



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

VANESSA FERNANDA ALEXANDRE MADEIRO GUERRA

CONSERVAÇÃO DO COLÁGENO EM DENTES SUÍNOS ( *Sus  
scrofa domesticus* ) APÓS 30 DIAS DE ENTERRAMENTO E  
QUEIMA : UM ESTUDO EXPERIMENTAL

Recife  
2025

VANESSA FERNANDA ALEXANDRE MADEIRO GUERRA

CONSERVAÇÃO DO COLÁGENO EM DENTES SUÍNOS ( *Sus scrofa domestica* ) APÓS 30 DIAS DE ENTERRAMENTO E QUEIMA : UM ESTUDO EXPERIMENTAL

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Biomedicina da Universidade Federal de  
Pernambuco, como pré-requisito à obtenção  
do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador : Prof. Dr. Wheverton Ricardo Correia do  
Nascimento  
Coorientadora: Me. Barbara Lacerda Carvalho

Recife  
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Guerra, Vanessa Fernanda Alexandre Madeiro.

Conservação do Colágeno em dentes suínos (*Sus scrofa domestica*) após 30 dias de enterramento e queima: um estudo experimental / Vanessa Fernanda Alexandre Madeiro Guerra. - Recife, 2025.

107p. : il., tab.

Orientador(a): Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

Coorientador(a): Barbara Lacerda Carvalho

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências.

1. Tafonomia. 2. Bioerosão. 3. Colágeno. 4. Queima. 5. Enterramento. I. Nascimento, Wheverton Ricardo Correia do . (Orientação). II. Carvalho, Barbara Lacerda . (Coorientação). IV. Título.

500 CDD (22.ed.)

VANESSA FERNANDA ALEXANDRE MADEIRO GUERRA

CONSERVAÇÃO DO COLÁGENO EM DENTES SUÍNOS ( *Sus scrofa domestica* ) APÓS 30 DIAS DE ENTERRAMENTO E QUEIMA : UM ESTUDO EXPERIMENTAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Wheverton Ricardo Correia do Nascimento  
Universidade Federal de Pernambuco/ Centro de Ciências Médicas

---

Me. Jôuldes Matos Duarte  
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de arqueologia

---

Me Ana Vitória Ferreira Santos  
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de histologia e embriologia

Ao meu amado avô, Severino Bazílio  
Madeiro (in memoriam), e à minha  
querida avó, Judite Alexandre Madeiro,  
que são minha maior motivação.

Aos meus pais, Dilce Guerra e Bartolomeu  
Fernando Guerra e a minha família, que  
são meu porto seguro

E, por fim, ao meu namorado, Rafael  
Vinícius, pela parceria, paciência e amor

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus, por abençoar e guiar meu caminho, me atribuindo forças para enfrentar os obstáculos e concluir com êxito essa jornada acadêmica.

Aos meus avós, Judite Alexandre Madeiro e Severino Bazilio Madeiro (*in memoriam*) que são o principal motivo da minha força e perseverança, foram os responsáveis por me proporcionar oportunidades me permitindo trilhar o melhor caminho. Aos meus pais Dilce Alexandre Madeiro Guerra Correia e Bartolomeu Fernando Guerra Correia que são a minha base durante toda minha trajetória, sem eles nada seria possível.

À minha família, especialmente a minha madrinha e a meu padrinho, Dilma Alexandre Madeiro e Carlos Alexandre que sempre acreditaram no meu potencial.

Ao meu namorado, Rafael Vinicius Nascimento dos Santos que é minha fonte de inspiração e amor, estando comigo desde o início da graduação, sempre me ajudando a superar os desafios.

Aos meus amigos de graduação Almir Eloi, Pamella Katarine , Marley Gabriel e Maria Alice pelos momentos de descontração, ensinamentos compartilhados e todo apoio emocional. Gostaria de agradecer a irmã que a vida me deu, Ana beatriz, que esteve comigo na infância e até o presente momento me dando suporte e apoio sempre que precisei.

Agradeço ao meu orientador, Dr Wheverton Ricardo Correia do nascimento e coorientadora Me. Barbara Lacerda, pela orientação , paciência e ensinamentos prestados durante a graduação e elaboração do presente trabalho de conclusão de curso.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Pernambuco, em especial ao departamento de morfotecnologia por todo apoio institucional.

“O futuro pertence aqueles que acreditam na  
beleza dos seus sonhos.”

*Eleanor Roosevelt*

GUERRA, Vanessa. **CONSERVAÇÃO DO COLÁGENO EM DENTES SUÍNOS (*Sus scrofa domesticus*) APÓS 30 DIAS DE ENTERRAMENTO E QUEIMA: UM ESTUDO EXPERIMENTAL**. 2025. 107 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

## RESUMO

O dente é um material resistente devido a sua composição de matriz inorgânica (hidroxiapatita) e pela matriz orgânica, na qual o principal constituinte é o colágeno tipo I. Este é suscetível a processos de degradação. Devido à resistência a processos *post-mortem*, o tecido dentário é amplamente utilizado na ciência forense e arqueológica. A tafonomia estuda alterações *post-mortem*, sendo a ação microbiana o principal fator de degradação. O objetivo deste estudo foi utilizar análises microscópicas e outras metodologias para identificar a degradação do colágeno e alterações na microestrutura de dentes de *Sus scrofa domesticus* submetidos a cenários tafonômicos distintos (queima e enterramento). As amostras foram divididas em grupos controle e experimentais, submetidos a queima (100°C, 30 minutos após análise TGA prévia), enterramento (30 dias em solo arenoso e argiloso) e a combinação de ambos. Os resultados da análise termogravimétrica estabeleceram a faixa crítica de degradação do colágeno, confirmando que o pico máximo de decomposição é de 341,17°C, valor que inicia a fragilização macroscópica. A análise microscópica (HE) revelou que o dano térmico causou condensação das fibras colágenas na dentina e o enterramento induziu aspecto poroso no cimento, compatível com o estágio inicial de bioerosão. A avaliação dimensional demonstrou que, os dentes íntegros mantiveram a estabilidade, enquanto os submetidos à queima apresentou fragilidade e se tornaram vulneráveis ao ambiente. Houve alterações significativas nas dimensões do grupo queimado e enterrado, em especial no solo argiloso, devido à sua alta retenção de umidade e re-hidratação. Conclui-se que o grau de conservação do colágeno é o indicador mais sensível para a interpretação de eventos *post-mortem*, sendo o dano térmico o fator que acelera a degradação diagenética no ambiente.

**Palavras-chave:** Tafonomia. Bioerosão. Colágeno. Queima. Enterramento



GUERRA, Vanessa. **COLLAGEN CONSERVATION IN SWINE TEETH (*SUS SCROFA DOMESTICUS*) AFTER 30 DAYS OF BURIAL AND BURNING: AN EXPERIMENTAL STUDY**. 2025. 107 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

## **ABSTRACT**

The tooth is a resistant material due to its composition of an inorganic matrix (hydroxyapatite) and an organic matrix, whose main constituent is Type I collagen, which is susceptible to degradation processes. Due to its resistance to post-mortem processes, dental tissue is widely used in forensic and archaeological science. Taphonomy studies post-mortem alterations, with microbial action being the main factor in degradation. The objective of this study was to use microscopic analysis and other methodologies to identify collagen degradation and microstructural changes in *Sus scrofa domesticus* teeth subjected to distinct taphonomic scenarios (burning and burial). Samples were divided into control and experimental groups, subjected to burning (100°C, 30 minutes after prior TGA analysis), burial (30 days in sandy and clayey soil), and the combination of both. The thermogravimetric analysis results established the critical range of collagen degradation, confirming that the maximum decomposition peak is 341.17°C, the value that initiates macroscopic weakening. Microscopic analysis (HE) revealed that thermal damage caused condensation of collagen fibers in the dentin, and burial induced a porous appearance in the cementum, compatible with the initial stage of bioerosion. Dimensional assessment demonstrated that intact teeth maintained stability, while those subjected to burning showed fragility and became vulnerable to the environment. Significant alterations occurred in the dimensions of the burned and buried group, especially in the clayey soil, due to its high moisture retention and re-hydration. It is concluded that the degree of collagen conservation is the most sensitive indicator for the interpretation of post-mortem events, with thermal damage being the factor that accelerates diagenetic degradation in the environment.

**Keywords:** Taphonomy. Bioerosion. Collagen. Burning. Burial.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Estrutura do Dente e Detalhe da Microestrutura do esmalte.	22
<b>Figura 2</b>	Eletromicrografia das Fibras de Sharpey	23
<b>Figura 3</b>	Classificação e localização histológica dos tipos de cimento	24
<b>Figura 4</b>	Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) de Túbulos Dentinários: Comparação entre Condição de Controle e Estreitamento Peritubular.	25
<b>Figura 5</b>	Síntese e Formação da Fibrila de Colágeno	27
<b>Figura 6</b>	Ossos microscopicamente preservados	38
<b>Figura 7</b>	Destruição microscópica focal ( MFD ) com tunelamento bacteriano ( NWMFD)	38
<b>Figura 8</b>	Porco ( <i>Sus scrofa domesticus</i> ) utilizado como biomodelo experimental.	48
<b>Figura 9</b>	Coloração por Hematoxilina-Eosina (H.E.) de uma polpa coronária dentária.	59
<b>Figura 10</b>	Mandíbula de <i>Sus scrofa domesticus</i>	63
<b>Figura 11</b>	Mandíbulas de <i>Sus scrofa domesticus</i> (porco doméstico) após o preparo inicial.	67
<b>Figura 12</b>	Elementos dentários da mandíbula de <i>Sus scrofa domesticus</i> obtidos por osteotomia controlada	69
<b>Figura 13</b>	Curva termogravimétrica (TG) e Curva da Primeira Derivada (DTG) dos dentes	71
<b>Figura 14</b>	Fotografias dos dentes de <i>Sus scrofa domesticus</i> pré-queima (A), submetidos a queima a 100°C por 30 minutos e submetidos a queima a 400°C por 1 hora (C).	74

<b>Figura 15</b>	Variação de massa dos dentes queimados e enterrados.	77
<b>Figura 16</b>	Variação dimensional dos dentes queimados e enterrados.	78
<b>Figura 17</b>	Variação percentual das dimensões de dentes não queimados após enterramento no período de 30 dias em solo argiloso e arenoso	80
<b>Figura 18</b>	Análise macroscópica comparativa de dente íntegro (não queimado) após enterramento no período de 30 dias.	83
<b>Figura 19</b>	Variação percentual média da Largura em dentes queimados a 100°C e enterrados	86
<b>Figura 20</b>	Variação percentual média de massa em dentes queimados a 100°C e enterrados	87
<b>Figura 21</b>	Aspectos visuais das amostras dentárias antes e após exposição térmica a 100 °C e enterramento em solos de diferentes composições.	88
<b>Figura 22</b>	Fotomicrografias da dentina radicular dos grupos de estudo (A, B, C, D). Coloração Hematoxilina e Eosina (HE), aumento de 400x. Fotomicrografias da relação cimento-dentina	90
<b>Figura 23.</b>	dos grupos de estudo (A, B, C, D). Coloração Hematoxilina e Eosina (HE), aumento de 100x.	91

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Etapas Sequenciais da Decomposição Térmica em Tecido Dentário	53
<b>Tabela 2</b>	Comparação das temperaturas iniciais de degradação (Tonset), temperatura final de degradação (Tendset), temperatura máxima de degradação (Tdeg*max) e percentual de resíduo dos dentes 2º Pré-molar (2PM), 3º Pré-molar (3PM), 4º Pré-molar (4PM) e 1º Molar (1M).	72
<b>Tabela 3</b>	Resumo da estabilidade dimensional de dentes íntegros	81
<b>Tabela 4</b>	Resumo dos valores de P (teste de Kruskal-Wallis) referentes à variação percentual média de dentes submetidos a 100 °C após 30 dias de enterramento.	85

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ANOVA** – Análise de Variância

**ADD** – Graus-dias acumulados (Accumulated Degree Days)

**CTC** – Capacidade de Troca Catiônica

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**DTG** – Termogravimetria Derivada

**EDTA** – Ácido Etilenodiaminotetraacético

**HE** – Hematoxilina-Eosina

**IPM** – Intervalo *Post Mortem*

**IPMmin** – Intervalo *Post Mortem* Mínimo

**JAD** – Junção Amelodentinária

**MDF** – Destruição Microscópica Focal

**MEV** – Microscopia Eletrônica de Varredura

**OHI** – Oxford Histological Index

**PMI** – *Post Mortem* Interval

**TBS** – Total Body Score

**TG** – Termogravimetria

**TGA** – Termogravimetria (Análise Termogravimétrica)

**TG-MS** – Termogravimetria acoplada à Espectrometria de Massa

**DE- Arg** - Dentes enterrados em solo argiloso

**DE-Are** - Dentes enterrados em solo arenoso

**DEQ-Arg** - Dentes queimados e enterrados em solo argiloso

**DEQ-Are** Dentes queimados e enterrados

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
2.1 Objetivo geral.....	19
1.1 Específicos.....	19
<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
1.2 DENTES : IMPORTÂNCIA FORENSE E ESTRUTURAL.....	20
1.2.1 Composição e microestrutura dentária.....	22
1.2.2 Alterações sofridas pelo dente após exposição ao calor.....	29
1.3 TAFONOMIA E PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO.....	32
1.3.1 Conceitos de tafonomia.....	32
1.3.2 O processo tafonômico: Bioestratinomia e diagênese.....	34
1.3.3 Bioerosão e ação microbiana.....	38
1.4 FATORES AMBIENTAIS E SUAS CONSEQUÊNCIAS NO TECIDO DENTÁRIO.....	42
1.4.1 O ciclo do nitrogênio e a degradação da matriz orgânica.....	42
1.4.2 Caracterização dos tipos de solos.....	44
1.4.3 Diferencial físico dos solos arenosos e argilosos na decomposição.....	45
1.4.4 Regulação química : CTC, Capacidade tampão e ciclo do nitrogênio.....	46
1.4.5 Componente biológico : Microbiota e Bioindicadores.....	47
1.5 UTILIZAÇÃO DO PORCO COMO MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL.....	48
3.4.1. Similaridades Microestruturais e Histológicas do dente de <i>sus scrofa domesticus</i> .....	49
3.4.2 Aplicação do Modelo em Cenários Tafonômicos.....	51
1.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	52
1.6.1 TGA na caracterização de tecidos dentários.....	54
1.7 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DE DENTES.....	58
1.7.1 Coloração com Hematoxilina-Eosina (HE).....	59
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>62</b>
2.1 Desenho de estudo.....	62
2.2 Considerações éticas.....	62

2.3 Procedimentos experimentais.....	62
2.4 metodologia do objetivo 1 - Obtenção dos dentes Pré-Molares 2, 3 e 4 e Molar 1 da mandíbula de <i>Sus Scrofa domesticus</i> .....	63
2.5 metodologia do objetivo 2- Aplicar técnica de Termogravimetria (TG) para estabelecer a temperatura de queima dos dentes.....	64
2.6 metodologia do objetivo 3- Comparar alterações tafonômicas macroscópicas dos dentes pré - queima e pós - queima.....	65
2.7 Metodologia do objetivo 4 - Analisar possíveis evidências de bioerosão e tunelamento bacteriano e fúngico após desenterramento através da coloração Hematoxilina e eosina (HE).....	65
2.7.1 - Preparação da amostra dentária e descalcificação.....	65
2.7.2 - Processamento e Emblocagem.....	66
2.7.3 - Microtomia e Montagem das Lâminas.....	66
2.7.4 - Coloração com Hematoxilina-Eosina (HE).....	66
4.7.5- Montagem Final e análise microscópica.....	67
4.8. Análise estatística.....	67
<b>3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
3.1 Obtenção dos dentes de <i>Sus scrofa domesticus</i> .....	68
3.2 Análise termogravimétrica e caracterização da estabilidade térmica.....	71
3.3 Alterações Macroscópicas e Variação Quantitativa de Massa e Dimensões.....	74
3.3.1 Resultados Quantitativos: Perda de Massa e Alterações Dimensionais.....	77
3.3.2 Influência do Tipo de Solo nas Alterações Dimensionais em dentes íntegros.....	80
3.3.3 Influência do Tipo de Solo nas Alterações Dimensionais em dentes queimados.....	85
3.4 Análise Microscópica da Estrutura Dentária por Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE).....	90
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>94</b>
<b>5.REFERÊNCIAS.....</b>	<b>95</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Na ciência forense e na arqueologia, a análise de ossos e dentes desempenha um papel importante na descoberta de narrativas históricas e na facilitação da identificação de determinados indivíduos (Cambra-Moo, 2023). Entre os diversos tecidos, ossos e dentes se destacam por sua resistência à deterioração durante os processos *post-mortem* (Cambra-Moo, 2023; Goude, 2018). Essa durabilidade presente nos materiais ósseos permite a preservação de informações biológicas e genéticas vitais por longos períodos, tornando as principais escolhas para a recuperação de DNA, utilizada em investigações criminais e estudos de processos evolutivos humanos (Kontopoulos et al., 2016).

O dente se apresenta como um dos tecidos mais duráveis da natureza devido à sua composição complexa e à sua organização estrutural hierárquica (Chen, 2008). A hidroxiapatita compõe a maior parte inorgânica da massa dentária ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), um mineral composto por cálcio e fósforo, que fornece rigidez, dureza e resistência ao desgaste (Yousefi, 2014; Farazin, 2024). No entanto, a fração orgânica, predominantemente colágeno tipo I, é importante para a deformação do tecido e sua organização em arranjos estruturais específicos. O colágeno é o principal componente orgânico da dentina e do cemento (tecido mineralizado que reveste a raiz do dente), que mantém a integridade do dente ao interagir com a dentina (Condon, 2022; Sone, 2023). A dentina é considerada como uma estrutura mineralizada composta por uma matriz de colágeno que é, em maior parte, colágeno tipo I. Este colágeno é responsável por 80-90% do conteúdo da fração orgânica (Wiesmann, 2004). A dureza e as propriedades mecânicas do osso e dos dentes provêm de dois mecanismos: alocação de cristais de hidroxiapatita nas porções densafibrilar e alocação inter e/ou extrafibrilar à matriz de colágeno (Yousefi, 2014).

A tafonomia investiga as alterações *post-mortem* que ocorrem em um organismo (Nielsen-Marsh et al., 2007). Dentro desse campo, a diagênese representa a fase mais relevante, englobando transformações físicas, químicas e biológicas no ambiente de deposição após o sepultamento (Millard, 2001; Guareschi, 2025). Vários fatores influenciam nos processos tafonômicos, dentre eles os diferentes tipos de solo (Tumer et al., 2013). As características



físicas, químicas e biológicas do solo variam, e estas regulam a velocidade e padrão de degradação (Tumer et al., 2013). A degradação do colágeno ocorre de três maneiras principais: degradação química, degradação de componentes inorgânicos e, na maioria dos casos, degradação biológica por ação microbiana (Kontopoulos et al., 2016). Diversos parâmetros, como pH e umidade, influenciam tanto a taxa quanto o tipo de degradação, uma vez que podem alterar a atividade microbiana e/ou as reações químicas nos colágenos (Christensen, 2014).

A histotafonomia, que estuda processos tafonômicos em escala microestrutural, é fundamental para identificar a presença e a atividade de microrganismos em ossos e dentes. Fungos geralmente formam túneis ramificados na matriz, enquanto bactérias causam destruição focal microscópica (MFD) por meio da reorganização mineral do tecido. Técnicas histológicas, como a análise de secções finas, são essenciais para observar essas alterações microestruturais *post-mortem* em esqueletos (Kontopoulos et al., 2016).

A degradação diferencial destas duas porções, mineral e orgânica, é um aspecto chave nos estudos tafonômicos. Enquanto a porção mineral, a hidroxiapatita, é mais resistente aos processos de degradação, o colágeno é mais suscetível a alterações químicas e biológicas no ambiente (Quan, 2015; Wiesmann, 2004). O principal vetor dessa degradação é a bioerosão, causada por microrganismos como bactérias e fungos, que afetam diretamente a integridade da matriz de colágeno. Essa atividade microbiana leva à formação de túneis e destruições focais microscópicas (MFD), que comprometem a estrutura do tecido. Por isso, a vulnerabilidade do colágeno o torna um marcador ideal para a avaliação do estado de preservação do dente, uma vez que sua degradação é um dos primeiros e mais evidentes sinais de alteração do tecido em um ambiente de enterramento (Kontopoulos et al., 2016).

Para simular experimentalmente a degradação natural, os tecidos animais têm sido frequentemente utilizados em estudos tafonômicos (Micozzi, 1986; Fagundes et al., 2015). Nesses estudos, um modelo comum é o porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*) devido à sua similaridade anatômica, histológica e dental em comparação com os humanos (Bonney et al., 2011; Matuszewski, 2020). O aparelho dentário, especialmente a dentição molar,

apresenta proporções, espessura do esmalte e morfologia de coroa semelhantes (Sova, 2018). Apesar do modelo ser amplamente utilizado, há uma escassez de investigações abrangentes que analisem as modificações microscópicas e a taxa de degradação do colágeno dentinário de *Sus scrofa domesticus* expostos a períodos controlados de enterro e queima. A realização desse estudo se faz necessária na literatura atual e pode agregar informações relacionadas aos processos de degradação dentária e estimativa do intervalo *post mortem* em diferentes contextos forenses e arqueológicos (Ribéreau-Gayon, 2018).

Analisar dentes queimados possui relevância forense e arqueológica, pois a exposição a altas temperaturas causa alterações significativas na sua estrutura (Haglund & Sorg, 2001). O calor extremo leva à perda do componente orgânico, o colágeno, e a um aumento do tamanho dos cristais de hidroxiapatita, tornando o material mais frágil e suscetível à fragmentação (Waterhouse, 2013). Essa degradação térmica, portanto, representa uma via tafonômica distinta que altera a composição do dente de maneira irreversível, contrastando com os processos de degradação em ambiente de enterramento.

Os experimentos termogravimétricos são procedimentos do laboratório de materiais que avaliam as alterações físico-químicas de uma amostra pela perda/pseudoperda de massa em função da temperatura, principalmente em altas temperaturas. A termogravimetria é uma técnica em que esse procedimento é feito em atmosfera controlada (mesmo vácuo ou mesmo gás). Esta técnica tem sido muito utilizada nas análises de biomateriais (LIN et al., 2013). Na pesquisa forense, a TGA se tornou um recurso confiável para examinar dentes e ossos, por meio da caracterização de pico de decomposição térmica e perda de massa em diferentes condições. Esta técnica tem sido ideal na análise para estimar idade óssea, na identificação de alterações térmicas em tecidos cremados (Raja et al., 2009; Lozano-Peral et al., 2019) e na quantificação das transformações químicas que ocorrem em tecidos submetidos a períodos de enterramento (Menon et al., 2011). No entanto, não existem estudos suficientes na literatura sobre o uso de TGA feitos com dentes de porcos no campo arqueológico e forense buscando relacionar a degradação do colágeno.

É conhecido que as propriedades físico-químicas dos diversos tipos de solo têm um papel importante no processo de decomposição de materiais orgânicos (Lessa, 2017). A depender de fatores como pH, porosidade e umidade, diversos microrganismos podem habitar diferentes tipos de solo. Essa interação tem um impacto direto nos processos de decomposição e degradação. Assim, os estudos nessa área ainda são limitados, criando oportunidades para pesquisas inovadoras que busquem analisar as alterações macroscópicas e microscópicas de dentes submetidos à queima e sepultados de *Sus scrofa domesticus* para analisar a bioerosão e a degradação do colágeno nesse tecido. Portanto o objetivo do estudo é analisar as alterações de dentes queimados e enterrados de *Sus scrofa domesticus* para avaliar a degradação do colágeno e bioerosão neste tecido no período de 30 dias.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Analisar as alterações de dentes queimados e enterrados de *Sus scrofa domesticus* para avaliar a degradação do colágeno e bioerosão neste tecido no período de 30 dias.

### 2.2 ESPECÍFICOS

1. Obtenção dos dentes Pré-Molares 2, 3 e 4 e Molar 1 da mandíbula de *Sus Scrofa domesticus*;
2. Aplicar técnica de Termogravimetria (TG) para estabelecer a temperatura de queima dos dentes;
3. Comparar alterações tafonômicas macroscópicas dos dentes pré-queima e pós-queima;
4. Analisar possíveis evidências de bioerosão e tunelamento bacteriano e fúngico após desenterramento através da coloração Hematoxilina e eosina (HE);

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 DENTES : IMPORTÂNCIA FORENSE E ESTRUTURAL

Os dentes possuem em sua composição elementos que conferem dureza e rigidez, são materiais essenciais para a identificação humana em contextos forenses e arqueológicos. Entretanto sua microestrutura é suscetível a alterações histológicas *post-mortem*, decorrentes de processos diagenéticos (Collins et al., 2007). No contexto arqueológico forense, a análise das microestruturas é de suma importância devido a sua robustez estrutural que permite a preservação de informações biológicas cruciais, mesmo após longos períodos de enterramento ou exposição a condições extremas. Dessa forma a preservação de tecidos dentários faz com que o dente seja uma fonte primária de material para a reconstrução de contextos *post-mortem* quando outros tecidos moles já estão degradados (Higgins; Austin, 2013; Shah et al., 2018; Nayyer; Jaiswal, 2022).

A odontologia forense é um campo crucial da ciência forense. A relevância desta área é evidenciada pela sua capacidade de fornecer informações essenciais para a identificação humana, sobretudo em situações nas quais outros métodos se mostram inviáveis (Vlasiadis ; Koutsamani, 2022; Emam, 2023). A utilização dessa área para investigação forense é relatada desde a antiguidade, com aplicações que datam do reino da Mesopotâmia (Código de Hamurábi, antes de 1729 a.C.) (Kaić, 1997). No entanto, o seu desenvolvimento como disciplina científica e a sua integração formal nos sistemas legais modernos começaram a se consolidar significativamente pela primeira vez pelo Dr. Oscar Amoedo, considerado o pai da Odontologia Forense, que utilizando as características bucodentais, realizou a identificação de várias vítimas do incêndio da Ópera de Paris, França, no ano de 1897 (Patidar et al., 2010). Desde então, a Odontologia Forense tornou-se uma especialidade, definindo padrões confiáveis para identificar corpos através do uso dos dentes.

A análise histológica dos dentes é essencial na ciência forense, principalmente em cenários que envolvem restos humanos carbonizados ou sepultados, onde outros métodos de identificação podem ser inviáveis. O dente é composto por esmalte, dentina e cemento sendo a hidroxiapatita e o colágeno tipo

l seus principais constituintes inorgânico e orgânico, respectivamente. (Guareschi et al., 2024) A junção desses elementos confere rigidez e dureza ao dente. Contudo, a degradação desses componentes, em especial a matriz orgânica rica em colágeno tipo I, é sensível a diversos fatores ambientais, como temperatura, umidade, pH e atividade microbiana do solo. Dessa forma, a avaliação da degradação do colágeno tipo I, oferece informações importantes sobre o intervalo *post-mortem* e as condições ambientais a que o corpo foi submetido, como queima e enterramento (Mazzotti et al., 2020).

O processo de queima influencia diretamente no grau de degradação das microestruturas dentárias. A carbonização da dentina, por exemplo, resulta em alterações estruturais e de cor que podem ser quantificadas tanto pela microscopia quanto por métodos complementares (Peer; Sarig, 2023). Nesse contexto, a análise colorimétrica é de suma importância, permitindo avaliar as mudanças de cores induzidas pelo calor para estimar as temperaturas a que os dentes foram submetidos. As alterações de cor progridem de tons amarelados/castanhos para preto e, subsequentemente, branco ou cinzento, dependendo da temperatura e do tempo de exposição, servindo como um importante parâmetro na identificação forense (Nuzzolese et al., 2021).

No contexto de enterramento a análise histológica é igualmente importante, dada a composição dentária que confere resistência a vários processos de degradação. Contudo, o ambiente do solo afeta a preservação desses tecidos dentários devido à ação de fatores como a umidade, pH e a atividade microbiana (Mello et al., 2017). Um dos principais mecanismos dessa degradação é causado por microrganismos presentes no solo, como bactérias e fungos. Esses são capazes de secretar enzimas que aceleram a quebra das fibras de colágeno, alterando a estrutura e composição dos tecidos dentários (Guareschi et al., 2024).

Além de fornecer dados cruciais sobre o intervalo *post-mortem* e as condições ambientais, a análise dentária é fundamental para a estimativa do perfil biológico dos indivíduos. A utilização dos dentes para esse fim tem sido consolidada há mais de dois séculos. A descrição das características morfométricas e morfológicas dos elementos dentários, por exemplo, possibilita a estimativa da idade e da diagnose do sexo, mesmo a partir de restos biológicos altamente

degradados. Para tal, diversas abordagens são empregadas, como a observação da odontogênese, a remodelação histológica e a avaliação de alterações ligadas ao uso, como o desgaste dentário e as mudanças na microestrutura da Dentina e do Cimento (Marinho et al., 2006). Para diagnose do sexo, métodos não destrutivos como a tomografia computadorizada de feixe cônico são cada vez mais utilizadas.

