*Análise das Propriedades Mecânicas dos
Fêmures de Coelhos Submetidos a Dietas
com Diferentes Concentrações de Flúor*

*Autor: Luiz Carlos de Paula Mello
Orientador: Prof. Dr. José B. Volpon*

**BIOENGENHARIA
USP**

Curso de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia

*Escola de Engenharia de São Carlos
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Instituto de Química de São Carlos*

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FÊMURES
DE COELHOS SUBMETIDOS A DIETAS COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE FLÚOR

LUIZ CARLOS DE PAULA MELLO

RIBEIRÃO PRETO

1999

**ANÁLISE DAS PROPRIEDADES
MECÂNICAS DOS FÊMURES DE COELHOS
SUBMETIDOS A DIETAS COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE FLÚOR**

Luiz Carlos de Paula Mello

Dissertação apresentada à 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 obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José B. Volpon

Ribeirão Preto

1999

Classe	TESE - EESC
Cuti.	3515
Tombo	T0270/99

NT 1077951

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC-USP**

Mello, Luiz Carlos de Paula

Análise das propriedades mecânicas dos fêmures de coelhos submetidos a dietas com diferentes concentrações de flúor/

Luiz Carlos de Paula Mello. – São Carlos, 1999.

Dissertação (Mestrado). – Área Interunidades em Bioengenharia da EESC/FMRP/IQSC – Universidade de São Paulo, 1999.

Orientador: Prof. Dr. José B. Volpon

1. Propriedades mecânicas. 2. Osso. 3. Flúor.
4. Coelho. I. Título.

Universidade de São Paulo
Curso de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia
Escola de Engenharia de São Carlos
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Instituto de Química de São Carlos

Av. Dr. Carlos Botelho, 1465 - C.P. 359 - 13560-970 - São Carlos - SP - BRASIL
Tel. (016) 273-9585 Fax: (016) 273-9586 Email: bioeng@sc.usp.br

**MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DO ALUNO LUIZ CARLOS DE PAULA MELLO APRESENTADA AO CURSO DE
PÓS-GRADUAÇÃO INTERUNIDADES BIOENGENHARIA EESC/FMRP/IQSC-
USP, EM 15/10/1999.**

Prof. Dr. José Batista Volpon(orientador) –FMRP/USP

Prof. Dr. Murilo Antonio da Rocha –FMVTM-MG

Prof. Dr. Mário Jefferson Quirino Louzada– FMVA-UNESP

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. José B. Volpon, pela orientação deste trabalho, seriedade e profissionalismo.

Ao Dr. Antônio Carlos Shimano, pela amizade, participação e empenho na elaboração.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Dessimoni Carregal, do Departamento de Zootecnia da UNESP- Jaboticabal, pelas idéias e sugestões.

Ao Prof. Dr. José Baptista P. Paulin, chefe do Laboratório de Bioengenharia pela disponibilidade deste Laboratório.

Ao Adriano, Marcos Shimano, Vítor, e a todos os colegas da pós-graduação, pela amizade, e pelo auxílio na elaboração deste.

Aos funcionários Francisco Carlos Mazzocato, Luiz Henrique Alves Pereira, Carlos Alberto Moro e Maria Teresinha de Moraes, do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela amizade, auxílio e agradável convivência.

À Pós-graduação das Interunidades EESC/FMRP/IQSC-USP, pela oportunidade de realizar este trabalho.

**À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa
do Estado de São Paulo, pelo apoio,
e concessão de bolsa de mestrado (MS I e MS II).**

*A minha esposa Ana Rosa, com muito carinho,
pela dedicação e compreensão nos momentos de ausência.*

A "pequena" Luana, grande alegria neste momento.

*Dedico: aos meus pais e meus irmãos,
por tudo que fizeram por mim.*

SUMÁRIO¹

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	iv
LISTA DE SÍMBOLOS.....	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Osso	4
1.1.1 Função e composição do osso	4
1.1.2 Estrutura e formação do osso	5
1.1.3 Mineralização óssea.....	8
1.2 Flúor.....	11
1.3 Propriedades mecânicas e geométricas	15
1.3.1 Propriedades mecânicas.....	18
1.3.2 Propriedades geométricas	23
1.4 Objetivo.....	24
2 MATERIAL E MÉTODO.....	25
2.1 Animal utilizado	25
2.2 Ensaio de digestibilidade.....	26
2.3 Rações	27
2.4 Agrupamento.....	29
2.5 Coleta de ossos	29
2.6 Ensaio mecânico	30
2.6.1 Limite de proporcionalidade	33
2.6.2 Limites máximos.....	33
2.6.3 Rigidez	33
2.6.4 Resiliência (E) - (Energia absorvida na fase elástica).....	34
2.7 Análise estatística	37
3 RESULTADOS	38
3.1 Carga no limite de proporcionalidade.....	46

1- Normas de acordo com as diretrizes para elaboração de dissertações e teses na EESC-USP, 2ª ed.

3.2 Deflexão no limite de proporcionalidade.....	47
3.3 Cargas no limite máximo	48
3.4 Deflexão no limite máximo	49
3.5 Rigidez.....	50
3.6 Resiliência.....	51
3.7 Tensão máxima.....	52
3.8 Tensão proporcional	53
4 DISCUSSÃO	56
5 CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	72

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01-	Desenho esquemático de um corte transversal e longitudinal do córtex de um osso longo.....	06
FIGURA 02-	Desenho esquemático de uma organização de moléculas de colágeno numa fibrila de colágeno.....	09
FIGURA 03-	Ensaio mecânico de flexão em três pontos.....	20
FIGURA 04-	Montagem do teste de flexão em 3 pontos.....	31
FIGURA 05-	Exemplo de gráfico carga aplicada $\times$ deflexão, utilizado para determinação das propriedades mecânicas.....	32
FIGURA 06-	Exemplo de secção transversal da posição medial do fêmur.....	35
FIGURA 07-	Desenho esquemático do osso biapoiado em relação à carga aplicada.....	36
FIGURA 08-	Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 1.....	40
FIGURA 09-	Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 2.....	40
FIGURA 10-	Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 3.....	41
FIGURA 11-	Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 4.....	41
FIGURA 12-	Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 5.....	42
FIGURA 13-	Comparação entre os valores médios das cargas no limite de proporcionalidade nos diferentes grupos.....	46
FIGURA 14-	Comparação entre os valores médios das deflexões no limite de proporcionalidade nos diferentes grupos.....	47
FIGURA 15-	Comparação entre os valores médios das cargas no limite máximo nos diferentes grupos.....	48

FIGURA 16-	Comparação entre os valores médios das deflexões no limite máximo nos diferentes grupos.....	49
FIGURA 17-	Comparação entre os valores médios da rigidez nos diferentes grupos.....	50
FIGURA 18-	Comparação entre os valores médios da resiliência nos diferentes grupos.....	51
FIGURA 19-	Comparação entre os valores médios da tensão máxima nos diferentes grupos.....	52
FIGURA 20-	Comparação entre os valores médios da tensão proporcional nos diferentes grupos.....	53
FIGURA 21-	Curvas representando as médias das propriedades mecânicas.....	54

LISTA DE TABELAS

TABELA 01-	Exemplos de tecidos biologicamente mineralizados.....	11
TABELA 02-	Composição percentual das rações experimentais.....	28
TABELA 03-	Valores médios do peso e das medidas dos fêmures.....	38
TABELA 04-	Médias dos índices de digestibilidade obtidos durante o ensaio de digestibilidade	39
TABELA 05-	Valores médios das tensões dos fêmures de cada coelho.....	39
TABELA 06-	Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 1 – (testemunha).....	42
TABELA 07-	Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 2 (25 ppm de flúor).....	43
TABELA 08-	Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 3 (35 ppm de flúor).....	43
TABELA 09-	Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 4 (45 ppm de flúor).....	43
TABELA 10-	Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 5 (55 ppm de flúor).....	44
TABELA 11-	Valores médios das propriedades mecânicas obtidas nos ensaios de flexão dos ossos para os diferentes grupos.....	45
TABELA 12-	Índice de correlação linear (r) entre as propriedades mecânicas do ensaio de flexão e as diferentes concentrações de flúor.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FMRP	-Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FAPESP	-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
MS I	-Mestrado nível I
MS II	-Mestrado nível II
EESC	-Escola de Engenharia de São Carlos
IQSC	-Instituto de Química de São Carlos
CAD	-Computer Aided Design
CAE	-Computer Aided Engineering
UNESP	-Universidade Estadual Paulista
USP	-Universidade de São Paulo
LP	-Limite de proporcionalidade
R	-Rigidez
E'	-Resiliência
L	-Comprimento entre os apoios
I	-Momento de inércia da área da secção transversal ;
c	-Distância da linha neutra ao ponto de aplicação da carga.
dp	-Desvio padrão
Nº	-Número
N	-Número de fêmures
C _{máx.}	-Carga máxima
D _{máx.}	-Deformação máxima
C _{prop.}	-Carga proporcional

Dprop.	-Deformação proporcional
LM	-Limite máximo
r	-Correlação linear
GLM	-General Linear Model
SAS	-Statistical Analysis System
NAS	-National Academy of Sciences
F'	-Força aplicada
A	-Área de secção transversal do osso
M	-Momento fletor

LISTA DE SÍMBOLOS

F	-flúor
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-fosfato de cálcio
CaCO_3	-carbonato de cálcio
Mg^{2+}	-íon magnésio
Na^+	-íon sódio
K^+	-íon potássio
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-hidroxiapatita
Ca^{2+}	-íon cálcio
P	-fósforo
Ca	-cálcio
Sr	-estrôncio
Ra	-rádio
Pb	-chumbo
OH	-hidroxila
NaF	-fluoreto de sódio
mm^2	-milímetro ao quadrado
$^{\circ}\text{C}$	-graus Celsius
mm	-milímetro
ppm	-partes por milhão
g	-grama
N	-Newton
m	-metro
J	-Joule
σ	-tensão aplicada
σ_m	-tensão máxima
σ_p	-tensão proporcional
Δ	-triângulo
E	-módulo de elasticidade, conhecido como módulo de <i>Young</i>
MPa	-mega Pascal

RESUMO

MELLO, L.C.P. (1999). *Análise das propriedades mecânicas dos fêmures de coelhos submetidos a dietas com diferentes concentrações de flúor*. Ribeirão Preto, 1999. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

A ingestão de dietas com níveis elevados de flúor interfere na mineralização óssea e, conseqüentemente, poderá influenciar nas propriedades mecânicas dos ossos. Este trabalho teve como objetivo estudar e avaliar algumas propriedades mecânicas de fêmures de coelhos submetidos a dietas com diferentes concentrações de flúor, mediante ensaios mecânicos de flexão em três pontos. Foram utilizados os fêmures de 40 coelhos machos, albinos, da raça Nova Zelândia com 1 mês de idade. Durante 40 dias os animais, divididos em 5 grupos, receberam dietas contendo diferentes concentrações de flúor. As propriedades mecânicas da deformação proporcional e resiliência, apresentaram diferença estatisticamente significativa. Houve redução nos valores para rigidez, tensão máxima, carga máxima, mas sem diferença estatisticamente significativa, para os grupos com maior concentração de flúor. Diante destas considerações e dos achados neste trabalho, fica evidente a necessidade de mais investigações para caracterizar a relação entre o flúor e as propriedades mecânicas.

Palavras-chave: Propriedades mecânicas, osso, flúor, coelho.

ABSTRACT

MELLO, L.C.P. (1999). *Mechanical analysis in femurs of rabbits submitted to diets with different fluoride concentrations*. Ribeirão Preto, 1999. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

High levels of fluoride ingestion may interfere with bone mineralization and, therefore, cause modification in the bone mechanical properties. In this investigation we studied the relationship between some mechanical properties of the rabbit femur and different concentration of fluoride in the diets. It was performed the three bending test in forty femurs obtained from New Zealand white rabbits that had been fed with diet with different fluoride concentration during 40 days since they were one month old. The animals were divided into 5 different groups according to the fluoride concentration in diets. The resilience and proportional deformation were higher for the group with the highest fluoride ingestion and there was no difference among the other groups. Rigidity, ultimate load and tension were lower as fluoride concentration increased but with no statistical difference. It was concluded that more investigation is necessary to establish the relationship of the mechanical properties with fluoride intake.

Keywords: Mechanical properties, bone, fluoride, rabbit

1 INTRODUÇÃO

A ingestão de níveis elevados de flúor (F) interfere na mineralização óssea e, conseqüentemente, nas propriedades mecânicas dos ossos; sendo tóxico para células como osteoblasto, osteócito, odontoblasto, ameloblasto, cementoblasto e cementócito, provocando alterações patológicas nos ossos (raquitismo, hiperostoses, osteomalácia e osteoporose) e dentes (hipocalcificação e desgaste anormal).

Aproximadamente 99% do flúor total no corpo está em associação íntima com o cálcio no esqueleto e nos dentes, onde aparece como fluorapatita (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1974).

Em cães na fase de crescimento, a fluorose provoca lesões semelhantes ao raquitismo, ou seja, espessamento das extremidades dos ossos longos (MORES, 1991).

KLEEREKOPER (1996) relatou os efeitos profundos de fluoretos no esqueleto, podendo ser benéficos, no caso de serem estabelecidas dosagens limitadas ou prejudiciais, quando ingerido em grandes concentrações. Este autor conclui que são necessários mais estudos clínicos e investigações sobre o metabolismo destes minerais.

MORES et al. (1990) avaliaram ossos de suínos alimentados com níveis altos de flúor proveniente do fosfato monocálcico e tapira e verificaram degeneração

e necrose de ósteons, exostoses e camadas de osteóide pouco mineralizadas. As alterações patológicas encontradas que comprometeram a integridade do tecido ósseo foram características de um quadro de fluorose.

Se um animal recebe na dieta níveis excessivos de flúor por período prolongado, podem ocorrer alterações bioquímicas, metabólicas e estruturais, caracterizando o quadro de intoxicação crônica por flúor ou fluorose. Os sintomas mais comuns de fluorose são aqueles relacionados com os ossos e dentes. Os ossos gravemente afetados pelo flúor apresentam-se brancos e sem brilho (aspecto de giz), com a superfície irregular, áspera e espessa (hiperostose periosteal), com maior diâmetro e peso acima do normal (ROSA, 1988).

Casos agudos de fluorose são relativamente raros e, freqüentemente, têm a maioria deles, relação com a ingestão acidental de níveis altos de compostos contendo flúor como, por exemplo, produtos para o tratamento de ascaridíase para suínos e fluorossilicato de sódio, usado como raticida. Nestes casos, geralmente são observados os seguintes sintomas: inquietude, anorexia, salivação excessiva, náusea, vômitos, incontinência de urina e fezes, depressão grave e insuficiência cardíaca. Os sinais clínicos principais nos ossos, em relação à toxidez do flúor, são articulações espessas, e exostoses, podendo levar o animal a ficar enrijecido e claudicante (McDOWELL, 1992).

