



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS HUMANAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ARQUEOLOGIA**

**Diagênese óssea em ambiente semiárido brasileiro: modelagem e experimentações com sedimentos do sítio Pedra do Alexandre**

**ALLYSSON ALLAN DE FARIAS**

Recife

2013

ALLYSSON ALLAN DE FARIAS

**Diagênese óssea em ambiente semiárido brasileiro: modelagem e experimentações com sedimentos do sítio Pedra do Alexandre**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Arqueologia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Arqueologia.

ORIENTADOR:

Prof.º Dr. Henry Socrates Lavalle Sullasi

COORIENTADOR:

Prof.º Dr. Sérgio F. S. Monteiro da Silva

RECIFE

2013

Catálogo na fonte  
Bibliotecária, Divonete Tenório Ferraz Gominho. CRB-4 985

F224e Farias, Allysson Allan de.  
Diagênese óssea em ambiente semiárido brasileiro: modelagem e experimentações com sedimentos do sítio Pedra do Alexandre / Allysson Allan de Farias. – O autor : Recife, 2013.  
84 f. il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Henry Socrates Lavallo Sullasi.  
Coorientador: Prof. Dr. Sérgio F. S. Monteiro da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CFCH. Programa de Pós-Graduação em Arqueologia, 2013.  
Inclui referência.

1. Arqueologia. 2. Sítios Arqueológicos. 3. Espectroscopia de infravermelho. 4. Carnauba dos Dantas (RN). I. Sullasi, Henry Socrates Lavallo. (Orientador). II. Silva, Sérgio F.S. Monteiro da. (Coorientador). III. Título.

390 CDD (22.ed.)

UFPE (BCFCH2013-170)

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Filosofia de Ciências Humanas  
Departamento de Arqueologia  
Programa de Pós-Graduação em Arqueologia

## **ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DO ALUNO ALLYSSON ALLAN DE FARIAS**

Às 14 horas do dia 28 (vinte e oito) de agosto de 2013 (dois mil e treze), no Curso de Mestrado em Arqueologia da Universidade Federal de Pernambuco, a Comissão Examinadora da Dissertação para obtenção do grau de Mestre apresentada pelo aluno **Allysson Allan de Farias** intitulada "Diagênese óssea em ambiente semiárido brasileiro: modelagem e experimentações com sedimentos do Sítio Pedra do Alexandre", sob a orientação do **Prof. Dr. Henry Sócrates Lavalle Sullasi**, em ato público, após arguição feita de acordo com o Regimento do referido Curso, decidiu conceder ao mesmo o conceito de "**Aprovado**", em resultado à atribuição dos conceitos dos professores: **Édison Vicente Oliveira**, **Sérgio Francisco Monteiro da Silva** e **Neuvânia Curty Ghetti**. Assinam também a presente ata, a Coordenadora, Prof. Anne-Marie Pessis e a secretária Luciane Costa Borba para os devidos efeitos legais.

Recife, 28 de agosto de 2013.

Prof. Dr. Édison Vicente Oliveira

Prof. Dr. Sérgio Francisco Serafim Monteiro da Silva

Prof<sup>a</sup>. Dra. Neuvânia Curty Ghetti

Prof<sup>a</sup>. Dra. Anne-Marie Pessis

Luciane Costa Borba

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Coordenação Nacional de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) pela bolsa cedida.

Ao Prof. Dr. Henry Lavalle Sullasi que de início depositou toda confiança para este trabalho ter êxito.

Ao longo deste trabalho, várias foram as contribuições, o Prof. Dr. Sérgio Silva foi decisivo em todas as etapas desse projeto e me auxiliou no trajeto que o experimento tomou, várias foram as escolhas e encontros para o trabalho começar. Além de toda carga teórica que compartilhei com ele neste tempo.

Quando este trabalho estava no início, a coleta de sedimentos foi essencial e grande parte da turma de mestrado auxiliou, por extenso, Nilo Nobre, Herbert Moura, Daniela Ferreira, Sarah de Oliveira, Pâmara Araújo, Rosemary Cardoso e Tainã Alcantara. Além do agregado e doutorando Alencar de Miranda. Tenho certeza que todos entenderam o papel dos colêmbolos (microartrópodes de solo) no ambiente edáfico, e jamais esquecerão.

Durante a coleta, a Profa. Dra. Claudia Oliveira contribuiu com críticas que solucionaram muitos de meus problemas, além dos momentos de discussão e delineamento deste projeto durante as disciplinas. Sou extremamente grato a ela que dedicou boa parte de seu tempo para me ajudar nos rumos dessa pesquisa.

Após a coleta, agradeço a Seu Arnaldo que ajudou a carregar os sedimentos do sítio arqueológico até a cidade de Areia. Além de meus pais Aderval e Miriam que ajudaram no ato de descarnar os ossos e aturaram as primeiras semanas de odor desagradável que tomava conta da casa toda. Além claro, das ajudas financeiras, pois nem só de bolsa vive o homem, temos que ter o suporte dos genitores para sobrevivermos em Recife. O mesmo da etapa pós-experimento onde houve participação maciça dos dois para obter os minúsculos pedaços de amostras para microscopia.

Durante o processo tenho que agradecer a diversos professores do Departamento de Química Fundamental, dentre eles Prof. Dr. Walter Mendes que testou a espectroscopia Raman, mas não obtivemos sucesso. Em especial a Prof. Dra. Fernanda Pimentel, sem ela essa análise não teria sido feita, e toda equipe do Laboratório de Combustíveis da UFPE, como também Prof. Dra. Simone Simões da Universidade Estadual da Paraíba, que era pós-doutoranda na época e colocou avante as primeiras medições por FTIR-ATR no LAC.

Ao Prof. Dr. Rômulo Menezes do Departamento de Energia Nuclear, que cedeu espaço e material para análise de solo e ao Dr. Dário Primo, por ensinar todo protocolo e

ter paciência com um biólogo que não entendia nada sobre o assunto. Apreendi com êxito os procedimentos de titulação.

A Prof. Dra. Aline Elesbão que cedeu espaço do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco para obtermos imagens de microscopia eletrônica de varredura. Isso porque os microscópios da UFPE e adjacências estavam quebrados ou fechados para análise externa e do CETENE com uma fila quilométrica.

Aos Profs. Drs. Matthew Collins (Universidade de York), Terry O'Connor (Universidade de York) e Mark Skinner (Universidade Simon Fraser) pelas contribuições teóricas e metodológicas, sem eles respectivamente, a Arqueoquímica, a Zooarqueologia e as Ciências Forenses mundiais não teriam tanta contribuição como tem atualmente.

Novamente ao Prof. Dr. Henry Lavalle Sullasi, meu pai científico, que atendeu todas as ligações, respondeu todos os e-mails, depositou confiança em todas as etapas do trabalho, delineou toda trajetória, manteve espaço constante de avaliação e acompanhamento, e facilitou minha vida acadêmica e ainda facilita. Precisarei de cartas de recomendação futuras. Além da orientanda dele Luísa Cardoso, que supriu minhas ausências e desenvolveu com êxito a Iniciação Científica baseada em diagênese óssea.

Nos bastidores, a companheira de todas as horas boas e ruins, na saúde e na doença, Elisabeth Tölke (UNICAMP), e aos companheiros de graduação e mestres maravilhosos que estão espalhados pelo Brasil, Thiago Severo (UFRN), Uirá Souto (USP), Franklin Silva (UFV), Ribamar Lima (UFPB), Mariana Fragoso (UNESP), José Aécio (UFMG), Ana Amélia (UEPB), Daniela Viana (UNESP) além dos que ficaram em Campina Grande (PB), Magna Barbosa, Raoni de Castro e André Leal. É uma grande família *soft e hard science*.