### **3.1.1 Composição E Microestrutura Dentária**

O dente é composto por vários tecidos, cada um com uma composição específica que contribui para a sua funcionalidade geral. A junção das macro e microestruturas dentárias conferem as durabilidades necessárias (Chen et al., 2008). Contudo, o maior responsável por essa característica é a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), um mineral de fosfato de cálcio que confere rigidez e dureza aos dentes. Em contrapartida, a porção orgânica desempenha um papel crucial na flexibilidade e na integridade estrutural do tecido dentário, especialmente na dentina e no cimento, tendo como principal componente o colágeno tipo I (Condon, 2022).

Macroscopicamente, o dente é dividido em coroa e raiz. A coroa, porção visível acima da linha da gengiva, é composta principalmente pelo esmalte, um tecido duro e mineralizado. A raiz, por sua vez, está imersa no osso alveolar e sua superfície é revestida por cimento, um tecido mineralizado cuja sua principal função é ancorar o dente ao osso alveolar (Goldberg et al., 2011). A dentina constitui a maior parte da estrutura dentária, localizada sob o esmalte na coroa e sob o cimento na raiz. Macroscopicamente, a dentina é caracterizada pela sua cor amarelada e por ser mais macia que o esmalte, e mais dura que o osso. Já em sua estrutura microscópica, a dentina é um tecido calcificado atravessado por milhares de túbulos dentinários que se estendem da polpa até a junção amelodentinária (JAD) ou cementodentinária (JCD) (Passos et al., 2017; Goldberg et al., 2011).

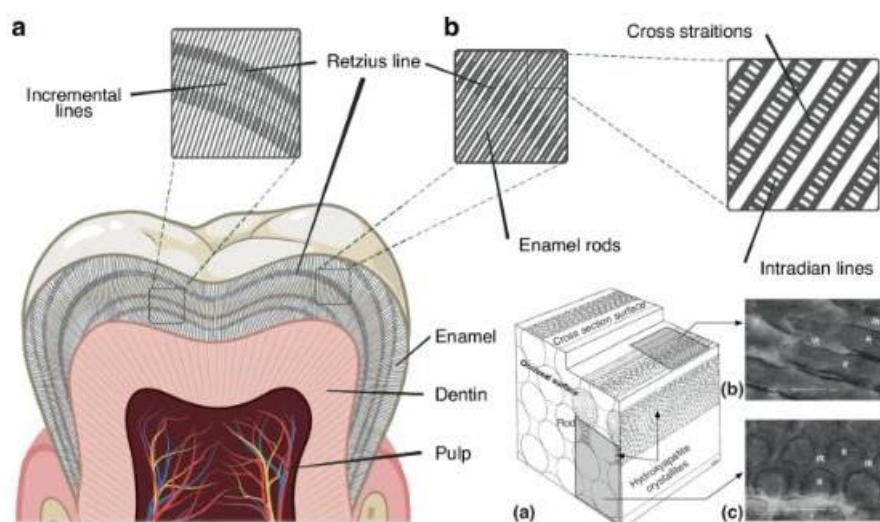
#### **ESMALTE**

O esmalte compõe a camada mais externa que reveste a coroa, com uma espessura que varia entre 2,0 a 3,0 mm. É um material acelular formado por uma matriz calcificada e altamente organizada sendo derivado do epitélio e produzido por células denominadas ameloblastos, células as quais participam do processo

de biomineralização mediado pela matriz, conhecido como amelogênese. A primeira etapa deste processo é a produção da matriz e ocorre após a formação da dentina com a deposição da matriz orgânica do esmalte na superfície da dentina recém-formada. Esta matriz proteica orgânica é proveniente da atividade do Retículo Endoplasmático Rugoso (RER), do Complexo de Golgi e de grânulos secretores. Os ameloblastos permanecem neste estágio secretor até a formação total do futuro esmalte. A maturação da matriz ocorre em seguida com a remoção do material orgânico, acompanhada do influxo contínuo de fosfato e cálcio no esmalte em amadurecimento. Os ameloblastos em estágio de maturação se diferenciam dos ameloblastos secretores e passam a atuar como um mecanismo de transporte, movimentando componentes para dentro e para fora do esmalte em mineralização (Ross; Pawlina, 2011).

hidroxiapatita, é a responsável pela rigidez e dureza. Sua função primária é proteger as partes internas do dente do desgaste mecânico e de ataques químicos, como os ácidos (Liu, 2023; Davies, 2024). Estruturalmente o colágeno tipo I não faz parte da composição, sendo composto por cristais não estequiométricos de carbonato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita altamente organizados em prismas, o que explica sua dureza e resistência (Müller et al., 1998). Cada prisma estende-se ao longo da estrutura, desde a junção dentina-esmalte (JDE) até a superfície externa do esmalte, apresentando uma conformação característica de “buraco de fechadura” (Ross; Pawlina, 2011.; Gaeta, 2021).

**Figura 1 :** Estrutura do Dente e Detalhe da Microestrutura do Esmalte.





Fonte: Adaptado de WU (2024).

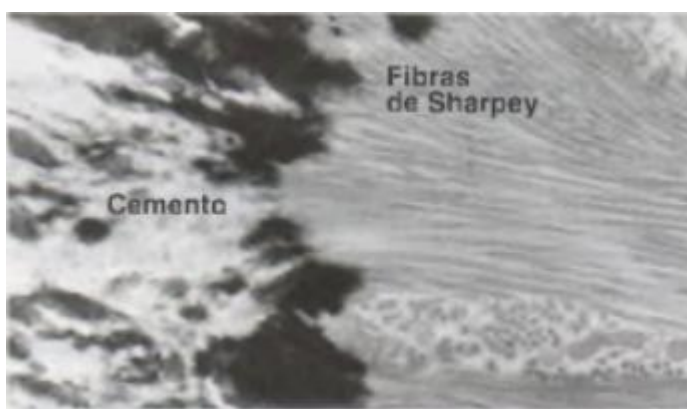
(a) Esmalte mostrando Linhas de Retzius e Linhas Incrementais; (b) Detalhe dos Bastões de Esmalte e Estrias Cruzadas; (c) Representação tridimensional da organização dos cristais de hidroxiapatita.

Microscopicamente o esmalte apresenta microestruturas, como as linhas transversais e as Linhas de Retzius, que evidenciam processos de crescimento e mineralização. Contudo, devido à sua natureza rígida, a exposição a condições de alta temperatura pode induzir o surgimento de rachaduras, servindo como um importante indicador de exposição térmica em contextos forenses.

### **CEMENTO**

O cimento é um tecido mineralizado que recobre a raiz do dente, sendo produzidos pelos cementócitos. Sua composição é de 40-50% de material inorgânico (sendo o principal componente a hidroxiapatita) e 50- 55% de matéria orgânica e água. A matriz orgânica é composta majoritariamente por colágeno tipo I, juntamente com outras proteínas não colágenas. A estrutura do cimento permite a capacidade de desempenhar funções vitais como: a ancoragem da raiz no osso alveolar através do ligamento periodontal, o reparo e regeneração da superfície radicular, e a compensação da reabsorção radicular (Couoh et al., 2024). Essa ancoragem, realizada pelas Fibras de Sharpey, é detalhada na Figura 2.

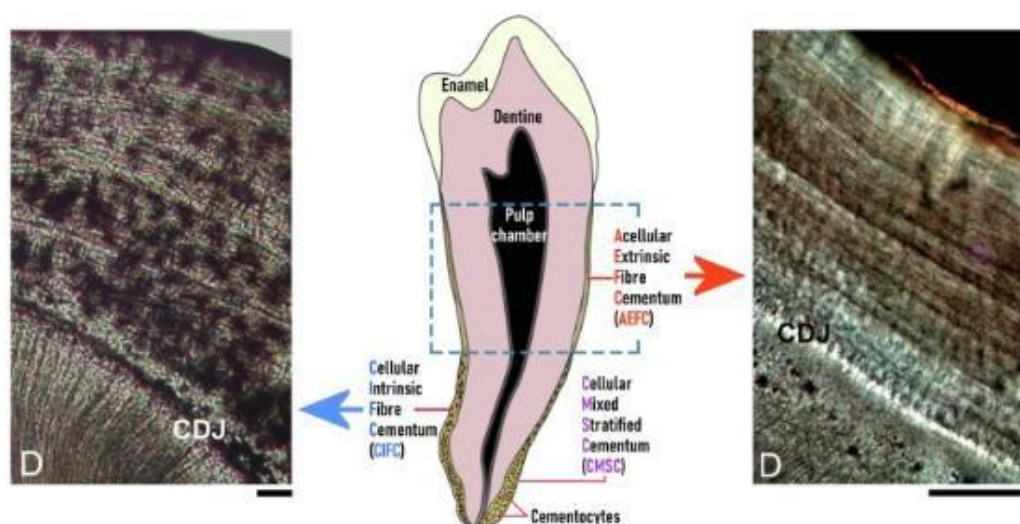
**Figura 2.** Eletromicrografia das Fibras de Sharpey



Fonte: Ross e Pawlina, 2011

Contudo, a depender da composição, o cemento é classificado em dois tipos principais: cemento acelular de fibras extrínsecas (CAFE) e cemento celular de fibras intrínsecas (CCFI), conforme visualizado na Figura 3. O tipo CAFE é encontrado na porção cervical dos dentes e é composto principalmente por fibras de colágeno de Sharpey, que são as extremidades inseridas das fibras do ligamento periodontal. Possui como características a síntese que ocorre de forma lenta e sem a presença de células dentro da matriz mineralizada (Couoh et al., 2024). O CCFI é encontrado na parte apical da raiz do dente e contém cementócitos, que são células semelhantes aos osteócitos encontradas no osso. Diferentemente do CAFE, esse tipo de cemento se forma mais rapidamente e possui uma matriz fibrilar menos organizada (Yamamoto, 2016).

**Figura 3.** Classificação e Localização Histológica dos Tipos de Cemento.



Fonte: Adaptado de Wu et al. (2024)

AEFC - Cemento Acelular Extrínseco de Fibras; CIFC - Cemento Celular Intrínseco de Fibras; CMSC - Cemento Misto Estratificado Celular; CDJ - Junção Cimento-Dentina

## DENTINA

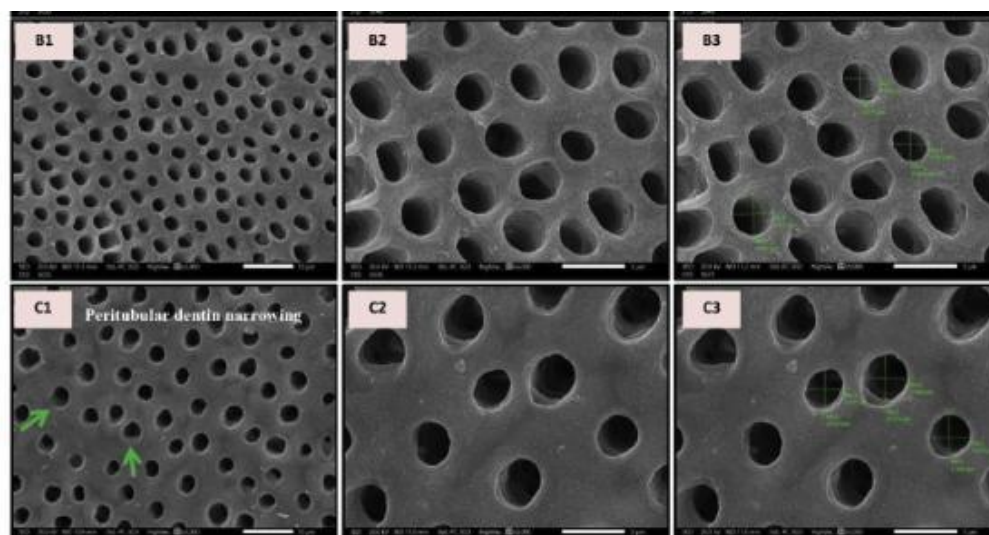
A dentina constitui a maior parte da estrutura dentária, e têm como função estabelecer um suporte ao esmalte e proteger a polpa de estímulos nocivos. Sua composição envolve constituintes orgânicos, composto principalmente pelo colágeno tipo I e inorgânicos que consistem em cristais de hidroxiapatita (Souza et al., 2022). Em uma visão macroscópica, a dentina forma o corpo principal do dente e circunda a câmara pulpar, a qual contém os vasos sanguíneos, nervos e tecido

conjuntivo. A junção amelodentinária (JAD) formada pela junção da dentina e do esmalte, é caracterizada por conferir resistência estrutural do dente (Goldberg et al., 2011).

Existem três principais classificações da dentina, que se baseiam no momento da sua formação: a dentina primária é formada durante o desenvolvimento do dente, antes do fechamento apical; a dentina secundária é formada após o fechamento apical e continua a ser depositada ao longo da vida; por fim, a dentina terciária, conhecida como reacional, é formada em respostas a estímulos como cáries, trauma ou desgastes (Goldberg et al., 2011). Em uma perspectiva microscópica, a dentina é caracterizada por possuir túbulos dentinários, que se estendem da polpa até a junção amelodentinária. Essa estrutura tubular é importante devido a função sensorial do dente e para a resposta a estímulos (Liu et al., 2023). Outra classificação é atribuída à dentina com base na sua relação com os túbulos: a dentina intertubular, localizada entre os túbulos dentinários e composta por colágeno tipo I e hidroxiapatita, e a dentina peritubular, que difere por ser altamente mineralizada, sem a presença de colágeno e circundam os túbulos dentinários (Bertassoni et al., 2011).

As microestruturas da dentina podem ser afetadas por diversas condições, sejam elas patológicas ou relacionadas a processos tafonômicos. Essas variações morfológicas nos túbulos, como o estreitamento peritubular e a oclusão, são visualizadas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), como ilustrados na figura 4

**Figura 4.** Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) de Túbulos Dentinários: Comparação entre Condição de Controle e Estreitamento Peritubular.



Fonte: Adaptado de Hegazy et al. (2023). O painel B apresenta túbulos dentinários em condição de controle (túbulos abertos). O painel C ilustra o Estreitamento da Dentina Peritubular (*Peritubular dentin narrowing*), evidenciando a redução do lúmen tubular em resposta a estímulos.

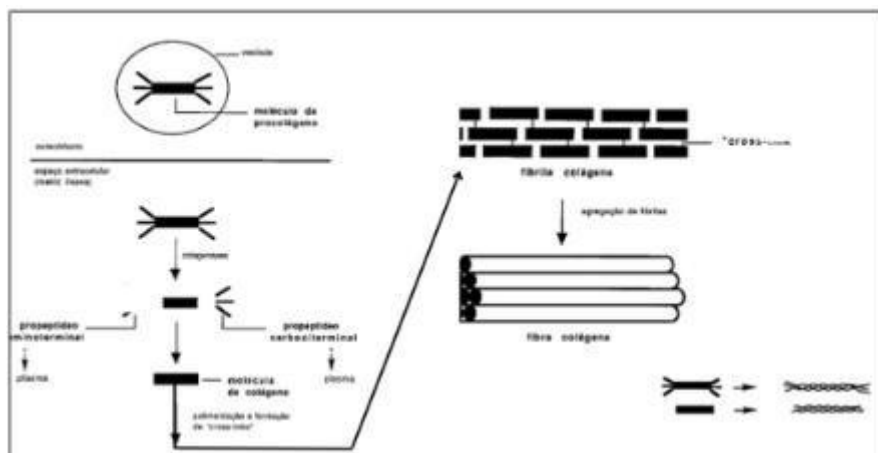
No contexto forense a análise das microestruturas da dentina é utilizada para a diferenciar de dentinas de animais. O diâmetro dos túbulos dentinários, espessura das dentinas peritubular e intertubular são parâmetros usados nessa comparação (Bertassoni et al., 2011). A análise da espessura da dentina residual é crucial para determinar a integridade estrutural dos dentes (Bertassoni et al., 2011).

### **COLÁGENO TIPO I**

O colágeno é uma proteína fibrosa encontrada em grande quantidade na matriz extracelular. É uma família de proteínas relacionadas, geneticamente diversa e são classificados em 18 tipos, tendo suas subunidades (cadeia alfa) codificadas por diferentes genes. A dentina e outras estruturas dentárias tem como principal composição o colágeno do tipo I, que além de ter uma quantidade majoritária na composição estrutural do dente, está presente na pele, tendão e outros tipos de ossos (Vargas et al. 2000).

A síntese dessa proteína é promovida principalmente através dos odontoblastos que secretam o pró colágeno tipo I, após a secreção essa molécula é clivada por meio de enzimas extracelulares chamadas collagenases e são liberados na corrente sanguínea. Esse processo de quebra forma as moléculas de fibrilas colágenas, que por sua vez se agregam e constituem as fibras colágenas (figura 5). Em uma perspectiva microscópica a molécula de colágeno é caracterizada como um bastão pequeno e rígido, formado por três cadeias polipeptídicas que se entrelaçam formando uma tripla hélice. Essa estrutura é responsável pela rigidez, solidez e estabilidade do colágeno (Vargas et al. 2000)..

**Figura 5.**Síntese e Formação da Fibrila de Colágeno



Fonte: Adaptado de Vargas et al., (2000). O esquema ilustra a síntese do colágeno tipo I, iniciando com a produção do pró-colágeno no interior do odontoblasto (ou fibroblasto), sua secreção, clivagem em tropocolágeno e, por fim, a auto-organização extracelular em fibrilas maduras, que compõem a matriz orgânica da dentina.

Relacionado a dentina, a principal função do colágeno tipo I é manter a flexibilidade e a integridade. A estrutura organizacional do dente demonstra a sua importância, com a organização na dentina intertubular e peritubular contribuindo diretamente para a resistência do tecido. Microscopicamente, as fibrilas de colágeno intertubular, que constituem a matriz, são organizadas, mineralizadas e menores do que as fibras de colágeno encontradas nos túbulos dentinários (Sone; McCulloch, 2023). A disposição dessas fibras altera de acordo com a idade: dentinas jovens têm a maioria das fibras alinhadas com os eixos fibrilares dominantes, apresentando menor agrupamento colagênico, enquanto na dentina envelhecida observa-se um menor número de fibrilas alinhadas e maior agrupamento (Henriksen; Karsdal, 2019).

No contexto forense a avaliação do colágeno é de suma importância devido à sua resistência à degradação e à capacidade de fornecer informações cruciais sobre idade, dieta e origem (Henriksen; Karsdal, 2019). A análise da degradação do colágeno pode ser utilizada para estimar o tempo decorrido desde a morte, avaliar as condições de preservação dos restos e identificar possíveis traumas. Diferentes processos são responsáveis pela divergência de degradação. Em um cenário de enterramento, a ação enzimática de microrganismos presentes no solo,

como bactérias, leva à quebra das ligações do colágeno e, consequentemente a bioerosão que tem como uma das consequências a formação de túneis na dentina (Gursoy et al., 2013). Da mesma forma, a desmineralização em solos ácidos expõe a rede de colágeno, tornando-a suscetível à hidrólise e a ataques microbianos. Em contraste, ambientes secos, frios e alcalinos inibem a atividade microbiana e enzimática, favorecendo a preservação do colágeno por longos períodos. Em um cenário de queima, as altas temperaturas causam contração e desnaturação da tripla hélice de colágeno, levando a microfissuras e alterações morfológicas (Hu et al., 2018). Apesar da destruição completa do colágeno em altas temperaturas, a estrutura dental protege a polpa de degradação imediata, tornando o DNA da polpa uma fonte vital de identificação em vítimas carbonizadas (Gursoy et al., 2013).

### **3.1.2 Alterações Sofridas Pelo Dente Após Exposição Ao Calor**

As alterações morfológicas e histológicas sofridas pelos dentes após a exposição a altas temperaturas são de grande importância na odontologia forense. Apesar da estrutura dentária conferir resistência dos dentes ao calor, em determinadas temperaturas algumas características surgem, como : mudanças de cor, estrutura tecidual e morfológicas. Dessa forma, ao analisar determinados tipos de características no dente, pode se estabelecer uma previsibilidade se essa estrutura foi submetida a queima ( Albuquerque Neto et al., 2015).

A exposição de dentes a altas temperaturas induz uma série de alterações morfológicas. Em uma análise macroscópica uma das alterações mais relevantes é a mudança de cor, que varia de esbranquiçado a tons de cinza ou preto, sendo relacionada proporcionalmente com a temperatura e a duração da exposição (Beach; Passalacqua; Chapman, 2015). A alteração colorimétrica é guiada pelo aumento da temperatura: a cor preta e marrom é devido à carbonização da matéria orgânica, e a cor acinzentada ou azulada está relacionada ao processo de calcinação. Além dessa mudança de cor, outras características estão relacionadas, como: rachaduras e fraturas na superfície do esmalte. Estas alterações estruturais ocorrem devido à desidratação e à expansão diferencial dos tecidos dentários (Sharma, 2020). Em temperaturas muito elevadas ocorre uma redução do

tamanho do dente, devido à perda de material orgânico e à calcinação. O dente se torna quebradiço por conta da mudança da textura.

Um estudo conduzido por Shamma e colaboradores no ano de 2020 visou verificar a integridade estrutural do dente pós o processo de queima. O estudo utilizou dentes humanos (pré molares) divididos em um grupo controle (não restaurados) e grupos restaurados com diferentes materiais. Os espécimes foram submetidos a ciclos de temperaturas controladas em um forno cerâmico, nas seguintes faixas: 200°C, 400°C, 600°C, 800°C, 1000°C e 1200°C. Após cada ciclo, as amostras foram removidas e analisadas macroscopicamente e por estereomicroscopia. Os resultados demonstraram que as alterações morfológicas e dimensionais da estrutura dentária são diretamente proporcionais à elevação da temperatura.

Os dentes que foram submetidos à faixa de 200°C apresentaram alterações na sua coloração, resultando em uma cor claro-amarelado, indicando o início das modificações estruturais. A partir de 400°C foram observados a cor marrom ou preta, e, além das alterações colorimétricas a integridade foi afetada, apresentando fissuras e rachaduras na superfície da raiz. Além disso, a fragmentação da coroa começou a ser vista na maioria dos dentes. Elevando a temperatura para 600°C, a fragmentação da coroa foi evidente, porém a raiz permaneceu intacta com uma coloração marrom escuras e manchas pretas. Os elementos restaurados como o amálgama e a resina composta também apresentaram alteração na sua coloração. Ao atingir 800°C, a cor da coroa e da raiz do dente não restaurados tornou-se cinza-azulada, e em relação aos dentes restaurados o amálgama permaneceu estruturalmente estável. Por fim, a resistência foi observada em seu limite superior, onde o amálgama foi o único material restaurado capaz de ser identificado em até 1200°C, enquanto os demais materiais restauradores foram degradados ou obtiveram descoloração total. Tais alterações progressivas são essenciais para estimar a faixa de temperatura e o intervalo de tempo *post-mortem*, auxiliando no processo de identificação odontológica.

Em uma perspectiva microscópica é possível obter informações mais detalhadas sobre o efeito do calor nos tecidos dentários. O calor causa

desorganização na matriz mineral do esmalte e dentina. A orientação normal da hidroxiapatita é alterada, resultando em uma estrutura menos organizada (Peer ; Sarig, 2024) O colágeno e a dentina são perdidos. Esta perda de material orgânico favorece a fragilidade dos dentes queimados , o que leva a rachaduras e fissuras. A dentina pode apresentar alterações como a formação de microfissuras e a obliteração dos túbulos dentinários (Peer ; Sarig, 2024). O nível desse tipo de alteração pode indicar a intensidade da exposição ao calor.

Pol e Gosavi em 2014 conduziram um estudo para avaliar como diferentes tecidos dentais reagiram a altas temperaturas. Com uma temperatura já estabelecida as amostras foram aquecidas e deixadas por 15 minutos dentro do forno, em seguida foram expostas à temperatura ambiente. As amostras foram analisadas microscópicamente e observaram pequenas rachaduras no esmalte e no cemento a uma temperatura de 200°C, contudo a dentina permaneceu inalterada. Ao submeter a uma temperatura de 400°C , a junção amelocementária (JAC) apresentou rachaduras e, na dentina, essa alteração foi observada de modo menos intenso. Quando exposto à temperatura de 600°C, o esmalte teve rachaduras em toda sua extensão. De forma semelhante, o cemento intensificou as rachaduras, com exposição da dentina subjacente. A dentina por sua vez intensificou as alterações estruturais nessa faixa de temperatura, e teve como consequência a redução do diâmetro dos túbulos dentinários. Em 800°C, o cemento demonstrou uma alteração na sua forma, tendo um aspecto de “favo de mel” e o esmalte fundiu algumas zonas, por sua vez a dentina apresentou debris cobrindo os túbulos dentinários. Por fim, ao atingir a temperatura máxima de 1000°C, houve perda da massa do esmalte, a dentina teve uma redução no tamanho e zonas fundidas e o cemento tornou-se indetectável.

Dessa forma, a análise integrada da estrutura macroscópica e microscópica dos dentes submetidos à queima constitui uma ferramenta indispensável na identificação forense. A comparação das características dentárias pré e pós-queima é fundamental no contexto forense, não apenas confirmando a exposição ao calor, mas também fornecendo informações cruciais sobre as condições às quais o indivíduo foi submetido, como a duração e a intensidade da temperatura



## 3.2 TAFONOMIA E PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO

### 3.2.1 Conceitos De Tafonomia

De modo geral a tafonomia é um campo científico que visa investigar os eventos que ocorrem com os restos de organismos *post mortem*, desde a decomposição inicial até a sua preservação final (Roberts; Dabbs, 2015). Contudo, o conceito e o foco dessa disciplina variam conforme a área de aplicação. Na arqueologia, por exemplo, Renfrew e Bahn em 1991 descreveram a tafonomia como “o acesso ao que aconteceu a um objeto ou organismo entre a sua deposição e a sua recuperação”. Já na paleobiologia os pesquisadores Behrensmeyer e Kidwell (1995) afirmaram que é o estudo do processo, preservação e como eles afetam a informação. Por fim, no campo forense, a definição de tafonomia é dada por Haglund e Sorg (1997), caracterizada pela capacidade de reconstruir as circunstâncias antes e depois da decomposição, e discriminar os produtos do comportamento humano daqueles criados pela biologia terrestre, física e química (Schotsmans; Márquez-Grant; Forbes, 2017). Essa abordagem específica no contexto legal permite diferenciar agentes naturais de ações criminosas que afetam os restos humanos.

Historicamente, a tafonomia está diretamente associada ao pesquisador russo Ivan Efremov, que dedicou anos de pesquisa a análises de fósseis, onde realizou interpretações tafonômicas na intersecção entre biologia e geologia. Em 1940 Efremov defendeu que a tafonomia era o estudo da transição dos restos mortais da biosfera para a litosfera, sendo o marco inicial da aplicação em diversas áreas afins, como antropologia, arqueologia, geologia e biologia. Apesar dessa disciplina estar conceitualmente relacionada ao pesquisador russo a sua aplicação no contexto forense se consolidou a partir de estudos no campo da antropologia forense. Rodriguez e Bass (1985) utilizou técnicas antropológicas em sua pesquisa, visando a recuperação de restos humanos em cenas de homicídios, dessa forma estabelecendo um precedente crucial no ramo forense. Contudo, a efetividade da necessidade da tafonomia em um contexto forense foi dada por Haglund et al. (1988,1989). Estes autores mostraram relevância na análise de artefatos de marcas dentárias e a preservação de ossos em esqueletos humanos

danificados por animais, assim destacando a importância de distinguir traumas *ante-mortem* de modificações *post-mortem*. A partir desse cenário a ciência forense passou a ser associada a tafonomia, incorporando métodos de áreas como arqueologia e paleontologia.

Com a crescente aplicação no contexto legal, o campo da tafonomia forense necessitou de organização para interpretar os diferentes fatores que interferem no corpo humano *post-mortem*. A formalização e categorização das influências bióticas e abióticas foi estabelecida por Nawrocki em 1995, que afirmou ser a tafonomia forense indispensável para a reconstrução da história de cadáveres humanos. O autor classificou o campo em: biotafonomia e geotafonomia. A biotafonomia está associada a variáveis bióticas e abióticas que influenciam a decomposição, incluindo fatores como ação de vertebrados, invertebrados e a própria decomposição dos tecidos moles. Já a geotafonomia, por sua vez, investiga como a decomposição de um corpo afeta ou modifica o solo e o meio circundante. Tal classificação é essencial na odontologia forense, pois permite analisar a influência do meio circundante e do solo nos tecidos mineralizados.

