte: elaborada pelo autor.

Na figura 29 estão sobrepostos difratogramas da raça Canchim e Nelore de modo que é possível verificar a similaridade de ambos.

Figura 29 – Sobreposição dos difratogramas das amostras Canchim e Nelore. Animais identificados como Canchim15 e Nelore30.

Fonte: elaborada pelo autor.

Para o início do refinamento é necessária a aquisição do difratograma padrão da HA em arquivo com extensão .cif (crystallographic information file), que foi realizada através do ICSD (Inorganic Crystal Structure Database). A figura 30 apresenta a tela do programa GSAS, no qual é realizada a inserção dos cristais HA.

Fonte: elaborada pelo autor.

Na sequência, os histogramas utilizados no refinamento foram adicionados no programa GSAS na aba “POWDER”. Ao clicar no botão “Add New Histogram” são inseridos os histogramas que são refinados (Data file) e, subsequentemente, são inseridos os parâmetros padrão do equipamento (Instrument Parameter file), como demonstrado na figura 31.

Figura 31 – Inserção do histograma a ser refinado e parâmetros padrão do equipamento.

Fonte: elaborada pelo autor.

O osso, por ser um material anisotrópico, foi refinado utilizando a função Shifted Chebyshev com dez termos, que neste estudo tem a função de refinar a radiação de fundo (Background). Outro aspecto que foi analisado é o fator de polarização (POLA), que é o fator de correção cuja finalidade é ajustar a polarização causada pela passagem dos raios X na amostra quando a onda incidente no cristal se divide em duas direções privilegiadas (KLUG e ALEXANDER, 1974). Para todos os refinamentos foi utilizado o valor 0,5. Na figura 32 é possível verificar a variação no comprimento da onda (wavelengths) $\lambda = 1,5405\text{\AA} - 1,5443\text{\AA}$.

Figura 32 - Radiação de fundo (background) e fator de polarização (POLA).

Fonte: elaborada pelo autor.

Subsequentemente, foi refinado o fator de escala, que é um parâmetro de intensidade cuja função é ajustar a altura das reflexões do padrão difratométrico em relação ao difratograma em estudo. A figura 33 ilustra tal refinamento do fator de escala.

Figura 33 - Refinamento do fator de escala.

Fonte: elaborada pelo autor.

Na aba “controles dos mínimos quadrados” (LS controls) o refinamento foi iniciado com três ciclos e finalizado com dez ciclos (como está representado na figura 34). Nessa mesma aba de controle foi utilizado o Marquardt damping em 1,00, sendo esse um conhecido método de amortecimento dos mínimos quadrados. Através desses parâmetros atesta-se a convergência do programa. Caso a amostra não tenha sido nomeada no início da utilização do programa, é possível nesse momento definir o título da amostra que está sendo analisada.

Figura 34 - Controle dos mínimos quadrados.

Fonte: elaborada pelo autor.

A orientação preferencial também foi refinada. Esse refinamento possibilita que os cristalitos de uma fase apresentem uma forte tendência a se orientarem em determinadas direções cristalográficas. A orientação preferencial produz erros sistemáticos alterando as intensidades relativas das reflexões (KLUG e ALEXANDER, 1974).

Figura 35 – Refinamento das orientações preferenciais dos planos cristalográficos.

Fonte: elaborada pelo autor.

O refinamento utilizando o programa GSAS é finalizado realizando ajustes no perfil do pico. Para os estudos, foi utilizada a função tipo 4, cuja escolha justifica-se pelo fato de fornecer um melhor ajuste aos perfis assimétricos e por oferecer um excelente ajuste mesmo para ângulos muito baixos, além de fornecer um excelente ajuste ao alargamento irregular causado pela forma mais geral de ampliação da microdeformação.

Nesse tipo de função é possível refinar: GU, GV, GW, GP, LX, ptec, trns, shft, sfec, S/L, H/L, eta, S400, S404 e S202, que são todos os parâmetros necessários para a determinação do tamanho do cristalito e também para o cálculo das microdeformações.

Figura 36 - Refinamento do perfil.

Fonte: elaborada pelo autor.

Uma vez realizada a sequência de refinamento é possível obter a imagem da relação entre o difratograma original e o difratograma já refinado (figura 37) fazendo uso da função liveplot. Nesta imagem são visualizados os pontos do difratograma original (em preto) e a linha de refinamento (em vermelho):

Figura 37 - Difratoograma de uma das amostras Canchim já refinada.

Fonte: elaborada pelo autor.

O uso do programa GSAS fornece ainda as informações de parâmetros de rede através da função `lstview`. Essa função informa todos os parâmetros necessários para o cálculo do tamanho do cristalito e microdeformações, além de informar a convergência ou não do refinamento realizado (Figura 38).

```

View CANCHIM28.LST
File Edit Go To Options Font: Courier 12

Restraint data statistics:
No restraints used

Powder data statistics
Bank Ndata Sum(w*d**2) Fitted wRp Rp -Bknd Rp wRp pFree Rp Npfree DWD Average
Histogram 1 PXC 1 4250 6265.0 0.1353 0.1041 0.1266 0.1025 0.0000 0.0000 0 1.510 0.758
Powder totals 4250 6265.0 0.1353 0.1041 0.1266 0.1025 0.0000 0.0000 0 1.510

No serial correlation in fit at 90% confidence for 1.921 < DWD < 2.079
Cycle 90 There were 4250 observations.
Total before-cycle CHI**2 (offset/sig) = 6.2650E+03 ( 2.2342E+01)
Reduced CHI**2 = 1.487 for 36 variables

Reflection data statistics
Histogram 1 Type PXC Nobs = 404 R(F**2) = 0.0756
After matrix normalization and Marquardt modification:

2 Columns of the 36 Column matrix are 0.0
Full matrix recip. condition value & -log10 = 0.1822E-03 3.74
Variable 1 1PF12 was not refined
Variable 1 1PF 9 was not refined

The value of the determinant is 3.0512*10.0**( -21)

Atom parameters for phase no. 1
frac x y z 100*Uiso 100*U11 100*U22 100*U33 100*U12 100*U13 100*U23
Calculated unit cell formula weight: 956.927, density: 2.903gm/cm**3

Histogram scale factors:
Histogram: 1 PXC
Scale : 24.3010
Sigmas : 0.705446
Shift/esd: 0.00
Histogram scale factor sum(shift/error)**2 : 0.00

Lattice parameters for powder data:
Phase 1
a b c alpha beta gamma volume
Value : 9.529349 9.529349 6.960403 90.000 90.000 120.000 547.383
Sigmas : 0.005331 0.005331 0.004804 0.000 0.000 0.000 0.767
Reciprocal metric tensor shift factor = 100%
Reciprocal metric tensor sum(shift/error)**2 : 0.00

ODF sph. harm. coefficients for phase no. 1:
Param. : 2 0 0 4 0 0 6 0 -6 6 0 6 8 0 -6 8 0 0 8 0 6 10 0 -6 10 0 0
Coeff. : -0.1087 0.2027 0.4538 -0.7092 -0.2256 0.6103 0.0227 -0.7929 0.4643 0.5002
Sigmas : 0.0819 0.0657 0.0593 0.0719 0.0584 0.1052 0.0784 0.1165 0.0810 0.1130
Shift/esd: 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00

Param. : 10 0 6 12 0 -12 12 0 -6 12 0 0 12 0 6 12 0 12
Coeff. : 0.8495 -0.7288 -1.1788 -0.2257 0.9980 0.4435
Sigmas : 0.0980 0.0945 0.1353 0.1268 0.1258 0.0813
Shift/esd: 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00
ODF coeff. sum(shift/error)**2 : 0.00

Canchim28 GENLES Version Win32 Oct 25 11:42:49 2016 Page 6

Profile coefficients for histogram no. 1 and for phase no. 1:
Coeff. : GU GV GW GP LX ptec trns shft sfec S/L
Value : 0.000E+00 -5.142E+02 4.305E+02 0.000E+00 1.165E+02 1.636E+01 -1.192E+02 2.200E+01 0.000E+00 1.500E-02
Sigmas : 4.341E+00 7.706E+00 2.208E+00 0.000E+00
Shift/esd: 0.00 0.00 0.00
Coeff. : H/L eta S1 S2 S3
Value : 1.500E-02 7.500E-01 0.000E+00 0.000E+00 0.000E+00
Sigmas : 0.000E+00
Shift/esd: 0.00
Profile coef. sum(shift/error)**2 : 0.00

Background coefficients for histogram no. 1:
Param. : 1 2 3 4 5 6
Coeff. : 5.265569E+01 -5.400253E+01 3.548708E+01 -1.974310E+01 1.499742E+01 -1.130252E+01
Sigmas : 5.061974E-01 5.129322E-01 5.468892E-01 4.571063E-01 4.267463E-01 4.747899E-01
Shift/esd: 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00
Param. : 7 8 9 10 11 12
Coeff. : 8.060141E+00 -4.974007E+00 6.411614E+00 -1.477154E+00 -4.466119E+00 1.291792E+00
Sigmas : 4.269142E-01 4.498564E-01 3.904898E-01 3.558681E-01 4.174590E-01 3.175169E-01
Shift/esd: 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00
Background coef. sum(shift/error)**2 : 0.00

CPU times for matrix build 0.76 sec; matrix inversion 0.02 sec
Final variable sum((shift/esd)**2) for cycle 90: 0.00 Time: 0.78 sec

Convergence was achieved