E para finalizar, meu agradecimento aos quatro pais científicos da Universidade Estadual da Paraíba que ganhei na graduação e que continuam a me apoiar atualmente. Prof. Dr. Douglas Zeppelini, Prof. Dr. Juvandi de Souza, Prof. Dr. Mathias Weller, e Prof. Dra. Silvana Santos.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Arqueologia e funcionários do Departamento de Arqueologia da Universidade Federal de Pernambuco. Responsáveis pelo nascimento, crescimento, e futura publicação deste trabalho e de outros que virão.

Um agradecimento ao site <http://sci-hub.org> que permitiu acesso aos periódicos não liberados pelo portal periódicos CAPES.

Próxima etapa, doutorado.

# Conteúdo

Página

<b>1. Introdução e antecedentes .....</b>	<b>14</b>
1.2 Problema	16
1.3 Objetivo	16
1.4 Objetivos específicos	16
<b>2. Quadro teórico .....</b>	<b>17</b>
2.1 Pressupostos teóricos	17
2.1.1 Estrutura e diagênese óssea	17
2.1.2 Colágeno	23
2.1.3 Modelos e variáveis dos processos tafonômicos	25
2.1.4 Arqueologia e química	27
2.1.4.1 Usos de Transformada de Fourier por Infravermelho modo Reflectância Total Atenuada em Arqueologia	30
2.1.4.2 Usos de Espectroscopia Raman em Arqueologia	31
2.1.5 Preservação de DNA antigo	31
2.1.6 Experimentos na arqueologia	32
2.1.7 Tafonomia e o experimento	34
<b>3. Materiais e métodos .....</b>	<b>37</b>
3.1 O solo do sítio Pedra do Alexandre	37
3.2 Equipamentos utilizados e variáveis diagenéticas	40
3.3 Amostras escolhidas	46
<b>4. Resultados finais .....</b>	<b>49</b>
4.1 Recipiente secundário	49
4.2 Recipientes setor II nível 1	49
4.3 Recipientes setor IX nível 2	50
4.4 Recipientes setor IX nível 3	50
4.5 Espectroscopia por Transformada de Fourier, Microscopia Eletrônica de Varredura e Carbono Orgânico Total	51
<b>5 Discussão .....</b>	<b>66</b>
<b>6 Conclusões .....</b>	<b>72</b>
<b>7 Referências Bibliográficas .....</b>	<b>74</b>

# LISTA DE FIGURAS

	Descrição	Página
<b>FIGURA 1</b>	Diagrama didático para entendimento do experimento aqui apresentado com embasamento teórico da divisão de processo táfico por O'Connor (2000) e sindiagênese por Nhauro (2010).	18
<b>FIGURA 2</b>	Estrutura molecular dos tipos de colágeno adaptado do trabalho de Belbachir <i>et al.</i> (2009).	24
<b>FIGURA 3</b>	(A) Distribuição em solo brasileiro do Neossolo Litólico em verde, solo presente no sítio Pedra do Alexandre (Fonte: <i>shape</i> fornecido pelo IBGE); (B) Neossolo Litólico no Estado do Rio Grande do Norte com a representação pontual do Sítio Pedra do Alexandre; (C) Adaptação da figura de localização dos sepultamentos do trabalho de Mutzenberg (2007) contendo a setorização e divisão da camada estratigráfica (PAs) conceituado no trabalho do mesmo autor, com a localização do corte estratigráfico da campanha 17 no ano de 2012, os setores de retirada do sedimento para o experimento e os vestígios já encontrados no Sítio Pedra do Alexandre também estão representados.	37
<b>FIGURA 4</b>	Picos relativos ao colágeno tipo 1 (ligações de amido) e hidroxiapatita (ligações de carbonato e fosfato).	40
<b>FIGURA 5</b>	Porção do espectro médio da amostra óssea moderna da mandíbula usada para calcular os parâmetros diagenéticos Índice de Cristalinidade (C. I.) e as razões C/C e C/P. Com uma ilustração do que é denominado banda e pico.	41
<b>FIGURA 6</b>	Esquema didático da distribuição, armazenamento e dimensões dos recipientes plásticos do experimento em estrutura metálica.	42
<b>FIGURA 7</b>	Temperaturas medidas em °C no entorno do Sítio Pedra do Alexandre, (A) em ambiente de serapilheira e sombra, e (B) em ambiente com incidência de luz solar.	44
<b>FIGURA 8</b>	Ossos enterrados nos recipientes plásticos. A e B enterrados com sedimento do setor II PA1, respectivamente 1 e 2; C e D com solo do setor IX PA2, respectivamente 2 e 1; E e F, setor IX PA3 - 1 e 2; G e H o antes e o depois da pintura dos ossos com óxido de ferro.	48
<b>FIGURA 9</b>	Ossos desenterrados relativos a figura 8 após o experimento de um ano. A e B amostras SDII e SMII; C e D amostras SDIXII e SMIXII; E e F, amostras SDIXIII e SMIXIII; G, experimento com simulação de pintura por óxido de ferro; H, visão aproximada da superfície óssea de uma das diáfises presentes em G.	52
<b>FIGURA 10</b>	Espectro médio das diáfises de fêmur bovino. SDII- sedimento mais profundo. SDIXII- camada intermediária, SDIXIII- camada próxima a superfície. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	54
<b>FIGURA 11</b>	Espectro médio do ramo de mandíbulas suínas. SMII – camada profunda, SMIXII - camada intermediária, SMIII – camada superficial. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	54
<b>FIGURA 12</b>	Espectro médio de ossos modernos de bovinos e suínos. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	55
<b>FIGURA 13</b>	Espectro médio de manchas de sangue encontradas na superfície da diáfise bovina. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	55
<b>FIGURA 14</b>	Espectro médio dos ossos pintados por óxido de ferro, Recipiente Secundário descrito na página 35. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	56
<b>FIGURA 15</b>	Espectro médio do sedimento das três camadas estratigráficas II – mais profundo, IXII médio, IXIII próximo à superfície. Eixo X: Unidades de Absorbância (AU); Eixo Y: Número de onda (cm <sup>-1</sup> ).	56