Em suma, a tafonomia forense, evoluída do conceito paleontológico de Efremov (1940) sobre a transição da biosfera para a litosfera, estabeleceu-se como uma disciplina crucial e multidisciplinar nas ciências forenses. Seu principal objetivo, conforme definido por Haglund e Sorg (1997), é reconstruir as circunstâncias *post-mortem* e discriminar as modificações resultantes do comportamento humano daquelas causadas pelas forças biológicas, físicas e químicas da Terra. A relevância desse campo reside na capacidade de mapear todos os eventos tafonômicos que afetam os restos humanos. Para aprofundar essa análise, o campo é dividido em estágios temporais e processuais. A bioestratinomia, é o primeiro estágio, tratando dos eventos ocorridos entre a morte e o sepultamento, cujos processos iniciais incluem a ação de decompositores e agentes de bioerosão nos tecidos orgânicos e mineralizados.

O intervalo *post mortem* é definido como o tempo decorrido entre a morte de um indivíduo e a descoberta e análise de seus restos (Ikpa et al., 2022), considerada uma das principais aplicações na tafonomia forense, a precisão na

estimativa é essencial, pois fornece de modo efetivo a hora próxima a morte, que no contexto forense é essencial para a construção da narrativa de um crime. Contudo o IPM apresenta uma série de desafio quando relacionado a estimativa precisa, nesse contexto a precisão demandada é de dias ou semanas, ao passo que modelos tafonômicos tradicionais podem ter uma janela de tempo de séculos, por conta disso vários métodos são empregados a fim de atingir esse objetivo, incluindo análise de microrganismo, como fungos, associados à decomposição (Beaulieu et al., 2025), e a investigação da interação do cadáver com o ambiente após a deposição, que tem sido realizada através da aplicação de geociências (Beaulieu et al., 2025).

### **3.2.2 O Processo Tafonômico: Bioestratinomia E Diagênese**

A tafonomia estuda a transição de restos orgânicos da biosfera para a litosfera, englobando todos os processos que modificam os vestígios, desde a morte de um organismo à sua descoberta. Tais alterações são divididas em: bioestratinomia e diagênese (Garcia et al., 2020).

A bioestratinomia é a fase que ocorre desde a morte do organismo até seu soterramento inicial. De acordo com o pesquisador russo Efremov (1940) a bioestratinomia abrange todos os eventos que ocorrem com os restos de um organismo desde a morte até o soterramento inicial, representa um estágio essencial da tafonomia. Esta fase analisa como os restos são dispersos, fragmentados e alterados no ambiente antes da deposição. Essas alterações antes do sepultamento podem ocorrer por vários fatores, dentre eles: temperatura, umidade, elementos climáticos e traumas mecânicos como pisoteamento que podem levar ao desgaste desse material (Fernández-Jalvo et al., 2010). Contudo, fatores antropogênicos, como queimar, cozinhar e ações de mordedura influenciam na preservação do material. No contexto forense, a bioestratinomia coincide com o intervalo *post-mortem* (IPM) de curto e médio prazo, tendo uma relevância pois está relacionado com as principais modificações do material , sendo capazes de confundir a interpretação precisa da causa e das circunstâncias da morte.

Os processos bioestratinômicos são categorizados em bióticos e abióticos,

conforme estabelecido pela biotafonomia (Nawrocki, 1996). Os agentes bióticos atuam na fase inicial de alteração, a principal alteração ocorre devido a ação de microrganismo e invertebrados, que iniciam a decomposição de tecidos moles, culminando na progressiva desarticulação do esqueleto (Bertoni-Machado, 2009). Outros achados estão relacionados com a ação de vertebrados necrófagos, que causa dispersão e introduz marcas dentárias nos ossos (Haglund et al., 1988, 1989), a análise da atividade de insetos também é de suma importância, pois a partir da verificação de tipos de insetos, e larvas em um material, pode-se estimar o IPM e identificar possíveis realocações.

Em contrapartida, os agentes abióticos introduzem modificações de natureza físico-química, através do intemperismo. Este processo é influenciado pela exposição a fatores ambientais, como a umidade, temperatura, vento e sol (Behrensmeyer, 1978; Fernández-Jalvo et al., 2010), resultando na separação dos constituintes ósseos e dentários (Bertoni-Machado, 2009). O grau de intemperismo, correlacionado ao grau de desarticulação, é um indicador crucial para a estimativa do IPM (Bertoni-Machado, 2009). A ação primária, seja ela biótica ou abiótica, durante o processo da bioestratinomia é essencial, pois prepara o terreno para a degradação subsequente dos tecidos duros, iniciando o processo de bioerosão. Em suma, esse campo da tafonomia não se limita a identificação de um indivíduo, mas a reconstrução dos eventos que afetaram os restos humanos após a morte, definindo o estado de preservação antes do soterramento final.

Com o sepultamento, inicia-se a segunda fase do processo tafonômico. A diagênese é definida como o conjunto de alterações microscópicas de ordem físico-químicas e biológicas, provocadas pela interação com águas subterrâneas, sais minerais e atividades bioquímicas no solo (Goffer, 2007; Silva, 2014). Os processos diagenéticos influenciam a preservação e a alteração de materiais orgânicos e inorgânicos, tais processos incluem a substituição mineral, recristalização, cimentação e alterações no espaço poroso, dessa forma afetando a composição estrutural e química dos restos mortais. De acordo com Haglund e Sorg (1997, 2002) as alterações diagenéticas que ocorrem em vestígios humanos, como ossos ou dentes é o terceiro passo de uma análise de processos que

afetam os seres vivos desde os eventos que ocasionaram a sua morte. Os processos diagenéticos promovem alterações que determinam a preservação estrutural e química dos restos mortais. O grau dessas mudanças é o resultado da interação entre a composição do material esquelético e as condições ambientais prevalentes. Os ossos e dentes são compostos por materiais inorgânicos e orgânicos, sendo a hidroxiapatita e o colágeno os principais constituintes respectivamente.

Os processos diagenéticos são diversos e atuam simultaneamente, podendo ser dividido em mecanismos químicos e mineralógicos, além de alterações físicas e sedimentares. No contexto químico-mineralógico a dissolução, recristalização e substituição entram como os principais fatores que influenciam na alteração (Santos; Sullasi; Silva, 2021). A dissolução é impulsionada pela acidez do ambiente, onde os íons  $H^+$  quebram os fosfatos de cálcio dos ossos. Em contrapartida, o material inorgânico é mais estável em solos alcalinos (Collins et al., 2007). A recristalização ocorre devido a instabilidade da hidroxiapatita, na qual elementos como flúor e carbonato são incorporados à estrutura molecular, o que altera a composição original (Santos; Sullasi; Silva, 2021). Em paralelo, a substituição é a troca de minerais pré-existentes por novos, formados in situ. Estes mecanismos alteram profundamente a estrutura óssea, por exemplo, solos ácidos promovem a dissolução e lixiviação do mineral ósseo, enquanto solos alcalinos, embora protejam o mineral, aceleram a degradação do colágeno (Collins et al., 2007).

Os processos sedimentares e físicos são caracterizados pela dinâmica que os sedimentos exercem nos espaços porosos dos materiais. A compactação envolve a redução do volume de poros e espaços vazios devido ao rearranjo de partículas. Já a cimentação é o processo em que as partículas do material se ligam devido a precipitação de novos sólidos transportados pela água subterrânea. E por fim, a autogênese é a cristalização que ocorre em espaços vazios ou entre sedimentos que resulta na formação de novos materiais (Santos; Sullasi; Silva, 2021).

As ações biológicas e hídricas levam a bioturbação, que é o revolvimento (deslocamento ou mistura das camadas do solo) de camadas de sedimentos pela atividade de organismos vivos, sendo um processo que pode redistribuir

contaminantes diagenéticos. Já a hidrólise acelerada é caracterizada pela degradação do colágeno devido a quebra de suas ligações por conta da ação da água que é intensificado pelo pH e temperatura (Hedges, 2002). Por fim, a Bioerosão é o ataque microbiano ativo, deixando padrões como a Destruição Microfocal (Turner-Walker & Jans, 2008).

Um estudo conduzido por Santos, Sullasi e Silva (2020) no Sítio Arqueológico Pedra do Alexandre, no Rio Grande do Norte, teve como objetivo central investigar os fatores que ocasionaram os processos diagenéticos em amostras ósseas dessa localidade, além de verificar a viabilidade de datação cronológica. O estudo surgiu após sucessivas tentativas de datação direta por radiocarbono dessas amostras, que não foi concluída devido a insuficiência do material orgânico, o colágeno. A fim de compreender o que ocasionou essa degradação, os pesquisadores empregaram métodos como espectroscopia FTIR e a difração de Raios X para avaliar o grau de alteração mineral e a perda de colágeno. Em paralelo, a análise do pH dos sedimentos foi feita, associado aos sepultamentos para contextualizar o ambiente químico

Os resultados desses estudos confirmaram que todo o conjunto de vestígios ósseos do sítio havia sido diageneticamente alterado, apresentando extensa recristalização mineral e severa perda de colágeno. Ademais a discussão apontou para uma correlação entre as amostras mais alteradas e os sedimentos com o pH próximo a neutralidade, dessa forma os autores concluíram que este microambiente quase neutro foi ideal para uma intensa atividade microbiana, que , juntamente com a hidrólise, consumiu o colágeno ósseo.

Embora o estudo de Santos, Sullasi e Silva (2020) não retrate um contexto forense, ele reflete um problema que afeta diretamente a tafonomia forense : a degradação acelerada e a perda de colágeno, que invalidam métodos de identificação e datação. Como observado no estudo, a intensa atividade microbiana e outros fatores abióticos podem ocorrer em casos forenses com longos intervalos *post mortem* . Esses processos diagenéticos afetam limitando a análise de DNA , pois a perda de colágeno e bioerosão causam a fragmentação e a degradação do DNA endógeno, e dificulta o viés de identificação, devido a recristalização e a destruição da matriz orgânica que simulam um envelhecimento

acelerado. Portanto, o estudo ressalta a importância do uso de metodologias para análise diagênese como um pré requisito para o contexto forense.

### **3.2.3 Bioerosão e Ação Microbiana**

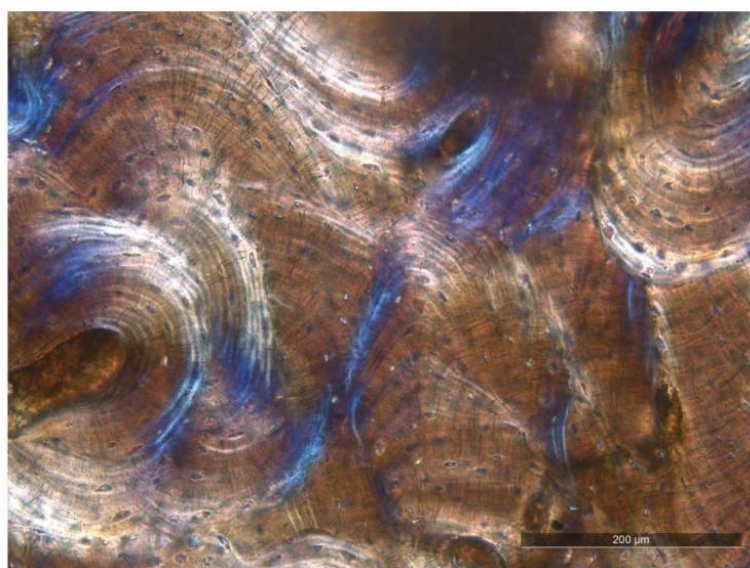
A bioerosão é o processo de remoção de minerais consolidados ou substratos pela ação direta de organismos (Neumann, 1966). Está relacionada com o ambiente o qual o material está inserido, envolvendo vários biomas, desde o fundo oceânico, até desertos áridos e ações de diversos microrganismos como fungos e bactérias.

A composição óssea constituída principalmente de colágeno e minerais conferem proteção a degradação, obtendo uma boa preservação (Trueman; Martill, 2002). Contudo, processos diagenéticos promovem alterações físico-química e microestrutura na composição óssea, sendo influenciado pelo ambiente o qual esse material está inserido. Um dos principais processos relacionados à degradação é a bioerosão que promove mudanças histológicas que são analisadas microscopicamente. Para a padronização quantitativa da alteração histológica utiliza-se a Oxford Histological Index (OHI) (Hedges et al. 1995; Millard 2001). Se caracteriza por ser uma escala com seis categorias, que vai de 0 á 5. No qual 0 é uma má preservação e 5 uma excelente preservação histológica.

De acordo com Hackett (1981), existem vários tipos de destruição microscópica focal (MDF), que podem ser atribuídas à ação de fungos ou bactérias. As alterações morfológicas por microorganismo foram descritas por (Hackett., 1981; Pesquero et al., 2010; Turner- Walker et al., 2002). Essas alterações são classificadas como destruição microscópica focal não Wedl (NWMFD) e podem ser : linear longitudinal, brotamento e lamelar. As ações bacterianas é uma das principais vias de destruição sendo dividida em três tipos : Tunelamento linear longitudinal, que são caracterizados por pequenos focos redondos em seções transversais que criam túneis irregulares (Hackett, 1981); tunelamento brotado, que são focos arredondados e pontilhados que se apresentam de forma irregular e por fim, o tunelamento lamelar, no qual os focos desenvolvem um padrão das lamelas ósseas distinguindo-se pelo preenchimento granuloso que reflete esse padrão (Hackett, 1981). Tais alterações morfológicas

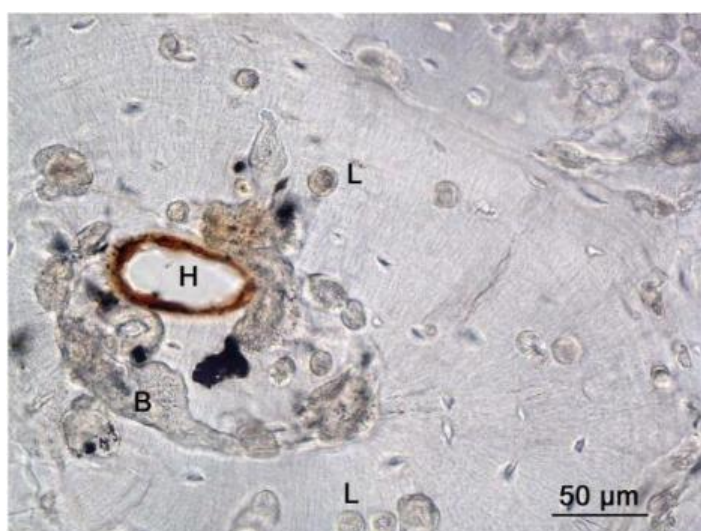
têm início nos canais vasculares e progridem preenchendo os ósteons, esse processo ocorre de forma prematura durante a putrefação e passa a ser continuado por bactérias do solo. Ademais, além das características dos tipos de destruição focal, o ataque bacteriano causa a porosidade óssea, sendo caracterizada pela redistribuição mineral da hidroxiapatita ao redor das áreas destruídas (Turner-Walker et al., 2002).

**Figura 6.** Osso do fêmur preservado



Fonte: Adaptado de Pokines; L'Abbe; Symes, 2018. Fotografia microscópica evidenciando a microestrutura óssea intacta sem sinais de Destruição Microscópica Focal (MFD). Esta condição corresponde ao índice OHI 5 da escala Oxford Histological Index.

**Figura 7.** Destruição microscópica focal (MFD) com tunelamento bacteriano (NWMFD)





Fonte: Adaptado de Pokines; L'Abbe; Symes, 2018. Microscópica do tecido ósseo evidenciando a ação bacteriana que causa a destruição microfocal (MFD). São visíveis o tunelamento longitudinal, gemado e lamelar. Esta condição corresponde a uma preservação histológica baixa.

A ação fúngica está associada à formação de túneis ramificados na matriz óssea (Turner-Walker e Jans, 2008). Sendo descrito pela primeira vez por Wedl (1864). Posteriormente, (Hackett, 1981) formalizou a classificação desses túneis que ele nomeou em homenagem a Wedl. Trueman e Martill (2002) identificaram uma segunda morfologia, o Túnel de Wedl tipo 2, caracterizado por um diâmetro menor. Historicamente, a bioerosão é ligada a ataque fúngico. O trabalho pioneiro de Wedl (1864) trouxe consigo uma maior perspectiva da ação fúngica nos tecidos ósseos enterrados, sendo assim, tradicionalmente aceito que fungos juntamente com as bactérias causam bioerosão em ambientes terrestres (Hackett, 1981; Jans et al., 2004). O processo de tunelamento ósseo ocasionado por fungos está relacionado com o crescimento de suas estruturas, diferentemente de bactérias que utilizam o material ósseo como fonte de nutrientes (Jans, 2008). Alguns estudos, afirmam que não há evidências de que os fungos possuem o potencial de destruir a microestrutura óssea utilizando os componentes desse material, como : hidroxiapatita e colágeno (Kendall et al., 2018: 27–28; Turner-Walker, 2012: 167, 180).

Os fungos saprófitos são os principais causadores do tunelamento, que é caracterizado por se apresentar na forma de túneis ramificados, que podem ser finos, conhecidos como túnel de Wedl tipo 2. Tal característica é resultado da absorção de componentes ósseos orgânicos e minerais solubilizados, associados ao solo ácido. Esses fungos são obrigatoriamente aeróbios (Carlisle et al., 2001). Dessa forma, as alterações fúngicas em ossos são um indicador confiável da presença de oxigênio no ambiente soterramento no momento da alteração. Portanto a ausência de tunelamento fúngico, pode sugerir um ambiente anóxico, um dos fatores que influenciam na preservação de biomoléculas.

Um estudo conduzido por Galligane et al. (2019) teve como objetivo analisar a intensidade e o padrão de ataque microbiano em restos ósseos de sepultamento, no período do holoceno tardio, a fim de relacionar a destruição microfocal (MFD) aos fatores ambientes. Os pesquisadores analisaram 25

amostras humanas em três zonas distintas utilizando índices para a preservação macroscópica (Macrostructural Preservation Index , MPI); preservação histológica em cortes transversais (Oxford Histological Index, OHI) e a microscopia eletrônica de varredura, a fim de identificar traços de MFD. O resultado da pesquisa revelou uma intensidade de ataque bacteriano em regiões que possuem clima temperado, com o OHI com valores abaixo de (0 e 3), atribuído a uma maior atividade microbiana devido à temperatura mais elevada. Estatisticamente, não houve correlação entre a preservação histológica com a macroestrutural, indicando que a aparência externa do osso não é parâmetro para inferir a integridade macroscópica. O grau de bioerosão teve um aumento de variação em solos semelhantes, provando que a MFD é determinada por condições estritamente locais e específicas de cada sepultamento. Por fim, a pesquisa confirmou uma alta incidência de MFD em enterros secundários e em ossos faunísticos descartados, corroborando com a ideia de que o ataque bacteriano só ocorre na presença de tecidos moles iniciais, sugerindo que o osso pode ser atacado por microrganismo do solo em qualquer momento.

O estudo de Kontopoulos et al. (2016) é fundamental por fornecer uma base observacional em tempo real dos primeiros estágios da destruição microscópica focal (MFD), este estudo teve como principal objetivo rastrear as modificações microestruturais *post mortem* em restos ósseos, buscando compreender a progressão do ataque microbiano e a influência na estrutura histológica óssea. Os pesquisadores utilizaram amostras de ossos de porco (*Sus scrofa domesticus*) e submeteram a diferentes condições tafonômicas controladas. A metodologia principal nas análises foi feita por meio da microscopia de luz, utilizando a luz plana e polarizada para avaliar a integridade da matriz orgânica. O estudo identificou que o ataque microbiano inicial é focalizado, com o alargamento e coalescência das lacunas dos osteócitos. A degradação do colágeno foi comprovada por meio da análise da perda de birrefringência nas áreas afetadas pela MFD, observada sob luz polarizada. Isso confirma que a destruição microfocal ataca o mineral e o arcabouço orgânico do osso. Além disso, foi observada a coexistência de túneis associados a fungos e bactérias em um mesmo osso. Essa associação foi comprovada pela visualização de dois tipos de

tunelamento : túneis de Wedl e NWMFD. Tal processo indica a complexidade da bioerosão, que envolve uma ação combinada de diferentes tipos de microorganismos. Por fim, o experimento reforçou que a análise macroscópica juntamente com a microscópica podem diferir significativamente, validando a necessidade da avaliação histológica independente da condição externa do material.

### **3.3 FATORES AMBIENTAIS E SUAS CONSEQUÊNCIAS NO TECIDO DENTÁRIO**

#### **3.3.1 O ciclo do nitrogênio e a degradação da matriz orgânica**

A decomposição é um processo *post-mortem* que inclui a autólise (degradação anaeróbica) e putrefação (degradação aeróbica) (Micozzi, 1991). Vários fatores influenciam na destruição dos tecidos moles, como: ação das bactérias, fungos e insetos, que promovem alterações de cor, evolução de gases e processo de liquefação. A decomposição se divide em algumas fases; a primeira é caracterizada pela descoloração da pele, que ocorre devido à autólise, pois permitem condições favoráveis para ação dos microorganismos provenientes do trato gastrointestinal e do sistema respiratório, havendo a formação de ácidos orgânicos e gases. Em seguida, ocorre a distensão do abdômen devido a formação de gases intestinais que é causada pela fermentação microbiana, esse processo ocorre na putrefação que é influenciado pela temperatura atmosférica, pelo nível de humidade, pelo movimento do ar, pelo estado de hidratação dos tecidos moles e o estado nutricional da vítima, a idade, e a respectiva causa de morte (Pinheiro, 2006). Por fim, se estabelece a esqueletização que consiste na perda de todos os tecidos moles, (Clark et al., 1997; Galloway, 1997; Pinheiro, 2006). sendo influenciado pela temperatura, pH, ação de microorganismo, animais vertebrados e invertebrados e pelo tipo de solo o qual o material está exposto.

O ciclo do nitrogênio desempenha um papel fundamental na degradação óssea *post-mortem*, através de interações da atividade microbiana e a disponibilidade de nutrientes (Jaggers e Rogers, 2009). A umidade do solo, é um dos fatores que influenciam na decomposição óssea, afetando a extensão na taxa

de degradação. Os microrganismos presentes no solo participam no processo de degradação atacando os resíduos orgânicos e decompondo seus componentes. A partir desse processo, os microrganismos obtêm sua fonte primária de energia e nutrientes, favorecendo um rápido crescimento. Contudo, quando ocorre a perda deste material, a população microbiana declina e a mineralização dos tecidos é estabelecida.

A priori, o nitrogênio requerido pelos microrganismos ao longo do processo de decomposição advém do material orgânico. Porém, caso não contenha quantidades suficientes para atender a demanda dos organismos decompositores, a requisição ocorre através de fontes disponíveis do solo. Quando o nitrogênio está no solo, sua forma mais comum é de polímeros complexos que não podem ser absorvidos diretamente pelas plantas. Dessa forma é submetido por processos de transformações microbianas até se tornarem disponíveis, essas alterações sofridas pelo nitrogênio ocorrem através de ciclos, que incluem processos de mineralização do nitrogênio, onde é convertido em formas inorgânicas, como amônio que por conseguinte é oxidado a nitrato, em um processo denominado nitrificação (Mattoo, Mallikarjuna e Hemachar, 2025).

O ciclo de nitrogênio está associado ao grau de degradação da matriz orgânica dentinária (colágeno) através de dois mecanismos: amonificação, caracterizado pela quebra do colágeno por proteasas microbianas (Hopkin et al., 2000) liberando o nitrogênio orgânico na forma de amônio e amônia. Este processo é associado a destruição microfocal que foi defendida por Galligani et al. 2019 e Kontopoulos et al., 2016, que nos estudos utilizou espécie de tecidos suínos, verificando altas concentrações de amônia em uma análise tecidual *post-mortem*. O processo de nitrificação e acidificação se dá pela conversão de amônio em nitrato conduzido pelas bactérias nitrificantes, que libera íons de hidrogênio ( $H^+$ ). Tal processo leva a acidificação, por conta do acúmulo de  $H^+$ , consequentemente acelerando a dissolução do material inorgânico, a hidroxiapatita.

O Rácio carbono/nitrogênio (C/N) é a métrica padrão para avaliar a autenticidade da matéria orgânica em decomposição. No solo, o microorganismo adquire o nitrogênio através da decomposição, que por sua vez sofre

influência na sua taxa devido a relação C/N original do material. No contexto da degradação óssea, esse dado é fornecido pela análise da relação C/N do colágeno. Resíduos que possuem C/N baixo se decompõem rapidamente e promovem a liberação de nitrogênio. Já, resíduos com altas relações C/N podem permanecer em estágios de decomposição parcial.(Keena et al., 2018).

Um estudo conduzido por Debruyne e colaboradores em 2021, teve como principal objetivo determinar como seres humanos e suínos (*Sus scrofa*) afetam o solo de forma semelhante, o estudo foi uma análise comparativa. A metodologia foi determinada por dois ensaios comparativos realizados em diferentes estações (inverno e verão), foram utilizados 5 corpos humanos e cinco carcaças suínas monitorados sob as mesmas condições ambientais. Foram quantificados o pH, temperatura do solo e analisadas atividades microbianas, incluindo respiração e atividade enzimática. Os resultados destacaram diferenças na decomposição humana e suína, devido a diferença de alterações químicas e população microbiana no solo, apesar da semelhança da massa corporal, especificamente, os corpos humanos apresentaram maior variabilidade no pH e menor liberação de amônio se comparado aos suínos. A diferença no fluxo de nitrogênio reforça que a instabilidade do ambiente microbiano é o principal vetor ao ataque de amostras humanas sepultadas, dentre elas, o colágeno dentário, que culmina em alterações do rácio C/N.

### **3.3.2 Caracterização dos tipos de solos**

O solo é um importante fator no processo de decomposição. É caracterizado por ser formado por diversos constituintes, e variam tanto com relação à sua espessura, quanto em relação às suas características, tais como cor, quantidade, e organização das partículas de que são compostos (argila, silte e areia), fertilidade, porosidade, entre outras características. A formação do solo ocorre devido a decomposição de rochas, que leva a formação de pequenas partículas denominadas de partículas minerais, as quais são misturadas às partículas orgânicas, provenientes da decomposição de pequenos animais e restos de plantas. A diversidade de rochas leva a uma variedade no tipo de solo. Contudo, outros fatores influenciam na formação do solo, como clima, organismos

e o tempo. Basicamente a rocha tem seu tamanho reduzido pela ação do clima (chuva, vento e temperatura) ação de organismos vivos (fungos, líquens, bactérias e outros), Tais processos promovem adições, perdas, transportes e transformações de material mineral e orgânico ao longo da formação, dessa forma originando os diferentes tipos de solo (COELHO et al., 2013). As características físico-químicas e biológicas são cruciais para análise tafonômica, determinando a taxa e o padrão de decomposição de restos humanos.

A divergência na composição do solo são utilizadas na sua classificação, os principais a serem analisados são: solos argilosos e arenosos, os quais influenciam significativamente na degradação de ossos e dentes devido a textura, pH e composição química (Oghenemavwe et al., 2022). O solo argiloso possui uma alta proporção de partículas de argila, esta composição confere propriedades como: retenção de água, baixa permeabilidade, capacidade de troca catiônica, pH neutro ou alcalino. Já os solos arenosos, são compostos por partículas de areia, o que resulta em uma alta permeabilidade, baixa retenção de água e pH ácidos (Oghenemavwe et al., 2022).

### **3.3.3 Diferencial físico dos solos arenosos e argilosos na decomposição**

Para a obtenção da diferenciação dos tipos de solos se utiliza a granulometria, que é o parâmetro físico primário, além de avaliar as condições ambientais que afetam a degradação cadavérica. Esta propriedade é determinada pela proporção de areia (partículas entre 2 e 0,02 mm), silte e argila (partículas menores que 0,002 mm) (Turner et al., 2016). A diferença no tamanho das partículas gera consequências diretas na mineralogia e porosidade, que são parâmetros físicos que atuam diretamente no suprimento de oxigênio, afetando a presença de microrganismo no solo e propriedades químicas, como a capacidade de troca catiônica.

Os solos arenosos possuem textura grossa e são ricos em minerais primários, como o quartzo (silicato). Sua estrutura confere alta porosidade e alta difusividade de gases (Carter; Tibbett, 2002). Dessa forma, promovendo uma rápida perda de umidade, condição que leva a dessecação do material orgânico em climas secos. O metabolismo dos microorganismos decompositores presentes

no solo, são inibidos pelo processo de dessecação, o qual retarda as enzimas hidrolíticas, podendo resultar na preservação natural do corpo (Micozzi, 1991). Em contrapartida, um estudo conduzido por (Turner et al., 2016) demonstrou que, em solo arenoso, a pele é completamente decomposta, porém, o tecido mole com aspecto gelatinoso pode ficar retido em ossos não totalmente desarticulados.