```

Figura 38 – Figura representativa da função Istview, apresentando os valores de parâmetros de rede e planos cristalográficos.

Fonte: elaborada pelo autor.

Nas tabelas 9 e 10 são apresentados os resultados do parâmetro de rede **a** para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore; também estão apresentados nessas tabelas os valores médios desse parâmetro de rede para cada amostra, assim como os valores de desvio-padrão.

Tabela 9 - Valores do parâmetro de rede a da raça Canchim (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	9,4169	9,4280	9,4193	9,4214	0,0059
Canchim 21	9,5675	9,4304	9,4194	9,4724	0,0825
Canchim 25	9,5614	9,4209	9,4210	9,4677	0,0811
Canchim 28	9,5293	9,4360	9,4260	9,4638	0,0570
Canchim 31	9,4191	9,5749	9,4207	9,4716	0,0895
Canchim 33	9,4140	9,4176	9,4163	9,4160	0,0019
Canchim 34	9,4318	9,4314	9,4374	9,4335	0,0034
Canchim 40	9,4155	9,4221	9,4258	9,4211	0,0052
Canchim 41	9,5520	9,4288	9,4123	9,4644	0,0763
Canchim 44	9,4238	9,4154	9,4158	9,4183	0,0048

Tabela 10 - Valores do parâmetro de rede a da raça Nelore (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	9,5277	9,4205	9,4162	9,4548	0,0632
Nelore 27	9,4210	9,4250	9,4254	9,4238	0,0024
Nelore 28	9,4153	9,4209	9,4341	9,4234	0,0096
Nelore 29	9,4227	9,4221	9,4160	9,4203	0,0037
Nelore 30	9,4332	9,4307	9,4286	9,4308	0,0023
Nelore 31	9,4225	9,4277	9,4164	9,4222	0,0057
Nelore 32	9,4145	9,4291	9,4301	9,4245	0,0087
Nelore 34	9,4223	9,4212	9,4262	9,4232	0,0026
Nelore 35	9,4197	9,4256	9,4314	9,4255	0,0059
Nelore 36	9,4129	9,4167	9,4234	9,4177	0,0053

Na figura 39 estão apresentadas as distribuições normais dos valores do parâmetro de rede **a** de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 39 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro de rede **a** das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões do parâmetro de rede **a** de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $9,445 \pm 0,0517 \text{ \AA}$.
- Nelore: $9,4266 \pm 0,0194 \text{ \AA}$.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores do parâmetro de rede **a** foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: <0,00001.

- Nelore: <0,00001.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição do parâmetro de rede **a** das raças Canchim e Nelore apresentam distribuição normal (p-valor<0,05); tal fato conduz a realização do teste **t** de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de **t** para os valores do parâmetro de rede **a** com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,0915 (p-valor>0,05); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro de rede **a**.

Nas tabelas 11 e 12 são apresentados os resultados do parâmetro de rede **b** para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore; também estão apresentados nessas tabelas os valores médios desse parâmetro de rede para cada amostra, assim como os valores de desvio-padrão.

Tabela 11 - Valores do parâmetro de rede b da raça Canchim (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	9,4169	9,4280	9,4193	9,4214	0,0059
Canchim 21	9,5675	9,4304	9,4194	9,4724	0,0825
Canchim 25	9,5614	9,4209	9,4210	9,4677	0,0811
Canchim 28	9,5293	9,4360	9,4260	9,4638	0,0570
Canchim 31	9,4191	9,5749	9,4207	9,4716	0,0895
Canchim 33	9,4140	9,4176	9,4163	9,4160	0,0019
Canchim 34	9,4318	9,4314	9,4374	9,4335	0,0034

Canchim 40	9,4155	9,4221	9,4258	9,4211	0,0052
Canchim 41	9,5520	9,4288	9,4123	9,4644	0,0763
Canchim 44	9,4238	9,4154	9,4158	9,4183	0,0048

Tabela 12 - Valores do parâmetro de rede b da raça Nelore (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	9,5277	9,4205	9,4162	9,4548	0,0632
Nelore 27	9,4210	9,4250	9,4254	9,4238	0,0024
Nelore 28	9,4153	9,4209	9,4641	9,4334	0,0267
Nelore 29	9,4227	9,4221	9,4160	9,4203	0,0037
Nelore 30	9,4332	9,4307	9,4286	9,4308	0,0023
Nelore 31	9,4225	9,4277	9,4164	9,4222	0,0057
Nelore 32	9,4145	9,4291	9,4301	9,4245	0,0087
Nelore 34	9,4223	9,4212	9,4262	9,4232	0,0026
Nelore 35	9,4197	9,4256	9,4314	9,4255	0,0059
Nelore 36	9,4129	9,4167	9,4234	9,4177	0,0053

Na figura 40 estão apresentadas as distribuições normais dos valores do parâmetro de rede b de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 40 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro de rede *b* das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões do parâmetro de rede *b* de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $9,445 \pm 0,0517 \text{ \AA}$.
- Nelore: $9,4129 \pm 0,0210 \text{ \AA}$.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores do parâmetro de rede *b* foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: <0,00001.
- Nelore: <0,00001.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição do parâmetro de rede **b** das raças Canchim e Nelore apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); tal fato conduz a realização do teste **t** de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de **t** para os valores do parâmetro de rede **b** com um intervalo de confiança de 95% apresentou $p\text{-valor}$ de: 0,1145 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro de rede **b**.