<b>FIGURA 16</b>	Tendência linear dos parâmetros diagenéticos por Análise de Componente Principal entre as amostras do experimento e utilizando os dados das amostras arqueológicas do trabalho de Farias <i>et al.</i> (em processo de submissão). O componente 1 (eixo X) é relativo aos valores altos de C/C, e o componente 2 (eixo Y) é relacionado ao Índice de Cristalinidade de razão C/P.	57
<b>FIGURA 17</b>	Distribuição dos dados de três parâmetros diagenéticos nos ossos do experimento e nos ossos do sítio Pedra do Alexandre.	59
<b>FIGURA 18</b>	Distribuição do Índice de Cristalinidade em três camadas estratigráficas diferentes no experimento de um ano. D = diáfise do fêmur bovino; M = mandíbula suína.	60
<b>FIGURA 19</b>	Varição do Índice de Cristalinidade e do Carbono Orgânico (Amostra Solo) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total (C g kg <sup>-1</sup> ) Tabela 5; como também média de absorvância do Índice de Cristalinidade Tabela 4.	61
<b>FIGURA 20</b>	Varição da razão Carbonato / Fosfato e do Carbono Orgânico (Amostra Solo em azul) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total (C g kg <sup>-1</sup> ) Tabela 5; como também média de absorvância do Índice de Cristalinidade Tabela 4.	61
<b>FIGURA 21</b>	Varição da razão Carbonato / Carbonila e do Carbono Orgânico (Amostra Solo em azul) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total (C g kg <sup>-1</sup> ) Tabela 5; como também média de absorvância do Índice de Cristalinidade Tabela 4.	62
<b>FIGURA 22</b>	Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e respectivos espectros médios por FTIR-ATR. A – Camada superficial da amostra da diáfise de fêmur bovino moderno; B – Imagem aproximada de A, fibras de colágeno cobertas por material orgânico; C – Osso pintado por óxido de ferro, fragmento de diáfise de fêmur bovino pintado por óxido de ferro; D – ultraestrutura da imagem C, presença dos canais de Volkmann (setas pretas) além de matéria orgânica.	63
<b>FIGURA 23</b>	Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e respectivos espectros médios por FTIR-ATR A – Amostra SDIXII, fragmento de diáfise de fêmur bovino com sedimento da camada intermediária do Setor IX; B – Imagem aproximada de A, sedimentos incorporados à superfície óssea áspera; C – amostra SDIXIII, fragmento de diáfise de fêmur bovino com sedimento camada próxima à superfície do setor IX; D – Imagem aproximada de C, esporos de fungos (setas pretas) e cristais de sedimento espalhados (em branco).	64
<b>FIGURA 24</b>	Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura e espectro médio por FTIR-ATR da amostra SMII. A - Fragmento do arco de mandíbula suína com superfície áspera no recipiente com sedimentos do nível intermediário; B – aproximação na figura A, esporos e hifas colonizando a ultraestrutura óssea.	65

## LISTA DE TABELAS

	<b>Descrição</b>	<b>Página</b>
<b>TABELA 1</b>	Descrição do conteúdo dos recipientes incluindo os códigos utilizados para análise, espécie, simulação de pintura e análises feitas com cada amostra.	43
<b>TABELA 2</b>	Valores médios em milímetros (mm) de precipitação no Rio Grande do Norte extraído de Silva <i>et al.</i> (2011) e valores médios convertidos para milímetros de gotejamento no Experimento. *Valores não medidos.	44
<b>TABELA 3</b>	Temperatura média de cinco medições em °C e desvio padrão da temperatura nos recipientes plásticos do experimento incluindo temperatura atmosférica externa	44
<b>TABELA 4</b>	Três parâmetros diagenéticos: Índice de Cristalinidade, Carbonato/Fosfato, Carbonato/Carbonila e respectivos desvios-padrão do experimento de um ano aqui descrito (em branco), além dos resultados encontrados no sítio Pedra do Alexandre (em amarelo, utilizando os metadados referentes ao rascunho de Farias et al. – em processo de submissão).	53
<b>TABELA 5</b>	Análise do conteúdo de Carbono Orgânico Total do solo do recipiente utilizado no experimento. % Carbono = Porcentagem de carbono; C g kg <sup>-1</sup> = Total de carbono em grama por quilograma. *Solo do nível II armazenado fora dos recipientes.	57

# LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

	<b>Descrição</b>
<b>COT</b>	Carbono Orgânico Total
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>FTIR-ATR</b>	Transformada de Fourier por Infravermelho – Reflectância Total Atenuada ( <i>Fourier Transformed by Infrared – Attenuated Total Reflectance</i> ).
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>Col</b>	Colágeno
<b>HA</b>	Hidroxiapatita
<b>C. I.</b>	Índice de Cristalinidade
<b>BMD</b>	Densidade Mineral Óssea
<b>PCA</b>	Análise por Componentes Principais
<b>ICP-MS</b>	Espectroscopia de Emissão Atômica por Plasma Acoplado
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico.

## RESUMO

Diagênese óssea não é muito estudada no Brasil sendo parte dos processos táficos na Tafonomia e também parte dos estudos de Formação do Registro Arqueológico. Nesse sentido, o sítio pré-histórico Pedra do Alexandre no município de Carnaúba dos Dantas (Brasil) por estar ambiente semiárido e apresentar diversos sepultamentos já estudados foi escolhido para o nosso estudo. Na perspectiva da sindiagênese, foi feito um experimento de um ano de enterro para verificar a ocorrência do processo de conservação óssea com monitoramento da temperatura e controle da umidade. Para isso, foram coletados sedimentos das três camadas estratigráficas do sítio Pedra do Alexandre descritos por estudos anteriores, e em recipientes plásticos contendo os sedimentos foram enterradas diáfises de bovinos e mandíbulas de suínos. Algumas dessas diáfises foram pintadas com óxido de ferro em analogia aos ossos com coloração vermelha encontrados no cemitério indígena. Após um ano, os ossos foram desenterrados e foram feitas medições químicas nos sedimentos por COT (Carbono Orgânico Total), e análises espectroscópicas por FTIR-ATR (Transformada de Fourier por Infravermelho – Reflectância Total Atenuada) e microscópicas nos ossos por MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). Os resultados mostram que os ossos tiveram perda considerável de matéria orgânica principalmente na superfície e apresentaram fungos que foram localizados por microscopia, os resultados da espectroscopia mostram ossos com o estado de conservação óssea “bem preservado”, sendo que o carbono orgânico total do solo não tem as curvas com o mesmo comportamento dos índices diagenéticos dos ossos. Trabalhos anteriores não utilizaram a comparação da matéria orgânica do solo com ossos, e os ossos não apresentaram resultados de queima, paleopatologia ou cozimento, de acordo com a literatura publicada anterior a este trabalho. As conclusões consideram que não existe diferença de degradação entre as três camadas estratigráficas em um ano de experimento, mas existe diferença entre os ossos modernos, do experimento e os ossos arqueológicos encontrados no sítio Pedra do Alexandre. Para Tafonomia e Formação do Registro Arqueológico a desarticulação no primeiro ano de enterro é uma característica interessante para entender as dinâmicas após a morte. Foram encontrados indicativos de identificação entre ossos com óxido de ferro e com manchas de sangue.

**Palavras-chave:** Diagênese óssea, espectroscopia por infravermelho, microscopia por varredura, Formação do Registro Arqueológico.

## ABSTRACT

Bone diagenesis is not very studied in Brazil being part of taphic processes in Taphonomy and Formation of Archaeological Record. In this way, *Pedra do Alexandre* prehistoric site in *Carnaúba dos Dantas* municipality was chosen because it is in semiarid environment and presents many burials studied. In syndiagenetic perspective, it was done one-year burial experiment to verify the occurrence of bone conservation process with monitoring of temperature and control of humidity. For this, it was collected the sediments from three stratigraphic layers of *Pedra do Alexandre* described by previous studies, and in plastic recipients containing the sediments it were buried bovine diaphysis and pork mandibles. Some of these diaphysis it were painted by iron oxide in analogy to bones with red coloration found in indigenous cemetery. After one year, the bones were unburied and were done chemical measurements in sediments by TOC (Total Organic Carbon), spectroscopy by FTIR-ATR (Fourier Transformed by Infrared – Attenuated Total Reflectance) and microscopy by SEM (Scanning Electron Microscopy) in bones. The results showed that bones had considerable loss of organic matter mainly in surface and showed fungi that were localized by microscopy, the results of spectroscopy showed that total organic carbon has the same behavior of bone diagenetic indexes. Past articles did not use the comparison between bones and organic matter of soil, and the bones not presented results of burn, paleopathology or cook according to literature published previously. The conclusions consider that do not exists differences of degradation between three stratigraphic layers in one-year experiment, but exist difference between modern bones, bones from experiment, and archaeological bones found in *Pedra do Alexandre* site. For Taphonomy and Formation of Archaeological Record the disarticulation in the first year of burial is an interesting characteristic to understand the dynamics after death. It was found indicatives of change between bones with iron oxide or bloodstains.