Segundo GOMES et al. (1989), a avaliação da toxidez do flúor nos ossos torna-se necessária para avaliar o prejuízo provocado nos animais adultos e em crescimento. Nos animais em crescimento, o flúor interfere na mineralização óssea por formar complexo com o cálcio e fósforo, que os tornam indisponíveis para absorção e utilização no metabolismo orgânico.

Dietas com deficiência de cálcio provocaram mudanças macrocelulares nas estruturas de ossos de gansos, diminuindo a resistência, segundo MOYLE & WALKER (1986) que avaliaram as propriedades mecânicas por meio de ensaios de compressão em fêmures.

STROMSOE et al. (1995) realizaram ensaios mecânicos de flexão em fêmures de cadáveres humanos para determinar parâmetros relacionados entre fração mineral e propriedades mecânicas. Verificaram correlações significativas, ou seja, a importância da fração mineral e geometria do osso na sua resistência e também no planejamento de fixação interna para o tratamento de fraturas.

Dentre os autores que realizaram estudos experimentais avaliando a influência dos níveis de flúor nas propriedades mecânicas destacam-se BURNELL et al. (1986) que verificaram que níveis acima de 7 ppm de flúor nas dietas para suínos afetaram a integridade do osso e diminuíram significativamente a tensão de ruptura e o módulo de elasticidade.

Casos graves de fluorose apresentam diminuição da resistência do osso cortical (CARTER & SPENGLER, 1978).

CHAN et al. (1973) trabalhando com ossos de aves, verificaram que o alto teor de flúor na dieta influenciou a mineralização do osso, promovendo maior retenção de cálcio, porém reduzindo a resistência à torção óssea em 30 por cento.

WALSH & GUZELSU, em 1994, realizaram ensaios mecânicos de compressão em osso cortical para avaliar a interação de fluoretos com a mineralização óssea e as propriedades mecânicas, verificando alterações significativas nos limites de proporcionalidade e máximos e, também, na rigidez.

FURLAN et al. (1994), utilizando fosfatos naturais de rocha como fonte de flúor na alimentação de coelhos, determinaram a resistência óssea por meio do ensaio de compressão simples. Os resultados mostraram que a média da resistência à compressão foi menor nos fêmures dos animais tratados com fosfato natural de rocha, quando comparados com os fêmures dos animais tratados com fosfato bicálcico, isento de flúor.

1.1 Osso

Os ossos formam um arcabouço que protege órgãos tais como o cérebro e o coração. A medula óssea dá origem a células sanguíneas e sua substância compacta acumula ou troca íons de cálcio e fosfato.

Os ossos podem ser classificados de acordo com a forma que apresentam: longos, curtos, planos e irregulares. O osso longo tem um corpo e duas extremidades que são, em geral, articuladas. O corpo do osso é também chamado de diáfise. As extremidades de um osso longo, são conhecidas como epífises. A parte mais larga que contém a zona de crescimento e osso recém-formado é chamada de metáfise (GARDNER et al., 1978).

1.1.1 Função e composição do osso

Além do papel estrutural primário, o osso desempenha várias funções importantes: protege os tecidos delicados, fornece um meio de sustentação e atua

como reservatório de íons tais como: cálcio, fosfato, sódio e magnésio, cujo metabolismo e distribuição são homeostaticamente regulados por vários fatores.

A maioria das informações sobre a natureza do osso e sua formação provém de estudos sobre os ossos longos. Quando se coloca o osso em solução ácida diluída, a porção mineral dissolve-se, deixando um resíduo orgânico que mantém a forma do osso intacta. A fração mineral do osso é composta, em grande parte, de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, além de carbonato, fluoreto, hidróxido e citrato. O osso contém, também, a maior parte de Mg^{2+} , cerca de um quarto do Na^+ e uma fração menor do K^+ corporal. Os cristais ósseos pertencem ao grupo das hidroxiapatitas, cuja composição é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. É provável que o Ca^{2+} no osso possa ser substituído por cátions divalentes na rede cristalina de hidroxiapatita, enquanto outros ânions, além do fosfato e hidroxila, possam ser absorvidos nas vastas superfícies oferecidas pelos diminutos cristais ou dissolvidos na camada de hidratação da rede cristalina. O material inorgânico constitui apenas cerca de um quarto do volume do osso, sendo o restante formado pela matriz orgânica. O tecido ósseo não mineralizado é também denominado osteóide. No osso existe uma pequena proteína, denominada osteocalcina, que se liga aos cristais de hidroxiapatita. A osteocalcina parece desempenhar um papel na regulação do Ca^{2+} no osso e no dente (SMITH et al., 1988).

1.1.2 Estrutura e formação do osso

O osso esponjoso é composto de uma rede de trabéculas ósseas interligadas que, em geral, são distribuídas onde as linhas de tensão são máximas. As trabéculas

são compostas de um número variável de placas ósseas adjacentes. Os osteócitos, dentro das lacunas, comunicam-se entre si por canalículos.

O osso compacto consiste de lâminas, regularmente distribuídas ao redor de canais ramificadores e anastomosantes, através dos quais passam os vasos nutrientes. Esses canais de *Havers* comunicam-se com a superfície externa do osso ou com a cavidade medular através de canais de *Volkman* (FIGURA 1).

FIGURA 1 – Desenho esquemático de um corte transversal e longitudinal do córtex de um osso longo. Os canais de *Volkman* constituem canais de união entre os vasos sanguíneos periosteais, haversianos e medula óssea. [De TUREK, S.L. *Ortopedia. Princípios e sua aplicação*, 4 ed. v. 1, Manole, 1991]

A unidade estrutural básica do osso compacto é denominada sistema haversiano que consiste de lâminas distribuídas concentricamente ao redor do canal haversiano (lâminas concêntricas).

As fibras de *Sharpey* são feixes espessos de fibras colágenas que passam do periósteo para as lâminas circunferenciais externas básicas. Elas fixam firmemente o periósteo à superfície óssea, em particular onde se inserem os tendões e músculos, onde os grandes vasos sanguíneos penetram no osso e na junção das epífises com as diáfises dos ossos longos.

O periósteo consiste de tecido conjuntivo denso contendo vasos sanguíneos. Seu estrato mais profundo, a camada de câmbio, é distribuído mais frouxamente e contém células fusiformes (células osteogênicas) e uma rede de finas fibras elásticas.

O endósteo é uma camada delicada de tecido conjuntivo celular que reveste as paredes das cavidades ósseas, incluindo os espaços medulares. Ele é osteogênico e hemopoético e talvez contribua para a formação de osteoclastos (TUREK, 1991). A função dos osteoblastos consiste em sintetizar as fibrilas de colágeno que formam a maior parte da fase orgânica do osso.

A substância intercelular consiste de matriz, sais inorgânicos e água. A matriz é a estrutura orgânica que formada principalmente por um tipo singular de colágeno, diferindo de outros tipos por sua composição em aminoácidos e pela relativa insolubilidade em soluções alcalinas e ácidos fracos.

Os sais inorgânicos são principalmente os cristais submicroscópicos de hidroxiapatita $\{Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2\}$. Este sal ósseo compreende cerca de 75% do osso seco adulto, mas é reduzido a 30 a 35% no raquitismo e na osteomalácia.

O termo ossificação refere-se à formação da substância intercelular orgânica (tecido osteóide) por osteoblastos. Sob condições normais esse tecido osteóide é rapidamente mineralizado. A água ocupa os espaços dentro dos ossos, incluindo os canais nutrientes dos sistemas haversianos e os canais ultramicroscópicos dentro dos agregados moleculares das fibrilas colágenas (TUREK, 1991).

1.1.3 Mineralização óssea

A estrutura básica do sal ósseo é o da hidroxiapatita. O problema fundamental diz respeito à maneira pela qual os fatores locais iniciam a precipitação de cristais desse composto a partir dos íons de cálcio e fosfatos extraídos do plasma (CANTAROW & SCHEPARTZ, 1969).

Os componentes minerais devem ser extraídos do meio líquido. Por conseguinte, os níveis de cálcio e fósforo no soro influenciam a velocidade de formação óssea. Esta fase líquida já se encontra supersaturada, sendo a formação de cristais induzida por nucleação, isto é, pelo fornecimento de uma superfície sobre a qual a formação da rede cristalina pode ocorrer facilmente (SMITH et al., 1988). O colágeno normal serve como agente de nucleação para formação do osso. Estudos efetuados com microscopia eletrônica e difração de raios-x indicam que a formação da rede cristalina mineral do osso começa dentro das fibras colágenas. Tal processo ocorre em áreas especiais ou lacunas (FIGURA 2) resultantes do arranjo peculiar das moléculas de colágeno. Durante o desenvolvimento do osso, os cristais crescem até preencher totalmente e envolver o colágeno, servindo como agentes de nucleação

para deposição de hidroxiapatita nos espaços entre as fibras colágenas (SMITH et al., 1988).

FIGURA 2 - Desenho esquemático de uma organização de moléculas de colágeno numa fibrila de colágeno, ilustrando as áreas especiais (lacunas), onde ocorre a deposição de cristais de hidroxiapatita. [De M.J. Glimcher, in G. Aubach, (ed.): *Handbook of Physiology*, sec. 7, vol. 7, American Physiological Society, 1976.]

O conceito moderno é que o plasma sanguíneo é saturado (íons Ca e fosfatos) em relação à hidroxiapatita; conseqüentemente, a formação de cristal uma

vez iniciada, continua espontaneamente até tornar-se completa, como ocorre na cristalização das soluções aquosas (CANTAROW & SCHEPARTZ, 1969).

A unidade do mineral ósseo pode ser imaginada como um complexo cristalino constituído pelo próprio cristal, envolvido por uma cápsula de hidratação, em que encontram-se íons unidos às superfícies do cristal, além de outros em solução. Vários íons como o Sr, Ra, Pb, F podem penetrar neste complexo cristalino em diferentes profundidades, e sofrer trocas com os íons Ca, OH, e fosfatos (CANTAROW & SCHEPARTZ, 1969).

Da mesma forma que outros tecidos, o osso está sujeito a trocas metabólicas contínuas, durante as quais seus diversos componentes são submetidos a processos de degradação, mobilização e substituição, fato que se aplica tanto aos componentes orgânicos, quanto aos minerais. Tais trocas metabólicas são mais ativas nos ósteons (sistemas laminares de *Havers*) recém-formados e ainda incompletamente mineralizados, pois o osso compacto mais velho é muito mais estável do ponto de vista metabólico (CANTAROW & SCHEPARTZ, 1969).

A formação de osso como consequência da estrutura e organização de sua matriz orgânica, com nucleação subsequente de cristalização a partir de um meio supersaturado, parece constituir apenas um exemplo de um princípio geral observado no processo de mineralização de uma grande variedade de tecidos.

A TABELA 1, fornece exemplos de tecidos mineralizados.

TABELA 1 - Exemplos de tecidos biologicamente mineralizados.

Espécie	Tecido	Fase cristalina	Forma mineral	Matriz orgânica
Moluscos	Exoesqueleto	CaCO_3	Calcita, Aragonita	Proteínas
Artrópodes	Exoesqueleto	CaCO_3	Calcita	Quitina, Proteínas
Vertebrados	Endoesqueleto:			
	Osso	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Colágeno
	Cartilagem	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Colágeno
	Dente:	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Colágeno
	Dentina	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Colágeno
	Cimento	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Colágeno
	Esmalte	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	Proteína

O osso não é um depósito estático de mineral, mas está em estado dinâmico, sendo a sua composição constante mantida pela atividade simultânea dos osteoblastos e osteoclastos

1.2 Flúor

Embora o flúor seja, aparentemente, essencial para maioria das espécies, seus efeitos tóxicos merecem mais atenção para os animais domésticos. É muito difícil estabelecer um ponto preciso em que a ingestão do flúor torna-se prejudicial para o animal. Existe variação de animal para animal que pode ser influenciada por vários fatores (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1980):

- quantidade ingerida de flúor;
- duração da ingestão;
- solubilidade do flúor ingerido;
- espécie de animal envolvido;
- idade do animal;
- nível geral de nutrição do animal;
- estresse;
- resposta individual do animal.

Na superfície do cristal ósseo, os íons são mantidos por cargas eletrostáticas. Apenas os íons com propriedades químicas semelhantes às do elemento que compõem o cristal podem realmente penetrar e tornar-se parte do cristal. Assim, o estrôncio e o chumbo podem repor e substituir as posições do cálcio da hidroxiapatita; o fluoreto ou cloreto podem substituir o íon de hidroxila (TUREK, 1991).

De acordo com SMITH et al., em 1988, algumas das causas que provocam o raquitismo e a osteomalacia são os fluoretos, que agem como inibidores de calcificação do osso.

O excesso de flúor durante a formação dos dentes e dos ossos causa a fluorose, caracterizada por manchas nos dentes e aumento desordenado do tecido ósseo, que vai resultar em aumento das articulações e anquilose, tornando os movimentos dolorosos e difíceis. O decréscimo no ganho de peso e no crescimento são conseqüências diretas desse quadro (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1974). A tolerância à toxidez do F, está relacionada com a idade e a espécie animal, com a quantidade ingerida, biodisponibilidade, duração e a continuidade do consumo.

Considerando o fosfato de rocha como fonte de flúor, o nível tóxico do elemento é de 0,01% da dieta (100 ppm) para bovinos, ovinos e suínos e de 0,035% (350 ppm) para aves. Se a fonte de F presente na dieta for um composto mais solúvel como o NaF, o nível tóxico é atingido com 50% das quantidades citadas anteriormente (MITCHELL et al., 1952).

Segundo a *NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES* (1980) o nível tóxico para os coelhos está em torno de 40 ppm de flúor dietético e sua toxidez influencia principalmente as características ósseas.

A importância do flúor na nutrição animal não se relaciona aos sintomas de sua deficiência, mas sim aos riscos induzidos pela toxicidade, por ingestão de alimentos contendo altos teores do mineral.

BARBOSA et al. (1991) observaram queda na resistência à quebra de ossos de suínos, alimentados com dietas contendo concentrações elevadas de flúor.

O flúor tem sido visto como um elemento essencial para o desenvolvimento ósseo, quando presente em pequenas quantidades na dieta do animal, mas, em quantidade elevada na dieta interfere na mineralização dos ossos provocando um decréscimo da resistência óssea (CHAN et al., 1973). A ingestão de grandes quantidades deste elemento pode causar lesões nos osteócitos e osteoblastos, prejudicando a mineralização óssea (SUTTIE, 1980).

O uso de fosfato natural de rocha como fonte de Ca e P nas dietas para animais domésticos objetiva a reduzir a quantidade de produtos importados como o fosfato bicálcico, diminuindo o custo de produção das rações. Contudo, o seu uso pode ser prejudicial às características ósseas, devido à ausência de padronização dos

conteúdos de fósforo, de cálcio, de flúor e da sua disponibilidade biológica (JUNQUEIRA, 1991; GUINOTTE et al., 1991).