Os solos argilosos, possuem textura fina e os principais minerais que compõem são secundários (argilominerais), que promovem uma elevada superfície de contato, resultando em uma maior capacidade de retenção hídrica e alta CTC, porém promove uma baixa difusividade de gases (Carter; Tibbett, 2002). A combinação de alta umidade e baixa troca gasosa gera um ambiente propício para microrganismos anaeróbios, o qual são menos eficientes no processo de decomposição. Estudos experimentais demonstraram que o solo argiloso promove um retardamento na decomposição, mantendo a pele intacta e diminuindo o grau de desarticulação óssea (Turner et al. 2016). Ademais, pode ocorrer a saponificação dos ácidos graxos, devido a condição redutora. Esse processo leva a preservação dos tecidos moles, pois age como uma barreira física (Carter; Tibbett, 2002 ; Turner et al. 2016)

### **3.3.4 Regulação química : CTC, Capacidade tampão e ciclo do nitrogênio**

A composição química de cada solo influencia nas propriedades físicas. A capacidade de troca catiônica, é essencial. Esse processo ocorre quando os cátions se fixam em coloides com cargas negativas, dessa forma diminuindo a capacidade de eliminação. Dependendo da composição do solo e dos cátions presentes, esse fenômeno pode ter impacto no pH (Carter; Tibbett, 2002).. Paralelamente, o solo possui resistência à variação do pH, sendo uma capacidade tampão, que aumenta proporcionalmente ao aumento da CTC. Ademais, o solo possui uma capacidade de troca aniônica, podendo remover ânions de soluções aquosas e utilizá-los para trocas posteriores.

O processo de decomposição libera altas cargas de amônio, e metais na matriz do solo (Debruyne et al. 2021). O ciclo do nitrogênio é sensível a esta carga, visto que a conversão de amônio em nitrato, é um processo aeróbico que acidifica o meio. A CTC do solo, tem o papel de controlar essa acidificação, mantendo o

ambiente mais estável para os microrganismos. A relação de carbono/nitrogênio do solo está relacionada com a taxa de decomposição, sendo mais rápida em materiais com baixa relação Carbono/Nitrogênio.

### 3.3.5 Componente biológico: Microbiota e Bioindicadores

No solo é possível encontrar uma diversidade de microrganismos, que incluem diversas espécies de vírus, bactérias, fungos e arqueas. Além dos constituintes e das atividades microbiológicas, a vegetação desempenha um papel importante, pois as raízes competem por nutrientes e água com a microbiota, dessa forma influenciando a aeração e estrutura do solo.

Grande parte dos processos biogeoquímicos e de decomposição são feitos através da ação de bactérias, que age em mutualismo com outros organismos, como fungos (Carter; Tibbett, 2002). Os principais grupos de bactérias presentes no solo são: Alpha-, Beta-, Gamma-, Deltaproteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes, sendo que dependendo do solo, diferentes grupos pode apresentar variação na sua proporção de atividade, que depende do parâmetro físico-químico específico (Rousk et al., 2010). Um exemplo de bactéria dominante na decomposição é a *Clostridium perfringens*, devido à capacidade de se replicar rapidamente (Li et al., 2013). Além das bactérias, no solo é possível encontrar uma variedade fúngica, sendo os principais decompositores da natureza e podendo ter sua taxa de crescimento como indicador de tempo *post mortem* (Hawkswhorth e Wiltshire, 2011)

Um indicador utilizado como parâmetro da taxa de decomposição e estimativa do tempo *post mortem* (PMI) é a atividade microbiana extracelular, a qual é caracterizado por ciclos do nitrogênio, fósforo e carbono, são processos que transformam elementos da matéria orgânica cadavérica em formas minerais absorvíveis pelo ecossistema do solo (Tumer et al., 2016). Cada ciclo tem uma atividade enzimática específica, que atuam como catalisadores fora da célula microbiana com a função de quebrar macromoléculas complexas do corpo em unidades menores, dessa forma permitindo que os microrganismos as absorvem para a nutrição. A avaliação da atividade enzimática permite quantificar a velocidade com que os ciclos de nutrientes estão sendo impulsionados pela



putrefação.

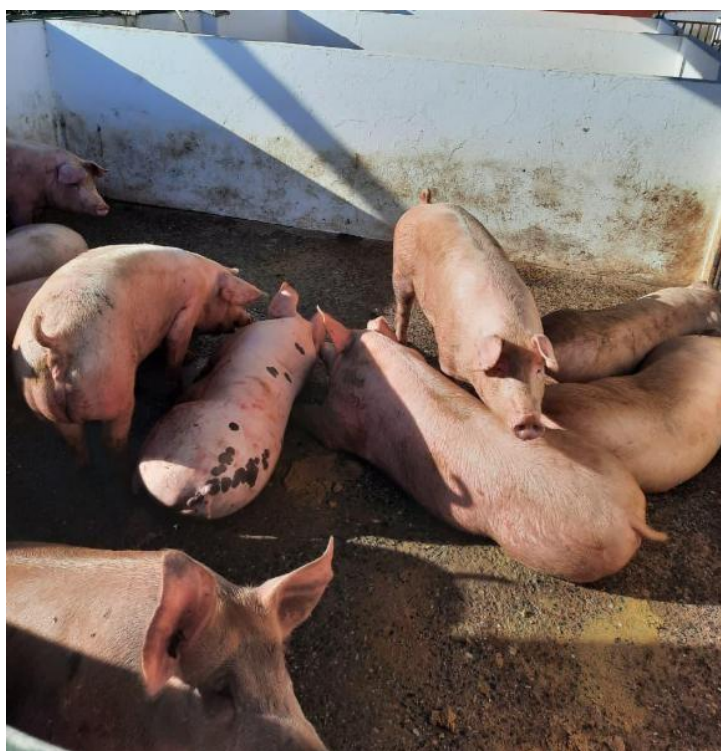
O ciclo do nitrogênio é fundamental na decomposição, visto que esse processo leva a liberação de grandes compostos nitrogenados no solo, dentre eles a ureia. A urease é responsável por converter a ureia liberada no processo de decomposição em amônia e dióxido de carbono. Dessa forma, ao analisar e quantificar a atividade da urease, pode-se inferir se há uma intensa mineralização de nitrogênio (Tumer et al., 2016). O fósforo é um dos componentes das membranas celulares, ácidos nucleicos e da hidroxiapatita, na decomposição a enzima fosfatase alcalina libera o fósforo de moléculas orgânicas complexas, transformando o fósforo em fosfato inorgânico. Dessa forma, facilitando que os microorganismos presentes no solo reutilizem, esse processo é denominado ciclo do fósforo. A medição da atividade enzimática da fosfatase alcalina indica a velocidade com que o fósforo do cadáver está sendo reciclado. Uma alta taxa da atividade dessa enzima está relacionado com uma decomposição acelerada. (Debruyne et al., 2021). O ciclo do carbono permite a conversão do carbono em moléculas biodisponíveis para a população microbiana presente no solo. O carbono compõe grande parte estrutural dos carboidratos, lipídios e proteínas, a partir da ação da enzima Beta-glicosidase, ocorre uma hidrólise das ligações glicosídicas, que quebrar carboidratos complexos, em unidades mais simples, como glicose a qual é o nutriente básico consumido pelos microorganismos para a obtenção de energia. No contexto forense, a avaliação dessa atividade permite quantificar a velocidade com que a massa corporal está sendo consumida, sendo um importante bioindicador para a estimativa do tempo post-mortem (IPM)(Tumer et al., 2016)

### **3.4 UTILIZAÇÃO DO PORCO COMO MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL**

A utilização de modelos animais é uma prática consolidada no âmbito da tafonomia forense para reproduzir cenários *post mortem* sob condições controladas (Micozzi, 1986; Roberts & Dabbs, 2015). A utilização de *Sus scrofa domesticus* (porco doméstico) no contexto forense é uma prática bem estabelecida, principalmente devido às semelhanças anatômicas e fisiológicas,

incluindo o peso, a distribuição de gordura corporal e semelhanças microestruturais ósseas e dentárias (Bonney et al., 2011; Fagundes et al., 2015). Esta aplicabilidade estende-se à análise da degradação do colágeno, crucial para a estimativa do intervalo *post mortem* (IPM) em restos esqueléticos. Ademais, o uso desse modelo animal é justificado também pela facilidade de obtenção, feito principalmente através da indústria alimentícia, que assegura um suprimento constante e acessível para pesquisa experimentais (Meurens et al., 2012)

**Figura 8.** Porco (*Sus scrofa domesticus*) utilizado como biomodelo experimental.



Fonte : Autores (2025). Porco (*Sus scrofa domesticus*) utilizado como biomodelo experimental. O material foi coletado no Matadouro Industrial MS LTDA, localizado em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, empresa que opera na indústria de Manufatura de Alimentos, Bebidas e Tabaco.

#### **3.4.1. Similaridades Microestruturais e Histológicas do dente de *sus scrofa domesticus***

Um estudo conduzido por Fagundes et al. (2015), visou descrever e analisar as propriedades morfológicas e físicas (ultra estrutura, composição mineral e microdureza) do esmalte e da dentina de dentes decíduos de *Sus scrofa domesticus*. Nessa pesquisa, foram utilizados 10 cabeças de porcos (S.

*domesticus* ) os quais eram machos jovens, com idade entre 3 e 4 meses, o peso variava de 40 a 60kg. O estudo analisou dentes decíduos (de leite), que era composto por 12 incisivos , 4 caninos e 16 pré-molares. A análise da estrutura e composição mineral foi feita com 10 dentes , selecionados aleatoriamente. Para a medição da microdureza , foram usados 10 molares de porco,e por fim, para a descrição da anatomia interna foram utilizadas arcadas dentárias completas de 4 animais. A metodologia empregou microscopia eletrônica de varredura (SEM) e microanálise de espectroscopia por energia dispersiva (EDS), fornecendo dados quantitativos e ultraestruturais. O resultado demonstrou que o diâmetro médio dos túbulos dentinários ao longo da câmara pulpar e do canal radicular foi de 2.11  $\mu\text{m}$  (Fagundes et al., 2015), semelhante aos espécimes humanos que possuem em média 2  $\mu\text{m}$  a 3 $\mu\text{m}$ .

Os túbulos dentinários são a principal via de penetração e ação de microorganismo que promovem a bioerosão no tecido, dessa forma, a similaridade dessa estrutura é essencial para o uso desse modelo animal em pesquisas forenses. Ademais, o estudo destacou a alta presença de cálcio e fósforo e microdureza da dentina suína, que são comparáveis às do tecido humano, confirmando que além da semelhança estrutural, possuem uma composição química parecida (Fagundes et al., 2015)

A similaridade não se limita apenas à dentina, um estudo realizado por Cummaudo (2018) reforça a similaridade morfológica geral do osso suíno. Esse estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da análise histológica na diferenciação entre ossos humanos e não humanos, associados a cenários forenses diversos, como: incêndios, sepultamentos clandestinos e desastres. O estudo fez um comparativo de características microscópicas de várias partes ósseas de *Sus scrofa domesticus* com as de espécimes humanos. Para a análise comparativa, foi utilizado o método de histomorfometria (medição microscópicas de estrutura). Foram analisadas variáveis microscópicas, que incluíam a contagem de osteons, diâmetro dos canais de havers e o cálculo da porosidade do osso cortical, feitas em ambas as espécies. Os osteons são unidades que compõem o tecido ósseo compacto, sendo assim, a medição dessas estruturas são essenciais. A metodologia permitiu quantificar as semelhanças e diferenças nas taxas de remodelação e na estrutura interna do osso. O estudo teve como resultado a

similaridade das estruturas macroscópicas e microscópicas, as estruturas possuem uma semelhança significativa, sendo necessários, em alguns casos no contexto forense a utilização de métodos de alta precisão que permitam fazer uma distinção histológica (Cummaudo, 2018). Dessa forma, essa pesquisa traz consigo resultados que validam o uso de *Sus scrofa domesticus* em estudos de degradação, principalmente quando relacionados a degradação óssea e dentinária, em contextos forenses.

### 3.4.2 Aplicação do Modelo em Cenários Tafonômicos

Roberts e Dabbs, em 2015 conduziu uma pesquisa que visou analisar o efeito do congelamento prévio na taxa de decomposição utilizando o *Sus scrofa domesticus* como objeto de estudo. O objetivo da pesquisa foi avaliar se grupos previamente congelados de porcos teriam divergências na taxa e na maneira que o processo de decomposição ocorreria, em comparação a grupos que não foram submetidos ao congelamento. A metodologia consistiu na utilização de 16 porcos que tinham seu peso entre 2 a 71kg. O grupo experimental foi mantido congelado a 18°C por no mínimo 7 dias e depositado ainda congelado (Roberts & Dabbs, 2015). As medições foram coletadas todos os dias, registrando informações qualitativas e quantitativas como o escore corporal total (TBS) , que fornece de forma mensurável o estado de decomposição externa. O tempo tafonômico foi medido em graus-dias acumulados (ADD) , que é crucial na estimativa do intervalo *post mortem* . O estudo demonstrou que os indivíduos previamente congelados exigiram um ADD maior do que os controles para atingir os estágios iniciais de decomposição. Os autores afirmam que o retardo no processo de decomposição ocorreu devido ao gasto de energia térmica no descongelamento e à inibição de atividade microbiana, o que resulta em uma menor produção de gases da putrefação. Ao analisar o nível de distensão abdominal no grupo controle , inferiu-se a confirmação da inibição bacteriana, já que o acúmulo de gás pleural foi observado apenas no grupo controle (Roberts & Dabbs, 2015). Dessa forma, o estudo traz consigo implicações forenses cruciais, afirmando que o congelamento prévio altera o processo de decomposição. Portanto, o estudo valida o uso de porco para simular a decomposição humana, fornecendo um viés metodológico

imprescindível para o estudo *in vivo*.

Em um contexto tafonômico controlado, o pesquisador Waterhouse e colaboradores (2013) utilizaram o modelo suíno para simular alterações *post mortem* sofridas pelo calor. A pesquisa investigou a fragmentação de ossos calcinados, com o objetivo de orientar protocolos de recuperação em cenas de incêndios fatais. A pesquisa utilizou *Sus scrofa domesticus* para simular alterações estruturais induzidas pelo calor em ossos. O material foi queimado em fogueiras até atingir a calcinação completa. O principal foco era o tempo de espera para a recuperação após o evento térmico. Foram comparados diferentes tempos de atraso na recuperação (0, 24, 56 e 168 horas), dessa forma obtendo uma classificação dos fragmentos relacionados ao tamanho. O estudo demonstrou que houve um aumento na fragmentação quando a recuperação dos restos atrasou 24 horas após o resfriamento. Dessa forma, confirma que o material mineralizado, após o processo de calcinação, fica extremamente frágil e suscetível a perda tafonômica. O estudo valida o uso do modelo suíno em contextos pós-queima e reafirma a importância do tempo de exposição do material calcinado ao ambiente (Waterhouse et al., 2013).

### 3.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A termogravimetria é uma técnica que mede a mudança físico-química de uma determinada amostra pela perda de massa em função da temperatura e do tempo, sob uma taxa de aquecimento controlada. Essa metodologia é empregada com a finalidade de investigar a estabilidade térmica e a composição de materiais, dessa forma fornecendo informações relacionadas a processos de decomposição, evaporação ou oxidação. Na pesquisa forense, a TGA se tornou um recurso utilizado para examinar dentes e ossos, por meio da caracterização do pico de decomposição térmica e perda de massa em diferentes condições. Um aprimoramento desta metodologia é a termogravimetria acoplada à espectrometria de massa (TG-MS), que permite a diferenciação de componentes complexos presente em determinados materiais, é uma forma de caracterização detalhada usadas em diversos cenários, incluindo o forense (Raja et al., 2009; Lozano-Peral et al., 2019)

No contexto histórico, o primeiro registro da termogravimetria foi na França, no ano de 1922 por meio do pesquisador Georges Urbain (Dollimore; Keattch, 1999) que destacou as limitações das balanças analíticas convencionais para o estudo de materiais que se decomponham rapidamente com a evolução de gases. Urbain e seus colaboradores criaram um aparato modificado para minimizar as limitações das balanças analíticas, esse equipamento era vedado e tinha a possibilidade de controlar a temperatura.

Apesar do trabalho de Urbain ter sido o pioneiro, o conceito atual só foi estabelecido posteriormente por Kôtarô Honda, um metalurgista Japonês, que em 1925, descreveu um instrumento projetado especificamente para registrar a perda ou ganho de massa em função da temperatura, denominado termobalança (Dollimore; Keattch, 1999). O pesquisador químico Marcel Guichard desenvolveu um trabalho que visou a criação de um sistema de balança diferencial capaz de registrar automaticamente as curvas de variação de peso, se estabelecendo como um pesquisador crucial para o avanço desta metodologia. Posteriormente, o desenvolvimento da termobalança registradora foi impulsionado por Pierre Chevenard, desenvolveu uma balança de microanálise, que permitia o registro simultâneo e automático das curvas de massa e temperatura, garantindo maior precisão e reprodutibilidade. A partir desse princípio, Clément Duval estabeleceu a termogravimetria como uma ferramenta indispensável para análise inorgânica, sistematizando as aplicações e metodologias

Atualmente, com o avanço tecnológico as termobalanças possuem alta sensibilidade e versatilidade, como os equipamentos desenvolvidos pelo pesquisador Hans-Georg Wiedemann (Wiedemann, 1970), que utilizam o princípio de compensação de força magnética e são capazes de trabalhar sob vácuo ou com atmosferas gasosas controladas, possibilitando a determinação precisa da estabilidade térmica e da composição quantitativa de materiais. Ademais, a junção de técnicas distintas, como espectrometria de massa, permite a identificação em tempo real dos produtos voláteis liberados, conferindo à termogravimetria um papel essencial na pesquisa de materiais biológicos.

### 3.5.1 TGA na caracterização de tecidos dentários

Dentes são compostos por uma matriz orgânica (principalmente colágeno) e uma inorgânica (hidroxiapatita). Quando submetidos a diferentes graus de temperatura, esses componentes fornecem informações sobre a intensidade e duração dessa exposição. A termogravimetria é uma ferramenta que fornece informações quantitativas, a partir da separação e análise dos principais componentes dentários, com base na instabilidade térmica de cada constituinte (Lozano-Peral et al., 2020).

Os resultados obtidos através da análise termogravimétrica são representados por duas curvas: Termograma (Curva TG) que estabelece a porcentagem da massa remanescente associada a temperatura; Termogravimetria Derivada (Curva DTG), essa curva, por sua vez, registra a taxa de perda de massa, sendo fundamental para identificar as temperaturas onde a decomposição é máxima, permitindo a separação de processos químicos que ocorrem em faixas de temperaturas próximas (Dollimore; Keatch, 1999). Essa capacidade de diferenciação possibilita estabelecer as etapas sequenciais e universais da decomposição dos componentes presentes no material analisado, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1. Etapas Sequenciais da Decomposição Térmica em Tecido Dentário (Adaptado de Lozano-Peral et al., 2020)

Etapa	Faixa de temperatura	Processo de perda de massa	Componente quantificado
I	44°C a 210°C	Desidratação	Água livre e ligada
II	211°C a 603°C	Combustão da matriz orgânica	Colágeno
III	Acima de 604°C	Decomposição de carbonatos	Carbonatos residuais

A separação dos componentes do dente em faixas de temperaturas distintas ocorre devido a estabilidade térmica única de cada constituinte, dessa forma a termogravimetria analisa de forma quantitativa e precisa o grau de decomposição de cada componente, em determinada temperatura (Lozano-Peral et al., 2020).

**Etapa I :** Desidratação (44° a 210°) A primeira perda de massa ocorre na desidratação, onde acontece a remoção da água livre, que é adsorvida na superfície da amostra, sendo eliminada nas temperaturas mais baixas. Já a água

ligada, presente nas fibras de colágeno e na hidroxiapatita, promove a contração inicial do material, após a remoção (Patel et al., 2021).

**Etapla II :** Combustão da matriz orgânica ( 211° a 603°) ;Nessa faixa de temperatura é possível fazer a quantificação do colágeno, o principal componente orgânico do dente. A degradação desse constituinte ocorre devido ao rompimento das ligações das cadeias proteicas do colágeno, resultado das altas temperaturas, que além da degradação térmica libera gases voláteis (Lozano-Peral et al., 2020). Ao integrar a espectrometria de massa à TGA, pode-se confirmar presença de fragmentos orgânicos, como o dióxido de enxofre, que valida a degradação proteica e a atribuição da perda de massa do colágeno (Lozano-Peral et al., 2020). A perda de massa percentual nessa faixa, fornece de forma quantitativa o colágeno remanescente, que serve de métrica para avaliar o grau de degradação.

**Etapla III : Decomposição de carbonatos residuais (Acima de 604°C).** Após a degradação da matriz orgânica, a perda de massa nessa etapa está relacionada com a matriz inorgânica pura, que mesmo na fase mineral ocorre a perda residual de massa em temperaturas muito elevadas. O cristal de hidroxiapatita é o componente inorgânico majoritário, frequentemente possui em sua estrutura substituições iônicas, como o carbonato, em temperaturas elevadas, acima de 604°C, a energia térmica é para quebrar de ligações desses carbonatos a estrutura da hidroxiapatita. Este fenômeno é chamado de descarbonatação e resulta na liberação de  $\text{CO}_2$ , que é registrado como uma pequena perda de massa. Após esse processo, a massa restante após o aquecimento próximo a 1000°C representa o teor mineral final e estável do dente, a hidroxiapatita. A estabilidade desta fase mineral pura é relevante para estudos forenses, como o de Patel et al. (2021), que mostram que, em temperaturas superiores a 800°C, o dente se torna extremamente frágil e alterado, sendo o dano causado pela ausência da matriz orgânica e pela estabilização da estrutura mineral (Lozano-Peral et al., 2020; Patel et al., 2021).

### **Padronização e Controle de Parâmetros para a Análise Quantitativa**

A fim de assegurar a precisão quantitativa da análise de colágeno, se faz necessário um controle rigoroso e padronização dos parâmetros experimentais, conforme estabelecido nos princípios gerais da análise térmica (Wiedemann, 1970). Essa padronização deve seguir fatores específicos, com o propósito de



validar a precisão quantitativa (Lozano-Peral et al., 2020).

Para garantir a homogeneidade e otimizar a transferência de calor é necessário o preparo da amostra, que deve ser processada e utilizada na forma pulverizada. Este estado minimiza gradientes de temperaturas internas que levariam a reações de decomposição não uniformes (Lozano-Peral et al., 2020). Atmosfera controlada é crucial para a quantificação da etapa II, pois é necessário uma atmosfera oxidante, para que o oxigênio promova a combustão completa da matriz orgânica. Em uma atmosfera inerte, a matéria orgânica sofreria pirólise incompleta, resultando em uma imprecisão na análise da perda de massa e do colágeno (Lozano-Peral et al., 2020). Por fim, a taxa de aquecimento deve ser constante, estendendo-se a temperaturas elevadas de até 1000°C. Essa temperatura final é necessária para assegurar tanto a eliminação total da fase orgânica, quanto a completa estabilização da fase inorgânica, cuja massa residual final corresponde à hidroxiapatita pura (Lozano-Peral et al., 2020).

No contexto forense, a termogravimetria pode complementar a estimativa do tempo *post-mortem* (PMI). As alterações térmicas observadas nos dentes, por exemplo, podem ser correlacionadas com a exposição a ambientes de incêndio, fornecendo informações relevantes sobre a causa morte, intervalo *post mortem* e identificação de vítimas. Um estudo conduzido por Onishi e colaboradores (2008) defendeu o uso da TGA-MS como uma ferramenta para monitorar o envelhecimento de restos ósseos. Essa precisão é crítica, visto que a integridade do material biológico e suas interações ambientais são essenciais para a manutenção das informações forenses (Franklin, 2010).

O modelo animal experimental e o preparo da amostra são fundamentados pelo trabalho de Raja, Thomas e Stuart em 2010. O trabalho teve como objetivo principal avaliar os efeitos das condições de preparo nas propriedades estruturais de ossos de porco (*Sus scrofa domesticus*) enterrados. O estudo replicou um cenário de degradação, utilizando ossos suínos enterrados a 60 cm em solo de pH ácido a 25°C, após esse processo, as amostras foram submetidas a termogravimetria na faixa de 30°C a 1000°C (10°C/min). Os resultados mostraram que o preparo influencia drasticamente a perda de massa orgânica e de água, sendo que amostras em pedaços e secas em forno apresentam maior perda de

massa orgânica e maior variação no teor de água em comparação às moídas. Dessa forma, concluiu-se que as amostras moídas a mão e liofilizadas são a melhor opção para análise quantitativa.

Por sua vez, o protocolo de quantificação e confirmação química são estabelecidos por Lozano-Peral et al. (2020) que desenvolveu um estudo com o objetivo de caracterizar a decomposição térmica de dentes humanos e quantificar a degradação da matéria orgânica. Empregou-se como metodologia a termogravimetria acoplada à espectrometria de massas em dentes pulverizados, permitindo avaliar a perda de massa e gases liberados no processo de degradação térmica, além disso as amostras foram submetidas à varredura térmica de 1000°C, o estudo utilizou análises isotérmicas, onde as amostras foram mantidas por 60 minutos em diversas temperaturas (50°C a 400°C). Os resultados confirmaram que a perda de massa na etapa II ( 211 a 603°C) corresponde à combustão do colágeno, e a detecção do dióxido de enxofre pela espectrometria de massa provou quimicamente a origem proteica dessa perda. De maneira complementar, a validade dos limites térmicos de análise é reforçada pela pesquisa feita por Patel et al (2021). que visou avaliar o efeito de temperaturas elevadas na estrutura dentária em um contexto forense. A metodologia consistiu em simular um cenário de identificação forense por meio da utilização de 40 dentes submetidos a tratamento endodôntico, que foram expostos a temperaturas determinadas na técnica de TGA, foram 400°C e 800°C por 15 minutos. A análise de alterações estruturais foi feita por meio da tomografia computadorizada de feixe cônico. Os resultados obtidos demonstraram que a cada temperatura houve alterações morfológicas distintas: a temperatura de 400°C causou intensa retração e danos estruturais, enquanto a de 800°C revelou danos da hidroxiapatita pura. Reforçando o princípio da TGA, que os danos ocorrem em momentos termicamente distintos.

### 3.6 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DE DENTES

Análises histológicas e técnicas de coloração, como a Hematoxilina e eosina, são ferramentas fundamentais para a investigação de dentes, especialmente quando aplicadas a dentes submetidos a condições extremas como queima e enterramento. A metodologia histológica permite a visualização do padrão de degradação e integridade da estrutura tecidual à nível microscópico, que de maneira complementar fornece de modo visual os resultados quantitativos obtidos por outras técnicas, como termogravimetria (Peer et al., 2024). Em contextos forenses e arqueológicos, a avaliação da microestrutura dentária pode fornecer informações sobre a atividade microbiana e a presença celular, elementos que permitem a análise tafonômica e na estimativa do intervalo *post mortem* (Sato, 2023; Kontopoulos et al., 2016). A composição do tecido dentário é complexa, composta por esmalte, dentina, cemento e polpa dentária, cada componente possui uma composição e respostas diferentes frente a processos térmicos e diagenéticos. Por conta dessa estrutura, o dente possui um alto nível de rigidez, sendo necessário um processamento específico para este tipo de tecido (Widbiller et al., 2021).

A fixação é a etapa crucial no processamento, e visa impedir a autólise e a atividade microbiana, dessa forma preservando a morfologia celular e tecidual. De acordo com a literatura, o agente fixador utilizado é a solução de formaldeído a 4% (Widbiller Et Al., 2021), que permite a formação de ligações cruzadas entre proteínas, estabilizando as estruturas e a matriz de colágeno garantindo que alterações morfológicas posteriores não sejam advindas do processamento, mas sim das condições experimentais em que a amostra foi submetida (Williamson, 2015).

A rigidez do dente, conferida pela hidroxiapatita impede o corte micrométrico, desta forma se faz necessário a descalcificação. Este processo promove a remoção do componente mineral para expor a matriz orgânica (Williamson, 2015). Existem diversos agentes que atuam no processo de descalcificação, sendo os mais comuns: ácido nítrico, clorídrico e formício. Contudo o uso do EDTA são os preferíveis, por serem mais suaves sobre a matriz

proteica conferindo uma certa preservação morfológica e molecular (Sato, 2023). O tempo de descalcificação deve ser monitorado para evitar o superprocessamento, o qual pode gerar artefatos e comprometer a qualidade da matriz do colágeno (Williamson, 2015).