**Keywords:** Bone diagenesis, spectroscopy by infrared, scanning microscopy, Formation of Archaeological Record.

## 1. Introdução e antecedentes

Os remanescentes ósseos humanos e faunísticos provenientes do sítio arqueológico pré-histórico Pedra do Alexandre, localizado no Estado de Rio Grande do Norte, sofreram ao longo dos anos remodelações microscópicas decorrentes da ação de agentes tafonômicos *in situ* e em laboratório. Atualmente o material está armazenado sob a guarda do Núcleo de Estudos Arqueológicos – NEA da Universidade Federal de Pernambuco. Estudos anteriores indicaram significativos potenciais de análise e interpretação paleoantropológica, paleopatológica, tafonômica e zooarqueológica dos materiais ósseos e dentários (RAMOS, 1995; MELLO E ALVIM *et al.*, 1995/1996; MARTIN, 2005; MUTZENBERG, 2007; CASTRO, 2009).

No Brasil, a química aplicada à arqueologia tem sido tratada com expressividade para responder questões ligadas à técnica de execução de grafismos, casos de pinturas retocadas; superposições; técnica de fabricação de pigmentos; constituição química de pigmento; localização de fontes de matéria-prima; relações existentes entre pinturas rupestres e camadas estratigráficas, bem como o estado de conservação das pinturas (LAGE, 1996), com aplicações semelhantes para auxiliar na resolução de problemas da Arqueologia e Química Forense (BRANCO e SILVA, 2012).

Quanto a trabalhos nacionais sobre tafonomia podemos citar Bartolomucci (2008) que estudou as variáveis tafonômicas em períodos distintos (*ante, peri e post-mortem*) dos remanescentes ósseos humanos nos sambaquis fluviais do Vale do Ribeira – São Paulo e o experimento de Pacheco *et al.* (2012).

A primeira escala de classificação sobre conservação óssea foi proposta por Behrensmeyer (1978) dividida em estados ósseos e atualmente ainda é utilizada como análise subjetiva de grau de conservação óssea (O'CONNOR, 2000). Essa divisão compõe seis estados de conservação incluindo 0 como estado inicial até 5 passando por estágios intermediários 1-4, ou seja, de estados sem quebra ou descamação a estados com ossos fragmentados de formato imperceptível. Santos e Farias (2009) utilizaram essa escala para verificar a diagênese óssea de cemitérios indígenas da Paraíba.

Além da escala com estados de conservação relativos a conservação óssea, a teoria arqueológica sobre os processos tafonômicos, compreende as seguintes subdivisões

seguindo o modelo proposto por O'Connor (2000): 1 – processos *bióticos*, relativos às interferências do ambiente natural e cultural de determinados número de animais em determinado período de tempo; 2 – processos *tanáticos* ou tanatológicos, sobre a morte e deposição dos vestígios de animais; 3 – processos *peritáticos*, que implicam no movimento e destruição dos ossos geralmente o atrito de sedimentos levados pelo vento durante a manipulação e armazenamento dos ossos para rituais ou para uso posterior por populações humanas e por vertebrados em geral antes de constituírem partes dos depósitos; 4 – processos *táticos*, resultantes da ação de agentes químicos como oxidação, hidrólise e enzimas; e físicos como atrito também por movimentação e acidentes geológicos onde aja absorção de grande energia que possam afetar os ossos após o enterro; 5 – processos *anatáticos*, com a reciclagem dos processos e reexposição dos ossos enterrados; 6 – processos *sulégicos*, que implicam nas decisões sobre a recuperação ou não-recuperação da amostra; e 7 – processos *tréficos*, voltados as decisões de pesquisa e curadoria relacionadas a triagem, registro e publicação (Fig. 1).

Esta pesquisa está focada nos processos *táticos*, comumente denominados como *diagenéticos*, referentes às mudanças químicas, e físicas após o enterro e que podem resultar em ossos bem ou mal preservados suas implicações no processo de interpretação das práticas funerárias do contexto arqueológico, e da potencialidade dos dados de natureza *tática* nesse processo.

## **1.1 Problema**

Por que os ossos enterrados foram degradados em ambiente semiárido no sítio arqueológico Pedra do Alexandre - RN, e o que isso significa para o processo tafônico na Tafonomia e Formação do Registro Arqueológico?

## **1.2 Objetivo**

Diagnosticar os estados de preservação dos ossos no ambiente semiárido para redirecionar a forma de compreensão do contexto arqueológico a partir da Tafonomia e Formação do Registro Arqueológico.

## **1.3 Objetivos específicos**

Analisar por comparação as características físicas, matéria orgânica e biomassa do solo do experimento e do sítio arqueológico;

Comparar as degradações de ossos das simulações de sepultamento primário e secundário;

Comparar as degradações dos ossos de estratigrafias diferentes em recipientes do experimento.

## 2. Quadro teórico

### 2.1 Pressupostos teóricos

#### 2.1.1 Estrutura e Diagênese Óssea

Para entender como se dá o processo de conservação óssea, temos que entender a estrutura óssea, incluindo formação e disposição das moléculas orgânicas e cristais, também o entendimento da diagênese, ou processo tafítico adotando o conceito de O'Connor (2000), tanto na Arqueologia quanto na Paleontologia, além de subdivisões e variáveis inorgânicas, orgânicas, e até mesmo microbiológicas, consideradas na conservação óssea.

A estrutura óssea apresenta camadas paralelas de cristais de hidroxiapatita e fibras de colágeno. Nos limites para parte externa, as estruturas cristalinas estão em volta das camadas de fibras. A organização do feixe de fibras e do desenvolvimento desse agrupamento nos leva a duas visões ainda não bem entendidas sobre essa estrutura óssea, uma que os cristais nascem e comprimem a tripla hélice da fibra de colágeno, e outra que os cristais crescem dentro dos canais da tripla hélice do colágeno, conforme descrito por Weiner e Traub (1992).

Para o processo de formação do tecido ósseo, Zhang *et al.* (2010) expuseram que a biomineralização acontece durante o desenvolvimento do ser humano e começa pela secreção de colágeno durante a osteogênese, nessa fase nenhum cristal de hidroxiapatita é formado, somente há uma rede cruzada de colágeno ligada por proteoglicanos. Logo após, a rede de fibras de colágeno em condição estável, ou seja, a matriz gelatinosa óssea auxiliada pelos proteoglicanos carregados negativamente ganha pontes químicas e elétricas. Assim, os proteoglicanos induzem a cristalização da hidroxiapatita ao longo das fibras de colágeno. Esse é o processo de formação da ligação Colágeno – Hidroxiapatita (Col-HA), que predominam na estrutura óssea, respectivamente, orgânica e inorgânica.

Uma visão geral da diagênese óssea foi trabalhada por Weiner e Bar-Yosef (1990) que conceituaram os diferentes estados de preservação de matéria orgânica (macromoléculas) como reservatórios de constituintes ósseos indígenas. Desde então, vem sendo reunido o maior número de variáveis químicas possíveis referentes a fósseis e

esqueletos em geral, e uma parte destes trabalhos foi publicado em menos de uma década. A diagênese óssea é o processo de degradação dos tecidos calcificados após o período de enterro, ênfase minha baseada no conceito de processo táfico de O'Connor (2000).