O flúor proveniente da dieta é, em parte, retido nos ossos sob a forma de fluorapatita, sendo o restante eliminado pelos rins. Quando ingerido em excesso, poderá ser incorporado aos tecidos moles sob a forma de flúor solúvel (UNDERWOOD, 1977), mas, para que isto ocorra, é necessário que haja a saturação deste elemento no tecido ósseo, ou seja, que esteja presente nos ossos de 15.000 a 20.000 ppm (UNDERWOOD, 1981). O acúmulo de flúor no esqueleto é influenciado pela sua forma química na dieta. Assim, a retenção de F é maior quando o fluoreto de sódio (NaF) está presente na dieta, comparando-se com os fosfatos de rocha brutos que são de menor absorção (MITCHELL & EDAN, 1952; UNDERWOOD, 1977; CLAY et al., 1985)

Segundo GOMES (1991), a maior restrição ao uso de fosfatos naturais na alimentação de animais domésticos é seu elevado teor de flúor, apesar da forma predominantemente encontrada do F nestes fosfatos ser a do fluoreto de cálcio, menos absorvível. Acredita-se que, além do F ser responsável pelo baixo consumo de ração, possa ser limitante na disponibilidade de suplementos minerais como Ca e P, prejudicando o desempenho dos animais (LOPES, 1983; ARAKI, 1984).

Substâncias como ferro, berílio, flúor, chumbo, manganês, alumínio e estrôncio, diminuem a absorção de fosfatos, podendo ocasionar o raquitismo. Sabe-se que o flúor inibe as enzimas que necessitam de cálcio, magnésio, manganês, zinco e cobre, tais como a enolase, certas esterases e a fosfatase alcalina dos ossos (CANTAROW & SCHEPARTZ, 1969).

Segundo SUTTIE (1980), a maioria dos dados usados para estabelecer os níveis de tolerância de flúor para os animais domésticos foi obtida em experimentos onde a fonte de flúor na ração foi o fluoreto de sódio. Entretanto, tem-se verificado que a forma do flúor encontrada nos fosfatos de rocha é predominantemente o fluoreto de cálcio.

ROGLER & PARKER (1972) e AZEVEDO (1980) ao alimentarem aves com dietas com fluoretos observaram resultados que indicavam a ação cumulativa do flúor nos ossos, influenciando o teor de minerais.

GARDINER (1961) e SPIERTO (1969) não observaram efeitos do flúor sobre a percentagem de fósforo e cálcio nos ossos de aves em início de crescimento, quando alimentadas com dietas com altos teores de flúor.

Com uso de níveis adequados de flúor como utilizados por MERKLEY, em 1976, foi observado que a adição de flúor na água de beber de frango de corte aumentou a resistência à fratura de úmero e da tíbia.

1.3 Propriedades mecânicas e geométricas

O osso é um material biológico e por isto deve existir uma relação entre os processos físicos e biológicos; portanto, o conhecimento da complexidade de sua estrutura e de suas propriedades geométricas e mecânicas é necessário.

Algumas diferenças nas propriedades mecânicas e geométricas dos ossos são atribuídas a organizações locais e a fatores composicionais.

Segundo MARTIN (1991), para determinar as propriedades mecânicas de ossos é necessário levar em conta a sua forma, estrutura, porosidade, mineralização, organização trabecular ou cortical e orientação das fibras de colágeno.

Efeitos da orientação da fibra de colágeno, componentes de porosidade (Canais de *Havers*, Canais de *Volkman* e Espaços vasculares), densidade e mineralização foram estudados por MARTIN & ISHIDA (1989) para determinar a resistência à tração de 39 amostras de osso cortical bovino. A orientação das fibras de colágeno foi o que mais influenciou nos resultados, seguida pela mineralização, densidade e porosidade.

O esqueleto é um sistema mecânico que suporta cargas e é submetido a um conjunto complexo de forças, que causam deformações em suas partes. A direção e intensidade das deformações dependem da direção e grandeza da carga, da geometria e das propriedades mecânicas e materiais do tecido ósseo, (CARTER & SPLENGER, 1978; FUNG, 1981; McALISTER & MOYLE, 1983).

O tecido ósseo possui, além de suas atividades biológicas, a importante função de suportar cargas. Não se pode estudá-lo como material de engenharia simples, pois como tal permaneceria inalterado, ou se alteram muito pouco ao longo do tempo sob a influência de agentes externos. O osso mantém-se em processo contínuo de remodelação, por meio do qual a estrutura se adapta às tensões a ela aplicadas ao longo do tempo.

Sabe-se que ossos de diferentes espécies, que exercem diferentes funções, apresentam diferentes propriedades mecânicas. Porosidade e conteúdo mineral causaram uma variação em torno de 80% no cálculo do módulo de elasticidade, segundo CURREY (1988), analisando ossos de mamíferos, pássaros e répteis.

A parte sólida do osso é formada por substâncias orgânicas e inorgânicas. A mineralização possui alta correlação com as propriedades mecânicas dos ossos. MARCELLI & MEUNIER (1994), utilizando concentrações altas de fluoreto no tratamento de osteoporose, verificaram modificações no teor de minerais de ossos humanos e perda de resistência mecânica, apesar de promover aumento no volume dos ossos.

Na fase elástica a influência da porção mineral é mais significativa, enquanto que na fase plástica o colágeno teve um papel principal na resistência óssea, segundo BURSTEIN et al. (1975), analisando osso cortical de bovinos descalcificados com ácido.

DALÉN et al. (1976), analisando corpos de prova obtidos de fêmures de cadáveres humanos, verificaram uma alta correlação entre o conteúdo mineral e a resistência à fratura, utilizando ensaio de compressão

Os ossos são materiais que obedecem às leis da Mecânica, e as leis de elasticidade dos materiais sólidos, enunciada por Hooke, em 1678.

A lei de Hooke, mostra a relação de linearidade entre a força e a deformação de um objeto sólido (COWIN, 1989), é válida somente na fase elástica dos materiais quando submetidos ao carregamento, que é dada por:

$$\sigma = E . \varepsilon$$

onde:

$\sigma \rightarrow$ tensão aplicada

$E \rightarrow$ módulo de elasticidade, conhecido também como módulo de *Young*

$\varepsilon \rightarrow$ deformação sofrida pelo material

Wolff, em 1870, definiu a lei que hoje leva seu nome e que, resumidamente diz “a forma e a estrutura de um osso são reflexos das forças e solicitações a que está submetido”. A hipótese de *Wolff* é incorreta se, somente as propriedades mecânicas do tecido forem controladas. Se houver uma análise da composição química e/ou fatores geométricos, juntamente com as propriedades mecânicas a serem analisadas, então alguns itens da hipótese de *Wolff* poderão ser válidas (COWIN, 1989).

A dificuldade de examinar a estrutura óssea utilizando as leis da mecânica é que estas leis são descritas para corpos rígidos que possuem uniformidade estrutural; como o osso é anisotrópico, ocorre variação das propriedades mecânicas nas diferentes amostras com as mesmas propriedades geométricas. Deve ser introduzido mais uma variável nas propriedades mecânicas que é a morfologia do osso, para que as características ósseas sejam mais bem avaliadas (COWIN, 1989).

1.3.1 Propriedades mecânicas

Apesar das diferenças entre os materiais biológicos e os materiais usados na Engenharia, os equipamentos modernos utilizados nestas áreas sugerem temas de estudo na interface. Algumas técnicas de análise estática em engenharia podem ser adaptadas aos estudos das propriedades mecânicas dos ossos (SHIMANO, 1994).

Os primeiros trabalhos relativos às propriedades mecânicas dos ossos são atribuídos a Galileu (1638), ao relevar a importância mecânica da forma do osso. Galileu fez importantes descobertas aplicando a mecânica de corpos rígidos que mesmo hoje, é aplicada na maioria dos métodos de análise.

As propriedades mecânicas definem o comportamento de um material quando sujeito a esforços de natureza mecânica e correspondem às propriedades que, num determinado material, determinam a sua capacidade de transmitir e resistir aos esforços que lhe são aplicados, sem romper ou sem que produzam deformações incontroláveis (CHIAVERINI, 1979).

1.3.1.1 Ensaios estáticos

Nos ensaios mecânicos podem-se utilizar ossos íntegros ou em forma de corpos de prova para determinar as propriedades mecânicas por meio de ensaios de flexão, tração, compressão, torção, cisalhamento, ou combinações entre eles. Estes tipos de ensaios são considerados estáticos.

Os ensaios estáticos utilizam corpos de prova ou estruturas, aplicando incremento de força em pequenas velocidades, com o objetivo de obter as propriedades mecânicas desejadas. Estas propriedades ajudam a entender o comportamento destes materiais quando submetidos a cargas aplicadas e calcular a resistência destes materiais a um determinado carregamento.

1.3.1.2 Ensaio de flexão em três pontos

O ensaio de flexão em três pontos tem a vantagem de ser simples, dispensar acessórios especiais das amostras (nesse caso as amostras são colocadas sobre suportes ou apoio), facilitar a medida da deflexão causada pela carga, além do fato de que tensões de flexão são esforços que surgem normalmente no osso longo durante o seu funcionamento.

Quando o osso é submetido à ação de três forças, sendo duas paralelas e de igual sentido e, outra, paralela e em sentido contrário à resultante das duas anteriores, há compressão realizada de um lado e tração no outro simultaneamente, verificando-se que, em uma zona os elementos se alongam e, em outra, encurtam-se até atingirem a linha neutra. Se agirmos sobre o corpo “A” da FIGURA 3, fixo em “aa’”, uma força “ F_1 ”, após certo tempo o corpo tomará a situação “B”, onde a curvatura “ii’” se encontra alongada por uma tração; as forças “FF’” agindo em “A” irão determinar uma curvatura “ss’” encurtada por uma compressão em “B”. Entre as curvaturas alongada e encurtada encontra-se “nn’”, que é a linha neutra e não sofre ação de força, (FRACCAROLI, 1981).

FIGURA 3 – A figura mostra a ação das forças (tração e compressão) que atuam no ensaio mecânico de flexão em três pontos e a linha neutra.

Os ensaios de flexão são importantes na Biomecânica pois fornecem parâmetros fundamentais das propriedades mecânicas dos ossos como a rigidez e a resistência mecânica (SIMKIN & ROBIN, 1973).

TORZILLI et al. (1981) determinaram as propriedades estruturais de ossos longos em cães em crescimento, com testes de flexão em 3 pontos. Tanto para as propriedades mecânicas e geométricas, houve um processo de crescimento em duas fases, com aumento rápido do esforço em flexão e momento de inércia, de 1 a 24 semanas de idade e redução significativa logo após a maturidade. As propriedades estruturais dependeram do material (módulo de elasticidade), geometria (área da secção transversal, e momento de inércia) e propriedades morfológicas do osso. Esses autores verificaram que existe forte relação entre a resposta mecânica e o desenvolvimento morfológico do osso.

CHAKKALAKAL et al. (1990) realizaram ensaios mecânicos de flexão em três pontos em calo ósseo formado em raios osteotomizados de cães, onde verificaram a influência da mineralização na rigidez do osso. A relação entre rigidez e as propriedades físico-químicas é influenciada pela demora da cicatrização, resultando em baixa rigidez provocada pela deficiência mineral. No momento em que o calo ósseo amadurece ocorrerá uma maior mineralização, prevalecendo a relação entre rigidez e propriedades físico químicas. Os resultados mostraram uma alta correlação entre mineral e matriz, consistentes para o processo biológico de mineralização.

WILLIAM et al. (1991) mediante ensaio mecânico de flexão em três pontos, usando uma máquina de testes Instron, avaliaram os efeitos da mineralização nas

propriedades mecânicas em ossos de bovinos, verificando uma alta correlação entre o conteúdo mineral e as tais propriedades.

MARTIN & BOARDMAN (1993), analisando os efeitos do colágeno, porosidade, densidade e mineralização em osso cortical bovino, determinaram que 88% da variabilidade dos módulos de elasticidade calculados através de ensaios mecânicos em 3 pontos foi devida à taxa de mineralização óssea; 77% foi devidas à densidade e 62% às variações de fibra de colágeno.

1.3.1.3 Comportamento viscoelástico do osso

Um material quando submetido a um esforço mecânico em uma certa temperatura, pode apresentar vários comportamentos.

O comportamento elástico ocorre quando a deformação resultante depende apenas do esforço. Se for proporcional a este esforço tem-se o comportamento elástico linear. É o que ocorre em muitos sólidos que satisfazem a lei de Hooke para deformações. Este tipo de comportamento ideal é caracterizado pelo armazenamento de toda energia fornecida ao material durante seu processo de deformação mecânica na forma de energia potencial elástica e é devolvida após retirar-se o esforço que a causou (SHIMANO, 1994).

Em relação aos ensaios mecânicos no osso, o que se observa na literatura, é que há grande variação de resultados que dependem de fatores como, qual o osso a ser estudado (fêmur, tíbia, úmero), a região do osso estudada (epífise, metáfise e diáfise), condições em que a amostra foi preparada e ainda, o animal em estudo e o

tipo de tratamento a que ele foi submetido (SEDLIN, 1965). Essas variações, em parte, advêm do fato de que o osso é um material viscoelástico (COWIN, 1989), heterogêneo e anisotrópico (SEDLIN, 1966; REILLY et al. , 1974).

1.3.2 Propriedades geométricas

O osso é um material heterogêneo. Apresenta variações estruturais, o que torna difícil fazer uma análise geométrica e mecânica. Devido à grande importância das suas propriedades geométricas, muitos autores já realizaram estudos envolvendo a determinação dos momentos de inércia e das áreas das secções transversais de ossos, dentre eles destacam-se:

LEES & HANSON (1992) realizaram ensaios com fêmures de coelhos, calculando as tensões e área da secção para avaliar os efeitos da dosagem de fluoretos na densidade do osso e módulo de elasticidade.

LEES et al., em 1994 determinaram as áreas das secções transversais de fêmures e tíbias de coelhos submetidos a dietas contendo o fluoreto de sódio, não encontrando nenhuma diferença significativa entre os animais tratados quando comparados com a testemunha.

MILLER & PURKEY, em 1980, utilizando nove pares de tíbias humanas analisaram as propriedades geométricas ao longo do osso, correspondendo de 20 a 80% do comprimento total. As propriedades estudadas incluíram as áreas das secções transversais e momento de inércia das áreas.

THOMSEN, em 1990, determinou a distribuição das áreas das secções transversais de ossos cortical e esponjoso, e da medula. A tíbia foi cortada em 38

secções ao longo de seu comprimento, com cada secção fotografada e copiada em seus contornos. Ele utilizou o *software* CAD/CAE na determinação dos parâmetros geométricos.