Nas tabelas 13 e 14 são apresentados os resultados do parâmetro de rede **c** para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore; também estão apresentados nessas tabelas os valores médios desse parâmetro de rede para cada amostra, assim como os valores de desvio-padrão.

Tabela 13 - Valores do parâmetro de rede **c** da raça Canchim (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	6,8802	6,8902	6,8859	6,8854	0,0050
Canchim 21	6,9887	6,8899	6,8839	6,9208	0,0589
Canchim 25	6,9900	6,8864	6,8933	6,9233	0,0579
Canchim 28	6,9604	6,8991	6,8902	6,9166	0,0382
Canchim 31	6,8800	6,9940	6,8809	6,9183	0,0655
Canchim 33	6,8819	6,8875	6,8805	6,8833	0,0037
Canchim 34	6,8939	6,8879	6,8882	6,8900	0,0034
Canchim 40	6,8784	6,8835	6,8879	6,8833	0,0048
Canchim 41	6,9758	6,8808	6,8816	6,9127	0,0546
Canchim 44	6,8866	6,8809	6,8778	6,8818	0,0045

Tabela 14 - Valores do parâmetro de rede c da raça Nelore (em Å).

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	6,9528	6,8843	6,8803	6,9058	0,0407
Nelore 27	6,8809	6,8835	6,8888	6,8844	0,0040
Nelore 28	6,8781	6,8815	6,8978	6,8858	0,0105
Nelore 29	6,8847	6,8840	6,8818	6,8835	0,0015
Nelore 30	6,8846	6,8918	6,8852	6,8872	0,0040
Nelore 31	6,8760	6,8852	6,8811	6,8808	0,0046
Nelore 32	6,8755	6,8868	6,8892	6,8838	0,0043
Nelore 34	6,8782	6,8749	6,8838	6,8790	0,0045
Nelore 35	6,8790	6,8944	6,8909	6,8851	0,0081
Nelore 36	6,8781	6,8805	6,8805	6,8797	0,0014

Na figura 41 estão apresentadas as distribuições normais dos valores do parâmetro de rede c de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 41 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro de rede **c** das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões do parâmetro de rede **c** de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $6,9015 \pm 0,0318 \text{ \AA}$.
- Nelore: $6,8858 \pm 0,0138 \text{ \AA}$.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores do parâmetro de rede **c** foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: $<0,00001$.
- Nelore: $<0,00001$.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição do parâmetro de rede **c** das raças Canchim e Nelore apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); tal fato conduz a realização do teste **t** de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de **t** para os valores do parâmetro de rede **c** com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,0446 ($p\text{-valor} < 0,05$); e, portanto estatisticamente não há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro de rede **c**.

Objetivando o cálculo do tamanho do cristalito, foi utilizado o equacionamento proveniente do manual do GSAS, no qual é tomado como referência o alargamento

da base do pico dos difratogramas refinados. O tamanho do cristalito para partículas com características anisotrópicas é obtido pela equação 01:

$$P_{\parallel} = \frac{18000.k.\lambda}{\pi.(X+X_e)} \quad \text{Equação 01}$$

Onde: $P_{\parallel}$ = tamanho do cristalito;

k = constante de Scherrer;

λ = comprimento de onda da aplicação do raio X;

π = número equivalente à razão entre o perímetro da circunferência e o diâmetro de um círculo, cujo valor aproximado é: 3,1416;

X = LX em Istview do GSAS;

X_e = ptec em Istview do GSAS.

Nas tabelas 15 e 16 são apresentados os resultados do tamanho de cristalito para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore; também estão apresentados nessas tabelas os valores médios do tamanho do cristalito para cada amostra, assim como os valores de desvio-padrão.

Tabela 15 - Valores do tamanho do cristalito em Angstroms (Å) da raça Canchim.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	70,5656	62,7179	73,7007	68,9947	5,6574
Canchim 21	53,4284	65,4043	77,8468	65,5599	12,2100
Canchim 25	79,4665	59,1263	58,2472	65,6133	12,0053
Canchim 28	61,2039	46,2926	67,3854	58,2940	10,8433
Canchim 31	54,0537	83,9065	75,8331	71,2644	15,4419
Canchim 33	61,4772	50,4911	52,5206	54,8296	5,8457
Canchim 34	62,3471	51,8353	65,9988	60,0604	7,3534

Canchim 40	61,5940	76,7266	81,3129	73,2112	10,3188
Canchim 41	57,5755	85,1202	71,0833	71,2597	13,7732
Canchim 44	60,8668	55,0951	81,3879	65,7833	13,8187

Tabela 16 - Valores do tamanho do cristalito em Angstrons (Å) da raça Nelore.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	57,3594	52,1822	66,0976	58,5464	7,0332
Nelore 27	55,1050	59,4342	61,8154	58,7849	3,4020
Nelore 28	57,9417	52,4070	53,2636	54,5374	2,9791
Nelore 29	58,6462	61,6112	57,2928	59,1834	2,2088
Nelore 30	53,4392	57,2255	64,1236	58,2628	5,4172
Nelore 31	53,5328	77,1064	58,4533	63,0308	12,4356
Nelore 32	54,5593	66,4126	59,1448	60,0389	5,9770
Nelore 34	60,7592	48,1900	54,9971	54,6488	6,2918
Nelore 35	52,5137	59,6542	59,4400	57,2026	4,0621
Nelore 36	55,5310	55,9672	66,3017	59,2667	6,0964

Na figura 42 estão apresentadas as distribuições normais dos valores do tamanho do cristalito de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 39 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro tamanho do cristalito das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões do tamanho do cristalito de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $66,4870 \pm 11,0076 \text{ \AA}$.
- Nelore: $58,3503 \pm 5,7047 \text{ \AA}$.

Para a verificação da normalidade da distribuição dos valores do tamanho do cristalito foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,237.
- Nelore: 0,0284.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição dos valores do tamanho do cristalito da raça Canchim não apresenta uma distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$); enquanto a raça Nelore apresenta distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); o fato de uma das raças não apresentar distribuição normal conduz a realização do teste não paramétrico de Wilcoxon de grupos pareados para constatar a semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de Wilcoxon para os valores do tamanho do cristalito com um intervalo de confiança de 95% apresentou $p\text{-valor}$ de: 0,0039 ($p\text{-valor} < 0,05$); e, portanto estatisticamente não há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro tamanho de cristalito.