Ampliando a visão sobre o processo, a diagênese não é só óssea, em outros materiais variados podem ocorrer também diagênese, líticos (HOLMES *et al.*, 2005), arenito (MCMAHON *et al.*, 1992), amido (HASLAM, 2004) com variáveis diferenciadas atuando sobre os materiais e tendo mais influência de fatores abióticos do que bióticos, entretanto nos ossos se tem uma maior influência dos fatores bióticos na etapa inicial de degradação. Ou seja, não é só parte da Tafonomia, mas da Formação do Registro Arqueológico (LYMAN, 2010), que considera além de esqueletos e materiais fósseis (que foram tecidos vivos), materiais não-vivos como líticos, cerâmica, metais e etc, divisão que será tratada mais à frente.

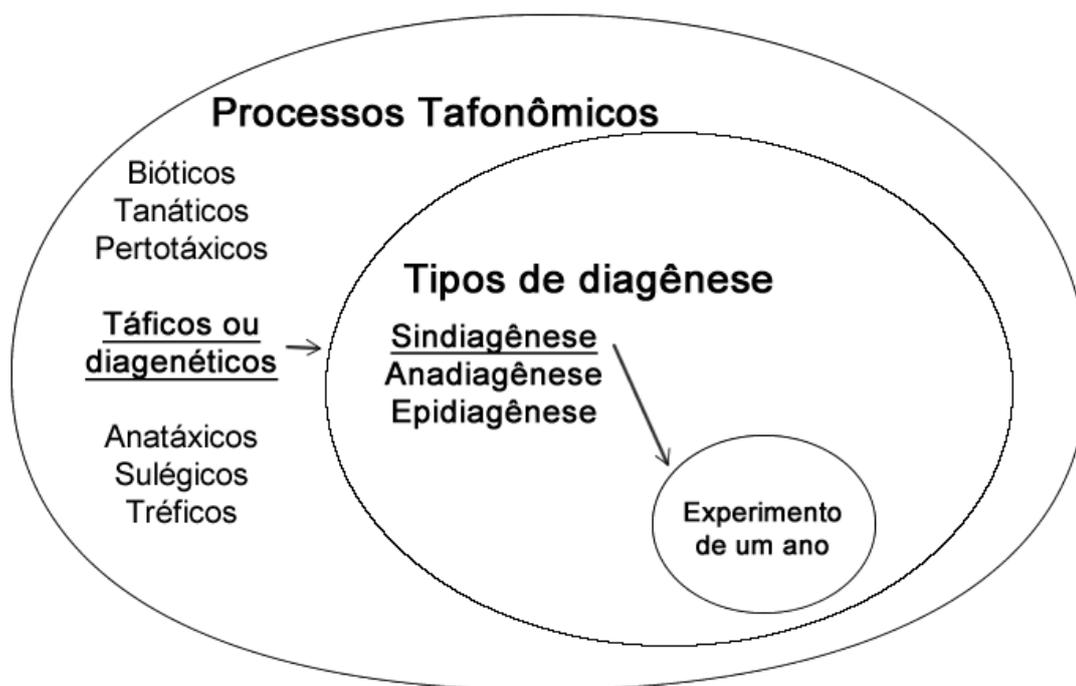
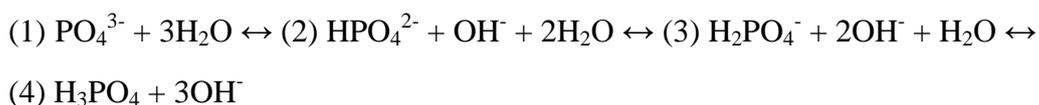


Figura 1 – Diagrama didático para entendimento do experimento aqui apresentado com embasamento teórico da divisão de processo táfico por O'Connor (2000) e sindiagênese por Nhauro (2010).

Desde formação até a degradação, Nhauro (2010) conceituou o processo diagenético ósseo por diferentes reagentes e três fases distintas. Com isso, as reações que ocorrem no interior do tecido ósseo constituem a primeira etapa, ou seja, a substituição

iônica dos minerais de apatita por outros minerais de ocorrência regular no solo, no caso deste trabalho, solo de região semiárida, exemplo Quartzo, Biotita, Plagioclastos, dentre outros (SANTOS *et al.*, 2012).

Na segunda etapa os espaços porosos principalmente encontrados nas trabéculas são preenchidos com minerais presentes no solo. Segundo o autor, o processo diagenético tende a aumentar o pH, deixando-o alcalino:



A primeira parte (1) compreende hidratação óssea e tem um papel importante no processo diagenético, pois promove o aumento do volume ósseo e tem como resultado microquebras. Na etapa dois (2) ocorre a formação do fosfato ácido e formação de hidróxido, na etapa três (3) há a formação de dihidrogenofosfato e formação de mais hidróxido com uma molécula de água, (4) até a hidratação culminar com liberação de ácido fosfórico e três moléculas de hidróxido.

Ajudando na conceituação desse estudo, o autor definiu três etapas distintas de diagênese: A sindiagênese, ou seja, a metabolização orgânica da matéria por bactérias. A anadiagênese, a fase de compactação e cimentação profunda de enterro, onde reações químicas inorgânicas predominam. Por último a epidiagênese, devido ao desaparecimento dos esqueletos deixando somente um molde. A diagênese tardia apresenta a substituição e precipitação dos minerais ósseos, embora com reações químicas lentas. Como consequência disso, o fosfato liberado que aumenta o pH, faz com que o solo seja um ambiente redutor. Daniel e Chin (2010) mostraram uma visão parecida quando descreveram que a maior parte óssea é degradada por processos físicos, químicos e biológicos antes da ocorrência da precipitação inorgânica.

A degradação da parte orgânica teve uma sequência idealizada por Marin (1999) com os seguintes processos: decaimento aeróbico e anaeróbico, sendo que no decaimento anaeróbico houve a redução do manganês, do nitrato, do ferro, do sulfato, além de metanogênese e fermentação.

Para a paleontologia, o artigo de Daniel e Chin (2010) resumiu que o processo de fossilização pode levar milhares de anos, enquanto outras pesquisas apontam que a preservação dos tecidos moles ocorre em uma amplitude de dias a meses, essas visões,

considerando as aqui já abordadas, mostram diferentes processos e similaridades entre o processo de preservação de diferentes tecidos.

A recristalização é o primeiro agente de preservação em longo prazo que dita o passo e o balanço entre os processos de degradação e preservação. Embora além dos fatores abióticos guiando a permineralização, as bactérias também podem ser importantes nesse processo de conservação dos tecidos moles e recristalização da apatita (DANIEL e CHIN, 2010).

Técnicas de microscopia e espectrometria têm sido utilizadas na arqueologia. Três tipos de cristais de apatita foram descritos por Reiche *et al.* (2002) através de microscopia eletrônica de transmissão no processo de recristalização óssea, tipo 1 em formato de plaqueta, tipo 2 em formato de agulha e tipo 3 em formato poligonal largo, que apresentaram espectros similares. Chadeaux *et al.* (2009) utilizou o mesmo tipo de microscopia combinado com FTIR (Transformada de Fourier por Infravermelho) para analisar a estrutura e diferenciação dos ossos queimados.