No processo de inclusão, os dentes são submetidos a uma série de etapas de desidratação em álcool de concentração crescente, diafanização em xileno e a inclusão na parafina. Dessa forma conferindo o suporte necessário para o corte. A desidratação tem como objetivo a remoção de água do tecido, que ocorre pela imersão do material em diferentes concentrações de álcool. Posteriormente, o álcool é substituído por um agente de diafanização, como o xilol, que é um agente miscível do álcool e da parafina (Widbiller et al., 2021). Por fim, o tecido é infiltrado na parafina líquida quente, que ao esfriar, forma um bloco rígido. Esse processo permite suporte para fazer seções homogêneas da amostra por meio do micrótomo (Widbiller et al., 2021). As amostras incluídas são seccionadas em micrótomo que promovem cortes extremamente finos, que variam de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de espessura. Os cortes nessa faixa de espessura são essenciais para permitir a penetração uniforme dos corantes, garantindo a visualização celular e da matriz de colágeno (Widbiller et al., 2021). Em suma, a qualidade da análise histológica depende da efetividade de cada etapa do processamento histológico.

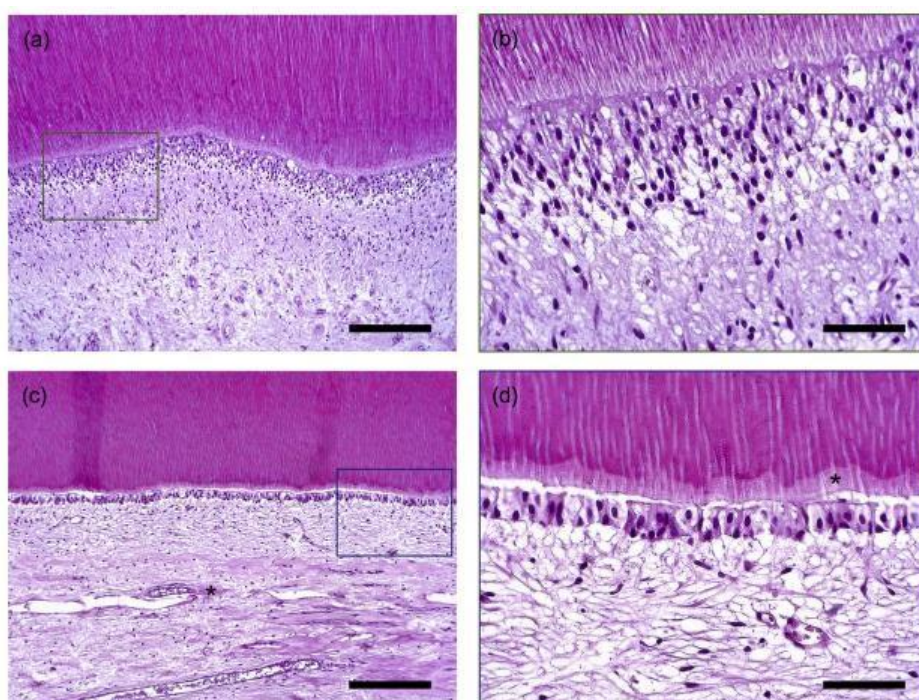
### **3.6.1 Coloração com Hematoxilina-Eosina (HE)**

A coloração é essencial para a visualização das estruturas celulares e da matriz de colágeno dos tecidos dentários, essa etapa é feita após o processo de microtomia. Após as seções das amostras a visualização das estruturas não é efetiva, devido a pouca diferenciação óptica. Desta forma se faz necessário o uso de corantes que efetivam a visualização na microscopia. Um corante é qualquer substância, que quando aplicada a um material, produz cor, devem possuir na sua composição cromóforos (grupos funcionais responsáveis pela cor) e auxocromos (grupos que intensificam a cor). Nesse contexto, existe uma diversidade de corantes, naturais ou artificiais, que possuem diferentes especificidades (Silva, 2025)

A coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) é a técnica de coloração

histológica mais utilizada e serve como um ponto de partida para a análise microscópica de tecidos. Essa técnica é eficaz na revelação das características estruturais gerais dos tecidos, corando tanto estrutura basófilas quanto acidófilas (Fischer et al., 2017). A hematoxilina é uma substância orgânica natural, extraída da planta *Haematoxylum campechianum* L. (Fabaceae), caracterizada por ser um corante básico, que possui um componente auxocromo catiônico e liga a elementos ácidos do tecido, corando núcleos das células de roxo-azulado (Silva, 2025). Em contrapartida, a eosina é um corante sintético de natureza ácida, derivado da fluoresceína. Esse corante é combinado com hematoxilina, e se liga a elementos básicos dos tecidos, como por exemplo as proteínas, coradas em tons de rosa. No contexto da coloração do tecido dentário, a eosina cora o citoplasma, os espaços extracelulares e as fibras de colágeno, já a hematoxilina é utilizada na análise da vitalidade celular devido a presença de núcleos íntegros (corado em azul) que indica preservação celular (Sato, 2023). Portanto, ao analisar a intensidade da coloração rosa na dentina pode deduzir a quantidade de colágeno remanescente, validando a perda da matéria orgânica de modo visual.

Figura 9. Coloração por Hematoxilina-Eosina (H.E.) de uma polpa coronária Dentária.



Fonte: Widbiller et al., 2021

(a) com odontoblastos em múltiplas fileiras; (b) polpa radicular; (c) única camada de odontoblastos (d) polpa radicular. Na fotomicrografia em (d) observa-se uma visão ampliada da interface dentina-polpa, revelando a pré-dentina, que apresenta um tom mais claro de rosa e, portanto, pode ser distinguida da dentina previamente mineralizada (asterisco). Os quadros em (a) e (c) representam vistas de (b) e (d). Escalas: 200  $\mu\text{m}$  (a,c), 50  $\mu\text{m}$  (b,d).

Um estudo conduzido por Peer e colaboradores (2024) teve como objetivo analisar os efeitos da carbonização e da calcinação no tecido dentário humano. A metodologia consistiu na análise microscópica de alta resolução para examinar o padrão de degradação estrutural em dentes antes e após a queima. Os resultados comprovaram a validade do método de microscopia, revelando que a carbonização causou desorganização estrutural e fissuração e a calcinação a destruição total da estrutura de colágeno e pulverização dos túbulos dentinários. De maneira análoga, Cindy Maki Sato (2023), em sua defesa de dissertação, teve como objetivo estimar o intervalo *post mortem* mínimo em situações forenses por meio da análise histológica dos dentes. A metodologia se baseou na análise do complexo dentinopulpar, examinando padrões de alterações celulares na polpa e na dentina em decorrência do enterramento e submersão, representando diferentes cenários tafonômicos. Nessa pesquisa, foram utilizados 110 dentes divididos em grupo controle, 1 mês, 3 meses e 6 meses. O grupo controle foi mantido em temperatura ambiente, já os demais foram inumados e submersos. Para a análise histológica, foram usados corantes picrossirius Red, para observar a degradação do colágeno e Hematoxilina e Eosina (HE) a fim de observar alterações morfológicas nos tecidos pulpares, pré dentina, cemento e ligamento periodontal. Os resultados permitiu correlacionar as alterações histológicas com o tempo de exposição, estabelecendo que a perda progressiva de estruturas como ligamento periodontal e a pré dentina, e a degradação quantificada do colágeno, estão diretamente ligadas ao tempo transcorrido após a morte. Dessa forma validando o uso da técnica histológica na estimativa de tempo *post mortem*.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Desenho de estudo**

O estudo será realizado de forma experimental utilizando grupos de dentes 2º, 3º, 4º pré-molares e 1 molar serão extraídos de *Sus scrofa domesticus* e serão submetidos a um processo de queima em forno do tipo mufla. Após essa primeira etapa os dentes queimados serão enterrados em dois diferentes tipos de solo, orgânico e arenoso, sendo desenterrados após 1 mês, posteriormente passando por diferentes análises.

### **4.2 Considerações éticas**

O projeto não necessitará de aprovação prévia da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Essa dispensa é justificada, pois as amostras de mandíbulas e dentes serão obtidas através de doação e são advindas de animais já abatidos para destinação de consumo de carne suína, sendo o material considerado resíduo destinado ao descarte. O material será coletado no Matadouro Industrial MS LTDA, localizado em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, uma empresa que opera na indústria de Manufatura de Alimentos, Bebidas e Tabaco (classificação ISIC 10).

### **4.3 Procedimentos experimentais**

Para as análises, os dentes dos grupos experimentais que serão utilizados serão provenientes de porcos jovens (10 a 12 meses de vida) de ambos os sexos e com peso acima de 100kg. Essas amostras serão divididas em um grupo controle (n=4) e em três grupos experimentais. O grupo controle não será submetido a queima e nem ao enterramento. o primeiro grupo experimental (DQ) irá ser submetido a queima em forno do tipo mufla a uma temperatura de 100°C por cerca de 30 minutos. Essa temperatura foi estabelecida após um ensaio piloto por uma análise termogravimétrica (TG) prévia. O segundo grupo, por sua vez, será apenas enterrado (DE) em dois tipos de solos, arenoso (DE-are) e argiloso (DE-arg), em um período de tempo de 1 mês. Por fim, o terceiro grupo

experimental será submetido a queima e posteriormente ao enterramento (DEQ), nas mesmas condições que o segundo grupo experimental, sendo um subgrupo enterrado em solo arenoso (DEQ-are) e argiloso (DEQ-arg). Após o período de 1 mês, os dentes serão desenterrados e todos os grupos serão analisados utilizando técnicas microscópicas convencionais com colorações Hematoxilina-eosina (HE) a fim de observar alterações microestruturais, como tunelamento e bioerosão.

#### **4.4 metodologia do objetivo 1 - Obtenção dos dentes Pré-Molares 2, 3 e 4 e Molar 1 da mandíbula de *Sus Scrofa domesticus***

Os dentes pré-molares (2,3,4) e o molar da mandíbula inferior serão obtidos através de doações do abatedouro industrial localizado na cidade de Vitória de Santo Antão. A extração seguirá um processamento específico a fim de preservar as raízes e o cimento para a análise histológica. Inicialmente, as mandíbulas serão submersas a uma solução com água e detergente para um processo de maceração controlada com o intuito de acelerar o amolecimento de tecidos moles, em seguida, será enterrada superficialmente por um período de 3 dias. Essa etapa de preparo otimiza o tempo de extração e reduz o risco de fratura da raiz durante a avulsão. Posteriormente, será necessária a realização de osteotomia para acesso e remoção dos dentes, com auxílio da Dremel (instrumental rotatório). Será feito um desgaste do osso nas faces vestibular, mesial e lingual dos dentes. Por fim, será feito o processo de avulsão (deslocar e remover os dentes) após o enfraquecimento do osso ao redor. Esse protocolo garante que o dente seja removido por inteiro preservando a raiz e o cimento, que são cruciais para as suas análises histológicas



Figura 10. Mandíbula de *Sus scrofa domesticus*



Fonte : Autores (2024)

#### 4.5 metodologia do objetivo 2- Aplicar técnica de Termogravimetria (TG) para estabelecer a temperatura de queima dos dentes

Essa técnica tem como principal objetivo analisar a decomposição térmica de diferentes componentes (Mitić et al., 2017). No presente estudo, serão feitos pequenos cortes na raiz dos dentes (pré-molares 2, 3, 4 e molar), os quais serão submetidos a uma pesagem até que se obtenha cerca de 20 mg de fragmentos. Após essa preparação inicial, as amostras serão submetidas à análise termogravimétrica utilizando o equipamento Mettler Toledo TGA 2 Star System. A amostra será adicionada a um recipiente resistente a altas temperaturas. O equipamento será configurado para que a temperatura desejada seja inserida, se estendendo a uma faixa de 30°C a 1000°C, aumentando 30°C/min sob um fluxo de 20 mL/min de nitrogênio, para evitar reações termo-oxidativas. O equipamento irá registrar a variação da massa em função da temperatura, dessa forma tem-se a temperatura de degradação dos componentes e um parâmetro de temperatura máxima no qual os dentes serão submetidos a queima no Forno tipo mufla

posteriormente. Através da TGA será possível determinar a curva de perda de massa e as temperaturas iniciais de degradação (Tonset), temperatura final de degradação (Tendset), temperatura máxima de degradação (Tdeg\*max) e percentual de resíduo dos dentes 2º Pré-molar (2PM), 3º Pré-molar (3PM), 4º Pré-molar (4PM) e 1º Molar (1M). Os dados do TG serão dados em gráficos e plotados no software Origin.

#### **4.6 metodologia do objetivo 3- Comparar alterações tafonômicas macroscópicas dos dentes pré - queima e pós - queima.**

Todos os dentes serão submetidos a uma análise prévia antes do experimento. As amostras serão fotografadas e mensuradas individualmente, registrando suas dimensões e massa iniciais. Posterior ao processo de queima, os dentes serão novamente analisados por todas as etapas. Novas fotografias, mensurações e pesagens serão realizadas para registrar a massa final e as alterações macroscópicas e morfológicas. Este procedimento tem como objetivo principal comparar as variações morfológicas, no peso e nas dimensões dos dentes após a exposição a altas temperaturas.

#### **4.7 Metodologia do objetivo 4 - Analisar possíveis evidências de bioerosão e tunelamento bacteriano e fúngico após desenterramento através da coloração Hematoxilina e eosina (HE)**

##### **4.7.1 - Preparação da amostra dentária e descalcificação.**

Para este procedimento, será utilizado um grupo de dentes do segundo pré-molar, previamente identificados. Esta metodologia incluirá a análise de quatro subgrupos experimentais : grupo apenas enterrado em dois tipos de solo, o arenoso (DE-are) e argiloso (DE-arg); grupo queimados e enterrados, neste subgrupo os dentes queimados e posteriormente enterrados nos dois tipos de solo (DEQ-are e DEQ-arg) serão submetidos a este processo. A preparação inicial da amostra consistirá na fixação em formaldeído a 4% durante 24 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, para facilitar o corte, a descalcificação será realizada em uma solução aquosa de ácido clorídrico a 5% por 3 dias. Após esse processo, os dentes serão lavados em água corrente por 10 horas para remover o

excesso de ácido.

#### **4.7.2 - Processamento e Emblocagem**

O dente já descalcificado será submetido ao processo de inclusão, que consistirá em uma série de etapas para desidratar o tecido e em seguida infiltrar com parafina. As amostras serão submetidas a uma bateria de álcoois em concentrações crescentes (70%,80%,90% e 100%), permanecendo por 1 hora em cada solução. Em seguida se faz necessário retirar o excesso de álcool do recipiente para adicionar o xilol. A amostra será submetida a dois banhos de xilol: o primeiro durará 45 minutos para a etapa de clarificação, e posteriormente o segundo banho durará 1 hora em solução de xilol e parafina em proporções iguais. Para a infiltração final a amostra será deixada em parafina durante uma noite para que em seguida seja feita a emblocagem utilizando um bloco de parafina.

#### **4.7.3 - Microtomia e Montagem das Lâminas**

Os cortes histológicos serão cortados em seções finais, com espessura de 3µm, utilizando um micrótomo LEICA RM 2125 RT com navalha LEICA 818. A seguir, serão estirados em banho-maria histológico, dispostos em lâminas untadas com albumina de Mayer e levados à estufa por 30 minutos, a 37° C, para secagem. Posteriormente, serão corados pela Hematoxilina-Eosina (HE).

#### **4.7.4 - Coloração com Hematoxilina-Eosina (HE)**

As lâminas serão submetidas ao processo de desparafinização, será feito dois banhos de xilol por 7 minutos cada, seguida serão hidratadas em uma série de banhos de álcoois em concentrações decrescentes (100%,90%,80%,70%) a amostra ficará 6 minutos em cada solução. Após esse processamento as amostras serão lavadas em água destilada por 5 minutos. A coloração terá início com a imersão em hematoxilina por 18 minutos, seguida de lavagem em água corrente por 5 minutos. Por fim, as lâminas serão coradas com Eosina por 30 minutos

#### **4.7.5- Montagem Final e análise microscópica.**

Após a coloração as lâminas serão desidratadas em um processo de banhos de álcoois em concentrações crescentes (70%,80%,90%,100% com duas imersões no álcool a 100% por 1 minuto de cada). As amostras serão diafanizadas em xilol por meio de dois banhos, para tornar o tecido transparente. Após a remoção do xilol, o bálsamo será aplicado e a lamínula serpa imediatamente colocada sobre a amostra.

As lâminas coradas serão examinadas para avaliar as alterações morfológicas e fotografadas em microscópio de luz LEICA ICC50 HD (Jaegger, 2015). As bactérias podem promover uma alteração denominada “ destruição focal microscópica (MFD), esta pode ser classificada como bioerosão, que é caracterizada pela perda de estrutura do esmalte ou dentina devido a ação de ácidos (Rossi et al., 2007), na microscopia observa-se áreas de desmineralização e irregularidades na superfície do dente (Rossi et al., 2007). Esse processo de bioerosão pode ser longitudinal, linear, brotado e lamelado. O tunelamento refere-se a formação de túneis ou canais dentro da dentina, geralmente provocados por fungos. O grau de bioerosão é avaliado pelo padrão Oxford Histological Index (OHI), tendo um parâmetro de 0 a 5, sendo o 0 indicando má preservação e o 5 ótima preservação.

#### **4.8. Análise estatística**

A análise estatística foi feita pelo software GraphPad Prism 8, com o nível de significância de  $p < 0,05$  para a rejeição da hipótese nula. Inicialmente, todos os dados foram submetidos à estatística descritiva, apresentando média, mediana e desvio padrão. A análise inferencial focou na variação de peso e dimensões dos dentes, foram medições repetidas dos mesmos dentes em cenários diferentes. Após a verificação da distribuição não normal dos dados, o teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi selecionado para comparar as múltiplas colunas. Apesar da ANOVA ter sido a primeira escolha para dados paramétricos, a distribuição não normal confirmou a escolha do Kruskal-Wallis. Quando as diferenças significativas foram identificadas, aplicou-se múltiplas comparações post-hoc (comparação entre

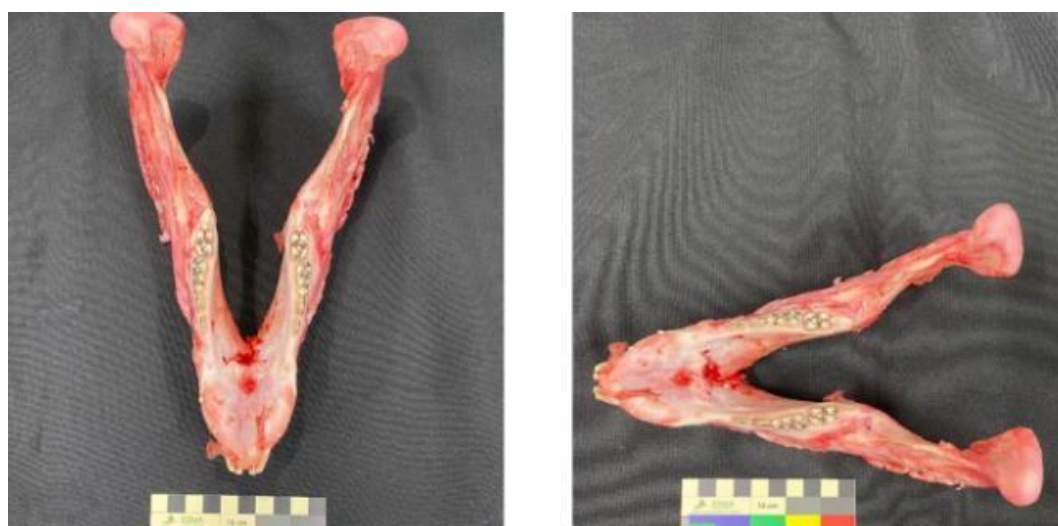
todas as colunas) para apresentar quais partes do grupo (pré - queima, pós-queima enterrados) apresentavam diferenças estatisticamente significativas. Os resultados quantitativos, incluindo os gráficos de variação de peso, foram elaborados no software GraphPad Prism 8 para a clara visualização dos resultados

## 5. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção dos dentes de *Sus scrofa domesticus*

A primeira etapa da pesquisa teve como resultado a obtenção dos dentes da mandíbula de *sus scrofa domesticus*. Os dentes extraídos foram os Pré molares 2, 3 e 4 e 1º Molar. Os dentes do porco possuem similaridade com tecidos dentários humanos, portanto o dente foi escolhido como material de estudo, sendo crucial para análises tafonômicas. Para garantir uma amostra com qualidade, foi feito protocolo de extração, a fim de preservar estruturas dentárias, como o cemento, a dentina e as raízes. Essas estruturas foram obtidas em estado íntegro para que as análises subsequentes fossem feitas de forma efetiva. O processo iniciou-se com a coleta das mandíbulas, conforme ilustrado na figura 11, seguida por um preparo que combinou maceração controlada (água e detergente) e sepultamento superficial por três dias. Essa etapa foi feita para amolecer os tecidos orgânicos e otimizar a posterior avulsão, dessa forma minimizando o risco de danos estruturais.

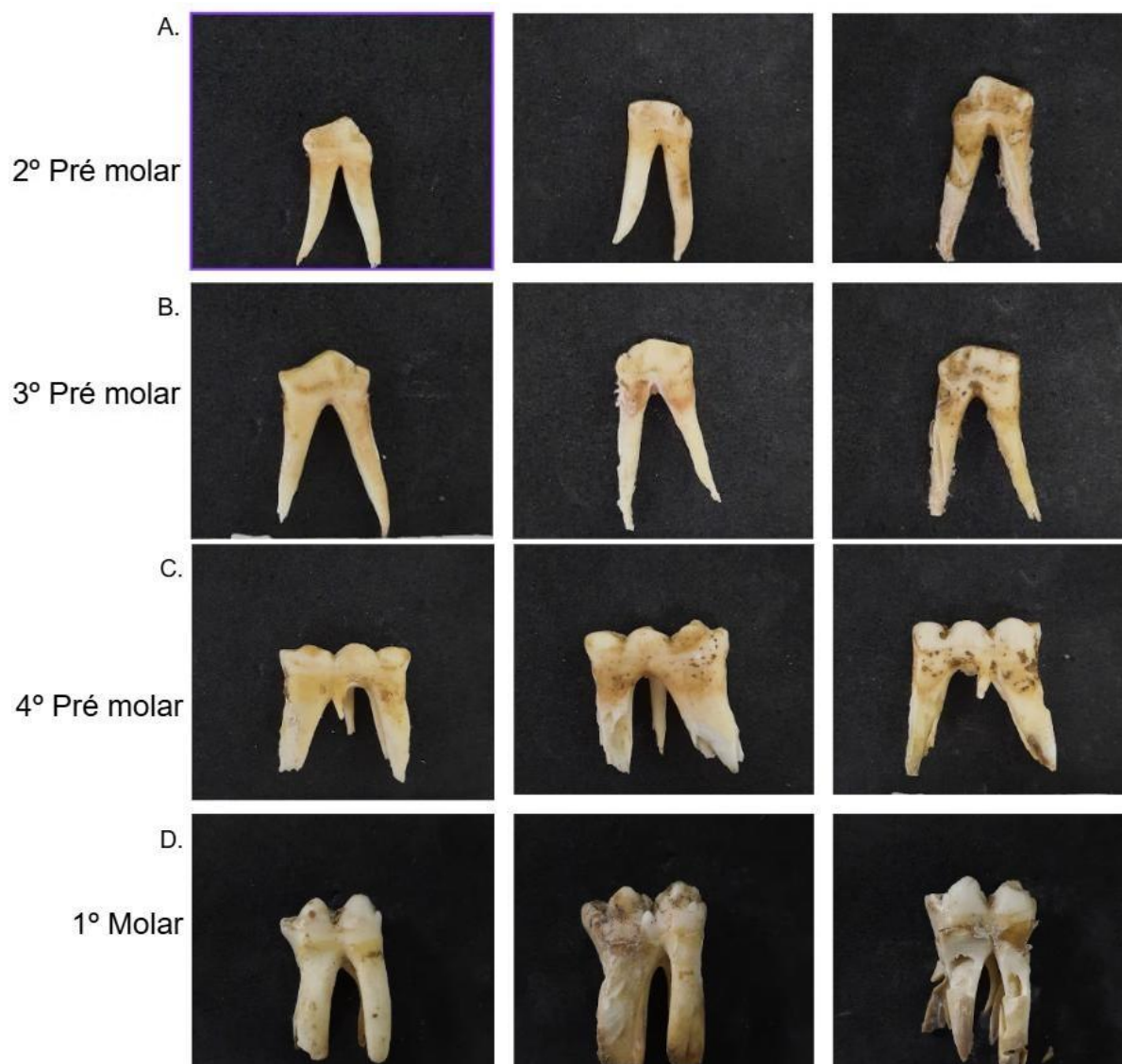
**Figura 11.** Mandíbulas de *Sus scrofa domesticus* (porco doméstico) após o preparo inicial.



Fonte : Autor (2025)

A etapa mais crucial da coleta foi feita a partir da osteotomia controlada, na qual o instrumento rotatório (Dremel), um equipamento que atua como um micromotor, foi empregado para o desgaste preciso do osso da face. Esta técnica de desgaste é fundamental em princípios que visam a mínima agressão ao tecido ósseo. Estudos comparativos (Pereira et al., 1996) demonstraram que a osteotomia realizada com emprego de micromotor provocou menores alterações no tecido ósseo, sendo , portanto o método mais adequado. A escolha dessa metodologia de corte controlado garantiu que o osso fosse enfraquecido, permitindo a avulsão efetiva com o mínimo de trauma, e que preservasse as estruturas essenciais do tecido dentário. A figura 12 demonstra o sucesso do protocolo, apresentando a bateria de elementos obtidos com integridade de raiz e cimento.

**Figura 12.** Dentes obtidos a partir da mandíbula de *Sus scrofa domesticus* por osteotomia controlada.



Fonte: Autor (2025). A figura apresenta as amostras de trabalho com foco na preservação da integridade radicular e do cemento. Os dentes foram agrupados por tipo, sendo: (A) Pré-molares 2, (B) Pré-molares 3, (C) Pré-molares 4 e (D) Molares 1.

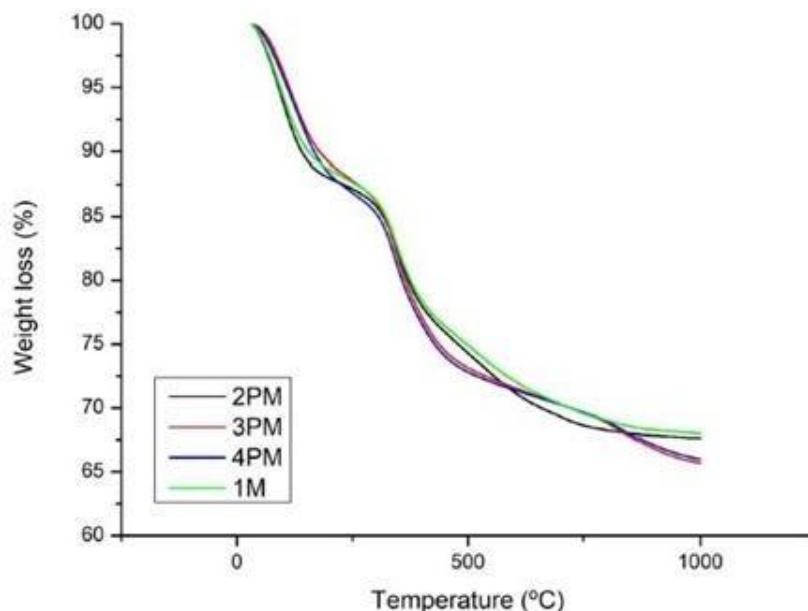
## **5.2 Análise termogravimétrica e caracterização da estabilidade térmica**

A integração dos resultados obtidos através das análises químicas, morfológicas e termogravimétricas reforça a relevância da resistência térmica dos tecidos dentais como uma ferramenta útil para investigações forenses e arqueológicas. A partir do processo termogravimétrico (TGA) foi possível quantificar a perda de massa e a estabilidade térmica da estrutura dentária em função do aquecimento controlado, simulando a exposição ao fogo. Desta forma, a análise em dentes queimados fornece subsídios importantes para compreender os efeitos do calor sobre tecidos mineralizados, de forma semelhante ao que ocorre em ossos. Assim como confirmados em estudos arqueológicos, a exposição progressiva a altas temperaturas resulta em modificações estruturais e químicas que podem ser monitoradas pela perda de massa em diferentes estágios de aquecimento (Stiner et al., 1995)

A curva de decaimento de massa em função da temperatura, apresentada na figura 13, demonstra um perfil de degradação com diversas etapas, que caracterizam a perda progressiva dos componentes orgânicos e inorgânicos presentes na estrutura dentária. Foi possível estabelecer as temperaturas iniciais, final e máxima de degradação, além do percentual de resíduo dos dentes 2° Pré molar (2PM), 3° Pré-molar (3PM), 4° Pré-Molar (4 PM) e 1° Molar (1M).