Na determinação dos valores das microdeformações foi necessário um ajuste de perfil dos difratogramas que foi realizado com o uso da função tipo 4. A escolha dessa função justifica-se pelo fato de fornecer um melhor ajuste aos perfis assimétricos e por oferecer um excelente ajuste mesmo para ângulos muito baixos, além de fornecer resultados nos ajustes do alargamento irregular causado pela forma mais geral de ampliação da microdeformação. A equação 02 fornece os valores das microdeformações, para o caso triclinico inerentes à estrutura da HA:

$$\begin{aligned} \Gamma_s^2 = & S_{400} \cdot h^4 + S_{040} \cdot k^4 + S_{004} \cdot l^4 + 3 \cdot (S_{220} \cdot h^2 \cdot k^2 + S_{202} \cdot h^2 \cdot l^2 + S_{022} \cdot k^2 \cdot l^2) + \\ & 2 \cdot (S_{310} \cdot h^3 \cdot k + S_{103} \cdot h \cdot l^3 + S_{031} \cdot k^3 \cdot l + S_{130} \cdot h \cdot k^3 + S_{301} \cdot h^3 \cdot l + S_{013} \cdot k \cdot l^3) + \\ & 4 \cdot (S_{211} \cdot h^2 \cdot k \cdot l + S_{121} \cdot h \cdot k^2 \cdot l + S_{112} \cdot h \cdot k \cdot l) \end{aligned} \quad \text{Equação 02}$$

Onde: Γ_s^2 = valor das microdeformações;

h, k, l = índices de Miller;

$S_{400}, S_{040}, S_{004}, S_{220}, S_{202}, S_{022}, S_{310}, S_{103}, S_{031}, S_{130}, S_{301}, S_{013}, S_{211}, S_{121}, S_{112}$
= planos cristalográficos

Nas tabelas 17 e 18 são apresentados os resultados de microdeformações para cada amostra analisada das raças Canchim e Nelore, assim como são apresentados os valores médios e desvios-padrões de microdeformações para cada amostra.

Tabela 17 - Valores de microdeformações em Ângstrons (Å) da raça Canchim.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Canchim 15	0,0013	0,0013	0,0013	0,0013	0,0000
Canchim 21	0,001	0,0012	0,0013	0,0012	0,0002
Canchim 25	0,0012	0,0016	0,0014	0,0014	0,0002
Canchim 28	0,0011	0,0018	0,0014	0,0015	0,0004
Canchim 31	0,0013	0,001	0,0013	0,0012	0,0002
Canchim 33	0,0013	0,0014	0,0018	0,0015	0,0003
Canchim 34	0,0019	0,0015	0,0016	0,0017	0,0002
Canchim 40	0,0014	0,0013	0,0012	0,0013	0,0001
Canchim 41	0,0013	0,0012	0,0014	0,0013	0,0001
Canchim 44	0,0014	0,0015	0,0014	0,0014	0,0001

Tabela 18 - Valores de microdeformações em Ângstrons (Å) da raça Nelore.

	Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Valor médio	Desvio padrão
Nelore 25	0,0017	0,0015	0,0015	0,0016	0,0001
Nelore 27	0,0016	0,0016	0,0014	0,0015	0,0001
Nelore 28	0,0018	0,0015	0,0014	0,0016	0,0002
Nelore 29	0,0012	0,0018	0,0015	0,0015	0,0003
Nelore 30	0,0014	0,0012	0,0016	0,0014	0,0002

Nelore 31	0,0006	0,001	0,0017	0,0011	0,0006
Nelore 32	0,0006	0,0014	0,0014	0,0011	0,0005
Nelore 34	0,0017	0,0018	0,0013	0,0016	0,0002
Nelore 35	0,0015	0,0014	0,0012	0,0014	0,0001
Nelore 36	0,0013	0,001	0,0013	0,0012	0,0002

Na figura 43 estão apresentadas as distribuições normais dos valores de microdeformações de ambas as raças de bovinos, foi utilizado o programa DellTM StatisticaTM 13.2 trial version application.

Figura 40 – Gráficos da análise da distribuição normal para o parâmetro microdeformações das raças bovinas Canchim e Nelore.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os valores das médias aritméticas e os desvios-padrões das microdeformações de cada raça apresentam os valores de:

- Canchim: $0,0014 \pm 0,0002 \text{ \AA}$.

- Nelore: $0,0014 \pm 0,0003 \text{ \AA}$.

Para a verificação da normalidade da distribuição foi realizado o teste de Shapiro-Wilk onde foram encontrados os seguintes p-valores para as distribuições:

- Canchim: 0,268.

- Nelore: 0,0085.

Tomando como referência um intervalo de confiabilidade de 95% foi verificado que a distribuição do parâmetro microdeformações das raças Canchim e Nelore apresentam distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$); tal fato conduz a realização do teste t de grupos pareados para constatar semelhança; ou não; entre as raças Canchim e Nelore.

O teste de t para os valores de microdeformações com um intervalo de confiança de 95% apresentou p-valor de: 0,7110 ($p\text{-valor} > 0,05$); e, portanto estatisticamente há diferenças entre as raças Canchim e Nelore no parâmetro microdeformações.

5 DISCUSSÃO

A qualidade óssea de grandes animais é um assunto pouco discutido na literatura especializada; a intenção ao retomá-lo foi avaliar a qualidade óssea baseada na microarquitetura de 20 bovinos, sendo 10 da raça Canchim e 10 da raça Nelore, selecionados com controle dos processos biológicos e bioquímicos do nascimento até o abate aos 24 meses de idade, antes de entrarem na fase adulta, a fim de evitar a ocorrência do remodelamento ósseo.

Recentes estudos demonstram que a densidade óssea em humanos por si só é responsável por 65% da avaliação do risco de fratura óssea, a incorporação da DMO advindas da arquitetura trabecular pode aumentar esse valor para 90%.

Segundo a literatura, o que se analisa em grandes animais é a densidade mineral óssea (DMO) empregando a técnica de densitometria óptica através do uso de imagens radiográficas do sítio em estudo (ZULIM, 2004); que por si só é utilizada como avaliação da qualidade óssea.

A densidade mineral óssea (DMO) está vinculada à porcentagem de cálcio enquanto a qualidade óssea está relacionada com a microarquitetura óssea

O objetivo deste estudo foi contribuir com o acréscimo de dados através da avaliação da microarquitetura óssea para se somar à técnica então utilizada, que é a avaliação da densidade mineral óssea (DMO).

Segundo Cundy (2012), a HA pode ter múltiplas substituições e deficiências em todos os sítios iônicos ocasionando variações nos parâmetros de rede, tamanho de cristalito e microdeformações indicando, em primeira aproximação, uma baixa qualidade óssea (ROLLO, 2015). O propósito do trabalho era utilizar animais que até o seu abate não tivessem iniciado a remodelação óssea, que ocorre quando o tamanho do osso atinge a forma adulta.

Foi escolhida a diáfise cortical do osso metatarsal desidratado dos animais, de onde foram retiradas as amostras sólidas para os ensaios de microdureza Vickers/Knoop, nanoindentação e composição química. Parte deles foi transformada

em pó para a avaliação por difração de raios X a fim de se obter os valores de parâmetros de rede, tamanho de cristalito e microdeformações.