O artigo de Yoneda (2006) revisou as metodologias principais de estudo da química óssea, considerando principalmente os isótopos de carbono e nitrogênio como fonte de estudos de dieta e estrutura social, tendo como exemplo a recuperação de alimentações tradicionais e o desenvolvimento de crianças a partir destas dietas, ou seja, um amplo espectro de usos de espectrometria e microscopia auxiliando o estudo da diagênese e ajudando o entendimento do contexto sistêmico.

A alteração no pH (potencial Hidrogeniônico de escala  $7 >$  = ácido e  $7 <$  = básico, tendo o pH 7 como neutro) dos substratos é um dos principais fatores da decomposição de ossos e dentes em solos ácidos e alcalinos, resultando na desintegração ou descamação desses vestígios (FERNÁNDEZ-JALVO, ANDREWS, 1992; FERNÁNDEZ-JALVO *et al.*, 2002). Em ambientes com pH baixo temos preservação óssea, enquanto em ambientes alcalinos (8.1) dificilmente o osso é encontrado com boa conservação onde a apatita autigênica é mais abundante que a apatita biogênica<sup>1</sup> (Berna *et. al.*, 2004).

<sup>1</sup>Apatita autigênica = apatita encontrada no solo formado pela diagênese das rochas. Apatita biogênica = apatita formada nos tecidos ósseos.

Mudanças na hidrologia (UR - Umidade Relativa), no pH do solo e na pressão atmosférica (ATM) podem cumprir um importante papel no descondicionamento ósseo na diagênese inicial (DENYS, 2002). Por outro lado, há a defesa da taxa de perda e modificação óssea não estar simplesmente relacionada ao pH do solo e/ou Eh (Potencial de Redução) do solo; uma grande diferença na conservação óssea ocorre em solos geograficamente adjacentes, com similar pH e drenagem (NICHOLSON, 1996). Os valores de pH são normalmente inclusos nos programas de monitoramento em sítios arqueológicos preservados *in situ* e em experimentos (MATTHIESEN, 2004).

No campo da diagênese óssea, para experimentos arqueológicos o problema da cronologia é geralmente resolvido pelo aquecimento das amostras, processo denominado como queima, o qual pode não ser o método mais apropriado. Abdel-Maksoud (2010) lançou nesse sentido comparações entre os parâmetros diagenéticos de ossos queimados (idade acelerada) e ossos arqueológicos, onde quimicamente esses ossos tinham parâmetros diagenéticos parecidos e fisicamente (parte superficial) tinha morfologia completamente diferente, por isso o indicativo de não ser o método mais apropriado. Como também, considerou o número de parâmetros que são envolvidos nos processos diagenéticos, como a composição do solo, bactérias, transformações geomorfológicas dos solos, compactação, modificação química dos ossos e solos, elementos do sistema climático relacionado, dentre outros (DENYS, 2002).

Nielsen-Marsh *et al.* (2007) trabalharam na perspectiva do manejo experimental dos ossos enterrados, em solos do tipo corrosivo e em solos de tipo benigno. A comparação destes dois tipos de solo nos mostra quatro tipos diagenéticos, documentados no trabalho de Smith *et al.* (2007): tipo I – bem preservado; tipo II – hidrólise acelerada de colágeno (ACH); tipo III – osso atacado por micróbios (MA); e tipo IV – dissolução mineral catastrófica (CMD). Indicativo de bons ambientes para preservação do colágeno em ossos são sítios arqueológicos com grande volume d'água, conhecidos como sítios encharcados, que mostram pouco ataque microbiano (REICHE *et al.*, 2003). As chuvas são importantes agentes hidrológicos de dissolução dos ossos, porque umidificam a estrutura mineral óssea, resultando na modificação da hidroxiapatita e dos tecidos compactos e trabeculares, com a conseqüente hidrólise da osseína. Depois de dissolver minerais, a exposição do colágeno é fato, bem como a aceleração da deterioração (COLLINS *et al.*, 2002).

Por outro lado, a alteração microbiológica pode ocorrer pela ação de fungos, bactérias e algas, e o tipo e extensão do ataque microbiano são determinados por fatores tafonômicos pré-deposição e fatores ambientais (JANS *et al.*, 2004). Uma importante questão relacionada ao entendimento do processo de ataque microbiano é se é usualmente o primeiro processo, ou se é dependente de outras mudanças prioritárias no osso (HEDGES, 2002).

O papel dos fungos nos sítios arqueológicos é sintetizado por Denys (2002), que descreve esse processo tafonômico. Antes da sequência de soterramento, dois tipos distintos de conservação são considerados: primeiro se o osso foi cozido (por exemplo, osso de bovino que serviu como fonte de alimentação) e, segundo, se ocorreu o enterramento profundo dos ossos com partes moles anexadas, que é um processo diferente das carcaças que foram descarnadas, devido à utilização das partes moles como alimento (ROBERTS *et al.*, 2002).

A participação dos fungos na diagênese óssea nos leva à perda de colágeno, que está correlacionada ao ataque microbiano em ambientes de inumação, ou ataque de cianobactérias em ambientes marinhos (BELL *et al.*, 1991). O colágeno e a hidroxiapatita perdidos no processo de diagênese óssea indicam perda de informações específicas, porque o DNA é adsorvido e estabilizado pela apatita no tecido ósseo, e porque o colágeno é também parte do complexo sistema que preserva o DNA no tecido ósseo (GÖTHERSTRÖM *et al.*, 2002; DOBBERSTEIN *et al.*, 2009).

A osteocalcina, que está ligada ao colágeno, é a segunda mais numerosa proteína nos ossos, com uma alta afinidade pela sua parte mineral e como descrita anteriormente tem um importante papel na formação hormonal. A osseína e a osteocalcina são proteínas essenciais para a sobrevivência óssea. Considerando a composição mineral óssea e uma destas proteínas, temos três processos alternativos de deterioração (1) a fração orgânica (primeiramente colágeno) ou (2) a mineral óssea, ou (3) a biodegradação. Essa divisão didática é necessária para entender os fatores complexos relacionados à diagênese óssea *in situ* (COLLINS *et al.*, 2002; SMITH *et al.*, 2005).

Para melhor entendimento temos um osso bem preservado (tipo *well-preserved*) que pode passar por três trajetórias (os processos alternativos de deterioração). Por deterioração da parte orgânica (trajetória 1), ou por deterioração da parte mineral

(trajetória 2), ou ainda deterioração por biodegradação (trajetória 3) que pode danificar tanto a parte mineral quanto a orgânica.

A decomposição de proteínas, ácidos graxos e carboidratos passa por estágios diferentes de acordo com Dent *et al.* (2004) e por terem pesos moleculares diferentes, a epiderme, reticulina, colágeno e proteínas musculares são as primeiras a serem degradadas, assim as proteínas são quebradas em proteoses, peptonas, polipeptídeos e aminoácidos. Trata-se de um processo inicial biológico, maior que as influências abióticas, culminando com mais proteólise e gases influenciados por bactérias. Já no caminho de degradação dos ácidos graxos, alguns estágios são evidentes como a quebra direta em ácido oleico, palmitoleico e linoleico, ocasionando em estágio final a formação de cera, ou *adipocere*. A degradação dos carboidratos forma ácidos orgânicos, dióxido de carbono e água, e álcoois, dependendo respectivamente dos processos de oxidação por fungos, oxidação completa por bactérias, e incompletamente oxidada por bactérias.

### **2.1.2 Colágeno**

Os componentes orgânicos tem sido estudados em demasia no sentido de serem usados até como marcadores peptídicos para identificação de espécies pré-históricas e identificação de parentesco (NIELSEN-MARSH *et al.*, 2009). O colágeno tem sido utilizado como indicador de ossos bons para datação e para extração de DNA. Por isso, entender a estrutura e a aplicação da molécula no estudo da arqueologia é necessário.