**Figura 13:** Curva termogravimétrica (TG) e Curva da Primeira Derivada (DTG) dos dentes.



Fonte: autores (2025) . O gráfico apresenta, no eixo Y esquerdo, a curva termogravimétrica (TGA) , que quantifica a perda de massa relativa (%) da amostra em função da temperatura (°C), disposta no eixo X. No eixo Y direito, a curva da primeira derivada (DTG) ilustra a taxa máxima de perda de massa, permitindo a identificação dos picos de decomposição. O perfil exibe três eventos de degradação : perda inicial de água (<200°C), a decomposição da matriz orgânica (341,17 °C) e alterações ou estabilização do componente mineral (> 600°C). O platô final demonstra o percentual de resíduo inorgânico. Foram analisados os dentes : 2° Pré Molar (2PM) , 3° Pré Molar (3PM), 4° Pré-molar (4PM) e o 1°Molar (1M).

A curva TGA evidencia três eventos principais de perda de massa. Na faixa de 100°C ocorre o primeiro declínio, devido à evaporação da água adsorvida no dente. A fase onde a perda de massa é mais evidente é na segunda fase, pois entre 200°C e 600°C o colágeno é degradado (principal componente da matriz orgânica) (Castillo et al., 2013). Por fim, um declínio mais gradual é observado em temperaturas maiores que 600°C, que é compatível com alterações estruturais da fase mineral, como a recristalização da hidroxiapatita (Peer ; Sarig, 2024).

A quantificação dos processos térmicos, resumida na tabela 2, permitiu a determinação de parâmetros para cada tipo de dente analisado. A principal perda

de massa para a maioria das amostras (3PM, 4PM e 1M) possui seu pico máximo de degradação em  $T_{deg*max} = 341,17^{\circ}C$ . Dessa forma, é possível relacionar que nessa faixa de temperatura ocorre a degradação da matéria orgânica, principalmente do colágeno, alinhando-se à faixa em que o colágeno sofre carbonização, possibilitando a visualização de alterações macroscópicas estruturais (Peer ; Sarig, 2024).

**Tabela 2:** Comparação das temperaturas iniciais de degradação ( $T_{onset}$ ), temperatura final de degradação ( $T_{endset}$ ), temperatura máxima de degradação ( $T_{deg*max}$ ) e percentual de resíduo dos dentes 2º Pré-molar (2PM), 3º Pré-molar (3PM), 4º Pré-molar (4PM) e 1º Molar (1M).

Amostra	$T_{onset} (^{\circ}C)$	$T_{endset} (^{\circ}C)$	$T_{deg*max} (^{\circ}C)$	Resíduo (%)
2PM	106,20	113,39	109	67,62
3PM	338,10	344,41	341,17	65,70
4PM	337,42	345,09	341,17	66,00
1M	338,02	339,38	341,17	68,01

Fonte : autores (2025).

Os dados termogravimétricos estabelecem uma correlação da temperatura com alterações morfológicas dentárias, seja microscópica ou macroscópica. Contudo, a análise dos resultados indicam que, mesmo após o processo de queima, os dentes mantêm uma resistência estrutural até determinadas temperaturas. Alterações morfométricas e aparecimento de fraturas radiculares são observadas na faixa de  $100^{\circ}C$ , devido a perda de água livre e fracamente ligada (Peer; Sarig, 2024). Esse processo é significativo, como visto no trabalho de Holager (1970) que demonstrou quantitativamente a perda de 9,7% da massa da dentina, apenas pela volatilização da água. O tecido mineral quando submetido a desidratação desenvolve estresse tensional que resulta em microfraturas iniciais (Peer ; Sarig, 2024)..

O Parâmetro mais importante para alterações estruturais é a degradação

do colágeno, que ocorre no pico de degradação máxima ( $T_{deg}^{*max}$ ) a 341,17°C, podendo variar entre 200°C a 600°C em amostras molares e pré molar (Lozano-Peral et al. , 2020) .Essa significativa perda de massa é atribuída à decomposição do colágeno, que foi quantitativamente apoiado pelos dados de Holager (1970), que observou uma perda de massa de aproximadamente 21,3% na dentina próxima aos 300°C, confirmando que este é o estágio principal da volatilização proteica. Esta fase está intimamente relacionada com a carbonização das amostras, pois é uma consequência direta da degradação do colágeno que torna o tecido dentário mais frágil e suscetível a fragmentação, além de alterações na coloração. A fragilidade das estruturas dentárias pós processos de queima é um fator crítico na recuperação de amostras no contexto forense (Castillo et al., 2013).

Através dos resultados de percentual de resíduo (65 % ,70% e 68,01%) pode-se inferir que as amostras , mesmo após o processo de queima, possui uma alta composição mineral que confere resistência relativa ao processo térmico, em comparação com os ossos longos (Castillo et al., 2013). Essa característica é atribuída à matriz mineral que compõe o tecido dentário, como a hidroxiapatita (Peer ; Sarig, 2024). O TGA, ao fornecer valores termométricos quantitativos, oferece um método objetivo para estimar a temperatura mínima de exposição , auxiliando na caracterização tafonômica e forense de amostras submetidas a processos de queima (Lozano-Peral et al., 2020).

### **5.3 Alterações Macroscópicas e Variação Quantitativa de Massa e Dimensões**

Diante dos resultados obtidos a partir da análise termogravimétrica foi estabelecido um padrão de queima de 100°C. As análises de amostras submetidas à queima e ao enterramento mostraram alterações morfológicas significantes. A partir da correlação da perda de massa e variações dimensionais com observações macroscópicas, pode-se estabelecer uma abordagem abrangente para a reconstrução de eventos *post mortem* e caracterização tafonômica (Ubelaker, 2018). As alterações morfológicas de amostras expostas a altas temperaturas são evidentes, conforme ilustrada na figura 14.

**Figura 14.** Fotografias dos dentes de *Sus scrofa domesticus* pré-queima (A), submetidos a queima a 100°C por 30 minutos (B) e submetidos a queima a 400°C por 1 hora (C) .



Fonte : autores (2025)

Observa-se fraturas radiculares nos dentes submetidos a queima de 100°C por 30 minutos (seção B), porém nessa faixa de temperatura as amostras não apresentaram alteração de cor. Portanto, a fragilidade demonstrada por essas amostras está relacionada pela perda inicial de água adsorvida e estrutural (Peer ;

Sarig, 2024).

Já as amostras submetidas à queima de 400°C por 1 hora (seção B) demonstraram alteração de coloração para tons acinzentados e enegrecidos, e consequentemente um aumento da fragilidade estrutural após o processo de combustão. Tais alterações refletem a degradação de componentes orgânicos e inorgânicos. O processo de carbonização tem como principal resultado macroscópico a mudança da cor, que é evidenciada pela progressão de coloração que vai de marrom/preto ; azul -cinza e branco gredoso ( calcinação). Tal processo é um indicador do aumento da temperatura ou duração da exposição (Galloway et al., 2024). A transição de cor representa uma característica da exposição térmica que delimita etapas de alterações, variando de condições inalteradas , para a calcinação (Schmidt ; Symes , 2008).

As alterações não ocorrem de forma uniforme no dentes, isso ocorre devido a composição do tecido dentário que apresenta uma resposta heterogênea, similar ao que ocorre em ossos (Schmidt ; Symes , 2008). A dentina tende a escurecer rapidamente por possuir um maior grau de composição orgânica, entretanto o esmalte composto majoritariamente por componentes inorgânicos tende a demonstrar mudanças iniciais sutis. O esmalte, pode exibir a coloração escura da dentina , por conta da transparência. A diferença dos constituintes da dentina e esmalte explica a coloração heterogênea que pode ser observada em um único dentes (Schmidt ; Symes , 2008).

O colágeno é um componente que oferece elasticidade ao tecido, quando exposto à temperatura de 400°C esse componente é degradado, que resulta em uma fragilidade estrutural observada nas amostras (seção C). Os padrões de fraturas se assemelham aos de amostra óssea, porém se apresentam de maneira própria nos dentes. Na coroa, a alta temperatura induz fraturas que tendem a seguir as linhas de maior estresse ou menor resistência, já o esmalte pode rachar ao longo dos sulcos naturais da superfície de mastigação (rachaduras oclusais) ou falhar na junção cimento-esmalte. Nos dentes pré molares e molares, as coroas partem-se de forma longitudinal, ou transversalmente. Já nas raízes onde há perda do conteúdo orgânico e umidade, as fraturas são transversais, ou seja, vão de um lado a outro da estrutura. Esse processo pode gerar pequenos fragmentos

advindos dessa fraturas, que são circulares empilhadas são conhecidas como seções anelares (Schmidt ; Symes , 2008).

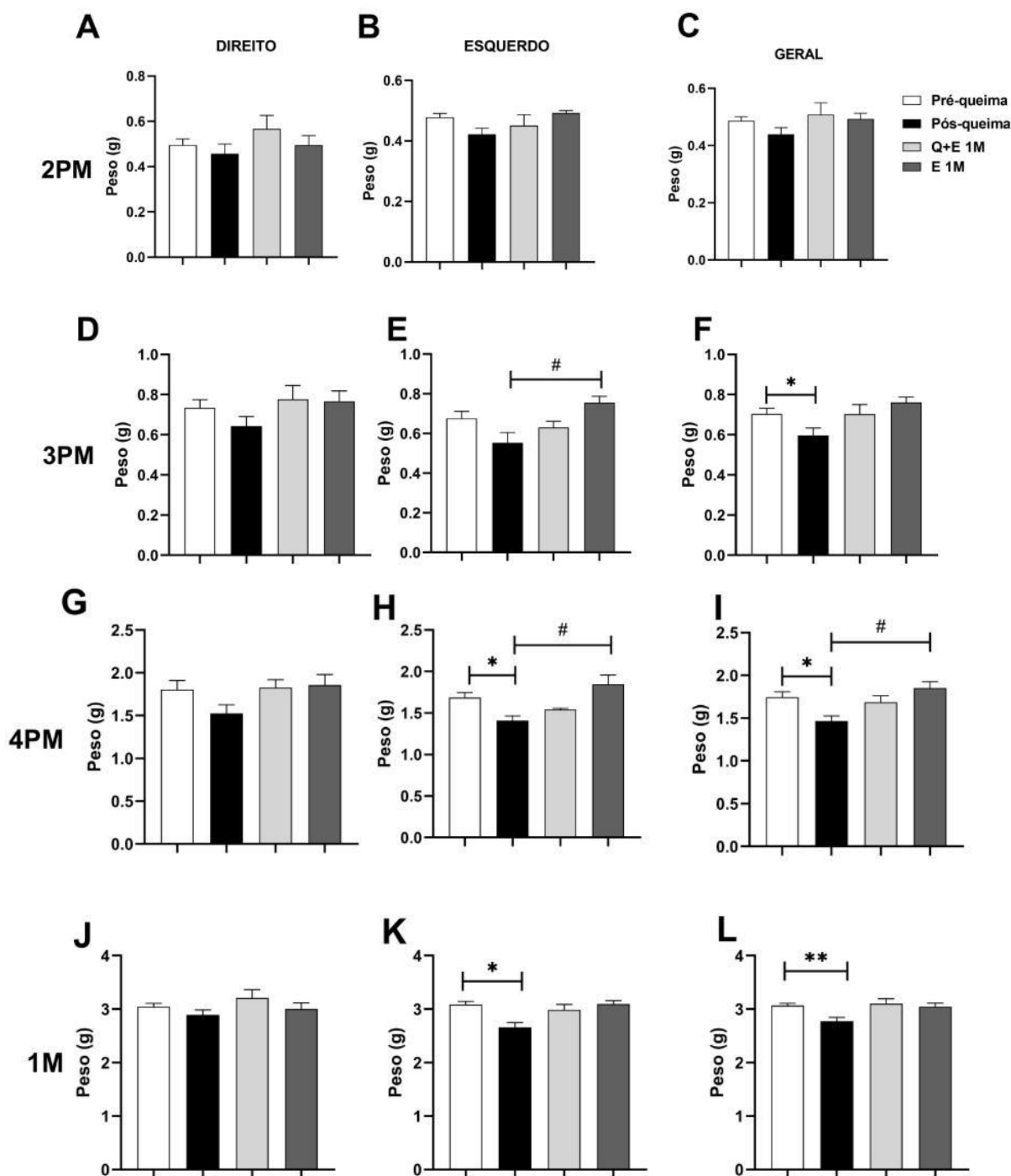
A proteção anatômica desempenha um papel fundamental na preservação e na manifestação da cor. O osso alveolar protege a raiz de processos de degradação, quando relacionados à exposição a altas temperaturas. Tal proteção resulta em raízes multicoloridas, onde a porção que está imersa no osso alveolar é preta e a parte exposta (coronal) se torna cinza ou branca (Schmidt ; Symes , 2008).

### **5.3.1 Resultados Quantitativos: Perda de Massa e Alterações Dimensionais**

A exposição à queima e o processo de enterramento promove alterações significativas no tecido dentário, como a perda de massa e nas dimensões. Tais alterações podem ser observadas de forma quantitativa, e servem como indicadores diretos do balanço tafonômico final. Amostras submetidas a altas temperaturas tendem a ficar mais frágeis e porosas, devido a degradação do material orgânico no processo de carbonização. Essas características favorecem a interação diagenéticas da amostra com o ambiente à qual está inserida (Kontopoulos et al., 2016; Sluis et al., 2025).

A figura 15, demonstra que os dentes queimados interagem com o ambiente após o enterramento. É possível observar dois comportamentos diferentes nessa fase. Em algumas amostras, especialmente as queimadas a 100°C e enterradas, houve um aumento de peso, que indica a absorção de água e minerais do solo pelo material. Tal achado indica que após o processo de carbonização, o tecido dentário torna-se mais poroso, dessa forma conseguindo reter umidade e elementos do ambiente. Por outro lado, algumas amostras queimadas na mesma temperatura perderam peso, que sugere que o resultado final depende do equilíbrio entre a perda de material orgânico causada pelo calor e o processo natural de infiltração e lixiviação que ocorre durante o enterramento.

**Figura 15.** Variação de massa dos dentes queimados e enterrados

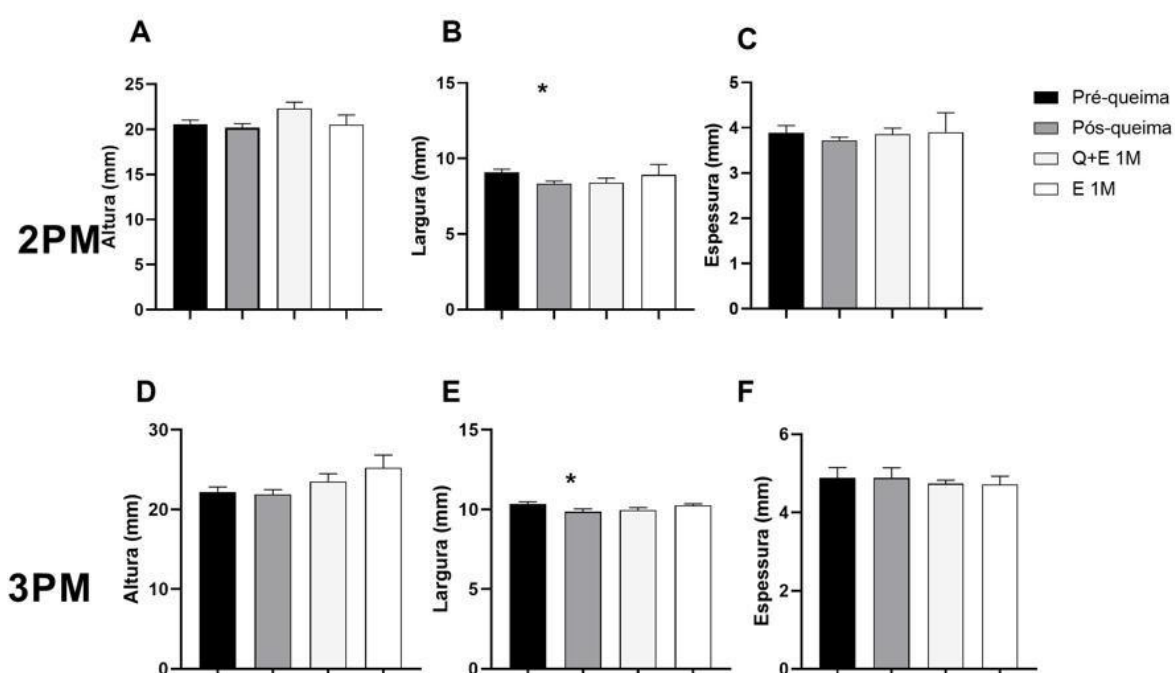


Fonte : autores (2025). Variação do peso (em gramas) dos dentes 2° Pré-molar (2PM), 3° Pré-molar (3PM), 4° Pré-molar (4PM) e 1° Molar (1M) nos grupos pré-queima, pós-queima, queimado e enterrado por 30 dias (Q+E 1M) e enterrado por 30 dias (E 1M). Os valores estão expressos em média e erro padrão, considerando 14 dentes nos grupos pré-queima e pós-queima e 3 dentes no grupo enterrado. Observa-se redução significativa do peso após a queima (\* $p < 0,05$ ) e aumento significativo após o período de enterramento (# $p < 0,05$ ), conforme o teste de Kruskal-Wallis. Esses

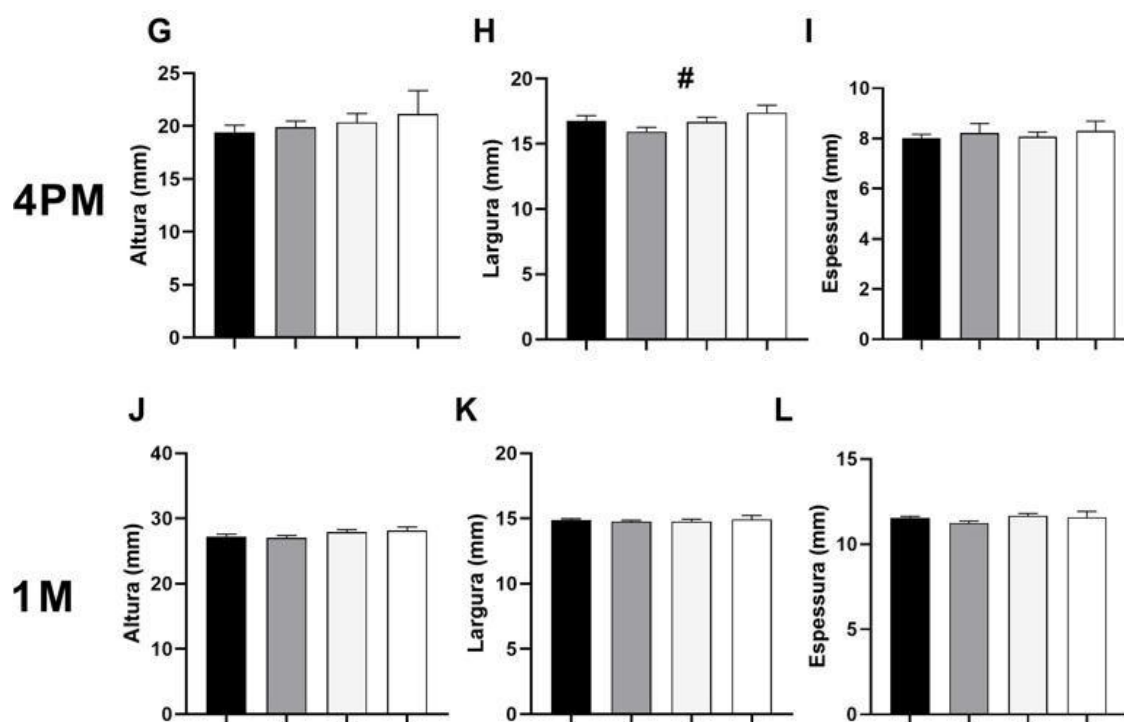
resultados indicam perda de massa associada à desidratação e decomposição térmica, seguida de ganho de peso devido à infiltração de umidade e minerais durante o enterramento.

A Figura 16 apresenta mudanças nas medidas dos dentes. A queima a 100°C causou a contração do material, principalmente na largura da coroa e da raiz (Peer ; Sarig, 2024). Porém, após o enterramento, algumas amostras tiveram um aumento nessas dimensões. Isso ocorre devido a absorção da água e minerais pelo dente, preenchendo os espaços deixados pela queima. Esse resultado é importante, pois demonstra que as dimensões do dente são alteradas não apenas por causa da temperatura, mais também pelos processos que ocorrem no solo depois do enterramento. Por isso, essas alterações precisam ser consideradas em análises forenses que envolvem medições de dentes (Schmidt ; Symes, 2008).

**Figura 16.** Variação dimensional dos dentes queimados e enterrados.





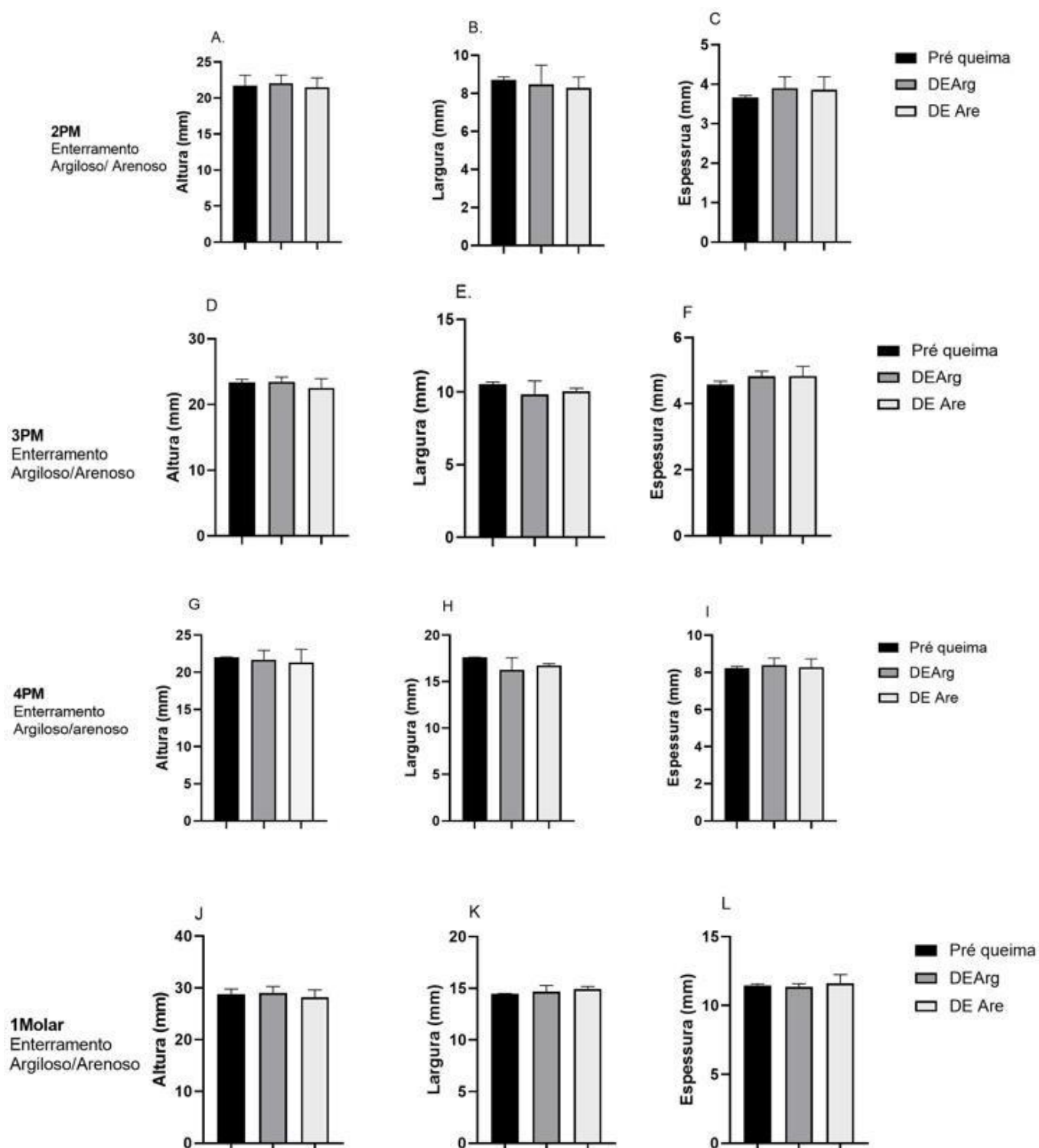


Fonte : Autores (2025). As linhas representam os dentes 2º Pré-molar (2PM), 3º Pré-molar (3PM), 4º Pré-molar (4PM) e 1º Molar (1M). Os resultados foram expressos em média e erro padrão de 14 dentes dos grupos pré-queima e pós-queima e 3 dentes no grupo enterrado por 30 dias. \* Diminuição significativa com valor de  $p < 0,05$  do grupo pós-queima em relação grupo pré-queima pelo teste de Kruskal-wallis; # Aumento significativo com valor de  $p < 0,05$  do grupo enterrado por 30 dias em relação ao grupo pós queima pelo teste de Kruskal-wallis.

### 5.3.2 Influência do Tipo de Solo nas Alterações Dimensionais em dentes íntegros

Nesta etapa foi realizada uma análise comparativa dos dentes enterrados no solo argiloso e arenoso, a fim de verificar possíveis alterações em um período de 30 dias. Os resultados demonstraram estabilidade quando relacionado a alterações macroscópicas. Ao analisar estatisticamente, obteve-se uma variação percentual média da altura, largura e espessura, em todos os dentes (2º Pré molar, 3º pré molar, 4 pré molar e 1º Molar) que foram próximos de zero.

**Figura 17.** Variação percentual das dimensões de dentes não queimados após enterramento no período de 30 dias em solo argiloso e arenoso



Fontes : Autores (2025). A análise das dimensões dos dentes íntegros demonstrou alta estabilidade em um período de 1 mês, sendo observadas poucas variações nas dimensões. A variação percentual média da altura, largura e espessura em todos os 4 dentes (2°PM, 3°PM, 4°PM e 1° Molar ) se manteve próxima a 0%. O teste de Kruskal-Wallis confirmou esta estabilidade, indicando não haver diferença significativa entre os grupos pré-enterramento, enterrado em argiloso e enterrado em arenoso, com P-values superiores a 0,05 em todas as 12 comparações realizadas.

A análise do gráfico sugere que a alteração dimensional foi mínima, o que se confirma estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis. Foi comparado o grupo pré-enterramento com os grupos enterrados em solo argiloso e arenoso. O resultado demonstrou P-values superiores a 0,05 em todas as 12 análises dimensionais realizadas, conforme detalhado na tabela 3.

Tabela 3. Resumo da estabilidade dimensional de dentes íntegros

Dente	Dimensão	P-value Kruskal-Wallis (H)	Conclusão Estatística (P>0,05)
2° Pré-Molar	Altura	0,975	Não Significativo (ns)
	Largura	0,8643	Não Significativo (ns)
	Espessura	0,5429	Não Significativo (ns)
3° Pré-Molar	Altura	0,8071	Não Significativo (ns)
	Largura	0,2857	Não Significativo (ns)
	Espessura	0,2714	Não Significativo (ns)
4° Pré-Molar	Altura	0,8964	Não Significativo (ns)
	Largura	0,1643	Não Significativo (ns)
	Espessura	0,8964	Não Significativo (ns)
1° Molar	Altura	0,9464	Não Significativo (ns)
	Largura	0,425	Não Significativo (ns)
	Espessura	0,7857	Não Significativo (ns)

Fonte : Autores (2025). O P-value em todas as comparações foi superior a 0,05, indicando que não há diferença significativa nas dimensões do dente íntegro com os enterrados nos solos argiloso e arenoso

O fato do P-value ser maior que 0,05 indica que a diferença observada nas dimensões não possui significância estatística, pois a probabilidade da variação ter ocorrido por coincidência é alta. Assim, aceita-se a hipótese nula, de que o enterramento no período de 30 dias não causou alteração dimensional significativa nos dentes íntegros.

A composição da estrutura dentária confere a essa amostra resistência, a qual foi retratada pela pouca variação dimensional. Tal afirmativa está de acordo com a literatura tafonômica, que reconhece o tecido dentário como uma das estruturas mais resistentes à degradação *post-mortem* (Sato, 2023). A alta

densidade mineral, e à proteção conferida pela matriz orgânica de colágeno induz a esse estado de preservação, tendo em vista que a matriz orgânica age como um escudo que limita a infiltração de fluidos e a lixiviação de minerais (Kontopoulos et al., 2016).

A ausência de alteração na altura, largura e espessura em um curto prazo (1 Mês) reflete um estágio inicial do processo tafonômico. A alteração macroscópica que leva a perda de massa e variação no tamanho dos dentes ocorre normalmente em um prazo mais longo (Galligani et al., 2019; Turner-Walker et al., 2023). Embora o ataque microbiano possa ser detectado em nível histológico em estágios iniciais, Kontopoulos e colaboradores(2016) demonstraram que a aparência macroscópica de um elemento mineralizado pode se manter preservada mesmo quando o ataque microestrutural está em curso.