A propriedade mecânica microdureza Vickers/Knoop foi avaliada realizando 10 indentações para cada raça, sendo os valores Canchim de: $48,23 \pm 4,2131\text{HV}/34,785 \pm 3,2114\text{HK}$ enquanto o Nelore: $48,51 \pm 3,9506\text{HV}/36,35 \pm 3,3406\text{HK}$; valores esses que após a aplicação de testes estatísticos permitiram a constatação de diferenças entre os valores de microdureza Vickers e Knopp entre as raças bovinas estudadas. O fato de a dureza Vickers ser avaliada em uma profundidade de penetração sugere uma maior dispersão dos valores consideráveis pelo fato de o material ser anisotrópico. Os menores valores de desvios atribuídos a microdureza Knoop se devem ao fato de se tratar de uma dureza superficial, porém a resistência à deformação plástica é semelhante.

A avaliação da microestrutura cristalina de ossos metatarsal secos se deu por difração de raios X, de maneira que os difratogramas foram ajustados por meio de um modelo fenomenológico de Rietveld utilizando o programa GSAS com o intuito de ajustar os perfis das curvas de forma a aproximar o máximo possível os valores experimentais dos teóricos. Desse modo, foram obtidos os valores dos parâmetros de rede, tamanho de cristalito e microdeformação em Angstroms. Foram realizados três ensaios para cada amostra de cada raça e, subsequentemente, foram calculados os valores médios e desvios-padrões das raças. Os valores do parâmetro de rede **a** foram: Canchim $9,4450 \pm 0,0517\text{\AA}$ e Nelore: $9,4266 \pm 0,0194\text{\AA}$. Os valores do parâmetro de rede **b** foram: Canchim: $9,4450 \pm 0,0517\text{\AA}$ e Nelore: $9,4129 \pm 0,0216\text{\AA}$. Os valores do parâmetro de rede **c** foram: Canchim: $6,9015 \pm 0,0318\text{\AA}$ e Nelore: $6,8858 \pm 0,0138\text{\AA}$; valores esses que após a aplicação dos testes estatísticos permitiram constatar que os parâmetros de rede **a** e **b** apresentaram diferenças para as raças bovinas Canchim e Nelore; enquanto o parâmetro de rede **c** não apresentou diferenças significativas entre as raças. Os valores do tamanho de cristalito foram: Canchim: $66,4870 \pm 11,0076\text{\AA}$ e Nelore: $58,3503 \pm 5,7047\text{\AA}$; valores esses que após a aplicação dos testes estatísticos permitiram a constatação de que não há diferenças entre as raças estudadas. Os valores de microdeformação foram: Canchim: $0,0014 \pm 0,0002\text{\AA}$ e Nelore: $0,0014 \pm 0,0003\text{\AA}$; valores esses que após a aplicação de testes estatísticos permitiram a constatação de que existem diferenças entre as raças bovinas Canchim

e Neore. O fato de não ocorrer o remodelamento ósseo e não haver trocas iônicas na estrutura cristalina da hidroxiapatita biológica resulta na não ocorrência de variações significativas entre os valores de parâmetros de rede, tamanho de cristalito e microdeformações das células unitárias. Caso houvesse as trocas iônicas e, conseqüentemente, uma substituição do elemento cálcio por elementos com raios atômicos menores, acarretaria uma maior desorganização da célula unitária (COSTA et al, 2009). Essa troca deixaria o osso menos rígido e a desorganização da célula unitária causaria o aumento dos valores de microdeformação ocorrendo a perda de qualidade óssea.

Foram realizadas três determinações das composições químicas para cada amostra dos ossos provenientes de animais das raças Canchim e Nelore e, subsequentemente, foram calculados os valores médios e desvios-padrões das raças. A composição química do osso metatarsal cortical seco do animal da raça Canchim 15 apresentou em um dos ensaios: cálcio (51,024%), fósforo (45,663%), silício (2,123%) e traços de alumínio, enxofre, potássio, estrôncio, ferro e zinco, além da proporção de cálcio e fósforo de $2,3846 \pm 0,0923$. A composição química do osso metatarsiano cortical seco do animal da raça Nelore 31 apresentou em um dos ensaios: cálcio (50,936%), fósforo (45,642%), silício (2,276%) e traços de alumínio, enxofre, potássio e estrôncio, além da proporção de cálcio e fósforo de $2,3361 \pm 0,0191$.

Os valores médios e desvios-padrões da relação cálcio e fósforo das raças Canchim e Nelore foram: $2,3488 \pm 0,0695$ e $2,3333 \pm 0,0419$. Os resultados da proporção cálcio e fósforo foram estudados através de testes estatísticos e os mesmos, indicaram que a densidade mineral óssea das duas raças é diferente. Comparativamente a ossos humanos com padrões normais da relação cálcio/fósforo ($2,02 \pm 0,11$) (BOFFA, 2014), os ossos bovinos das raças Canchim e Nelore apresentaram valores superiores indicando uma maior rigidez.

A técnica de nanoindentação permitiu avaliar simultaneamente os módulos de elasticidade e valores de nanoindentação das duas raças. O módulo de elasticidade é uma medida da rigidez do material (PLOTINO et al., 2007). Os valores médios e desvios-padrões do módulo de elasticidade e nanoindentações (nanodureza Vickers) das raças Canchim e Nelore foram: $15,5205 \pm 2,7622 \text{ GPa} / 65,953 \pm 14,671 \text{ HV}$ e $14,4535 \pm 2,2901 \text{ GPa} / 61,141 \pm 16,999 \text{ HV}$. É possível afirmar que as características

mecânicas de cada raça são semelhantes para o parâmetro módulo de elasticidade enquanto pela nanoindentação as raças bovinas Canchim e Nelore apresentaram diferenças estatísticas.

A partir dos valores de microdureza Vickers/Knoop; nanodureza Vickers; módulo de elasticidade; relação dos elementos cálcio/fósforo; parâmetros de rede (**a**, **b** e **c**); tamanho de cristalito e microdeformação indicam, estatisticamente, diferenças de 70% entre as raças bovinas Canchim e Nelore; enquanto 30% dos parâmetros indicam semelhanças entre as raças estudadas.

6 CONCLUSÃO

A metodologia proposta nesse trabalho avaliou e comparou a qualidade óssea em bovinos utilizando a microarquitetura óssea através dos valores de parâmetros de rede da estrutura cristalina da hidroxiapatita, tamanho de cristalito, microdeformações, relação cálcio e fósforo, microdurezas Vickers/Knoop, nanodureza Vickers e módulo de elasticidade.

Essa rota experimental inédita aplicada para avaliação e comparação da qualidade óssea de bovinos conduziu à semelhança estatística de três parâmetros – módulo de elasticidade; tamanho de cristalito e parâmetro de rede **c** – enquanto que os demais sete parâmetros – nanodureza Vickers; microdureza Vickers; microdureza Knoop; relação cálcio/fósforo; parâmetro de rede **a**; parâmetro de rede **b** e microdeformação – apresentaram estatisticamente diferenças.