A molécula de colágeno foi estudada por Belbachir *et al.* (2009) que identificou e diferenciou 5 tipos de colágeno por espectroscopia FTIR: tipo I (presença de hidroxilisina glicolisada); III (estrutura do tipo I mais ligação dissulfeto); IV (estrutura do tipo I mais domínio C-N); V (estrutura do tipo I mais C telopeptídeo); e VI (estrutura do tipo I mais C-N telopeptídeos). Por essa técnica são identificáveis ossos em condições normais e patológicas. Modelos de degradação desta molécula de tripla hélice envolveram a Destruição Acelerada do Colágeno, no caso do ataque de micróbios, e de variáveis de sobrevivência como desidratação e conexões cruzadas entre essas moléculas (COLLINS *et al.*, 1995).

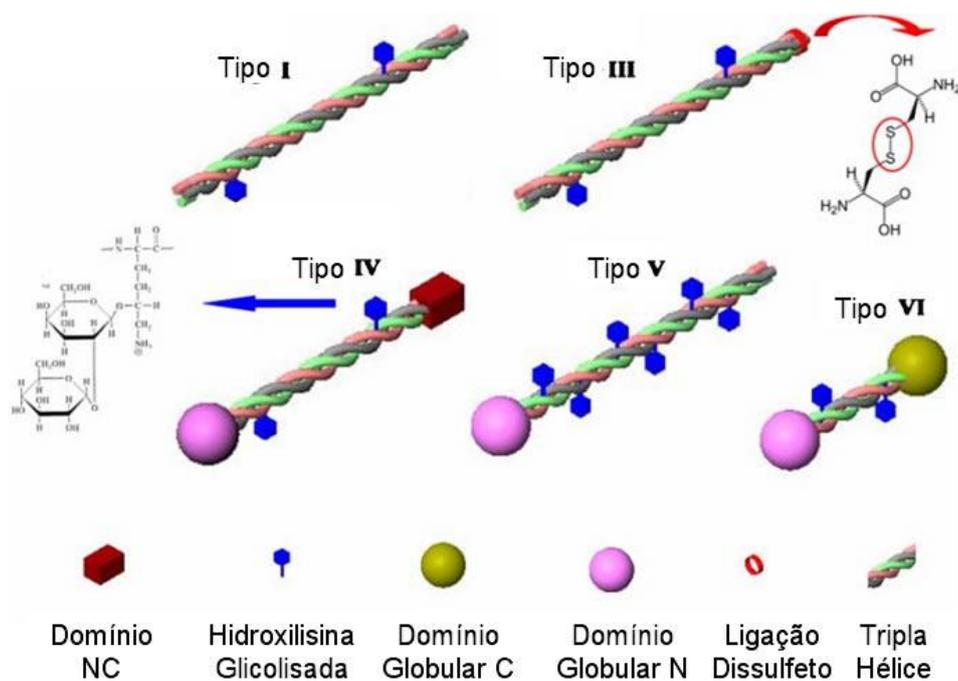


Figura 2 – Estrutura molecular dos tipos de colágeno adaptado do trabalho de Belbachir *et al.* (2009).

A molécula de colágeno é importante para viabilizar a datação por radiocarbono, o que nos leva ao trabalho de Brock *et al.* (2010) que utilizou a extração de colágeno por ácido clorídrico e gelatinização conforme protocolo de Brock *et al.* (2007), como forma eficaz de verificar amostras em uma procura prévia. O uso de FTIR-ATR por Belbachir *et al.* (2009) supriu e não promoveu danos às amostras considerando a extração de colágeno feita por Brock *et al.* (2010) conforme protocolo de Brock *et al.* (2007).

Por exemplo, King *et al.* (2011) enfatiza que por FTIR não é possível identificar diretamente se há colágeno, e sim por espectroscopia Raman, enfatizando o uso do Raman mais que o FTIR. Embora, em outro periódico os picos relativos ao colágeno tipo 1 são claros no trabalho de Belbachir *et al.* (2009).

De acordo com a procura prévia por uma amostra viável, King *et al.* (2011) utilizou os dois tipos de espectroscopia para ver qual é a melhor amostra, um trabalho parecido com o de Brock *et al.* (2010), mas ao invés de serem amostras viáveis para datação, foram amostras viáveis para análise isotópica.

Outras técnicas químicas têm sido utilizadas para verificação da presença de colágeno e amostras viáveis para estudo de DNA por fluorescência ultravioleta ao invés

das antigas técnicas de verificação da microestrutura por cortes histológicos (HOKE *et al.*, 2011).

Para entender a técnica de extração de colágeno, Pestle (2010) descreveu um protocolo onde testou diferentes concentrações de ácido clorídrico (HCl), onde os resultados de qualidade apareceram em concentrações altas desse ácido e o tempo da extração também foi menor em altas concentrações.

### **2.1.3 Modelos e variáveis dos processos tafonômicos**

Os processos tafonômicos incluem a preservação de sítios arqueológicos em geral também. Consideremos uma explicação mais ampla incluindo modelos e variáveis de preservação de sítios arqueológicos. Por exemplo, temos modelos de preservação de sítios arqueológicos para distinguir tipos de distúrbios ao longo dos anos, Van Nest (2002) mostrou um panorama geral sobre os processos de preservação dos sítios arqueológicos no oeste do Estado de Illinois nos Estados Unidos da América e as variáveis empregadas foram ligadas à mecanismos alogênicos como colúvio, força eólica, fauna, flora, gelo; e autigênicos, como tamanho das partículas de sedimento, estrutura da concentração de solo, raízes arbóreas ao longo dos anos, e características da cova. Uma característica realçada por Douterelo *et al.* (2009) que a profundidade é altamente importante para preservação de vestígios arqueológicos orgânicos foi justificada pela presença de distintas populações de micróbios com diferentes composições e metabolismos em diferentes camadas estratigráficas.

Nesse sentido, uma das técnicas para identificar a biodeterioração de cultura material é a Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV e um exemplo disso é o trabalho de Herrera e Videla (2004) onde foram empregadas também lâminas de petrografia para espectroscopia para identificação de musgos associados a elementos culturais. Técnicas de DNA são empregadas para identificação de espécies que degradam madeira (JELLISON e JASALAVICH, 2000), essas técnicas que usam marcadores e imunologia são importantes para identificação de fungos que colonizam ossos, por exemplo.

Considerando ainda os fungos como agentes de degradação, existem os que agem com auxílio do transporte de insetos, chamados entomófilos, insetos vetores que tornam

difícil o controle da conservação de objetos de cultura material (JURADO *et al.*, 2008), apresentando também biodeterioração em outros materiais de origem cultural como material lítico (WARSCHEID e BRAAMS, 2000; LISCI *et al.*, 2003), construções históricas (HERRERA e VIDELA, 2004), madeira (BLANCHETTE, 2000), tecidos (PEACOCK, 2003), materiais arqueológicos em geral (VIDELA *et al.*, 2000), e até mesmo em couro arqueológico (STRZELCZYK *et al.*, 1997), ou seja, o espectro de subáreas e pesquisas feitas sobre conservação arqueológica é extenso<sup>1</sup>.