1.4 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi estudar e avaliar as propriedades mecânicas de fêmures de coelhos submetidos a dietas com diferentes concentrações de flúor, com ensaio mecânico de flexão em três pontos.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Animal utilizado

Para os ensaios mecânicos, foram utilizados 40 coelhos albinos, da raça Nova Zelândia, machos, recém-desmamados com 30 dias de idade, provenientes do setor de cunicultura do Departamento de Zootecnia (Produção Animal), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal - UNESP.

Os coelhos, após o desmame, foram identificados por meio de tatuagem na orelha, pesados e distribuídos por sorteio ao acaso, nos cinco grupos experimentais (oito animais por grupo). Foram alojados dois animais por gaiola, equipadas com bebedouro e comedouro. Cada par de animais teve sua ração separada em recipientes próprios, para melhor controle da ração ingerida por gaiola.

A ração foi fornecida duas vezes ao dia (manhã e tarde) e água sempre fornecida em bebedouros automáticos. Aos 70 dias de idade, os animais foram pesados e sacrificados com golpe na nuca.

2.2 Ensaio de Digestibilidade

Inicialmente, foi realizado um ensaio de digestibilidade em 20 coelhos, albinos, machos, da raça Nova Zelândia, com idade média de 40 dias, para determinar os índices de flúor ingerido.

Os índices são obtidos através da diferença entre a quantidade de flúor ingerida e a eliminada nas fezes, resultando na quantidade absorvida pelos animais.

Os animais passaram por um período de cinco (5) dias de adaptação às gaiolas de metabolismo, local experimental e alimentação. Durante este período de adaptação, os coelhos receberam as mesmas dietas que foram fornecidas aos grupos experimentais, à vontade, sendo realizado o controle de ingestão de alimento para determinar o consumo voluntário individual. Foi fornecido 80% da quantidade média consumida nos últimos dois (2) dias da fase de adaptação. No 6º (sexto) dia, os animais foram pesados e sorteados para cada grupo experimental alimentados com rações contendo diferentes concentrações de flúor.

Durante sete (7) dias os animais receberam as respectivas rações. Neste período, foram coletadas amostras diárias de fezes, acondicionadas em recipientes próprios, para formarem amostras compostas no período de sete(7) dias, por animal. As amostras de alimento e fezes, seguiram as normas de coleta, armazenamento e identificação de laboratório de controle de qualidade de alimentos.

Posteriormente, foram realizadas as análises químicas para determinar a concentração de flúor existente nas rações e nas fezes para o cálculo dos índices de digestibilidade.

Os animais receberam água à vontade e ração fornecida uma vez por dia, pela manhã.

2.3 Rações

As rações foram formuladas de acordo com as exigências do *NATIONAL RESEARCH COUNCIL* (1974). Foram fabricadas e peletizadas nas dependências do setor de cunicultura do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal-UNESP.

Os ingredientes e seus percentuais, que entraram na composição das rações, estão relacionados na TABELA 2.

O teor de flúor foi analisado pelo Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP.

TABELA 2 - Composição percentual das rações experimentais ¹

Ingredientes %	RAÇÃO				
	FOSFATO DE ARAXÁ-ppm de flúor				
	Grupo 1	Grupo2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Ração basal ²	97,80	97,80	97,80	97,80	97,80
Fosf. Bicálcico ³	0,50	-	-	-	-
Fosf. Araxá	-	0,24	0,34	0,44	0,54
Calcáreo	0,70	0,96	0,86	0,86	0,76
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,40	0,40
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
TOTAL	100	100	100	100	100
VALORES CALCULADOS					
Proteína bruta	16%	16%	16%	16%	16%
Fibra bruta	14%	14%	14%	14%	14%
Cálcio	0,506	0,535	0,515	0,535	0,525
Fósforo	0,640	0,572	0,582	0,590	0,600
Flúor ⁴	-	25	35	45	55

¹ - As rações experimentais contém: 16% Proteína Bruta e 14% de Fibra Bruta.

² - A ração basal contém: Fubá de milho 27,2%; Farelo de Soja 20,6%; Farelo de Trigo 25% e Casca de Arroz 25%.

³ - O fosfato de Araxá contém 21% de Ca; 9,02% de P e 1,03% de Flúor e o Fosfato bicálcico - 23% de Ca e 18% de Fósforo.

⁴ - Foi considerado somente o flúor do fosfato de rocha.

2.4 Agrupamento

Os animais destinados ao ensaio mecânico, foram divididos em 5 grupos (8 animais), de acordo com a concentração do flúor na ração.

Grupo 1 = Ração testemunha contendo traços de flúor (fosfato bicálcico)

Grupo 2 = Ração contendo 25 ppm de flúor

Grupo 3 = Ração contendo 35 ppm de flúor

Grupo 4 = Ração contendo 45 ppm de flúor

Grupo 5 = Ração contendo 55 ppm de flúor

2.5 Coleta dos ossos

De cada animal foram retirados os fêmures que foram dissecados e identificados, para avaliação das propriedades mecânicas e geométricas.

Os ossos foram envolvidos por gases embebidos em solução fisiológica, congelados em “freezer” à temperatura de -20°C e aí mantidos até 24 horas antes dos ensaios, quando foram transferidos para um refrigerador comum. No dia dos testes foram mantidos à temperatura ambiente até o equilíbrio térmico com o meio, sempre umedecidos em soro fisiológico.

2.6 Ensaio mecânico

Antes da realização dos ensaios, os fêmures foram pesados em uma balança de precisão, modelo *Precision-Pr 500*[®]. Foram medidos também os comprimentos e os diâmetros na região medial dos ossos com a utilização de um paquímetro.

Os ensaios mecânicos de flexão em três pontos foram realizados em 77 fêmures dos coelhos, no Laboratório de Bioengenharia (FMRP-USP), em máquina universal de ensaio. Nos ensaios de flexão em três pontos os fêmures foram apoiados sobre dois suportes distanciados de 55 mm. Foi utilizada uma célula de carga KRATOS[®] modelo KM, com capacidade de até 200 kgf, ligada a uma ponte de extensometria SODMEX[®], modelo CAE 201. As deflexões foram registradas por um relógio comparador Mitutoyo[®] com precisão de centésimos de milímetros (FIGURA 4).

A aplicação da carga foi sempre no sentido pósterio-anterior do osso. Os ensaios foram realizados até a décima leitura após o limite máximo, sendo que, em alguns casos, houve o rompimento dos ossos antes do término. Foi utilizada pré-carga de 0,5 kgf para acomodação do sistema: máquina, acessórios e osso, com um tempo de acomodação de 1 minuto. A velocidade de aplicação da carga utilizada foi de 0,50 mm/min.

FIGURA 4. Montagem para a realização do ensaio de flexão em 3 pontos. Conjunto na máquina universal de ensaios (A): Célula de carga (B), suportes (C), osso (D) e relógio comparador (E).

Com os gráficos *carga x deflexão* (FIGURA 5), obtidos de cada ensaio, foram calculadas as seguintes propriedades mecânicas: Limites de proporcionalidade, Limites máximo, Rigidez e a Energia absorvida pelo osso na fase elástica (Resiliência).

A FIGURA 5 ilustra como foram determinadas as propriedades mecânicas: LP representa o Limite de proporcionalidade, LM representa o Limite máximo e a área representada pelo triângulo O-A-LP representa a resiliência.

FIGURA 5 - Exemplo de gráfico carga aplicada $\times$ deflexão utilizado para determinação das propriedades mecânicas, ilustrando o limite de proporcionalidade (LP), a reta que representa a inclinação da curva (θ) e o triângulo formado pela união dos pontos.

2.6.1 Limite de proporcionalidade

O limite de proporcionalidade (LP) é identificado como sendo o último ponto onde se encontra o segmento reto da curva carga *versus* deflexão.

Traça-se uma curva de regressão, seguindo a inclinação, identificando o último ponto inserido nesta reta. As coordenadas deste ponto representam o limite de proporcionalidade para a carga e deflexão (FIGURA 5).

2.6.2 Limites máximos

Os limites máximos são os maiores valores da carga e deflexão observados em cada ensaio (ponto máximo) (FIGURA 5).

2.6.3 Rigidez

A rigidez é obtida na fase elástica do material, determinada pela inclinação da curva carga *versus* deflexão, pelo cálculo da tangente do ângulo formado pela reta que representa a inclinação da curva e uma linha traçada horizontalmente a partir do ponto do início do ensaio. É obtido um triângulo (O-A-LP) traçando-se uma linha vertical a partir do ponto da curva identificado como limite de proporcionalidade (FIGURA 5).

$$R = Tg \theta = \frac{C_{prop}}{d_{prop}}$$

2.6.4 Resiliência (E') - (Energia absorvida na fase elástica)

Utilizando o triângulo delimitado como (O-A-LP) da FIGURA 5, foi calculada a resiliência de cada osso, que foi dada pela área do referido triângulo retângulo.

$$E = \text{área do } \Delta = \frac{C_{prop} \cdot D_{prop}}{2}$$

Após o ensaio, os ossos que sofreram fratura foram remontados e colados.

Foram calculados os momentos de inércia e linha neutra das áreas das secções transversais (FIGURA 6) obtidas através de corte na região próxima às fraturas. Os cortes foram realizados por uma máquina acoplada com disco diamantado de espessura igual a 0,6 mm. As secções foram ampliadas aproximadamente em 8 vezes, com auxílio de retroprojektor e copiadas em papel milimetrado. As figuras das secções foram “escaneadas”, convertidas para o formato de leitura do programa Autocad 14[®] e foram calculados o momento de inércia e linha neutra. A FIGURA 7 apresenta a secção transversal, a carga aplicada (F) e a distância da linha neutra (LN) até o ponto de aplicação da carga (c).

FIGURA 6 - Exemplo de secção transversal da posição medial do fêmur

Onde:

F' = carga aplicada

LN = linha neutra

c = distância da linha neutra até o ponto de aplicação da carga

A determinação de (c) é necessária para o cálculo da tensão aplicada no osso.

A FIGURA 7 apresenta a posição do osso sobre os apoios em relação à carga aplicada.

FIGURA 7 - Desenho esquemático do osso apoiado em relação à carga aplicada.

A tensão (σ) é dada por:

$$\sigma = \frac{M \cdot c}{I}$$

onde M = momento fletor; c = distância da linha neutra ao ponto de aplicação da carga e I = momento de inércia da área da secção transversal.

O momento fletor (M) no local de aplicação da carga é dado por:

$$M = F' \cdot \frac{L}{2}$$

onde: F' = carga aplicada e L = comprimento entre os apoios;

2.7 Análise estatística

Os dados obtidos para cada fêmur foram somados e calculadas as médias aritméticas dos ossos direito e esquerdo de cada coelho.

Foi utilizado o teste de *Tukey* com procedimento GLM (*General Linear Model*) do *software* SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1990) para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

Os resultados foram submetidos à análise de regressão utilizando a planilha eletrônica Microsoft® Excel 97 para obter os índices de correlação entre as propriedades mecânicas e as concentrações de flúor.

3 RESULTADOS

Durante a fase experimental, um dos animais do grupo 2 morreu e outro do grupo 4 quebrou uma perna, sendo sacrificado e aproveitado somente o outro fêmur.

Num total de 80 fêmures, foram aproveitados 77 para os ensaios.

A TABELA 3 apresenta os valores médios do peso e das medidas dos comprimentos e os diâmetros dos fêmures.

TABELA 3 - Valores médios do peso e das medidas dos fêmures

Características do osso	GRUPOS				
	1	2	3	4	5
Peso(g)	10,56±1,59	10,07±1,43	11,18±0,98	10,73±1,43	9,87±1,50
Comprimento(mm)	91,06±4,21	86,64±4,70	84,56±5,30	85,86±6,04	84,43±5,5
Diâmetro(mm)	6,37±1,02	6,21±0,89	5,62±0,95	6,26±1,27	5,87±0,71

Na TABELA 4 estão relacionadas as médias dos índices de digestibilidade, nos vários grupos.

TABELA 4 – Médias dos índices de digestibilidade obtidos durante o ensaio de digestibilidade realizado com 20 coelhos para os diferentes grupos experimentais.

GRUPO	Índice de digestibilidade(%)
1	100
2	100
3	95
4	97
5	96

Na TABELA 5 estão relacionados os valores calculados das tensões para os diferentes grupos experimentais.

TABELA 5 – Valores médios das tensões dos fêmures de cada coelho, nos diferentes grupos .

GRUPO										
1		2		3		4		5		
Testemunha		25 ppm Flúor		35 ppm Flúor		45 ppm Flúor		55 ppm Flúor		
Coelho	σ_m (MPa)	σ_p (MPa)	σ_m (MPa)	σ_p (MPa)	σ_m (MPa)	σ_p (MPa)	σ_m (MPa)	σ_p (MPa)	σ_m (MPa)	σ_p (MPa)
1	308,29	224,91	270,43	203,42	219,30	180,57	182,04	151,82	211,15	172,52
2	281,85	201,76	253,32	175,39	270,22	217,26	282,96	214,79	292,27	222,15
3	280,38	193,88	192,49	125,74	268,22	183,34	303,88	235,58	275,22	232,41
4	261,53	199,85	263,86	206,69	199,55	144,20	313,22	211,85	217,64	158,87
5	262,86	171,41	215,68	150,51	240,10	169,20	230,58	167,62	197,11	167,70
6	165,26	121,56	277,03	214,38	256,79	184,62	190,67	134,19	264,29	199,43
7	202,17	144,22	222,61	167,77	217,47	129,19	163,84	100,52	223,24	156,60
8	245,26	165,54	-	-	164,67	114,28	162,13	58,12	186,22	144,01
Média	250,95	177,89	242,20	177,70	229,54	165,31	228,66	159,31	233,39	181,71
Desvp	46,47	33,85	32,05	32,63	36,57	33,80	63,25	61,07	38,84	32,46

σ_m – Tensão máxima

σ_p – Tensão proporcional

A partir dos gráficos carga $\times$ deflexão (FIGURAS 8 a 12) foram obtidos os valores (TABELAS 6 a 10) das propriedades mecânicas dos ensaios de flexão em três pontos. A TABELA 11 apresenta os valores médios das propriedades mecânicas.

FIGURA 8 – Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 1

FIGURA 9 – Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 2

FIGURA 10 – Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 3.

FIGURA 11 – Curvas carga $\times$ deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 4.

FIGURA 12 – Curvas carga x deflexão dos ensaios de flexão dos fêmures dos coelhos do grupo 5.

TABELA 6 - Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 1 - (testemunha).