Portanto é possível concluir que 30% dos parâmetros avaliados apresentaram estatisticamente semelhança; enquanto 70% dos parâmetros estudados apresentaram estatisticamente diferenças entre as raças bovinas Canchim e Nelore.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HITI, J. et al. *Spinal calcium: It's in vivo measurement in man*. Int. J. Appl. Radiat. Isot., v. 27, p. 27-97, 1976.

ALLEN, M. R.; BURR, D. B. *Bisphosphonate effects on bone turnover, microdamage, and mechanical properties: What we think we know and what we don't know*. Bone, v. 49, n. 1, p. 56-65, 7// 2011. ISSN 8756-3282. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S8756328210018636>>. Acesso 22 de em janeiro de 2016.

ANDERSON, J. B.; SCHIMMINS, J.; SMITH, D. A. *A new technique for the measurements of metacarpal density*. Br. J. Radiol., v. 39, p. 443-450, 1966.

BARRERE, F. et al. *Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx5 solution*. Biomaterials, v. 23, n. 9, p. 1921-1930, 5// 2002. ISSN 0142-9612. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961201003180>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

BEST, S. M.; PORTER, A. E.; THIAN, E. S.; HUANG, J. *Bioceramics: past, present and for the future*. Journal of the European Ceramic Society, v. 28, p. 1319-1327, 2008.

BOSKEY, A. L.; MARKS, S. C., JR. *Mineral and matrix alterations in the bones of incisors-absent (ia/ia) osteopetrotic rats*. Calcified Tissue International, v.37, n. 3, p. 287-292, 1985/05/01 1985. ISSN 0171-967X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF02554876>>. Acesso em 25 de janeiro de 2016.

BRAGA, F. J. C.; *Materiais aplicados à medicina e odontologia*. São Paulo: Artliber Editora, 2015.

BRUNDLE, C. R. E., C. A. WILSON, S. *Encyclopedia of Materials Characterization: Surfaces, Interfaces, Thin Films*. Greenwich: Manning Publication Company, 1992.

BOFFA, R. S.; *Avaliação da microarquitetura de ossos trabeculares*; Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação interunidades Bioengenharia, Universidade de São Paulo; 2014

CAMERON, J. R. ; SORENSON, J. *Memsurements of bone mineral in vivo: na improved method*. Science, v. 32, p. 142-230, 1963.

CALLISTER, W. D.; *Fundamentos da ciência e engenharia dos materiais: uma abordagem integrada – Rio de Janeiro*. LTC, 2006. ISBN 987-85-216-1597-2

CIRILLO, M. A.; FERREIRA, D. F. *Extensão do teste para normalidade univariado baseado no coeficiente de correlação quantil-quantil para o caso multivariado*, Ver. - Mat. Estat. Revista matemática e estatística, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 67-84, 2003

COSTA, A. C. F. M. et al. *Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações*. Revista eletrônica de Materiais e Processos, v. 4, n. 3, p. 10, 2009.

CULLITY, B. D. *Elements of X-ray diffraction*. 2. Massachusetts, USA: Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 1978.

CUNDY, T.; REID, I. R. *Paget's disease of bone*. Clinical Biochemistry, v. 45, n. 1-2, p. 43-48, 1// 2012. ISSN 0009-9120. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009912011026890>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

DEKKER, R. J. et al. *Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate-coated titanium discs*. Biomaterials, v. 26, n. 25, p. 5231-2539, 9// 2005. ISSN 0142-9612. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/article/pii/S0142961205001079>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

DEMPSTER, D. *Bone microarchitecture and strength*. Osteoporosis International, v. 14, n.5, p.54-56, 2003/09/01 2003. ISSN 0937-941X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-003-1474-4>>. Acesso em 22 de janeiro de 2016.

DILWORTH, L. et al. *Bone and faecal minerals and scanning electron microscopic assessments of femur in rats fed phytic acid extract from sweet potato (Ipomoea batatas)*. BioMetals, v. 21, n. 2, p. 133-141, 2008/04/01 2008. ISSN 0966-0844. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10534-007-9101-z>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

EGERTON, R. F.; LI, P.; MALAC, M. *Radiation damage in the TEM and SEM*. Micron, v. 36, n. 6, p. 399-409, 8//2004. ISSN 0968-4328. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432804000381>>.

FRATZL, P. et al. *Effects of sodium fluoride and alendronate on the bone mineral in minipigs: A small-angle X-ray scattering and backscattered electron imaging study*. Journal of Bone and Mineral Research, v. 11, n. 2, p. 248-256, 1996. ISSN 1523-4681. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.5650110214>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

FROST, H. M. *Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling*. Calcif Tissue Res. n3, p.211-237, 1969

FUNG, Y. C. *Biomechanics: mechanical properties of living tissues*. 2nd ed, New York: Springer-Verlag, 1993. 568p.

GARNET, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de histologia*. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

HALL, S. *Biomecânica básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

HELGASON, B. et al. *Mathematical relationships between bone density and mechanical properties: A literature review*. Clinical Biomechanics, v. 23, n. 2, p. 135-146, 2//2008. ISSN 0268-0033. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268003307001866>>. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

HIMES, J. H. *Bone growth and development in protein-calorie malnutrition*. *World Rev. Nutr. Diet.*, v. 28, p. 143-187, 1978.

HOWELL, P. G. T.; BOYDE, A. *Volumes from which Calcium and Phosphorus X-Rays Arise in Electron Probe Emission Microanalysis of Bone: Monte Carlo Simulation*. *Calcified Tissue International*, v. 72, n. 6, p. 745-749, 2003/06/01, ISSN 0171-967X. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-002-2010-9>

JILKA, R. L. *Biology of the Basic Multicellular Unit and the Pathophysiology of Osteoporosis*. *Medical and Pediatric Oncology*, v. 41, p. 182-185, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433 p.

KARSENTY, G. *The central regulation of bone remodeling*. *TEM*, v.11, n.10, p. 437-439, 2000.

KAWACHI, E. Y. BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O. L. *Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar*. *Química Nova*, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.

KIM, H. S. et al, *Experimental and numerical analyses of indentation in single piece and split type specimens*. *Journal of materials science*, v. 37, p. 29-34, 2002. ISSN 0022-2461. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1013177304200>>. Acessado em 30/07/2017.

KLEEREKOPER, M. et al, *The role three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures*. *Calcified Tissue International*, v. 37, n.6, p. 594-597, 1985. ISSN 0171-967X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF02554913>>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

KLEIN, C. P. A. T. et al. *Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro*. Biomaterials, v. 11, n. 7, p.509-512, 9// 1990. ISSN 0142-9612. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014296129090067Z>>. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

KLUG, H. P.; ALEXANDER, L.E. *X-Ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials*. 2nd Edition, John Wiley & Sons, 1974.

KOHLI, S.; TITHNER, C. D.; DORHOUT, P.K. *X-ray characterization of annealed iridium films*, Journal of Applied Physics, v. 91, n. 3, p. 1149-154, 02/01/2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1063/1.1429798>>. Acesso em 22 de janeiro de 2016.