Portanto, a falta de diferença estatística entre o solo argiloso e o solo arenoso neste grupo reforça a tese central do trabalho. A alta retenção de umidade do solo argiloso e a capacidade de drenagem do solo arenoso não foram suficientes para promover alterações estruturais significativas em dentes íntegros (Forbes et al., 2005; Dike et al., 2023). Dessa forma, a fragilidade estrutural induzida pela queima é o fator condicionante, que ao remover a matriz orgânica, permite que as propriedades do solo argiloso e arenoso exerçam uma influência diferencial e mensurável, mesmo quando exposto em um curto prazo de tempo.

A análise macroscópica da estrutura dentária confirmou os resultados estatísticos. Visualmente os dentes antes e após o enterramento nos solos argilosos e arenosos, demonstrou que houve preservação após 30 dias. A ausência de alterações macroscópicas visíveis reforça a hipótese de que, para dentes com a matriz orgânica íntegra, a alteração diagenética não é suficiente para causar uma degradação superficial considerável, que seja detectada visualmente (Galligani et al., 2019). Dessa forma, o dano térmico é considerado uma condição prévia que age como um facilitador para processos que promovem alterações estruturais nos dentes, sendo influenciado pelos diferentes tipos de solo.

**Figura 18.** Análise macroscópica comparativa de dente íntegro (não queimado) após enterramento no período de 30 dias.

**A. Pré queima**



**B. Enterrado argiloso (DE-arg)**



**C. Enterrado arenoso (DE-are)**



**D.**



Fonte: Autores (2025). (A) Dente antes do enterramento (Pré-Enterramento); (B) Dente pós-enterramento em Solo Argiloso (DE Arg); (C) Dente pós-enterramento em Solo Arenoso (DE Are). A ausência de alterações visíveis na morfologia externa e a manutenção da integridade da superfície corrobora a estabilidade estatística ( $P\text{-values} > 0,05$ ) obtida na análise quantitativa.

### **5.3.3 Influência do Tipo de Solo nas Alterações Dimensionais em dentes queimados**

O grupo de dentes submetidos ao processo de queima ( $100^{\circ}\text{C}$ ) e enterramento apresentaram alterações estruturais. Devido à uma temperatura relativamente baixa, o processo de degradação da matéria orgânica dentária (pirólise) não foi observado, contudo houve desidratação e estresse térmico que tornou o tecido dentário mais frágil e sensível às variações de umidade de solo (Sato, 2023). Os resultados estatísticos evidenciaram a vulnerabilidade relacionada a alterações dimensionais. O teste de Kruskal-Wallis, indicou diferenças estatisticamente significativas no eixo da largura para o 2° Pré-molar ( $P=0,0107$ ) e, de forma mais acentuada, para o 3° Pré-molar ( $P=0,0036$ ) (tabela 4). Ademais, o 3° Pré-molar apresentou significância limítrofe na variável massa ( $P=0,0500$ ), ou seja, significa que houve uma tendência de variação de massa, sugerindo uma possível relação entre perda de peso e alterações dimensionais observadas. Em contraste, dentes de maior densidade mineral e estrutura mais robusta, como o 1° Molar, mantiveram estabilidade completa ( $P>0,05$ ). Esses resultados demonstram que a vulnerabilidade dos dentes não pode depender apenas da exposição térmica, mas também de fatores anatômicos e da composição estrutural (Sato, 2023).

Tabela 4. Resumo dos valores de P (teste de Kruskal-Wallis) referentes à variação percentual média de dentes submetidos a 100 °C após 30 dias de enterramento

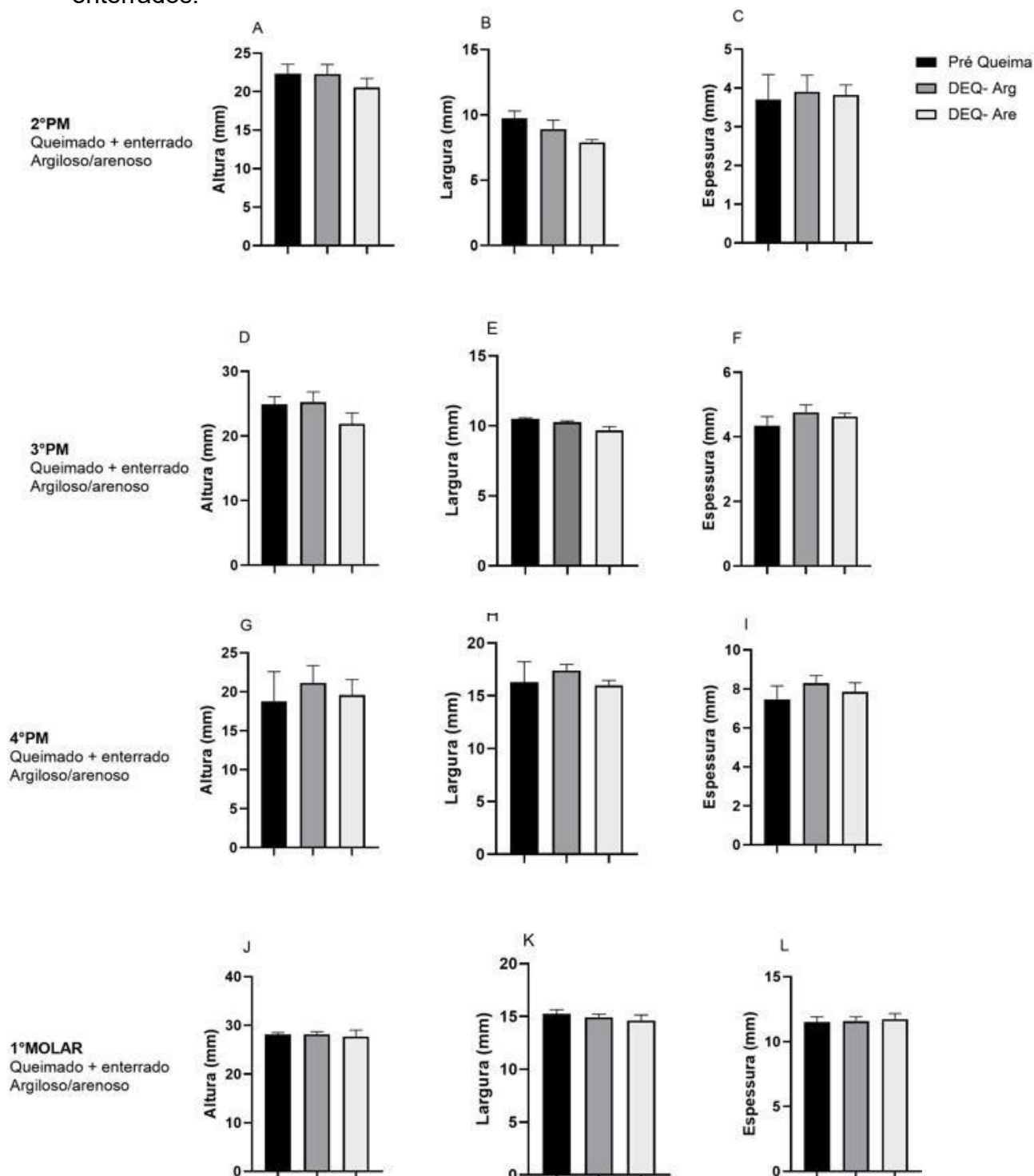
Dente	Dimensão	P-value	Significância (P<0,05)?
2º Pré-Molar	Altura	P > 0,05	Não
	Largura	<b>0,0107</b>	<b>Sim</b>
	Espessura	P > 0,05	Não
	Massa	0,1964	Não (Tendência)
3º Pré-Molar	Altura	P > 0,05	Não
	Largura	<b>0,0036</b>	<b>Sim</b>
	Espessura	P > 0,05	Não
	Massa	<b>0,05</b>	Marginal (Tendência Forte)
4º Pré-Molar	Largura	P > 0,05	Não
	Massa	<b>0,05</b>	Marginal (Tendência Forte)
1º Molar	Largura	P > 0,05	Não
	Massa	0,1964	Não

Fontes: Autores (2025). Valores de P (teste de Kruskal-Wallis) referentes à variação percentual média das dimensões e da massa de dentes submetidos à temperatura de 100 °C e enterrados por 30 dias. A tabela apresenta as dimensões analisadas (altura, largura, espessura e massa) e indica se houve significância estatística ( $P < 0,05$ ). Valores inferiores a 0,05 indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de solo; valores próximos a 0,05 são considerados marginais ou de tendência, sugerindo possível influência do tipo de solo, mas sem confirmação estatística robusta.

As principais alterações observadas ocorreram devido à re-hidratação da amostra, um processo físico-químico que ocorre no início do estágio tafonômico de 30 dias (Galligani et al., 2019). O solo argiloso demonstrou ter maior influência sob a amostra, por conta de sua propriedade de alta retenção de água e baixa drenagem (Forbes et al., 2005; Dike et al., 2023), dessa forma, fornecendo uma maior disponibilidade de fluídos. Essa absorção causou a re-expansão e ganho de massa, que se manifestou de forma significativa na largura da amostra (Figura 19) e razoavelmente (figura 20). A baixa variação nas outras dimensões reforça que o processo diagenético, em um curto prazo, é primariamente físico-químico e não devido a ação de agentes microbianos, que promovem a bioerosão. O processo de tunelamento da amostra ocorre em um prazo mais longo, e permite a visualização macroscópicas de alterações estruturais (kontopoulos et al., 2016; Galligani et al., 2019; Tumer et al., 2013)



**Figura 19.** Variação percentual média da Largura em dentes queimados a 100°C e enterrados.

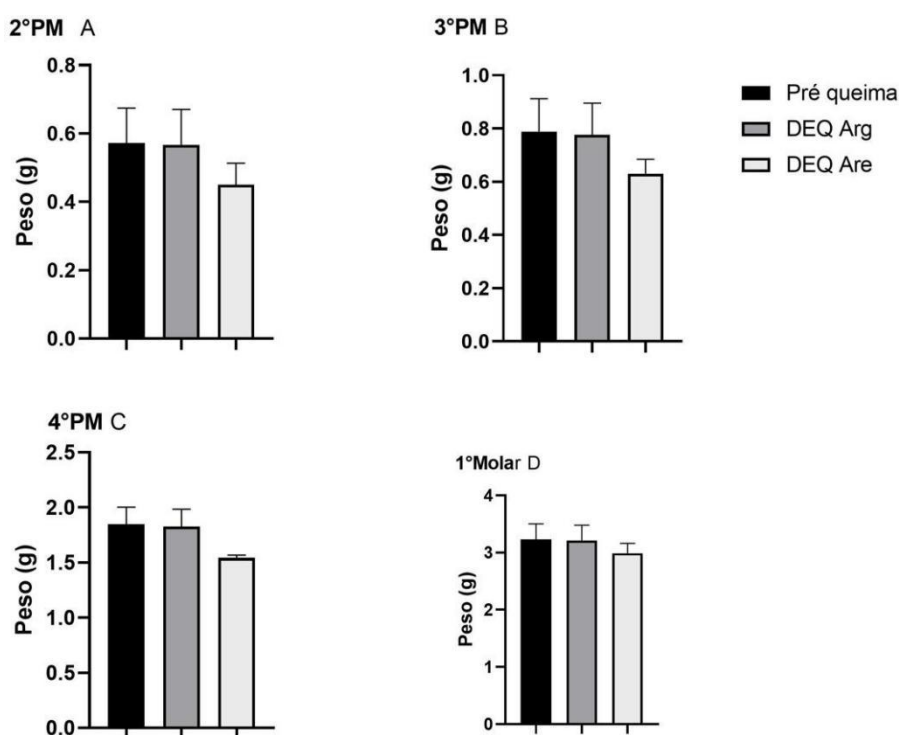


Fontes : Autores (2025). Variação dimensional média (altura, largura e espessura) de dentes submetidos à temperatura de 100 °C e posteriormente enterrados por 30 dias em solos de diferentes composições (argiloso e arenoso). As barras representam as médias com seus respectivos desvios-padrão para cada tipo dentário analisado (2°, 3° e 4° pré-molares e 1° molar). As colunas em preto



correspondem à condição pré-queima, enquanto as colunas em cinza-escuro e cinza-claro indicam, respectivamente, os grupos enterrados em solo argiloso (DEQ-Arg) e enterrados em solo arenoso (DEQ-Are). Observa-se redução significativa na largura do 2º e 3º pré-molares, especialmente no 3º pré-molar, evidenciando a influência do tipo de solo sobre as dimensões dentárias após a exposição térmica.

**Figura 20.** Variação percentual média de massa em dentes queimados (100°C) e enterrados.



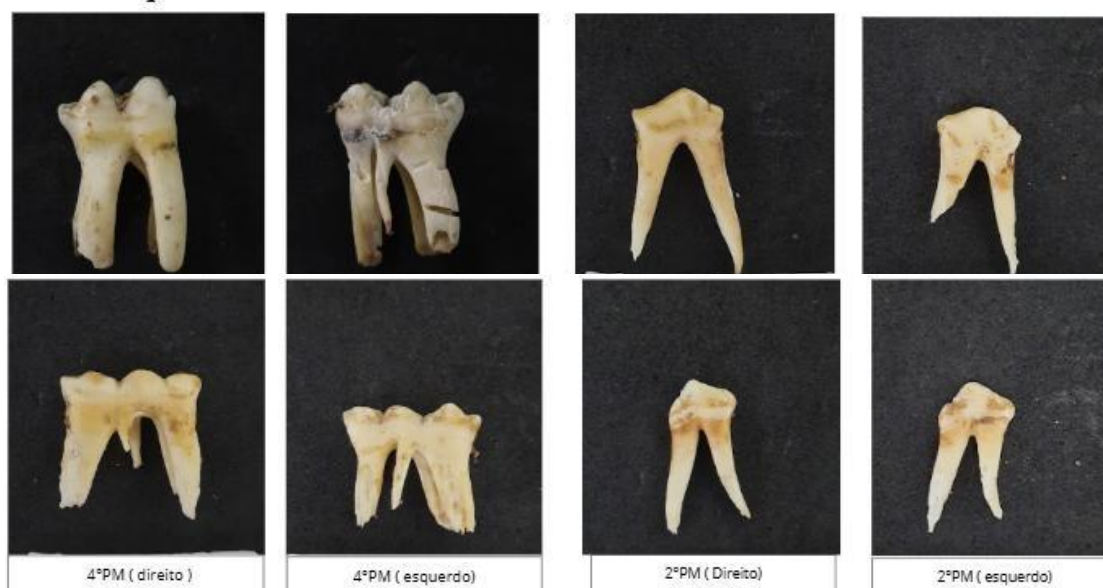
Fonte: Autores (2025). Variação média da massa de dentes submetidos à temperatura de 100 °C e enterrados por 30 dias em solos com diferentes composições (argiloso e arenoso). As barras representam as médias com seus respectivos desvios-padrão para cada tipo dentário analisado (2º, 3º e 4º pré-molares e 1º molar). As colunas em preto correspondem à condição pré-queima, enquanto as colunas em cinza-escuro e cinza-claro representam, respectivamente, os grupos enterrados em solo argiloso (DEQ-Arg) e enterrados em solo arenoso (DEQ-Are). Observa-se tendência de redução de massa, mais evidente no 3º e 4º pré-molares, sugerindo que o tipo de solo influencia a perda ponderal de dentes submetidos à exposição térmica.

Portanto, a desidratação que ocorre na faixa de temperatura de 100°C é o fator que favorece previamente a influência do solo argiloso no processo de re-expansão da amostra, resultando em alterações dimensionais significativas,

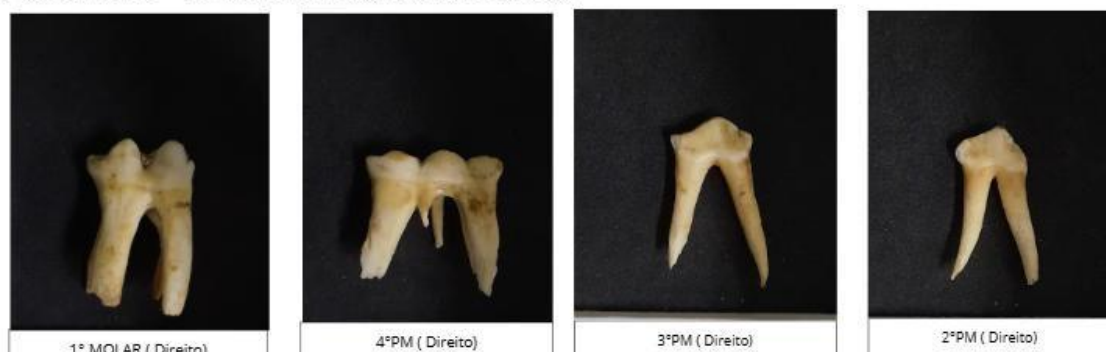
quando analisadas estatisticamente. A análise macroscópica das amostras ( figura 21) , não revela degradação morfológica ou alteração de cor expressiva após o enterramento. A estabilidade visual contrasta diretamente com a vulnerabilidade quantitativa, vista na tabela 4, validando a abordagem de que a alteração é essencialmente microestrutural. Este achado é de relevância em contextos forenses, tendo em vista que a amostra não sofre danos macroscópicos significativos em processos tafonômicos iniciais. Portanto, ao combinar o dano térmico, com um ambiente de alta umidade, pode-se causar alterações microscópicas relevantes, que são evidenciadas de forma quantitativamente em análises estatísticas (Sato, 2023; Tumer et al., 2013).

**Figura 21.** Aspectos visuais das amostras dentárias antes e após exposição térmica a 100 °C e enterramento em solos de diferentes composições.

**A. Pré queima**



**B. Queimados + Enterrados argiloso (DEQ-arg)**



### C. Queimados+ Enterrados arenoso (DEQ-are)



Fonte: Autores (2025). A imagem apresenta a comparação entre dentes íntegros (pré-queima) e dentes submetidos à exposição térmica e posterior enterramento em solos argiloso e arenoso por 30 dias. As modificações foram sutis, sem alterações morfológicas aparentes, restringindo-se a pequenas variações de coloração e leve perda de brilho superficial. Tais alterações sugerem efeitos discretos de desidratação e interação físico-química entre o tecido dentário e o ambiente sedimentar.

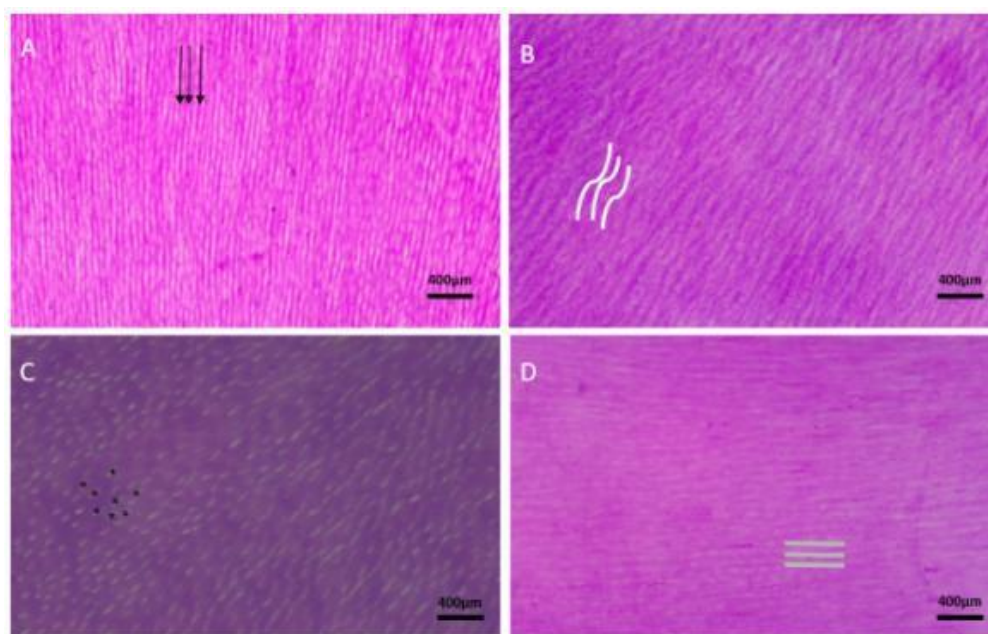
### 5.4 Análise Microscópica da Estrutura Dentária por Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE)

A utilização do método de análise microscópica por meio da coloração de Hematoxilina e Eosina, demonstrou de forma efetiva resultados relacionados a alterações microestruturais *pós morte*. A análise permitiu identificar padrões de alterações distintos na dentina radicular e na porção cimento-dentina em reposta ao diferentes cenários tafonômicos que as amostras foram submetidas.

As fotomicrografias da dentina radicular (Figura 22, 400X) revelaram que, enquanto o grupo controle apresentou fibras colágenas sem alteração e delimitação dos túbulos dentinários indicando integridade, os grupos submetidos à queima e ao processo de enterramento e queima exibiram um contorno sinuoso das fibras, que se encontravam mais condensadas, dessa forma produzindo espaçamentos irregulares. A degradação térmica gera a perda de colágeno e água, esses fatores contribuem para a condensação fibrilar, contração da matriz mineralizada remanescente e formação de espaços sem matéria orgânica as quais são expressas nas alterações da microestrutura dentária (Waterhouse et al., 2013). Este dano ficou mais evidenciado no grupo de queima e enterramento (DEQ), que apresentou maiores espaços vazios, indicando que o dano térmico prévio foi o fator que influenciou de forma mais determinante a remoção do conteúdo orgânico. Os grupos enterrados manteve um padrão mais organizado,

porém com uma condensação maior das fibras. Esta compactação da matriz orgânica, por conta da perda de água e alterações diagenéticas iniciais no solo reduz o volume do tecido intertubular circundante, devido a esse processo os túbulos dentinários parecem mais calibrosos visualmente.

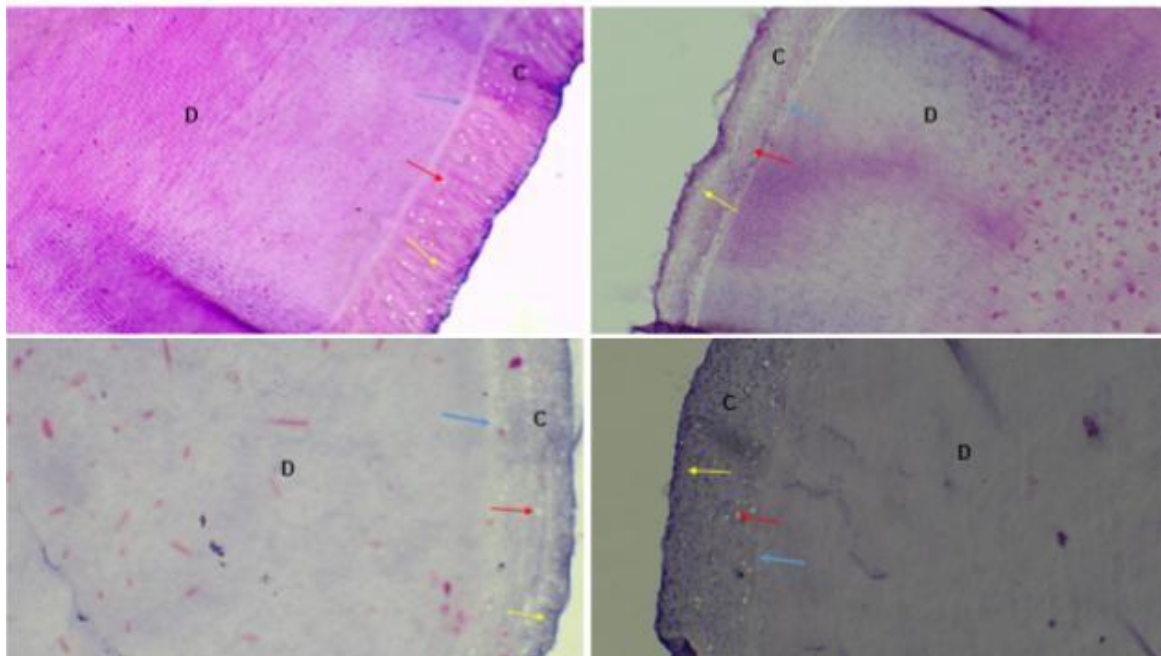
Figura 22. Fotomicrografias da dentina radicular dos grupos de estudo (A, B, C, D). Coloração Hematoxilina e Eosina (HE), aumento de 400x.



Fonte : autores (2025). A) Grupo Controle: setas pretas mostrando a espessura e direção uniforme das fibras colágenas em torno dos túbulos dentinários; B) Grupo pós-queima: linhas brancas evidenciando um padrão mais sinuoso e condensado das fibras colágenas; C) Grupo queimado + enterrado: asterisco mostrando os espaços interfibrilares, não sendo possível a identificação dos limites dos túbulos dentinários; D) Grupo enterrados: parede dos túbulos mais espessas, mas preservadas.

A avaliação da relação cimento-dentina (Figura 23, 100x) demonstrou alterações importantes no cimento dos grupos enterrados. No grupo controle, o tecido se apresentou íntegro, com lacunas de cementócitos, limite cimento-dentina preservado e estruturas como as linhas incrementais de Salter evidentes. Porém, no cimento dos grupos submetidos aos cenários tafonômicos, foi observada a presença de espaços vazios sem matéria orgânica, resultando em um aspecto poroso onde estruturas comuns do tecido não eram identificáveis. Este padrão de porosidade é associado a um processo de alteração microestrutural indicativo de bioerosão microbiana

Figura 23. Fotomicrografias da relação cimento-dentina dos grupos de estudo (A, B, C, D). Coloração Hematoxilina e Eosina (HE), aumento de 100x.



Fonte: Autores (2025). Seta azul: limite cimento dentinário; seta vermelha: lacuna dos cementócitos; seta amarela: linhas de Sharpey; D: dentina; C: cimento.

O pesquisador Turner-Walker (2002), em seu estudo sobre tafonomia esquelética, observou que a bioerosão bacteriana é um fenômeno relacionado ao sepultamento no solo. Essa constatação corrobora com o achado deste estudo, onde a porosidade foi uma característica presente em todas as amostras que foram submetidas ao enterramento. A bioerosão é um processo caracterizado pela formação de túneis, ocasionado por bactérias ou fungos presente no solo. A presença destes tunelamentos se manifestam histologicamente como espaços porosos (Galligani, 2019). No entanto, a intensidade da alteração deve ser analisada em função do tempo de exposição. As amostras foram enterradas em um período curto de 30 dias, provavelmente esse foi o principal fator responsável pela presença intermediária da porosidade dentária. Estudos de longo prazo, como os realizados por (Kontopoulos et al., 2016 ; Galligani et al., 2019), que envolvem períodos mais longos de exposição, documentam a formação de estruturas de bioerosão mais severas.

A intensidade do dano se mostrou potencializada nos grupos queimados. As alterações foram mais perceptíveis no grupo queimado e enterrado e no grupo queimado, sugerindo uma relação entre o dano térmico e a atividade microbiana. A exposição ao calor provavelmente desorganizou a matriz do tecido dentário criando microfraturas que facilitou a penetração e a ação dos microrganismos, acelerando o processo de bioerosão no ambiente do solo.

Apesar das profundas alterações microestruturais (porosidade e condensação), não foi possível identificar diferenças na espessura do cimento. Por fim, é necessário reconhecer que a resolução da microscopia de luz (HE) limita a confirmação da natureza dos espaços porosos, dessa forma sendo importante técnicas para a identificação inequívoca de túneis de bioerosão, e que a perda de amostras durante o processamento do material pode representar uma limitação dos presentes resultados. Portanto, são necessários novos estudos que avaliem outros parâmetros histológicos para analisar o processo de degradação a longo prazo.

Conclui-se que a conservação da matriz do colágeno é o indicador mais sensível do processo *post-mortem* do dente, pois o calor destrói a matriz, e essa fragilidade acelera a ação diagênica do solo. A principal limitação do estudo foi devido ao curto período de enterramento de 30 dias, o que restringiu a progressão da bioerosão. Sugere-se a continuidade do trabalho com um aumento do período de submissão da amostra nos cenários tafonômicos, como enterramento e o uso de técnicas mais específicas para a quantificação do colágeno, como o uso do Tricômico de mansom e Picrosirius red, visando uma quantificação histológica mais precisa do remanescente da matriz orgânica.