Coelho	Limites máximos		Limites de proporcionalidade		Rigidez(R) x10 ³ N/m	Resiliência(E') X10 ³ J
	Cmáx(N)	Dmáx(x10 ⁻³ m)	Cprop(N)	Dprop(x10 ⁻³ m)		
1	270,46	1,20	97,29	0,73	270,34	70,82
2	254,42	1,08	82,03	0,60	299,99	54,55
3	294,79	1,43	203,81	0,63	317,60	64,65
4	215,04	1,20	164,51	0,70	232,63	56,99
5	318,68	1,53	208,03	0,60	345,66	62,22
6	208,62	1,25	153,68	0,55	271,35	41,05
7	235,55	1,25	167,70	0,60	277,85	49,23
8	203,61	1,50	137,61	0,73	188,70	49,45
Média	250,14	1,30	176,83	0,64	275,51	56,12
Dp	42,18	0,16	25,23	0,07	48,87	9,62

TABELA 7 - Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 2 (25 ppm de flúor)

Coelho	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	Cmáx(N)	dmáx(x10 ⁻³ m)	Cprop(N)	dprop(x10 ⁻³ m)	x10 ³ N/m	X10 ⁻³ J
9	255,80	1,13	192,43	0,65	291,40	61,64
10	265,27	1,28	184,28	0,60	302,03	55,26
11	220,48	1,28	143,96	0,58	245,84	40,47
12	250,79	1,25	196,52	0,65	299,51	63,26
13	257,07	1,58	183,30	0,70	261,84	65,39
14	274,04	1,40	211,16	0,68	307,68	70,38
15	271,49	1,38	204,83	0,63	324,00	63,46
Média	256,42	1,33	188,07	0,64	290,33	59,98
Dp	17,98	0,14	21,94	0,04	27,23	9,71

TABELA 8 . Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 3 (35 ppm de flúor)

Coelho	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	Cmáx(N)	dmáx(x10 ⁻³ m)	Cprop(N)	dprop(x10 ⁻³ m)	x10 ³ N/m	x10 ⁻³ J
16	233,32	1,40	192,13	0,70	275,17	67,55
17	258,21	1,33	207,44	0,70	292,48	71,65
18	312,30	1,33	213,66	0,65	323,32	69,15
19	237,84	1,05	171,43	0,58	297,20	48,83
20	197,03	1,25	139,11	0,63	216,55	42,65
21	268,21	0,98	192,96	0,70	273,91	67,10
22	243,98	1,20	144,80	0,53	268,79	36,95
23	164,72	1,25	113,85	0,53	210,62	29,13
Média	239,45	1,22	171,92	0,63	269,75	54,13
Dp	44,61	0,14	35,94	0,08	38,76	16,74

TABELA 9 . Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 4 (45 ppm de flúor)

Coelho	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	Cmáx(N)	dmáx(x10 ⁻³ m)	Cprop(N)	dprop(x10 ⁻³ m)	x10 ³ N/m	x10 ⁻³ J
24	202,73	1,68	187,12	0,83	238,38	65,74
25	275,67	1,55	207,53	0,70	291,83	73,10
26	274,33	1,30	187,72	0,65	284,05	59,95
27	292,98	1,15	203,97	0,55	346,03	66,22
28	258,89	1,30	183,82	0,60	295,25	60,68
29	197,13	1,33	139,30	0,73	191,11	49,85
30	186,04	1,65	146,15	0,60	182,49	41,05
31	154,89	2,00	54,94	0,45	127,73	11,92
Média	230,33	1,49	163,82	0,64	244,61	53,56
Dp	51,06	0,28	50,43	0,11	72,76	19,59

TABELA 10- Valores das propriedades mecânicas dos fêmures dos animais do grupo 5 (55 ppm de flúor)

Coelho	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	Cmáx(N)	dmáx($\times 10^{-3}$ m)	Cprop(N)	dprop($\times 10^{-3}$ m)	$\times 10^3$ N/m	$\times 10^{-3}$ J
32	262,42	1,18	218,52	0,70	309,76	76,40
33	260,14	1,50	239,61	0,70	334,83	82,90
34	276,10	1,20	233,14	0,73	315,68	83,02
35	185,65	1,45	134,25	0,78	169,78	50,61
36	243,48	1,60	207,19	1,05	193,55	106,72
37	254,82	1,23	192,32	0,68	282,62	64,70
38	235,24	1,30	164,71	0,58	281,47	76,57
39	250,41	1,50	201,11	0,78	256,82	84,40
Média	246,03	1,37	198,85	0,75	268,06	78,16
Dp	27,35	0,16	35,21	0,14	58,79	16,24

TABELA 11 - Valores médios das propriedades mecânicas obtidas nos ensaios de flexão em três pontos dos ossos para os diferentes grupos.

Propriedades Mecânicas ¹	GRUPOS				
	1	2	3	4	5
σ_m (MPa)	250,95±46,47	242,20±32,05	229,54±36,57	228,66±63,25	233,39±38,84
σ_p (MPa) prop.	177,89±33,85	177,70±32,63	165,31±33,80	159,31±61,07	181,71±32,46
$C_{máx}$ (N)	250,14±42,18	256,42±17,98	239,45±44,61	230,33±51,06	246,03±27,35
$D_{máx}$ (x10 ⁻³ m)	1,30±0,16	1,33±0,14	1,22±0,14	1,49±0,28	1,37±0,16
C_{prop} (N)	176,83±25,23	188,07±21,94	171,92±35,94	163,82±50,43	198,85±35,21
D_{prop} (x10 ⁻³ m)	0,64±0,07^a	0,64±0,04	0,63±0,08^a	0,64±0,11	0,75±0,14^b
R (x10 ³ N/m)	275,51±48,87	290,33±27,23	269,75±38,76	244,61±72,76	268,06±58,79
E (x 10 ⁻³ J)	56,12±9,62^a	59,98±9,71	54,13±16,74^a	53,56±19,59^a	78,16±16,24^b

1- Média numa mesma linha seguidas de letras diferentes, indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, pelo teste de Tukey.

3.1 Carga no limite de proporcionalidade

O valor médio da carga no limite de proporcionalidade (LP) obtido nos ensaios dos coelhos do grupo 1 (testemunha) foi de $(176,83 \pm 25,23)$ N, para o grupo 2 (25 ppm de flúor) foi $(188,07 \pm 21,94)$ N, para o grupo 3 (35 ppm de flúor) foi $(171,92 \pm 35,94)$ N, para o grupo 4 (35 ppm de flúor) foi $(163,82 \pm 50,43)$ N e para o grupo 5 (55 ppm de flúor) foi $(198,85 \pm 35,21)$ N. Comparando os valores da carga no LP, foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (FIGURA 13).

FIGURA 13 - Comparação entre os valores médios das cargas no limite de proporcionalidade nos diferentes grupos

3.2 Deflexão no Limite de proporcionalidade

As deflexões no LP nos fêmures dos coelhos do grupo 1 apresentaram valores médios de $(0,64 \pm 0,07) \times 10^{-3}$ m, para o grupo 2 $(0,64 \pm 0,04) \times 10^{-3}$ m, para o grupo 3 $(0,63 \pm 0,08) \times 10^{-3}$ m, para o grupo 4 $(0,64 \pm 0,11) \times 10^{-3}$ m e para o grupo 5 de $(0,75 \pm 0,14) \times 10^{-3}$ m. Comparando os valores das deflexões no LP, foi verificado que houve diferença estatisticamente significativa do grupo 5 em relação ao grupos 1 e ao grupo 3 (FIGURA 14).

FIGURA 14 - Comparação entre os valores médios das deflexões no limite de proporcionalidade nos diferentes grupos

3.3 Cargas no limite máximo

O valor médio da carga no limite máximo (LM) nos ensaios dos fêmures dos coelhos do grupo 1, foi $(250,14 \pm 42,18)$ N, para o grupo 2 foi $(256,42 \pm 17,98)$ N, para o grupo 3 foi $(239,45 \pm 44,61)$ N, para o grupo 4 foi $(230,33 \pm 51,06)$ N e para o grupo 5 foi $(246,03 \pm 27,35)$ N. Comparando os valores da carga no LM, foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os 5 grupos (FIGURA 15).

FIGURA 15 - Comparação entre os valores médios das cargas no limite máximo nos diferentes grupos

3.4 Deflexão no Limite máximo

As deflexões no LM dos ensaios dos coelhos do grupo 1 apresentou valor médio de $(1,30 \pm 0,16) 10^{-3}$ m, para o grupo 2 $(1,33 \pm 0,14) 10^{-3}$ m, para o grupo 3 $(1,22 \pm 0,14) 10^{-3}$ m, para o grupo 4 $(1,49 \pm 0,28) 10^{-3}$ m e para o grupo 5 $(1,37 \pm 0,16) 10^{-3}$ m. Comparando os valores das deflexões no LM, foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os 5 grupos (FIGURA 16).

FIGURA 16 - Comparação entre os valores médios das deflexões no limite máximo nos diferentes grupos

3.5 Rigidez

O valor médio da rigidez calculada nos ensaios do grupo 1 foi $(275,51 \pm 48,87) \times 10^3$ N/m, para o grupo 2 foi $(290,33 \pm 27,23) \times 10^3$ N/m, para o grupo 3 foi $(269,75 \pm 38,76) \times 10^3$ N/m, para o grupo 4 foi $(244,61 \pm 72,76) \times 10^3$ N/m e para o grupo 5 foi $(268,06 \pm 58,79) \times 10^3$ N/m. Comparando os valores da rigidez para os tratamentos foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa (FIGURA 17).

FIGURA 17 - Comparação entre os valores médios da rigidez nos diferentes grupos

3.6 Resiliência

O valor da resiliência calculada nos ensaios do grupo 1 apresentou valor médio de $(56,12 \pm 9,62) \times 10^{-3}$ J, para o grupo 2 $(59,98 \pm 9,71) \times 10^{-3}$ J, para o grupo 3 $(54,13 \pm 16,74) \times 10^{-3}$ J, para o grupo 4 $(53,56 \pm 19,59) \times 10^{-3}$ J e para o grupo 5 $(78,16 \pm 16,24) \times 10^{-3}$ J. Comparando os valores da resiliência, foi verificado que houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo 5 em relação aos grupos 1, 3 e 4 (FIGURA 18).

FIGURA 18 - Comparação entre os valores médios da resiliência nos diferentes grupos

3.7 Tensão máxima

O valor da tensão máxima do ensaio dos coelhos do grupo 1 apresentou valor médio de $(250,95 \pm 46,47)$ MPa, para o grupo 2 $(242,20 \pm 32,05)$ MPa, para o grupo 3 $(229,54 \pm 36,57)$ MPa, para o grupo 4 $(228,66 \pm 63,25)$ MPa e para o grupo 5 $(233,39 \pm 38,84)$ MPa. Comparando os valores das tensões máximas foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (FIGURA 19).

FIGURA 19 - Comparação entre os valores médios da tensão máxima nos diferentes grupos

3.8 Tensão proporcional

O valor da tensão proporcional do ensaio dos coelhos do grupo 1 apresentou valor médio de $(177,89 \pm 33,85)$ MPa, para o grupo 2 $(177,70 \pm 32,63)$ MPa, para o grupo 3 $(165,31 \pm 33,80)$ MPa, para o grupo 4 $(159,31 \pm 61,07)$ MPa e para o grupo 5 $(181,71 \pm 32,46)$ MPa. Comparando os valores da tensão proporcional foi verificado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (FIGURA 20).

FIGURA 20 - Comparação entre os valores médios da tensão proporcional nos diferentes grupos

A FIGURA 21 ilustra as curvas representativas dos ensaios para cada grupo

FIGURA 21: Curvas representando as médias das propriedades mecânicas. O primeiro ponto mostra o limite de proporcionalidade e o segundo o limite máximo para os diferentes grupos experimentais.

Na TABELA 12 estão apresentados os índices de correlação linear de cada propriedade mecânica obtida nos ensaios de flexão em três pontos com os grupos contendo diferentes concentrações de flúor, para os ossos ensaiados.

TABELA 12 - Índice de correlação linear (r) entre as propriedades mecânicas do ensaio de flexão e as diferentes concentrações de flúor.

Propriedades mecânicas	r
Tensão máxima (MPa)	-0,85
Tensão proporcional (MPa)	-0,16
Carga máxima (N)	-0,24
Carga proporcional (N)	-0,20
Deformação máxima ($\times 10^{-3}$ m)	0,54
Deformação proporcional ($\times 10^{-3}$ m)	0,59
Rigidez ($\times 10^3$ N/m)	-0,49
Resiliência ($\times 10^{-3}$ J)	0,51

A maior correlação linear positiva foi obtida para a deformação proporcional ($r = 0,59$) e a maior correlação negativa foi obtida para a tensão máxima ($r = -0,85$).

4 DISCUSSÃO

No levantamento bibliográfico por nós realizado foi observado que poucos trabalhos têm sido realizados na linha de pesquisa desta investigação, utilizando principalmente o coelho como animal experimental. A maioria dos autores utiliza outros animais experimentais como, por exemplo, suínos e aves. Outros tipos de ensaios também diferem do aqui realizado, como ensaios de compressão, torção e tração.

Durante o experimento com os 40 animais, para obtenção dos ossos, foi realizado um ensaio de digestibilidade com outros 20 animais para cálculo dos índices de digestibilidade (quantidade de flúor absorvida), calculando-se a quantidade de flúor ingerida menos a quantidade excretada. Os índices de digestibilidade encontrados foram em média 97,6% entre os grupos; considerando-se, assim, que, praticamente, todo o flúor fornecido foi absorvido pelo organismo animal.

Segundo COWIN (1989), embora os ensaios mecânicos sejam confiáveis, os resultados obtidos podem ser afetados de muitas maneiras. Apesar de existirem normas para ensaiar os materiais habitualmente usados em engenharia, tais normas não são fáceis de serem aplicadas ao osso, especialmente devido ao tamanho dos corpos de prova, o que é um fator limitante, e também pelo fato do osso ser um material anisotrópico.

O osso é um material heterogêneo quanto à estrutura física e química, e, portanto, deve-se considerar num estudo de propriedades mecânicas, a dificuldade de controlar ou diminuir estas variações para que não ocorram erros importantes no momento da leitura dos dados.

Ensaio para o estudo das propriedades mecânicas do osso são realizados com a utilização de amostras constituídas da totalidade do segmento (osso inteiro) (CURREY & BUTLER, 1975) ou de parte dele (corpo de prova) (CARTER & SPENGLER, 1978) ou, ainda, de um único *ósteon* (ASCENZI & BONUCCI, 1967; ASCENZI & BONUCCI, 1968) com o objetivo de estabelecer o comportamento mecânico do tecido ósseo como material.

A ingestão de níveis elevados de F pode provocar mudanças estruturais no osso, pois 99% deste elemento está em associação com o Ca e P, segundo o NATIONAL RESEARCH COUNCIL, de 1974.

Avaliando as propriedades mecânicas por meio de ensaio de compressão em fêmures de gansos, MOYLE et al. (1986) concluíram que a diminuição da resistência à quebra dos ossos foi devido à deficiência de cálcio. ROGLER & PARKER (1972) e AZEVEDO (1980), ao alimentarem aves com dietas com fluoretos, observaram resultados que indicavam a ação cumulativa do flúor nos ossos, influenciando no teor de minerais. Por outro lado, GARDINER (1961) e SPIERTO (1969) não observaram efeitos do flúor sobre a variação das porcentagens de fósforo e cálcio nos ossos de aves em início de crescimento.