KOURKOUMELIS, N.; BALATSOUKAS, I.; TZAPHLIDOU, M. *Ca/P concentration ratio at different sites of normal and osteoporotic rabbit bones evaluated by Auger and energy dispersive X-ray spectroscopy*. Journal of Biological Physics, v. 38, n. 2, p. 279-291, 2012. ISSN 0092-0606. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10867-011-9247-3>>. Acesso em 25 de janeiro de 2016.

LEVANTOURI, T. *Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions*. Biomaterials, v. 27, n. 18, p. 3339-3342, 6//2006. ISSN 0142-9612. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206001761>>. Acesso em 22 de janeiro de 2016.

MARCONDES, C. G. *EMBRAPA presente no passado e no futuro da raça Canchim*. Informativo Canchim, v. 7, p. 41-43, 2010.

MARCUS, R. et al. *Fundamentals of osteoporosis*. UK: Elsevier, 2010.

NOOR, A. et al. *Assessment of Microarchitecture And Crystal Structure of Hydroxyapatite in Osteoporosis*. UNIVERSA MEDICINA, v. 31, n.1, 2011

ODEN, Z. M. et al. *The effect of trabecular structure on DXA based predictions of bovine bone failure*. *Calcif. Tissue Int.*, v. 63, p. 67-73, 1998.

PASCHOAL, A. L. (2003). *Estudo da viabilidade de aplicação do polímero piezoelétrico fluoreto de polivinilideno (PVDF) entre osso cortical e placa osteossíntese para estimulação de crescimento ósseo*. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos / Instituto de Física de São Carlos / Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo. São Carlos.

PECHARSKY, V. K. *Fundamentals of powder-diffraction and structural characterization of materials*. Springer, 2005.

PRAMANIK, S.; ATAOLLAHI, F.; PINGGUAN-MURPHY, B.; OSHKOUR, A. A.; OSMAN, N. A. A. In Vitro Study of Surface Modified Poly (ethylene glycol) - Impregnated Sintered Bovine Bone Scaffolds on Human Fibroblast Cells. *Nature*, 2015, ISSN (online): 2045-2322. Disponível em: <<http://www.nature.com/srep/2015/150507/srep09806/pdf/srep09806.pdf>>. Acesso em 22 de janeiro de 2016.

PRAMANIK, S.; PINGGUAN-MURPHY, B.; CHO, J.; OSMAN, N. A. A. *Design and Development of Potential Tissue Engineering Longitudinal Parts of a Bovine-Femur*. *Nature*, 2014, ISSN (online): 2445-2322. Disponível em: <<http://www.nature.com/srep/2014/140728/srep05843/pdf/srep05843.pdf>>. Acesso em 25 de janeiro de 2016.

PRATT JR, G. W. An in vivo method of ultrasonically evaluating bone strength. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v. 13, p. 26-29, 1980.

OU-YANG, H. et al. *Infrared Microscopic Imaging of Bone: Spatial Distribution of CO₃²⁻*. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 16, n. 5, p. 893-900, 2001. ISSN 1523-4681. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.5.893>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

RAYNAUD, S. et al. *Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders*. Biomaterials, v. 23, n. 4, p. 1065-1072, 2/15/ 2002. ISSN 0142-9612. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961201002186>>. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

REICH, N. E. et al. *Determination of bone mineral content using CT scanning*. Am. J. Roentgenol. Ther. Radium Nucl. Med., v. 127, p. 593, 1976.

RIETVELD, H. *Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement*. Acta Crystallographica, v. 22, n. 1,, p. 151-152, 01/10 1967. ISSN 0365-110X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1107/S0365110X67000234>>. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

RIGGS, B. L. et al. *A Population-Based Assessment of Rates of Bone Loss at Multiple Skeletal Sites: Evidence for Substantial Trabecular Bone Loss in Young Adult Women and Men*. Journal of Bone and Mineral Research, v. 23, n.2, p. 205-214, 2008. ISSN 1523-4681. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.071020>>. Acesso em 22 de janeiro de 2016.

ROLLO, J. M. D. A.; BOFFA, R. S.; CESAR, R.; SCHAWB, D. C.; LEIVAS, T. P. *Assessment of trabecular bones microarchitutures and crystal structure of hydroxyapatite in bone osteoporosis with application of the Rietveld method*. Procedia Engineering. v. 110, p. 8-14, 2015. ISSN 1877-7058. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705815012448> >. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

RIGO, E. C. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; BOSCH, A. O.; CARRODEGUAS, R.G. *Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita*. Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, 1999.

ROSCHGER, P, PASCHALIS, E.P., FRATZL, P, KLAUSHOFER, K.; *Bone mineralization density distribution in health and disease*. Bone. V. 42, P. 456-466, 2008.

ROSCHGER, P. et al. *Bone material quality in transiliac bone biopsies of postmenopausal osteoporotic women after 3 years of strontium ranelate treatment*. Journal of Bone and Mineral Research, v. 25, n. 4, p. 891-900, 2010. ISSN 1523-4681. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.13559/jbmr.091028>>.

SAITO, M.; MARUMO, K. *Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus*. Osteoporosis International, v. 21, n. 2, p. 195-214, 2010/02/01 2010. ISSN 0937-941X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-009-1066-z>>. Acesso em 21 de janeiro de 2016.

SANTOS, F. A. M. *Determinação dos valores normais da densidade mineral óssea (DMO) da extremidade distal do rádio-ulna em gatos, por meio da técnica de densitometria óptica em imagem radiográfica: correlação entre peso, sexo, idade*. 2002. 54 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

SHEN, Y. et al. *Postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis show different ultrastructural characteristics of trabecular bone of the femoral head*. BMC Musculoskeletal Disorders, v. 10, n. 1, p. 35, 2009. ISSN 1471-2474. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2474/10/35>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

SUNNER-SMITH, G.; CAWLEY, A. J. *Nonunion of fracture in the dog*. J. Small Anim. Pract., v. 11, p. 311-325, 1970.

TEIXEIRA, E. M. *Refinamento de tamanho de partícula e microdeformação de amostras policristalinas através de perfis de difração de raios-X utilizando as teorias cinética e dinâmica*. Fortaleza, 2013. 46f Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Física, Fortaleza.

TURNER, C. H. et al. *The fabric dependenc of the orthotropic elastic constants of cancellous bone*. Journal of Biomechanics, v. 23, n. 6, p. 549-561, // 1990. ISSN

0021-9290. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021929090900488>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

VALLET-REGÍ, M.; CALBET-GONZÁLEZ, J. M. *Calcium phosphates as substitution of bone tissues*. Progress in solid state chemistry, v. 32, n. 1/2, p. 1-31, 2004.

WILIANS, S. N. et al. *Criteria to evaluate bone mineralization in cattle: II. Noninvasive techniques*. J. Anim. Sci., v. 69, n. 3, p. 1.243-1.254, 1991.

WOOLFSON, M. M. *An Introduction to X-ray Crystallography*, 2. U.K.: Cambridge University Press 1997.