## 6. CONCLUSÃO

As amostras dentárias foram obtidas a partir de protocolos que promovessem menores danos estruturais. A mandíbula do porco foi submetida ao processo de maceração controlada (água e detergente) e a posterior enterramento superficial em um período de 3 dias, afim de amolecer os tecidos orgânicos. Após esse protocolo, foi feito a osteotomia com auxilio da dremel o que possibilitou a avulsão com o mínimo de dano estrutural. Dessa forma foi possível a remoção dos dentes de forma que suas estruturas permanecessem íntegras

Os resultados demonstraram que o nível de alteração estrutural está ligado à degradação do principal componente da matriz orgânica, o colágeno. A análise termogravimétrica (TGA) quantificou que em 341,17°C se tem a maior perda de massa referente ao colágeno. Nessa faixa de temperatura a amostra começa a se apresentar com fragilidades e alterações macroscópicas como fraturas e mudança de cor.

O dano térmico atuou como um fator importante nas alterações dimensionais, pois a queima tornou os dentes mais vulneráveis a infiltração de água e minerais do solo, o que resultou em alterações dimensionais a curto prazo. As alterações dos dentes apenas enterrados não demonstraram resultados significados. Contudo, os dentes submetidos a queima e a solos distintos (arenoso e argiloso) demonstraram alterações relevantes. O tipo de solo influenciou diretamente no processo de alterações estruturais, o solo argiloso exerceu maior impacto devido a sua característica de retenção de umidade, que promoveu re-hidratação e re-expansão mensurável do material fragilizado.

A análise microscópica (HE) revelou alterações provocadas por dano térmico, o processo de queima induziu a condensação das fibras de colágeno na dentina. Por sua vez, o enterramento causou porosidade no cemento, padrão relacionado ao enterramento compatível com estágio inicial da bioerosão microbiana .



## 7. Referências

ALBUQUERQUE NETO, Antonio Dionízio de; FARIAS NETO, Aloísio de Melo; CAVALCANTE, Jullyane Raíssa Duarte; CAVALCANTE, Darlan Kelton Ferreira; SAMPAIO, Thaisa Reis de Carvalho; COSTA, Vanio Santos. Efeito das altas temperaturas aos tecidos bucodentais e materiais odontológicos: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Odontologia Legal**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 89-104, 2015.

PATE, F. D. et al. Alterations of in vivo elemental dietary signatures in archaeological bone: evidence from the Roonka Flat Dune, South Australia. **Archaeology in Oceania**, Sydney, v. 26, n. 2, p. 58-69, jul. 1991

BEACH, Jeremy J.; PASSALACQUA, Nicholas V.; CHAPMAN, Erin N. Heat-related changes in tooth color. In: SCHMIDT, C. W.; SYMES, S. A. (eds.). **The Analysis of Burned Human Remains**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2015. p. 139–147.

BEHRENSMEYER, A. K.; KIDWELL, S. M.; GASTALDO, R. A. Taphonomy and Paleobiology. **Paleobiology**, Washington, D.C., v. 26, p. 103–147, 2000.

BERTASSONI, Luiz Eduardo; STANKOSKA, Katerina; SWAIN, Michael Vincent. Insights into the structure and composition of the peritubular dentin organic matrix and the lamina limitans. **Micron**, Amsterdam, v. 42, n. 8, p. 751–758, 2011. DOI: 10.1016/j.micron.2011.08.003.

BERTOGLIO, Barbara et al. Bone tissue preservation in seawater environment: a preliminary comparative analysis of bones with different post-mortem histories through anthropological and radiological perspectives. **International Journal of Legal Medicine**, Berlim, v. 135, n. 6, p. 2581–2594, ago. 2021. DOI: 10.1007/s00414-021-02636-6.

BONNEY, H.; COLSTON, B. J.; GOODMAN, A. M. Regional variation in the mechanical properties of cortical bone from the porcine femur. **Medical Engineering & Physics**, Amsterdam, v. 33, p. 513–520, 2011.

CAMBRA-MOO, Óscar; MARTÍN-ABAD, Hugo Javier; RASCÓN PÉREZ, Josefina; GALÁN SAULNIER, Catalina; GONZÁLEZ MARTÍN, Armando. Preservation and conservation concepts from the transdisciplinary perspective of Taphonomy. **Historical Biology: An International Journal of Paleobiology**, London, v. 36, n. 4, p. 1-10, fev. 2023. DOI: 10.1080/08912963.2023.2176765.



CARTER, David O.; TIBBETT, Mark. Cadaver Decomposition and Soil. In: TIBBETT, Mark; CARTER, David O. (ed.). **Soil Analysis in Forensic Taphonomy**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2008. cap. 2, p. 29-44.

CHEN, P.-Y. et al. Structure and mechanical properties of selected biological materials. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 1, n. 3, p. 208-226, 2008. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2008.02.003.

CHRISTENSEN, Angi M.; PASSALACQUA, Nicholas. **Forensic taphonomy**. In: CHRISTENSEN, Angi M.; PASSALACQUA, Nicholas (Orgs.). **Forensic Anthropology**. [S.l.]: Academic Press, 2014. p. 119-147

CLARK, M. A.; WORRELL, M. B.; PLESS, J. E. Postmortem changes in soft tissues. In: HAGLUND, W. D.; SORG, M. H. (eds.). **Forensic Taphonomy: the postmortem fate of human remains**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 151–164.

COELHO, M. R. et al. Solos: tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas. In: MOREIRA, F. M. S. et al. (eds.). **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Lavras: UFLA, 2013. cap. 3, p. 45–62.

COUOH, L. R. et al. Tooth acellular extrinsic fibre cementum incremental lines in humans are formed by parallel branched Sharpey's fibres and not by its mineral phase. **Journal of Structural Biology**, Amsterdam, v. 216, n. 2, p. 108084, jun. 2024.

CUMMAUDO, Marco. **Identification of human vs non-human bone (Sus scrofa) in forensic anthropology: histological perspectives**. 2018. 366 f. Tese (Doutorado em Antropologia Forense) – Cranfield Forensic Institute, Cranfield University, Cranfield, 2018.

DEBRUYN, J. M. et al. Comparative decomposition of humans and pigs: soil biogeochemistry, microbial activity and metabolomic profiles. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 11, n. 608856, 12 jan. 2021. Disponível em: Acesso em: 29 nov. 2025.

DE ROSSI, A.; ROCHA, L. B.; ROSSI, M. A. Application of fluorescence microscopy on hematoxylin and eosin-stained sections of healthy and diseased teeth and supporting structures. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Copenhagen, v. 36, n. 6, p. 331–337, jul. 2007.

DEMO, Caroline. **Tafonomia forense: estudo sobre a decomposição**

**experimental e das alterações post-mortem no Cerrado de Brasília.** 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

DIKE, S.; APTE, S.; DABIR, V. Effect of low-density polyethylene, polyvinyl chloride, and high-density polyethylene micro-plastic contamination on the index and engineering properties of clayey soil. **Environmental Research**, Amsterdam, v. 218, p. 115016, fev. 2023.

DOLLIMORE, D.; KEATTCH, C. J. The history and development of thermogravimetry VII. The influence of the French school on the development of thermogravimetry. **Thermochimica Acta**, v. 340–341, p. 31–35, 1999.

DURAL, C. **Inorganic thermogravimetric analysis.** Amsterdam–London–New York: Elsevier Publishing Co., 1963.

EFREMOV, J. A. Taphonomy: new branch of paleontology. **Pan-American Geologist**, Des Moines, v. 74, n. 2, p. 81-101, set. 1940. Disponível em: <http://iae.makorzh.ru/science/taph.htm>. Acesso em: 13 nov. 2025.

EMAM, A. N. M. Role of forensic odontology in identification of persons: a review article. **Cureus**, Nova York, v. 16, n. 3, p. e56570, 20 mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.7759/cureus.56570>. Acesso em: 8 out. 2025.

FAGUNDES, Nathalia Carolina Fernandes et al. Morphological aspects and physical properties of enamel and dentine of *Sus domesticus*: A tooth model in laboratory research. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, Amsterdam, v. 202, p. 71-77, nov. 2015. DOI: 10.1016/j.aanat.2015.08.007.

FISCHER, Andrew H.; JACOBSON, Kenneth A.; ROSE, Jack; ZELLER, Rolf. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. **Cold Spring Harbor Protocols**, Cold Spring Harbor, [v. 2008], n. 4986, 1 maio 2008.

FORBES, Shari L.; DENT, Boyd B.; STUART, Barbara H. The effect of soil type on adipocere formation. **Forensic Science International**, Amsterdam, v. 154, n. 1, p. 35–43, nov. 2005.

FRANK, R. M. Structural Events in the Caries Process in Enamel, Cementum, and Dentin. **Journal of Dental Research**, Washington, D.C., v. 69, n. 2\_suppl, p. 552–559, fev. 1990.

FRANKLIN, D. Forensic skeletal biology in the 21st century: a perspective from down under. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, v. 6, n. 4, p. 223–231, 2010.

GALLIGANI, Paula; SARTORI, Julieta; BARRIENTOS, Gustavo. Bacterial bioerosion in human and animal bones from subtropical environments (Northern Pampa/Middle Paraná River Basin, República Argentina). **Journal of Archaeological Science: Reports**, Amsterdam, v. 25, p. 561-574, maio 2019.

GALLOWAY, A. The process of decomposition: a model from the Arizona-Sonoran desert. In: HAGLUND, W. D.; SORG, M. H. (eds.) **Forensic Taphonomy: the postmortem fate of human remains**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 139–150.

GALMED, Mahmoud A.; ALY, Mohamed F.; SMADI, Ahmed; ABU AZZAM, G. Hassan. Taphonomic and diagenetic aspects of the Late Cretaceous *Libycoceras ismaeli* (Zittel) from Northern Jordan. **Arabian Journal of Geosciences**, Heidelberg, v. 5, n. 4, p. 777-787, ago. 2012. DOI: 10.1007/s12517-011-0349-9.

GOFFER, Zvi. **Archaeological Chemistry**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Interscience; John Wiley & Sons, 2007.

GOLDBERG, Michel; KULKARNI, Askok B.; YOUNG, Marian; BOSKEY, Adele. The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. **Frontiers in Bioscience (Elite Edition)**, E-Location, v. 3, n. 3, p. 711–735, 2011.

GOUDE, Gwenaëlle; CLARKE, Joanne; WEBB, Jennifer M.; FRANKEL, David; GEORGIU, Giorgos; HERRSCHER, Estelle; LORENTZ, Kirsí O. Exploring the potential of human bone and teeth collagen from Prehistoric Cyprus for isotopic analysis. **Journal of Archaeological Science: Reports**, Amsterdam, v. 22, p. 115-122, out. 2018.

GUARESCHI, Edda E. et al. Marine sponge bioerosion in the forensic taphonomy of terrestrial bone. **Quaternary International**, v. 660, p. 84–94, jun. 2023.

GUARESCHI, Edda E.; TOBE, Shanan S.; NICHOLLS, Philip K.; MAGNI, Paola A. Taphonomy and Diagenesis of Human Bone in Underwater Archaeology: A Review of the Current Status and the Proposal of Post- Mortem Submersion Interval (PMSI) as a Potential Forensic Application. **Journal of Maritime Archaeology**, Cham, v. 16, p. 57–75, 2 jan. 2021.

GUARESCHI, Edda E.; NICHOLLS, Philip K.; TOBE, Shanan S.; MAGNI, Paola A. Taphonomy and diagenesis of submerged bone: An experimental approach.

**Forensic Science International**, Amsterdam, v. 317, p. 110547, dez. 2020.

GURSOY, Ulvi K.; KÖNÖNEN, Eija; HUUMONEN, Sisko; TERVAHARTIALA, Taina; PUSSINEN, Pirkko J.; SUOMINEN, Anna L.; SORSA, Timo. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 40, n. 1, p. 18–24, jan. 2013.

HAGLUND, W. D. Rodents and human remains. In: HAGLUND, W. D.; SORG, M. H. (eds.). **Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 405–413.

HAGLUND, W. B.; REAY, D. T.; SWINDLER, D. R. Tooth mark artifacts and survival of bones in animal scavenged human skeleton. **Journal of Forensic Sciences**, v. 33, p. 985–997, 1985.

HAGLUND, William D.; SORG, Marcella H. (Eds.). **Advances in Forensic Taphonomy: Method, Theory, and Archaeological Perspectives**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 544 p. DOI: 10.1201/9781420058352. ISBN 9780429249037.

HAWKSWORTH, David L.; WILTSHIRE, Patricia E. J. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. **Forensic Science International**, Amsterdam, v. 231, n. 1-3, p. 1-11, ago. 2013.

HEDGES, R. E. M. Bone diagenesis: An overview of processes. **Archaeometry**, Oxford, v. 44, n. 3, p. 319–328, dez. 2002.

HEDGES, R. E. M.; MILLARD, A. R.; PIKE, A. W. G. Measurements and relationships of diagenetic alteration of bone from three archaeological sites. **Journal of Archaeological Science**, v. 22, n. 2, p. 201–209, 1995.

HEGAZY, Raghda A.; MAHMOUD, Elsayed M.; HOLIEL, Ahmed A. Effect of low-level diode laser on dentin topography and symptomatic noncarious cervical lesions prior to composite restorations: a split-mouth randomized controlled trial. **Egyptian Dental Journal**, v. 69, n. 2, p. 1341–1350, 2023.

HENRIKSEN, K.; KARSDAL, M. A. Type I Collagen. In: KARSDAL, M. A. (ed.). **Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin**. 2. ed. London: Academic Press, 2019. cap. 1, p. 1–15. DOI: 10.1016/B978-0-12-809847-9.00001-5.

HIGGINS, Denice; AUSTIN, Jeremy J. Teeth as a source of DNA for forensic

identification of human remains: a review. **Science and Justice**, v. 53, n. 4, p. 401–407, 2013.

HOPKINS, D. W. et al. The effect of a decomposing carcass on soil chemistry. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 11–12, p. 1719–1725, 2000

HU, Lin et al. Effects of acid etching time on the degradation of type I collagen in dentin. **Shanghai Kou Qiang Yi Xue**, v. 27, n. 3, p. 256–260, 2018.

IKPA, J. O. et al. The concept of forensic taphonomy: understanding the postmortem processes of dead remains. **Journal of Experimental and Clinical Anatomy**, v. 21, n. 2, p. 174–182, 2022.

JAGGERS, K. A.; ROGERS, T. L. The effects of soil environment on postmortem interval: a macroscopic analysis. **Journal of Forensic Sciences**, v. 54, n. 6, p. 1217–1222, 2009.

JAEGGER, ISABELA MS. **Aspectos Morfológicos e Imunohistoquímico da Dentinogênese e Pulpogênese em prole de ratas tratadas com Fluoxetina durante a gestação e a lactação**. 2015. 111 p. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica Integrada) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

JANSEN, Richard G. et al. Tissue reactions to collagen scaffolds in the oral mucosa and skin of rats: environmental and mechanical factors. **Archives of Oral Biology**, v. 53, n. 2, p. 115–123, 2008.

JANS, M. M. E. Micro-bioerosion of bone: A review. In: TAPANILA, L.; WISSHAK, M. (eds.) **Current Developments in Bioerosion**. Erlangen: Springer Verlag, 2008.

KEATTCH, C. J.; DOLLIMORE, D. The history and development of thermogravimetry. VII. The influence of the French school on the development of thermogravimetry. **Thermochimica Acta**, v. 340–341, p. 31–35, 1999.

KEENA, S. W.; D'AMORE, D. V.; DEBRUYN, J. M. Post-mortem interval prediction from the decomposition metabolome and microbial successional patterns. **Forensic Science International: Genetics**, v. 32, p. 26–36, 2018.

KONTOPOULOS, Ioannis; NYSTROM, Pia; WHITE, Lorraine. Experimental taphonomy: post-mortem microstructural modifications in *Sus scrofa domestica* bone. **Forensic Science International**, v. 266, p. 320–328, 2016.

LESSA, A. Do pó viemos e ao pó retornaremos. **Revista de Antropologia**, 2017.

LIU, Congrui et al. Exploring the potential of hydroxyapatite-based materials in biomedicine: A comprehensive review. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 161, p. 100870, jan. 2024.

LIU, Hui et al. Design and additive manufacturing of root analogue dental implants: a comprehensive review. **Dental Materials Journal**, v. 42, n. 3, p. 215–229, 2023.

LOZANO-PERAL, Diego; ARANGO-DÍAZ, Ana; MARTÍN-DE-LAS-HERAS, Stella; RUBIO, Leticia. Thermogravimetric analysis of teeth for forensic purposes. **International Journal of Legal Medicine**, Berlim, v. 136, n. 4, p. 1195–1204, abr. 2022. DOI: 10.1007/s00414-022-02758-0.

MARINHO, A. N. de R. et al. Paleogenetic and taphonomic analysis of human bones from Moa, Beirada and Zé Espinho sambaquis, Rio de Janeiro, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 15–24, 2006.

MATUSZEWSKI, Szymon et al. Pigs vs people: the use of pigs as analogues for humans in forensic entomology and taphonomy research. **International Journal of Legal Medicine**, Berlim, v. 134, p. 793–810, 2020.

MAZZOTTI, M. C. et al. Determining the time of death by morphological and immunohistochemical evaluation of collagen fibers in postmortem gingival tissues. **Legal Medicine**, v. 40, p. 101892, 2020.

MEIN, Caley; WILLIAMS, Anna. Assessing the extent of bone bioerosion in short timescales – A novel approach for quantifying microstructural loss. **Quaternary International**, Amsterdam, v. 625, p. 77–86, jun. 2022.

MELLO, Rafael Barrios et al. Tissue Microarray Analysis Applied to Bone Diagenesis. **Scientific Reports**, Londres, v. 7, n. 40161, 4 jan. 2017.

MEURENS, F. et al. The pig as a model for human infectious diseases. **Veterinary Research**, v. 43, n. 34, p. 1–19, 2012.

MICOZZI, Marc S. Experimental study of postmortem change in human and animal remains. **Journal of Forensic Sciences**, v. 31, n. 4, p. 1421–1431, 1986.

MICOZZI, M. S. **Postmortem changes in human remains: a systematic approach**. Springfield: Charles C Thomas, 1991.

MILLARD, A. Deterioration of bone. In: BROTHWELL, D.; POLLARD, M. (ed.).

**Handbook of Archaeological Sciences.** Chichester: Wiley, 2001. p. 633-643.

MITIĆ, Žarko et al. Instrumental Methods and Techniques for Structural and Physicochemical Characterization of Biomaterials and Bone Tissue: A Review. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 79, p. 930–49, out. 2017.

MOUHAMAD, Raghad et al. Decomposition of organic matter under different soil textures. **Current Science**, v. 1, n. 1, p. 22–25, 2015.

MÜLLER, M. et al. Macroscopic and microscopic aspects of incinerated teeth. **The Journal of Forensic Odonto-Stomatology**, v. 16, n. 2, p. 17–23, 1998.

NAWROCKI, S. Taphonomic processes in historic cemeteries. In: GRAUER, M. (ed.). **Bodies of Evidence**. New York: John Wiley & Sons, 1995. p. 46–66.

NAYYER, Saisha; JAISWAL, A. K. Teeth as a source of DNA for forensic investigation: a review. **International Journal of Medical Laboratory Research**, v. 4, n. 2, p. 22–25, 2019.

NIELSEN-MARSH, C. M. et al. Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. **Journal of Archaeological Science**, v. 34, p. 1523–1531, 2007.

NOGUEIRA, Bárbara C. L. et al. Avaliação comparativa da ultraestrutura e propriedades físicas do esmalte bovino, bubalino e humano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 34, n. 5, p. 485–90, maio 2014.

NUZZOLESE, Emilio; ALIBERTI, Matteo; DI VELLA, Giancarlo. Colorimetric Study on Burnt Teeth and New Diagnostic Tool in Forensic Dental Identification: The Carbodent Scale. **Healthcare**, Basel, v. 12, n. 14, p. 1656, 11 jul. 2024.

OGHENEMAVWE, L. E. et al. Soil pH effect on bone degradation: Implications in forensic investigation. **Annals of Biomedical and Health Sciences**, v. 1, n. 3, p. 156–161, 2022.

ONISHI, A. et al. The application of thermogravimetric analysis to forensic anthropology: monitoring the decomposition of human remains in different burial environments. **Journal of Forensic Sciences**, v. 53, n. 4, p. 773–779, 2008.

PATEL, A. et al. Forensic identification of endodontically treated teeth after heat-

induced alterations: an in vitro study. **European Endodontic Journal**, v. 6, n. 2, p. 177–183, 2021.

PEER, Michal; SARIG, Rachel. Color change in teeth due to burning: spectrophotometric analysis. **Forensic Science International**, v. 237, p. 151–157, 2014.

PEER, Michal; SARIG, Rachel. The effect of burning on dental tissue: a macroscopic and microscopic investigation. **Forensic Science International**, v. 358, p. 111987, 2024.

PENDHARKAR, Seema Shantilal. Forensic odontology: a new dimension in dentistry. **International Dental Journal of Student's Research**, v. 2, n. 4, p. 1–4, 2014.

PESQUERO, M. D. et al. A new taphonomic bioerosion in a Miocene lakeshore environment. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 295, n. 1–2, p. 192–198, 2010.

PINHEIRO, J.; CUNHA, E. Forensic investigation of corpses in various states of decomposition: a multidisciplinary approach. In: SCHMIT, A.; CUNHA, E.; PINHEIRO, J. (eds.) **Forensic Anthropology and Medicine, Complementary sciences from recovery to cause of death**. Totowa: Human Press, 2006. p. 159–196.

POKINES, J. T.; L'ABBE, E. N.; SYMES, S. A. (Eds.) **Manual of Forensic Taphonomy**. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2018.

RAHMAT, R. A. et al. The development of a tool to predict temperature-exposure of incinerated teeth using colourimetric and hydroxyapatite crystal size data. **International Journal of Legal Medicine**, v. 135, n. 5, p. 1909–1918, 2021.

RAJA, S. et al. The estimation of pig bone age for forensic application using thermogravimetric analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, p. 147–152, 2009.

RIBÉREAU-GAYON, Agathe et al. The suitability of visual taphonomic methods for digital photographs: An experimental approach with pig carcasses in a tropical climate. **Science & Justice**, v. 58, n. 3, p. 167–176, maio 2018.



ROBERTS, L. G.; DABBS, G. R. A taphonomic study exploring differences in the rate and manner of decomposition between frozen and never frozen domestic pigs (*Sus scrofa*). **Journal of Forensic Sciences**, v. 60, n. 3, p. 588–594, 2015.

RODRIGUEZ, W. C.; BASS, W. M. Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. **Journal of Forensic Sciences**, Hoboken, NJ, v. 30, n. 3, p. 836-852, jul. 1985.

ROUSK, J. et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME Journal**, v. 4, n. 11, p. 1340–1351, 2010.

SATO, C. M. **Estimativa do intervalo post mortem mínimo em situações forenses por meio da análise histológica dos dentes**. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

SCHMIDT, C. M.; SYMES, S. A. (Org.) **The analysis of burned human remains**. San Diego: Academic Press, 2008.

SCHOTSMANS, E. M. J. et al. (Ed.) **Taphonomy of Human Remains: Forensic Analysis of the Dead and the Depositional Environment**. London: Academic Press, 2017. 424 p.

SHAH, Preetam; VELANI, Priyam R.; LAKADE, Laxmi; DUKLE, Siya. Teeth in forensics: a review. **Indian Journal of Dental Research**, v. 29, n. 3, p. 383–389, 2018.

SHARMA, S. Macroscopic and microscopic effects of elevated temperatures on unrestored and restored teeth: an in-vitro forensic study. **Asian Journal of Medical Sciences**, v. 11, n. 2, p. 75–85, fev. 2020.

SILVA, F. S. **Princípios de Histologia Geral**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., 2025. Capítulo 1.4.4 – Coloração Histológica.

SONE, Eli D.; McCULLOCH, Christopher A. Periodontal regeneration: Lessons from the periodontal ligament-cementum junction in diverse animal models. **Frontiers in Dental Medicine**, Lausanne, v. 4, n. 1124968, 7 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fdmed.2023.1124968>. Acesso em: 3 nov. 2025

SOUZA, J. C. M. et al. Tooth-derived matrix granules for enhanced bone healing: chemical composition, morphological aspects, and clinical outcomes. **Materials**, v. 15, n. 2, p. 671, 2022.

SOVA, Susanna S. et al. A microCT Study of Three-Dimensional Patterns of Biomineralization in Pig Molars. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 71, fev. 2018.

STINER, M. C. et al. Differential burning, recrystallization, and fragmentation of archaeological bone. **Journal of Archaeological Science**, v. 22, n. 2, p. 223–237, mar. 1995.

TIBBETT, M.; CARTER, D. O. Mushrooms and taphonomy: The fungi that mark woodland graves. **Mycologist**, v. 17, p. 20–24, 2003.

TIBBETT, M. et al. A laboratory incubation method for determining the rate of microbiological degradation of skeletal muscle tissue in soil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 49, p. 560–565, 2004.

TORRES-RODRÍGUEZ, Carolina et al. Effects of bleaching on osteoclast activity and their modulation by osteostatin and fibroblast growth factor 2. **Journal of Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 490, p. 195–204, mar. 2017.

TRUEMAN, C. N.; MARTILL, D. M. The long-term survival of bone: The role of bioerosion. **Archaeometry**, v. 44, n. 3, p. 371–382, 2002.

TUMER, Ali Riza et al. Effects of different types of soil on decomposition: An experimental study. **Legal Medicine**, v. 15, n. 3, p. 149–156, 2013.

TUMER, A. R. et al. Effects of different types of soil on decomposition: An experimental study. **Forensic Science International**, v. 265, p. 168.e1–168.e6, 2016.

TURNER-WALKER, G. The West Runton fossil elephant: A pre-conservation evaluation of its condition, chemistry and burial environment. **The Conservator**, v. 22, n. 1, p. 26–35, 1998.

TURNER-WALKER, G.; SYVERSEN, U. Quantifying histological changes in archaeological bones using BSE-SEM image analysis. **Archaeometry**, v. 44, n. 3, p. 461–468, 2002.

VARGAS, D. M.; AUDÍ, L.; CARRASCOSA, A. Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 35, n. 3, p. 87–92, 2000.

VLASIADIS, Konstantinos; KOUTSAMANI, Maria. Forensic dentistry – the role of the dentist in human identification. **Clinical Medicine and Health Research**

**Journal**, v. 2, n. 5, p. 1–6, 2022.

WATERHOUSE, K. et al. Post-burn fragmentation of calcined bone: Implications for recovery of remains from fatal fire scenes. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 20, n. 8, p. 1112–1117, 2013.

WEBER, Katrin et al. The good, the bad and the ugly – A visual guide for common post-mortem wear patterns in vertebrate teeth. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 584, p. 110577, 2021.

WEDL, C. Ueber einen Zahnbein und Knochen keimenden Pilz. **Sitzungsbericht der Mathematische Naturwissenschaftliche Classe der Kaiserliche Akademie der Wissenschaften Wien**, Band L. K1, n. 1, p. 171–193, 1864.

WEERAKOON, Arosha T. et al. Dynamic dentin: A quantitative microscopic assessment of age and spatial changes to matrix architecture, peritubular dentin, and collagens types I and III. **Journal of Structural Biology**, v. 214, n. 1, p. 107899, 2022.

WIDBILLER, M. et al. Histology of human teeth: standard and specific staining methods revisited. **Archives of Oral Biology**, v. 127, p. 105136, 2021.

WIEDEMANN, H.-G. In: MASSEN, C. H.; VAN BECKUM, H. J. (eds.) **Vacuum microbalance techniques**. New York: Plenum Press, 1970. v. 7, p. 217.

WIEDEMANN, H.-G.; BAYER, G. Trends and applications of thermogravimetry. In: CHIHARA, H. (ed.) **Thermal Analysis: Proceedings of the 5th International Conference on Thermal Analysis**. Kyoto: Kagaku Gijutsu-Sha, 1977. p. 437.

WIESMANN, H. P. et al. Aspects of collagen mineralization in hard tissue formation. **International Review of Cytology**, v. 242, p. 121-156, 2004.

WILLIAMSON, R. A. Histological preparation of teeth and tooth growth. **Oral Biology and Dentistry**, v. 3, n. 3, p. 1–3, 2015.

WU, K. et al. The circadian clock in enamel development. **Cell Regeneration**, v. 13, n. 2, p. 85–97, 2024.

YOUSEFI, A.-M.; OUADESSE, H.; AKBARZADEH, R.; WERS, E.; LUCAS-GIROT, A. Physical and biological characteristics of nanohydroxyapatite and bioactive glasses used for bone tissue engineering. **Nanotechnology Reviews**, v. 3, n. 6, p. 527-552, 16 set. 2014.

ZAREI, Atefeh; FARAZIN, Ashkan. Synergizing additive manufacturing and machine learning for advanced hydroxyapatite scaffold design in bone regeneration. **Journal of the Australian Ceramic Society**, v. 61, n. 3, ago. 2024. DOI: 10.1007/s41779-024-01084-w.