Segundo KLEEREKOPER (1996), os efeitos profundos de fluoretos no esqueleto podem trazer benefícios quando ingeridos em quantidades ideais ou

produzir efeitos prejudiciais quando ingeridos em níveis elevados, o que leva à necessidade de mais estudos clínicos e investigações sobre o metabolismo do flúor.

De acordo com o NAS (1980), níveis de 40 ppm de flúor dietético são considerados prejudiciais para coelhos, interferindo na mineralização, influenciando principalmente nas características ósseas.

Neste trabalho foram observadas diferenças estatisticamente significativa somente para resiliência e deformação proporcional entre os grupos experimentais.

Embora sem diferença significativa verificaram-se, em média, menores valores da rigidez e carga máxima para os grupos dos animais alimentados com dietas contendo maior concentração de flúor.

BARBOSA et al. (1991) observaram queda na resistência de ossos de suínos alimentados com dietas com níveis tóxicos de flúor, acima de 300 ppm. Apesar de ter sido utilizado outro tipo de animal, constatamos, também, neste trabalho, que algumas propriedades mecânicas foram influenciadas. Estes resultados equivalem aos encontrados por FURLAN et al. (1994) que demonstraram a diminuição da resistência óssea dos animais tratados com fosfato natural de rocha contendo altos níveis de flúor.

Em 1973, CHAN et al., trabalhando com ossos de codornas, verificaram que o alto teor de flúor na dieta influenciou a mineralização do osso e reduziu a resistência à fratura. A ingestão de grandes quantidades deste elemento pode causar lesões nos osteócitos e osteoblastos, prejudicando a mineralização óssea e causando diminuição na resistência (SUTTIE, 1980). Mas com uso de níveis adequados de flúor, como utilizado por MERKLEY, em 1976, foi observado que a adição de flúor

na água de beber dos frangos de corte aumentou a resistência à fratura do úmero e da tíbia.

O acúmulo de flúor no esqueleto é influenciado pela sua forma química fornecida na dieta. Nossos resultados diferem de alguns autores, provavelmente, também, pela forma química do flúor presente na ração fornecida aos grupos de coelhos. Neste trabalho o flúor utilizado foi proveniente do fluoreto de cálcio, encontrado em maior parte nas rochas naturais, sendo menos absorvível, (MITCHELL & EDAN, 1952; UNDERWOOD, 1977; CLAY et al., 1985), enquanto que outros autores utilizaram o fluoreto de sódio (NaF), contendo uma forma de flúor mais solúvel.

De acordo com SUTTIE (1978), a maioria dos experimentos para obtenção de dados relativos aos níveis de tolerância do F, utilizou como fonte de flúor o fluoreto de sódio. Apesar da forma encontrada nos fosfatos naturais de rocha ser o fluoreto de cálcio, produto químico de baixa solubilidade, vários experimentos demonstram a influência deste composto quando ingerido em doses elevadas, nas características ósseas (GOMES, 1991; BARBOSA, 1991; GUINOTTE et al, 1991; LOPES, 1983; ARAKI, 1984).

Neste trabalho, não encontramos diferença significativa entre os valores calculados para as tensões máximas e proporcionais, resultados diferentes daqueles obtidos por TURNER et al (1996) que encontraram redução nos valores para tensão de 25% nos ossos de ratos tratados com fluoreto de sódio e diminuição nos parâmetros mecânicos estudados.

Mediante ensaios de compressão realizados com ossos de suínos alimentados com dietas contendo fluoretos, MOSEKILDE et al. (1987) verificaram

diminuição nos valores para rigidez, carga máxima e energia absorvida. No presente trabalho constatamos, também, esta diminuição, embora sem diferença estatisticamente significativa, na rigidez e na carga máxima, e, entre alguns tratamentos, houve diferença significativa para resiliência.

Níveis mais altos de fluoretos de sódio provocaram diminuição nos valores da carga máxima aplicada em osso vertebral humano, testados sob ensaios de compressão por MARCELLI & MEUNIER (1994). Os achados destes autores são compatíveis com nossos resultados, apesar de que os ensaios realizados no presente trabalho terem sido de flexão em três pontos. Embora sem diferença significativa, verificamos uma diminuição nos valores médios das cargas máximas para os tratamentos contendo altos teores de flúor.

CHAN et al. (1977) verificaram redução nos parâmetros mecânicos (rigidez, carga máxima) quando realizaram ensaios de torção em ossos de pássaros alimentados com fluoretos de sódio, obtendo resultados compatíveis com este trabalho.

Em ossos de ratos alimentados com dietas deficientes em Ca e P e com níveis elevados de flúor foram encontrados valores baixos para carga máxima, tensão máxima e limites de proporcionalidade segundo GUGGENHEIM et al. (1976). Estes autores relataram, também, que a diminuição foi influenciada pelos altos níveis de flúor nas dietas.

NAKAHARA (1995) realizou ensaio mecânico de flexão em três pontos em ossos de ratos alimentados com fluoreto de sódio, encontrando correlações lineares significativas entre níveis de flúor e as tensões máximas medidas.

Embora utilizando outra fonte de flúor (fluoreto de cálcio), verificamos índice de correlação significativo entre os valores médios das tensões máximas e deformação proporcional com o flúor.

TURNER et al. (1995) verificaram redução nos valores médios da tensão devido os efeitos combinados de fluoreto de sódio adicionados à água de beber para ratos, mas, em função da dosagem de fluoreto de sódio na alimentação de coelhos, não foram encontradas diferenças em relação à tensão, segundo LEES (1992).

Em nosso estudo, deve ser considerada a limitação do equipamento que utilizamos que poderia não apresentar um grau de sensibilidade suficiente para detectar alguma diferença pequena, porventura existente entre os grupos.

Outra sugestão seria a realização dos ensaios mecânicos em corpos de prova retirados dos ossos para melhorar a precisão dos resultados.

Diante destas considerações e de nossos achados comparados com outros autores, fica evidente a necessidade de mais investigações para determinar como o flúor pode atuar nas propriedades mecânicas, bem como seus mecanismos. Estudos histológicos e outras formas de identificação, devem ser utilizados para tentar esclarecer a influência do flúor nas propriedades mecânicas.

5 CONCLUSÃO

As propriedades mecânicas da deformação proporcional e resiliência, apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos com menor concentração de flúor quando comparados com o grupo 5, com maior concentração de flúor. Houve redução nos valores para rigidez, tensão máxima, carga máxima, mas sem diferença estatisticamente significativa, para os grupos com maior concentração de flúor. Diante destas considerações e dos achados neste trabalho, fica evidente a necessidade de mais investigações para caracterizar a relação entre o flúor e as propriedades mecânicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASCENZI, A.; BONUCCI, E. (1967). The tensile properties of single osteons. *Anat Rec*, v.158, n.1, p. 375-86.
- ASCENZI, A.; BONUCCI, E. (1968). The compressive properties of single osteons. *Anat Rec*, v.161, n.1, p. 377-91.
- ARAKI, S. (1984). *Viabilidade de uso do fosfato de Patos de Minas em substituição ao fosfato bicálcico em rações para frangos de corte*. Belo Horizonte. 74 p., Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária da UFMG.
- AZEVEDO, P.C. (1980). Disponibilidade de fósforo em fosfatos não convencionais para suínos e aves. In: SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., Campinas. 1980, /Resumos/, p. 79-96.
- BARBOSA, J.A.F. Perspectivas de uso dos fosfatos de rocha nacionais na alimentação animal. *Cadernos técnicos da Escola de Veterinária da UFMG*. Belo Horizonte. Centro de Extensão da Escola de Veterinária da UFMG, p. 55-84, 1991.

- BURNELL, T.W.; PEO, E.R.Jr.; LEWIS, A.J.; CRENSHAW, J.D. (1986). Effect of dietary fluorine on growth, blood and bone characteristics of growing-finishing pigs. *J Anim Sc*, Champaign, v. 63, n.6, p. 2053-67.
- BURSTEIN, A.H.; ZIKA J.M.; HEIPLE K.G.; KLEIN L. (1975). Contribution of collagen and mineral to the elastic-plastic properties of bone. *J Bone Joint Surg*, v. 57-A, n. 7, p. 956-61.
- CANTAROW, A.; SCHEPARTZ, B. (1969). *Bioquímica*. 4.ed. Rio de Janeiro, Atheneu.
- CARTER, D.R.; SPLENGER, D.M. (1978). Mechanical properties and composition of cortical bone. *Clin Orthop*, n. 135, p. 192-262.
- CHAKKALAKAL, D.A.; LIPPIELLO, L.; WILSON, R.F.; SHINDELL, R.; CONNOLLY, J.F. (1990). Mineral and matrix contributions to rigity in fracture healing. *J Biomech*, v. 23, n. 5, p. 425-34.
- CHAN, M.M.; RUCKER, R.B.; ZEMAN, F.; RIGGINS, R.S. (1973). Effect of fluoride on bone formation strength in japanese quail. *J Nutr*, v. 103, n. 10, p. 1431-40.
- CHAN M.M.; RIGGINS R.S.; RUCKER R.B. (1977). Effect of ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonate (EHDP) and dietary fluoride on biomechanical and morphological changes in chick bones. *J Nutr*, v. 107, n. 9, p. 1747-54
- CHIAVERINI, V. (1979). *Tecnologia mecânica- Estrutura e propriedades: Processos de fabricação*. v. I, São Paulo, McGraw-Hill do Brasil.

- CLAY, A.B.; SUTTIE, M.S.; SUTTIE, J.W. (1985). The availability of fluoride from NaF and phosphorus supplements. *Vet Hum Toxicol*, v. 27, n. 1, p. 3-6.
- COWIN, S.C. (1989). *Cortical bone*. In: Cowin Stephen C. Bone Mechanics. Florida. CRC Press, p. 98-142.
- CURREY, J.D.; BUTLER, A.G. (1975). The mechanical properties of bone tissue in children. *J Bone Joint Surg USA*, v. 57, p. 810 - 14.
- CURREY, J.D. (1988). The effect of porosity and mineral content on the Young's modulus of elasticity of compact bone. *J Biomech*, v. 21, n. 2, p. 131-39.
- DALÉN, N.; GOSTA, L.; HELLSTROM, L.G.; JACOBSON, B. (1976). Bone mineral content and mechanical strength of the femoral neck. *Acta Orthop Scand*, v. 47, p. 503-508.
- FRACCAROLI, J.L. (1981). *Biomecânica: análise dos movimentos*. 2.ed. Rio de Janeiro, Cultura Médica.
- FUNG, Y.C. (1981). *Bone and Cartilage*. In: Mechanical properties of living tissues. Berlin, New York, Springer-Verlag, cap. 12, p. 383-415.
- FURLAN, A.C.; TAFURI, M.L.; ROSTAGNO, H.S.; SILVA, M.A.; SCAPINELLO, C.; DONZELE, J.L. (1994.). Uso de fosfato naturais de rocha na alimentação de coelhos em crescimento. *Rev Soc Bras Zootec*, v. 23, n. 5, p. 829-39.
- GARDNER, E.; GRAY, D.J.; RAHILLY, R.O. (1978). *Anatomia: Estudo regional do corpo humano*. Trad. por Rogério Benevento. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

- GARDINER, J.W. (1961). Nutritional aspects of fluoride toxicosis. *J Anim Sc* , v. 51, n. 3, p. 759-66.
- GOMES, P.C.; PEREIRA, J.A. (1989). Efeitos das fontes, disponibilidade e nível de fósforo na ração de suínos na fase inicial. *Rev Soc Bras Zootec*, v. 18, n. 3, p. 248-59.
- GOMES, P.C. (1991). Disponibilidade de fósforo em fosfatos não convencionais para suínos e aves. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6, Campinas, 1991, /Resumos/, p. 79-96.
- GUGGENHEIM K., SIMKIN A., WOLINSKY I. (1976). The effect of fluoride on bone of rats fed diets deficient in calcium or phosphorus. *Calcif Tissue Int* ,USA, v. 24, n. 6, p. 9-17.
- GUINOTTE, F.; NYS, Y.; MONREDON, F. (1991). The effects os particle size and origin of calcium carbonate on performance and ossification characteristics in broiler chicks. *Poult Sci* , v. 70, n. 9, p. 1908-20.
- JUNQUEIRA, O. M. (1991). Desempenho produtivo de aves alimentadas com fosfato não convencionais. In: MINI SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO, 6, Campinas, 1991. /Resumos/, p.121-36
- KLEEREKOPER, M. (1996). Fluoride and the skeleton. In: BILEZIKIAN, J. P. et al. *Principles of bone biology*. Califórnia, USA, Academic Press, Cap. 75, p. 1053-62.

- LEES, S.; HANSON, D.B. (1992). Effect of fluoride dosage on bone density, sonic velocity, and longitudinal modulus of rabbit femurs. *Calcif Tissue Int*, v. 50, n. 1, p. 88-92.
- LEES, S.; HANSON, D.; PAGE, E.; MOOK, H. (1994). Comparison of dosage-dependent effects of beta-aminopropionitrile, sodium fluoride, and hydrocortisone on selected physical properties of cortical bone. *J Bone Miner Res*, v. 9, n. 9, p. 1377-89.
- LOPES, Z.M.A. (1983). *Utilização de fosfato bruto de rocha em rações para frangos de corte*. Belo Horizonte, 52 p., Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária da UMFG.
- MARCELLI, C.; MEUNIER, P.J. (1994). Fluoride therapy. Influence on the microarchitecture and biomechanical properties of bone. *Presse Med*, v. 1, n. 23, p. 1344-8.
- MARTIN, R.B. (1991). Determinants of the mechanical properties of bones. *J Biomech*, v. 24, supl. 1, p. 79-88.
- MARTIN, R.B.; BOARDMAN, D.L. (1993). The effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bovine cortical bone bending properties. *J Biomech*, v. 20, p. 1047-54.
- MARTIN, R.B.; ISHIDA J. (1989). The relative effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bone strength. *J Biomech*, v. 22, n. 5, p. 419-26.

- McALISTER, G.B.; MOYLE, D.D. (1983). Some mechanical properties of goose femoral cortical bone. *J Biomech*, v. 16, n. 8, p. 577-89.
- McDOWELL, L.R. (1992). Fluorine. In: CUNHA, T. J. *Minerals in animal and human nutrition*. London, cap. 14, p. 333-51. Academic Press, Inc.
- MERKLEY, J.W. (1976). Increase bone strength in coop-reared broilers provided fluoridated water. *Poult Sci*, v. 55, p. 1313-19.
- MILLER, G.J.; PURKEY, W.W.Jr. (1980). The geometric properties of paired human tibiae. *J Biomech*, v. 13, p. 1-8.
- MITCHELL, H.; EDAN, M. (1952). The fluorine problem in livestock feeding. *Nutr Rev*, v. 21, n. 4, p. 787-804.
- MORES, N.; BARBOSA, H.P.; FIALHO, E.T. (1990). Efeitos do fosfato de Tapira e monocálcico no desempenho produtivo e reprodutivo de suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27, Campinas, 1990, /resumos/, p. 179.
- MORES, N. (1991). Aspectos patológicos do uso de fosfatos não convencionais na alimentação de suínos. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6, Campinas, 1991, /resumos/, p.137-48.
- MOSEKILDE, L.; KRAGSTRUP, J.; RICHARDS, A. (1987). Compressive strength, ash weight, and volume of vertebral trabecular bone in experimental fluorosis in pigs. *Calcif Tissue Int*, v. 40, n. 6, p. 318-22.