ZHENG, X.; LI, J.; ZHOU, Y. *X-ray diffraction measurement of residual stress in PZT thin films prepared by pulsed laser deposition*. Acta Materialia, v. 52, n. 11, p. 3313-3322, 6/21/2004. ISSN 1359-6454. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359645404001764>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

ZHENG, X. J.; YANG, Z. Y.; ZHOU, Y. *Residual stress in Pb (Zr_{0,52}Ti_{0,48})O₃ thin films deposited by metal organic decomposition*. Scripta Materialia, v. 49, n.1, p. 71-76, 7/2003, ISSN 1359-6462. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359646203001817>>. Acesso em 26 de janeiro de 2016.

ZULIM, R. M. I., *Estudo do crescimento ósseo de bovinos da raça nelore até 24 meses de idade: padronização e correlação da densidade mineral óssea do (DMO) do III metacarpo com sexo, idade e peso*. 2004 59 f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

ANEXO A

DECLARAÇÃO

PRT 05/2015

Declaramos que o projeto intitulado: "Estudo comparativo da qualidade óssea de bovinos das raças Canchim e Nelore, baseado na estrutura cristalina da hidroxiapatita", usando animais *Bos taurus indicus* e mestiços com *B. t. taurus*, sob responsabilidade da pesquisador científico Rymer Ramiz Tullio, está de acordo com os princípios éticos e de experimentação animal da Embrapa Pecuária Sudeste e foi aprovado pela referida instituição
(We hereby declare that the research: "Comparative study of bone quality of Canchim and Nelore beef cattle, based on the crystal structure of hydroxyapatite", utilizing *Bos taurus indicus* and crossbred with *B. t. taurus* species, under the responsibility of the scientific researcher Rymer Ramiz Tullio, is in agreement with ethical principles of animal experimentation of Embrapa Southeast Livestock and was approved to be carried out at that institution).

São Carlos, 10 de setembro de 2015.

Dra. Márcia Cristina de Sena Oliveira
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Pecuária Sudeste

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rod. Washington Luiz, km 234 - Caixa Postal 339 13560-970 - São Carlos, SP
Telefone (16) 3411-66100 - Fax (16) 3361-6754

CEUA -PRT 05/2015

Nome do projeto: "Estudo comparativo da qualidade óssea de bovinos das raças Canchim e Nelore, baseado na estrutura cristalina da hidroxiapatita".

PARECER DO RELATOR 1

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: No projeto descrito serão retiradas 20 amostras, 10 da raça Canchim e 10 da raça Nelore, do osso metatarso trabecular seco, de animais abatidos aos 24 meses de idade. Análises posteriores desse material serão realizadas em microscopia e demais técnicas descritas. As amostras serão coletadas de animais cujos abates já estavam previstos e autorizados em outros dois projetos 02.12.02.008.00.00 (projeto ADAPT+, para animais da raça Canchim) e projeto BASF.

O projeto pode ser classificado como G1 = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse e ainda poderá proporcionar a produção em escala comercial de hidroxiapatita orgânica, contribuindo na área médica e odontológica.

Nome: Ana Carolina de Souza Chagas

Assinatura:

Data: 21/08/2015

PARECER DO RELATOR 2

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: O projeto propõe o aproveitamento de mais um tecido (ossos) após o abate dos bovinos, além dos tecidos previamente previstos e aprovados em outros projetos pela CEUA, que também aprovou as condições de criação e abate dos animais.

Nome: Simone Cristina Méo Niciura

Assinatura:

Data: 10/09/2015

PARECER DA CEUA da Embrapa Pecuária Sudeste

APROVADO (X) APROVADO COM RESTRIÇÕES () REPROVADO ()

Justificativa: Acato os pareceres apresentados pelos consultores.

Nome: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Assinatura da Presidente da Comissão:

Data: 10/09/2015

APÊNDICE A

Espectro de energia dispersiva da amostra Canchim 15. Na parte superior da imagem estão os elementos que estão compreendidos no canal Ti-U e na parte inferior da imagem os elementos que estão compreendidos no canal Na-Sc.

Sample : Canchim 15
Operator: Rogério
Comment : HIDROXIAPATITA
Group : Cortical
Date : 2016-07-27 14:59:46

Measurement Condition

Instrument:	EDX-720	Atmosphere:	Vac.	Collimator:	5(mm)	Sample Cup:	Polypropylene
Analyte	TG kV	uA	FI	Acq. (keV)	Anal. (keV)	Time(sec)	DT (%)

Ti-U	Rh 50	75-Auto	----	0 - 40	0.00-40.00	Live- 100	39
Na-Sc	Rh 15	320-Auto	----	0 - 20	0.00- 4.40	Live- 100	40

Quantitative Result

Analyte	Result	[3-sigma]	Proc.-Calc.	Line	Int.(cps/uA)

CaO	51.024 %	[0.135]	Quan-FP	CaKa	40.3929
P2O5	45.663 %	[0.182]	Quan-FP	P Ka	17.3443
SiO2	2.123 %	[0.035]	Quan-FP	SiKa	0.5664
Al2O3	0.697 %	[0.154]	Quan-FP	AlKa	0.0295
SO3	0.228 %	[0.023]	Quan-FP	S Ka	0.1300
K2O	0.186 %	[0.019]	Quan-FP	K Ka	0.1370
SrO	0.049 %	[0.002]	Quan-FP	SrKa	1.8365
Fe2O3	0.016 %	[0.004]	Quan-FP	FeKa	0.1124
ZnO	0.013 %	[0.002]	Quan-FP	ZnKa	0.1898

Características técnicas do ensaio de EDS e composição química do osso.

Amostra examinada: Canchim 15.

Espectro de energia dispersiva da amostra Nelore 31. Na parte superior da imagem estão os elementos que estão compreendidos no canal Ti-U e na parte inferior da imagem os elementos que estão compreendidos no canal Na-Sc.

Sample : Nelore 31
 Operator: Rogério
 Comment : HIDROXIAPATITA
 Group : Cortical
 Date : 2016-07-27 16:27:03

Measurement Condition

Instrument: EDX-720		Atmosphere: Vac.		Collimator: 5(mm)		Sample Cup:Polypropylene	
Analyte	TG kV	uA	FI	Acq. (keV)	Anal. (keV)	Time(sec)	DT(%)
Ti-U	Rh 50	78-Auto	----	0 - 40	0.00-40.00	Live- 100	40
Na-Sc	Rh 15	333-Auto	----	0 - 20	0.00- 4.40	Live- 100	41

Quantitative Result

Analyte	Result	[3-sigma]	Proc.-Calc.	Line	Int. (cps/uA)
CaO	50.936 %	[0.132]	Quan-FP	CaKa	40.4296
P2O5	45.642 %	[0.178]	Quan-FP	P Ka	17.3302
SiO2	2.276 %	[0.035]	Quan-FP	SiKa	0.6081
Al2O3	0.771 %	[0.149]	Quan-FP	AlKa	0.0327
K2O	0.160 %	[0.018]	Quan-FP	K Ka	0.1180
SO3	0.157 %	[0.019]	Quan-FP	S Ka	0.0897
SrO	0.058 %	[0.002]	Quan-FP	SrKa	2.2032

Características técnicas do ensaio de EDS e composição química do osso.

Amostra examinada: Nelore 31.