- MOYLE, D.D.; WALKER, M.W.J. (1986). The effects of a calcium deficient diet on the mechanical properties and morphology of goose bone. *J Biomech*, v.10, n. 8, p. 613-25.
- NAKAHARA, H. (1995). The effect of fluoride on bone of rats fed diets deficient in calcium or phosphorus. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, v. 69, n. 11, p. 1182-92, /Resumo/.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES – NAS. (1980). Committee on Animal Nutrition. *Mineral tolerance of domestic animals*. Washington, 1980, 534p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. (1974). Committee on Animal Nutrition. Subcommittee on Fluorosis. *Effects of fluorides in animais*. Washington D.C., 1974, 70p.
- REILLY, D.T.; DONALD, T.; BURSTEIN, A.H. (1974). The mechanical properties of cortical bone. *J Bone Joint Surg*, v. 56-A, n. 5, p. 1001-22.
- ROGLER, M.; PARKER, H. (1972). The fluorine problem in livestock feeding. *Nutr Rev*, v. 21, n. 4, p.787-804.
- ROSA, I.V. (1988). Fósforo, fosfato de rocha e fluorose em bovinos. In: II SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, Campinas, 1988, p. 89-95.
- SEDLIN, E.D. (1965). A rheological model for cortical bone. *Acta Orthop Scand* Copenhagem, Suplemento especial, n. 83.

- SHIMANO, A.C. (1994). *Análise das propriedades geométricas e mecânicas de tibia humana: proposta de metodologia*, São Carlos, p. 254, Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- SIMKIN, A. & ROBIN, G. (1973). The mechanical testing of bone in bending. *J Biomech*, v. 6, p. 31-39.
- SMITH, L. E.; HILL, R.L.; LEHMAN, I.R.; LEFKOWITZ, R. J.; HANDLER, P.; WHITE, A. (1988). *Bioquímica dos mamíferos*. 7.ed. Rio de Janeiro, Guanabara.
- SPIERTO, K. (1969). The distribution and storage of fluorine in the tissue of laying hen. *Poult Sci*, v. 15, n. 2, p. 154-57.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. (1990). *Statistical analysis systems user's guide*. 4. Ed. Cary: SAS Institute, v.2.
- STROMSOE, K.; HOISETH, A.; ALHO, A.; KOK, W.L.(1995). Bending strength of the femur in relation to non-invasive bone mineral assessment. *J Biomech*, v. 28, n. 7, p. 857-61.
- SUTTIE, J.W. (1980). Nutritional aspects of fluoride toxicosis. *J Anim Sc*, v. 51, n.3, p. 759-66.
- THONSEM, J.J. (1990). Modelling human tibia structural vibrations. *J Biomech*, v. 23, n. 3, p. 215-28.
- TORZILLI, P.A.; TAKEBE, K.; BURSTEIN, A.H.; HEIPLE, K.G. (1981). Structural properties of immature canine bone. *J Biomech*, v. 8, p. 103-232.

- TUREK, S.L. (1991). *Ortopedia. Princípios e sua aplicação*. Trad. por Alfredo Jorge Cherem, Jacob Israel Lemos et al. 4 ed. vol. 1 São Paulo, Manole.
- TURNER C. H.; HASEGAWA K.; ZHANG W.; WILSON M.; LI Y.; DUNIPACE A.J. (1995). Fluoride reduces bone strength in older rats. *J Dent Res*, v. 74, n. 8, p. 1475-81.
- TURNER C. H.; TAKANO Y.; HIRANO T. (1996). Reductions in bone strength after fluoride treatment are not reflected in tissue-level acoustic measurements. *Bone*, v. 19, n. 6, p. 603-7.
- UNDERWOOD, E.J. (1977). Fluorine, In: *Trace elements in human and animal nutrition*. 4 ed., Nova York: Academic Press, p. 347-369.
- UNDERWOOD, E.J. (1981). The mineral nutrition of livestock. Farnham Royal: *Commonwealth Agricultural Bureauf*, 180 p.
- WALSH W.R.; GUZELSU, N. (1994). Compressive properties of cortical bone: mineral-organic interfacial bonding. *Biomaterials*, v. 15, n. 2, p. 137-45.
- WILLIAM, S.N.; LAWRENCE, L.A.; McDOWELL, L.R.; WILKINSON, N.S.; FERGUSON, P.W.; WARNICK, A.C. (1991). Effect of dietary phosphorus on chemical, physical, and mechanical properties. *J Anim Sc*, Flórida, v. 69, n. 3, p. 1232-42.

ANEXOS

I – Tabelas A_1 a A_5 – Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures dos coelhos.

II – Tabelas B_1 a B_5 - Valores registrados da carga e deflexão durante os ensaios de flexão em três pontos dos fêmures dos coelhos.

TABELA A₁ – Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures direito (d) e esquerdo (e) dos coelhos do grupo 1.

GRUPO 1			
coelho		Linha neutra	Momento Inércia
	osso	mm	mm ⁴
1	d	3,23	78,21
1	e	3,25	78,05
2	d	3,42	84,18
2	e	3,23	80,97
3	d	3,55	102,40
3	e	3,20	92,72
4	d	2,92	69,59
4	e	2,95	63,62
5	d	3,40	106,52
5	e	3,40	121,60
6	d	3,22	115,26
6	e	3,50	118,02
7	d	3,38	110,44
7	e	3,27	102,65
8	d	2,91	61,34
8	e	3,02	74,99

TABELA A₂ – Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures direito (d) e esquerdo (e) dos coelhos do grupo 2.

GRUPO 2			
coelho		Linha neutra	Momento Inércia
	osso	mm	mm ⁴
9	d	3,08	81,31
9	e	3,03	77,60
10	d	3,35	91,63
10	e	3,27	98,65
11	d	3,16	98,18
11	e	3,24	103,21
12	d	2,87	76,02
12	e	3,14	80,85
13	d	3,24	89,81
13	e	3,59	142,00
14	d	3,30	98,88
14	e	3,16	79,00
15	d	3,51	115,13
15	e	3,43	117,86

TABELA A₃ – Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures direito (d) e esquerdo (e) dos coelhos do grupo 3.

GRUPO 3			
coelho		Linha neutra	Momento Inércia
	osso	mm	mm ⁴
16	d	3,18	93,14
16	e	3,18	92,88
17	d	3,20	85,51
17	e	3,04	78,38
18	d	3,51	111,76
18	e	3,39	109,26
19	d	3,55	113,09
19	e	3,46	116,63
20	d	2,96	68,84
20	e	3,03	66,45
21	d	3,25	92,31
21	e	3,28	95,54
22	d	3,39	107,91
22	e	3,47	103,64
23	d	3,40	88,81
23	e	3,18	92,35

TABELA A₄ – Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures direito (d) e esquerdo (e) dos coelhos do grupo 4.

GRUPO 4			
coelho		Linha neutra	Momento Inércia
	osso	mm	mm ⁴
24	d	3,40	117,13
24	e	3,21	93,82
25	d	3,04	83,12
25	e	3,19	81,32
26	d	3,24	75,40
26	e	3,15	65,11
27	d	3,04	66,92
27	e	3,49	104,47
28	d	3,46	110,51
28	e	3,29	97,25
29	d	3,27	88,25
29	e	3,53	106,81
30	d	3,50	117,80
30	e	3,48	91,90
31	d	3,53	91,74

TABELA A₅— Valores da linha neutra e do momento de inércia das áreas de secções transversais dos fêmures direito (d) e esquerdo (e) dos coelhos do grupo 5.

GRUPO 5			
coelho	osso	Linha neutra	Momento Inércia
		mm	mm ⁴
32	d	3,03	105,57
32	e	3,24	112,66
33	d	3,32	98,87
33	e	3,21	94,60
34	d	3,16	92,23
34	e	3,31	86,12
35	d	3,19	81,53
35	e	3,23	69,69
36	d	3,61	126,14
36	e	3,48	115,31
37	d	3,23	86,69
37	e	3,21	84,21
38	d	3,29	89,90
38	e	3,06	94,63
39	d	3,29	128,98
39	e	3,52	133,12

TABELA B₁ - Valores da carga (N) e deflexão(mm) registrados durante o ensaio de flexão em três pontos nos ossos direito (D) e esquerdo (E) dos coelhos (1 a 8) do grupo experimental 1.

	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8
Def(mm)	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
0,0	15	20	25	15	50	50	25	9	8	5	50	40	12	46	15	20
0,1	77	131	136	118	208	197	126	102	181	148	190	167	107	200	66	77
0,1	160	249	259	239	354	328	227	204	346	296	341	297	195	350	127	122
0,2	259	375	395	370	528	464	338	309	512	456	502	429	300	504	190	175
0,2	372	516	566	532	691	618	468	439	694	648	649	569	423	668	270	231
0,3	482	663	702	691	872	787	597	560	889	788	794	718	553	824	366	293
0,3	626	814	896	854	1046	933	720	684	1083	1007	944	814	670	975	468	366
0,4	770	967	1062	1039	1209	1091	848	806	1275	1194	1100	953	802	1120	593	463
0,4	927	1133	1220	1184	1406	1258	974	929	1458	1382	1250	1086	938	1267	720	543
0,5	1079	1306	1394	1358	1584	1421	1103	1060	1634	1561	1400	1218	1080	1416	843	646
0,5	1235	1446	1575	1521	1761	1584	1226	1186	1797	1735	1544	1353	1212	1589	975	750
0,6	1381	1597	1751	1660	1930	1754	1357	1303	1973	1924	1653	1480	1358	1711	1100	874
0,6	1528	1764	1904	1602	2104	1897	1478	1433	2151	2090	1618	1533	1500	1734	1240	992
0,7	1720	1924	2051	1655	2258	1890	1588	1550	2170	1985	1671	1531	1606	1703	1345	1100
0,7	1834	2070	2027	1799	2209	1988	1674	1680	2158	2127	1693	1618	1575	1750	1385	1234
0,8	1952	2169	2085	1895	2276	2108	1701	1763	2267	2262	1781	1722	1635	1845	1443	1353
0,8	1966	2161	2136	2016	2396	2227	1715	1724	2427	2410	1865	1843	1734	1955	1535	1460
0,9	2039	2222	2212	2138	2528	2358	1784	1782	2567	2539	1963	1947	1845	2064	1619	1550
0,9	2182	2310	2343	2235	2642	2484	1870	1855	2697	2648	2056	2027	1918	2150	1702	1522
1,0	2301	2402	2459	2332	2727	2570	1959	1940	2829	2708	2119	2044	2005	2190	1778	1600
1,0	2424	2505	2588	2420	2796	2658	2019	2013	2923	2790	2097	2028	2074	2193	1850	1695
1,1	2547	2595	2681	2456	2866	2715	2073	2098	2947	2900	2063	2067	2135	2245	1881	1785
1,1	2634	2671	2731	2443	2933	2753	2107	2159	3000	3023	2072	2110	2213	2322	1871	1885
1,2	2707	2732	2636	2347	2966	2770	2135	2214	3092	3140	2071	2104	2301	2148	1891	1912
1,2	2757	2757	2590	2337	2976	2839	2141	2243	3201	3150	2060	2069	2289	1953	1942	1952
1,3	2634	2729	2594	2377	2997	2897	2136	2207	3282	3103	2087	1999	2316	1876	1984	1973
1,3	2602	2737	2604	2421	3028	2908	2102	2136	3337	3030	2116	1963	2365	1888	2015	1999
1,4	2620	2749	2610	2426	3053	2912	2043	2114	3347	2745	2130	1929	2425	1885	2025	2009
1,4	2640	2743	2633	2416	3063	2939	1985	2102	3300	2622	2143	1874	2480	1876	2003	2028
1,5	2672	2740	2632	2417	3063	2947	1892	2104	3219	2610	2139	1847	2436	1850	1997	2056
1,5	2687	2741	2599	2434	3062	2939		2088	3208	2628	2067	1833	2374		1988	2077
1,6	2683	2728	2568	2439	3058	2929		2074	3214	2640	2037	1831	2230		1957	2103
1,6		2727	2518	2435		2924		2060	3186	2646	2012	1821	2148		1913	2120
1,7		2745	2099	2415		2906		2011	3095	2608	1971	1811	2028		1858	2126
1,7		2754	1996	2402		2905		1958	3051		1916	1804	1924		1806	2112
1,8		2757	1937	2394		2897		1920			1857	1783	1855		1758	2078
1,8		2747		2389		2876					1794	1750				2020
1,9		2721		2366							1755	1696				1986
1,9		2683		2357							1695					1981
2,0		2568		2347							1644					1970
2,0																

TABELA B₂ - Valores da carga (N) e deflexão(mm) registrados durante o ensaio de flexão em três pontos nos ossos direito (D) e esquerdo (E) dos coelhos (9 a 15) do grupo experimental 2.

Def.(mm)	9	9	10	10	11	11	12	12	13	13	14	14	15	15
0,0	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
0,1	10	60	20	25	43	19	30	20	30	20	40	25	25	20
0,1	138	181	155	130	165	127	125	145	148	124	159	151	166	121
0,2	265	289	270	252	272	237	223	273	297	264	290	304	313	250
0,2	387	398	412	399	406	368	365	433	419	383	433	466	456	402
0,3	522	530	572	543	532	500	511	593	554	536	584	638	640	572
0,3	664	659	718	718	657	649	628	748	707	691	731	798	802	768
0,4	841	820	871	906	781	778	805	921	855	869	902	981	980	950
0,4	983	965	1033	1082	896	929	953	1091	1010	1035	1055	1159	1146	1138
0,5	1132	1128	1174	1264	1021	1084	1110	1249	1171	1218	1219	1326	1325	1324
0,5	1288	1277	1333	1461	1145	1222	1261	1426	1328	1366	1383	1492	1498	1516
0,6	1444	1436	1491	1623	1267	1357	1442	1588	1477	1429	1549	1672	1669	1699
0,6	1601	1573	1617	1793	1376	1495	1609	1760	1589	1510	1709	1845	1838	1876
0,7	1765	1691	1570	1991	1440	1552	1779	1927	1523	1605	1882	2010	1976	2043
0,7	1909	1713	1693	2140	1484	1596	1943	1950	1625	1704	2002	2168	1981	2200
0,8	2028	1750	1816	2083	1542	1674	2079	2020	1727	1798	1922	2303	2024	2292
0,8	1996	1846	1959	2149	1600	1759	2146	2172	1841	1921	1943	2316	2139	2140
0,9	2120	1959	2080	2241	1692	1848	2118	2284	1959	2024	2071	2365	2253	2149
0,9	2235	2077	2171	2344	1804	1945	2213	2355	2064	2148	2198	2471	2370	2225
1,0	2342	2171	2258	2452	1877	2034	2308	2360	2150	2250	2296	2574	2483	2324
1,0	2466	2258	2363	2573	1934	2082	2416	2429	2186	2214	2366	2670	2577	2415
1,1	2574	2355	2373	2676	1955	2160	2491	2478	2255	2214	2419	2753	2667	2512
1,1	2667	2436	2361	2752	1965	2223	2568	2509	2304	2272	2485	2809	2718	2600
1,2	2690	2519	2420	2819	1943	2273	2608	2521	2348	2336	2553	2851	2735	2644
1,2		2525	2476	2836	2000	2308	2616	2517	2440	2370	2622	2856	2737	2652
1,3		2497	2508	2850	2045	2336	2624	2529	2494	2353	2652	2840	2723	2688
1,3		2488	2512	2862	2088	2373	2640	2510	2516	2398	2640	2839	2724	2740
1,4		2481	2467	2896	2122	2222	2645	2376	2511	2455	2664	2825	2715	2786
1,4		2422	2414	2882	2103	2144	2604		2500	2510	2690	2756	2724	2789
1,5			2389	2877	2076	2114	2564		2512	2551	2722	2667	2746	2786
1,5			2383	2888	2012	2109	2529		2531	2581	2727	2623	2739	2772
1,6			2279	2892	1985	2064	2520		2545	2625	2716	2621	2702	2760
1,6							2531		2524	2649	2712	2608	2684	2742
1,7							2534			2678	2722	2596	2653	2717
1,7										2696	2731		2604	2694
1,8										2695	2726		2520	2680
1,8										2627	2717			2669
1,9										2566	2698			2648
1,9										2531	2662			
2,0										2504	2609			
2,0														

TABELA B₃ - Valores da carga (N) e deflexão(mm) registrados durante o ensaio de flexão em três pontos nos ossos direito (D) e esquerdo (E) dos coelhos (16 a 23) do grupo experimental 3.

Def(mm)	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
0,0																
0,1	45	30	15	40	45	50	15	10	50	35	10	15	45	37	35	50
0,1	166	162	109	167	188	194	129	91	139	119	114	125	172	144	128	156
0,2	321	310	219	283	374	383	263	185	226	208	211	246	316	275	235	268
0,2	472	437	343	400	531	518	424	292	341	313	324	374	458	412	369	381
0,3	620	590	503	553	720	672	588	422	465	420	444	513	626	563	487	505
0,3	781	748	685	713	896	847	775	575	575	542	580	687	758	703	603	629
0,4	930	907	815	883	1077	1015	958	735	686	675	729	828	922	837	715	744
0,4	1089	1066	990	1024	1273	1172	1139	915	810	787	877	998	1077	990	827	856
0,5	1246	1244	1147	1191	1466	1344	1286	1053	921	917	1030	1157	1226	1132	932	967
0,5	1400	1395	1326	1382	1637	1506	1484	1226	1028	1045	1194	1317	1357	1287	1022	1071
0,6	1534	1567	1482	1507	1809	1685	1674	1386	1156	1154	1347	1476	1484	1418	1100	1103
0,6	1670	1729	1662	1707	1924	1857	1836	1544	1273	1279	1498	1642	1529	1468	1182	1130
0,7	1672	1843	1812	1850	2022	2005	1755	1659	1385	1313	1661	1783	1540	1530	1250	1187
0,7	1766	1864	1963	2004	2025	2169	1832	1694	1484	1338	1793	1922	1645	1599	1315	1239
0,8	1860	1922	2071	2158	2130	2305	1890	1784	1557	1405	1905	2029	1754	1694	1361	1308
0,8	1967	1966	2060	2129	2283	2432	1994	1894	1611	1489	1971	2023	1870	1798	1417	1333
0,9	2073	2029	2150	2200	2424	2377	2101	2009	1638	1554	1987	2014	1993	1891	1483	1390
0,9	2166	2105	2233	2296	2546	2420	2199	2146	1682	1629	2063	2096	2105	1981	1549	1457
1,0	2251	2179	2341	2380	2652	2523	2296	2266	1737	1702	2191	2196	2216	2095	1535	1504
1,0	2298	2241	2488	2456	2732	2625	2327	2385	1802	1777	2291	2291	2326	2193	1595	1543
1,1	2316	2229	2549	2521	2811	2735	2330	2507	1863	1834	2380	2381	2397	2230	1655	1570
1,1	2297	2236	2596	2559	2916	2844	2215	2511	1920	1882	2452	2456	2450	2196	1709	1594
1,2	2264	2243	2630	2573	3010	2942	2206	2519	1968	1915	2533	2518	2524	2262	1732	1613
1,2	2270	2258	2658	2502	3088	3002	2239	2340	2013	1946	2593	2571	2579	2323	1758	1633
1,3	2313	2273	2666	2382	3155	3054	2273	2331	2001	1962	2646	2627	2541	2379	1780	1650
1,3	2353	2241	2665	2360	3194	3107	2304	2252	1987	1978	2670	2668	2470	2395	1777	1676
1,4	2384	2235	2666	2349	3218	3145	2307	2224	1977	1994	2653	2645	2438	2370	1765	1680
1,4	2411	2158	2668	2361	3222	3124	2309	2209	1953	2004	2666	2640		2330	1742	1667
1,5	2425		2668	2365	3219	2957	2315	2179	1927	2003	2694	2656		2295	1728	1619
1,5	2440		2674	2364		2906	2308		1896	1985	2731	2662		2280	1714	1490
1,6	2444		2685	2365		2852	2295		1841	1962	2763	2650		2274	1705	1301
1,6	2457		2691	2365		2772	2193		1809	1903	2784	2598		2278	1702	1210
1,7	2462		2691	2366		2733	2131		1786	1883	2799	2568		2274		
1,7	2462		2669	2355		2686			1771	1860	2800	2526		2235		
1,8	2458			2329					1758	1837	2787	2444				
1,8	2446			2272							2775	2418				
1,9	2429			2244							2764					
1,9	2400			2220							2761					
2,0	2365			2190							2764					
2,0	2305			2138							2766					

TABELA B₄ - Valores da carga (N) e deflexão(mm) registrados durante o ensaio de flexão em três pontos nos ossos direito (D) e esquerdo (E) dos coelhos (24 a 31) do grupo experimental 4.

Def.(mm)	24	24	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	31
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
0,0															
0,1	50	25	20	10	20	55	50	45	39	45	20	20	10	45	20
0,1	119	108	150	101	133	180	119	232	176	121	99	94	60	121	79
0,2	199	206	282	240	254	319	199	443	289	202	183	190	96	202	134
0,2	288	333	437	352	385	441	288	655	445	281	283	290	147	281	194
0,3	396	460	602	485	523	593	396	885	600	372	397	400	185	372	259
0,3	480	596	778	620	671	755	480	1101	733	465	527	514	230	465	311
0,4	570	744	939	749	805	900	570	1332	918	572	655	628	278	572	374
0,4	665	903	1127	898	943	1056	665	1564	1126	672	792	737	334	672	439
0,5	760	1065	1290	1025	1092	1216	760	1783	1265	767	918	848	390	767	502
0,5	843	1229	1462	1173	1248	1383	843	2000	1426	861	1041	947	447	861	560
0,6	940	1381	1648	1306	1384	1575	940	2240	1590	943	1128	999	508	943	585
0,6	1025	1558	1832	1445	1540	1749	1025	2434	1770	1019	1170	1066	566	1019	629
0,7	1102	1708	2014	1588	1696	1864	1102	2649	1777	1103	1285	1133	626	1103	657
0,7	1152	1855	2183	1709	1834	1931	1152	2821	1842	1161	1395	1191	689	1161	691
0,8	1202	2008	2359	1653	1963	2022	1202	2990	1983	1217	1470	1258	743	1217	731
0,8	1252	2165	2522	1679	2026	2151	1252	3041	2134	1273	1472	1366	797	1273	767
0,9	1284	2322	2621	1780	1984	2315	1284	2891	2283	1320	1544	1445	831	1320	812
0,9	1334	2476	2668	1893	1983	2462	1334	2977	2434	1364	1651	1498	854	1364	856
1,0	1378	2610	2697	2001	2020	2601	1378	3102	2543	1407	1755	1563	874	1407	901
1,0	1425	2650	2752	2119	2094	2703	1425	3201	2500	1435	1821	1645	860	1435	933
1,1	1480	2488	2822	2218	2179	2821	1480	3260	2450	1476	1832	1677	878	1476	969
1,1	1538	2575	2889	2352	2252	2900	1538	3225	2553	1528	1862	1687	898	1528	1010
1,2	1569	2660	2940	2380	2334	2919	1569	3169	2649	1583	1883	1764	937	1583	1045
1,2	1596	2741	2983	2404	2368	2900	1596	2929	2736	1630	1923	1831	974	1630	1073
1,3	1630	2795	3018	2414	2395	2788	1630	2321	2796	1666	1955	1882	1011	1666	1093
1,3	1657	2810	3046	2380	2416	2745	1657	2031	2609	1693	1991	1904	1042	1693	1098
1,4	1681	2806	3065	2349	2437	2762	1681	1936	2541	1709	2030	1806	1067	1709	1109
1,4	1707	2800	3085	2361	2453	2791	1707	1900	2520	1722	2087	1738	1089	1722	1118
1,5	1730	2815	3095	2379	2462	2799	1730	1860	2485	1741	2115	1693	1115	1741	1122
1,5	1742	2832	3098	2399	2467	2790	1742	1812	2457	1770	2108	1652	1142	1770	1120
1,6	1749	2848	3091	2420	2470		1749	1735	2448	1791	2091	1646	1165	1791	1124
1,6	1754	2858	3070	2439	2468		1754	1695	2423	1809	2025	1639	1190	1809	1145
1,7	1757	2865	3042	2449	2457		1757	1650	2281	1816	1883	1609	1217	1816	1167
1,7	1765			2461	2446		1765	1550	2200	1806	1726	1556	1241	1806	1185
1,8	1773			2456	2398		1773	1416	2090	1791	1615		1263	1791	1189
1,8	1771			2433			1771	1408	982	1759	1558		1268	1759	1185
1,9	1749			2419			1749	1393	922		1515		1242		1204
1,9	1729			2404			1729	1389	877		1483		1234		1225
2,0	1712						1712	1386	833				1241		1245
2,0	1697						1697	1385	808				1245		1262

TABELA B₅ - Valores da carga (N) e deflexão(mm) registrados durante o ensaio de flexão em três pontos nos ossos direito (D) e esquerdo (E) dos coelhos (32 a 39) do grupo experimental 5.

Def.(mm)	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36	37	37	38	38	39	39
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
0,0																
0,1	15	15	10	83	38	38	50	20	35	45	20	20	30	30	30	20
0,1	138	116	150	196	166	166	231	101	115	187	117	127	171	171	148	155
0,2	291	234	303	328	328	328	407	200	178	287	227	252	318	318	281	311
0,2	436	366	480	477	492	492	564	292	269	414	349	390	452	452	411	470
0,3	621	509	660	628	650	650	744	400	374	548	472	538	612	612	571	628
0,3	786	671	861	818	836	836	932	507	471	674	602	670	760	760	752	797
0,4	969	838	1045	1006	994	994	1100	600	587	797	755	838	906	906	933	977
0,4	1156	1018	1237	1182	1164	1164	1280	714	707	936	899	996	1073	1073	1066	1147
0,5	1325	1208	1447	1358	1340	1340	1453	817	825	1052	1054	1160	1215	1215	1225	1300
0,5	1500	1398	1625	1534	1520	1520	1606	933	932	1181	1202	1343	1366	1366	1353	1350
0,6	1669	1563	1804	1708	1706	1706	1767	1033	1057	1294	1357	1497	1497	1497	1380	1400
0,6	1826	1743	2001	1885	1876	1876	1931	1132	1147	1388	1515	1669	1628	1628	1473	1505
0,7	1988	1908	2184	2107	2036	2036	2086	1235	1211	1460	1686	1830	1730	1730	1615	1611
0,7	2139	2039	2354	2213	2201	2201	2220	1324	1297	1566	1823	1999	1769	1769	1789	1731
0,8	2291	2124	2524	2349	2305	2305	2345	1410	1398	1634	1922	2106	1791	1791	1899	1872
0,8	2416	2203	2672	2435	2280	2280	2448	1476	1504	1715	2023	1954	1877	1877	1961	2003
0,9	2483	2297	2704	2504	2316	2316	2525	1530	1588	1811	1908	2013	1977	1977	1959	2115
0,9	2490	2389	2719	2576	2417	2417	2514	1569	1661	1899	1931	2140	2078	2078	2070	2201
1,0	2519	2489	2781	2636	2504	2504	2576	1604	1754	1989	2025	2278	2177	2177	2201	2210
1,0	2559	2585	2861	2693	2604	2604	2649	1641	1849	2073	2117	2388	2259	2259	2321	2260
1,1	2599	2665	2945	2753	2671	2671	2710	1680	1930	2140	2208	2490	2303	2303	2424	2331
1,1	2603	2719	3030	2819	2705	2705	2780	1722	2003	2221	2286	2570	2303	2303	2530	2410
1,2	2656	2730	3102	2885	2723	2723	2842	1760	2054	2232	2344	2632	2306	2306	2608	2481
1,2	2676	2611	3159	2934	2725	2725	2888	1785	2093	2343	2401	2676	2346	2346	2659	2528
1,3	2699		3207	2969	2695	2695	2902	1806	2137	2403	2459	2701	2376	2376	2653	2561
1,3	2722		3241	3003	2618	2618	2904	1820	2201	2460	2494	2697	2392	2392	2641	2599
1,4	2700		3257	3028	2513	2513	2904	1829	2251	2511	2456	2678	2398	2398	2645	2630
1,4	2680		3274	3047			2880	1820	2283	2547	2422	2647	2397	2397	2623	2650
1,5	2392		3298	3068			2856	1805	2309	2575	2370	2619	2384	2384	2573	2603
1,5	2358		3315	3087			2820	1789	2330	2597	2321	2607	2361	2361	2502	2523
1,6	2328		3332				2766	1767	2335	2610	2306	2591			2477	2441
1,6			3338				2711	1689	2322	2615	2311	2535			2453	2393
1,7							2631		2320	2619	2324	2452			2432	2351
1,7							2512		2305	2625		2422				2289
1,8							2419			2629		2392				2233
1,8							2386			2609		2367				
1,9							2366			2576						
1,9							2339			2549						
2,0							2309			2496						
2,0																