Influências bióticas são amplas, por exemplo, a flora promove alterações devido às raízes, mas por outro podem ser bioindicadoras de estruturas de enterro (CESCHIN *et al.*, 2012). Portanto, podem ser analisadas do ponto de vista de descontinuidade superficial do solo, com espécies distintas no entorno de ambientes de enterro.

Saindo da parte dos agentes para os meios de preservação das estruturas, a química da preservação dos tecidos moles foi revisada por Aufderheide (2011) que distinguiu três processos *post-mortem* e moléculas envolvidas, indo profundamente nos tipos de lipídios, carboidratos e proteínas, em especial enzimas, moléculas citadas parte da conservação ou degradação.

A primeira parte do processo de decaimento consiste na ação de enzimas, lisossomos intracelulares, bactérias e insetos. Boa parte das enzimas são hidrolases resultando na quebra de proteínas tendo como produto peptídeos. Uma variável-chave é a enzima lisossomal que age até 24 horas após a morte. A partir dessa enzima, o próximo processo é identificado pela invasão das bactérias em vários órgãos, a partir da fuga do trato intestinal. As bactérias também secretam enzimas importantes para degradação dos tecidos moles. O terceiro passo é a identificação da fauna associada ao corpo, principalmente os insetos que caracterizam etapas padrão da decomposição, algumas espécies que aparecem em períodos específicos para degradar tecidos específicos ou não aparecem devido ao tipo de material encontrado no corpo, e segundo o autor até mesmo metais pesados foram encontrados como essenciais para preservação.

<sup>1</sup>vide palavras-chave *archaeology degradation and deterioration* no *Google Scholar*<sup>®</sup> (observação pessoal).

O tipo e a presença de cera, colágeno e anticorpos têm ações importantes em corpos altamente preservados como múmias. Um exemplo de preservação excepcional de tecidos moles é o caso da massa cerebral encontrada em Heslington, no condado de Yorkshire no Reino Unido (O'CONNOR *et al.*, 2011) e a observação interessante é de que a cera mortuária (*Adipocere*) não é uma característica estrita para conservação de vários outros tecidos, características microambientais também são importantes, inclusive o próprio ato do enterro, que pode influenciar na conservação ou não da matéria orgânica óssea.

O emprego dessas diversas técnicas como espectrometria e microscopia para responder questões arqueológicas é cunhado como Microarqueologia por Weiner (2010) com o uso de equipamentos para registrar microscopicamente o que há por dentro dos diferentes sinais encontrados em materiais arqueológicos para entender o comportamento humano passado. Porém, segundo revisão de Millard (2011) precisa ser bem mais defendido conceitualmente. Outro termo utilizado uma vez na conclusão do trabalho de Maurer *et al.* (2011) foi Arqueoquímica, sem uso posterior, precisando de melhor conceituação. Uma questão interessante é se “Microarqueologia” é parte ou é parecida com “Arqueoquímica”.

#### **2.1.4 Arqueologia e química**

Adotando Arqueologia e Química, e não fusionando o termo, em arqueoquímica ou microarqueologia, temos historicamente Harold Krueger como o pesquisador que sintetizou as interfaces isotópicas em meados da década de 60 sendo citado por Ambrose e Krigbaum (2003) que reuniram a maioria dos artigos utilizados pela paleobiogeoquímica durante a história da bioarqueologia. Outro trabalho importante é o de Holliday *et al.* (2010) que nos leva ao panorama geral do uso da química para os estudos de resíduos de atividades humanas antigas para identificar a materialidade que os humanos utilizavam no passado, além dos próprios esqueletos humanos.

Como forma de verificar a importância da química na teoria arqueológica, temos de entender as diferenças entre a Formação do Registro Arqueológico e a Tafonomia. Lyman (2010) foi enfático ao tratar o primeiro como o conjunto dos processos que ocorreram ao longo dos anos aos materiais de seres vivos e não-vivos (lítico, vidro,

cerâmica, dentre outros), enquanto o segundo é aplicado somente aos materiais, tecidos e células em geral, ou seja, materiais que foram vivos. Geralmente trabalhos tafonômicos exploram variáveis quantitativas como unidade animal mínima, mínimo número de elementos, valores de densidade, número de cortes, percussões ou mordidas (NORTON *et al.*, 2007) – parte física dos processos táficos ou diagenéticos, e não as variáveis químicas.

Voltando à diagênese, a conceituação da palavra nos leva a trabalhos de geologia, como análise da porosidade em solos arenosos de ambientes diagenéticos diferentes, isto é, ambientes de conservação diferentes, sendo utilizado de forma abrangente como evolução diagenética. Com essa denotação Bin e Ju-Hong (2004) modelaram o tempo de intervalo de transição e propuseram uma equação de formação de solo para o tipo arenoso. Diagênese de sedimentos arenosos também foi explorada por McMahan *et al.* (1992) que mostrou o papel dos micróbios para unir o solo arenoso ao solo argiloso rico em matéria orgânica em camadas intermediárias.

Além dos fosfatos de cálcio, o estrôncio (Sr) tem a habilidade de modificar o balanço ósseo durante a formação óssea, sendo um elemento positivo na expressão da formação do colágeno tipo I (BRAUX *et al.*, 2011). Sendo um elemento descrito como importante na arqueologia por fornecer dados sobre conexões políticas, dieta, origem e contatos entre comunidades (WRIGHT *et al.*, 2010, ARNAY-DE-LA-ROSA *et al.*, 2011). Uma revisão foi feita por Bentley (2006) que mostrou todas as potencialidades do isótopo de estrôncio e o protocolo de desta análise é encontrado em Koppe *et al.* (2003).

Outros elementos como Carbono e Nitrogênio são utilizados para verificar a dieta entre comunidades diferentes como no trabalho de MacClure *et al.* (2011) onde até questões relacionadas a dieta diferenciada entre gêneros em uma parte da Espanha durante o Neolítico Antigo foi elucidada. Diferenças entre tecidos ósseos juvenis e infantis não foram detectadas por Waters-Rist e Katzenberg (2010).

Além desses elementos, outro que pode ser utilizado para estimar o período de lactação é o Enxofre (S), através dos isótopos estáveis presentes no colágeno (YONEDA, 2006). O Selênio (Se) também tem sido utilizado como um importante elemento para análise de dietas (SMRCKA *et al.*, 2011).

Tirando o foco dos isótopos e colocando nas variáveis diagenéticas, temos o tamanho dos cristais de hidroxiapatita, carbonato e de fluorapatita também mensurados

como características importantes para analisar a conservação de ossos (REICHE *et al.*, 2002). Estudos sobre ciências de materiais (NAGANO *et al.*, 1996; MATSUMOTO *et al.*, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2003; XUE *et al.*, 2004) auxiliam na identificação dos cristais de hidroxiapatita em aproximação nano ou microscópica por microscópio eletrônico de transmissão ou de varredura.

Assim, alguns outros trabalhos mostram fatores de crescimento, genes e proteínas que tem papel importante na formação óssea (PORTER *et al.*, 2004; THORTWARTH *et al.*, 2005), e desta forma podemos trabalhar em cima da ressurreição dessas moléculas em futuros estudos, como acontece a “ressurreição” de enzimas, escopo de estudo da Paleoenzimologia (PEREZ-JIMENEZ *et al.*, 2011), ou até mesmo, com íons de magnésio, que auxiliam nas primeiras etapas da osteogênese no metabolismo ósseo (LAURENCIN *et al.*, 2011).

A hidroxiapatita tem capacidade de agregação cristalina em ambientes com baixa concentração de Cálcio e alta concentração da proporção Cálcio/Fósforo fazendo com que se enriqueça pequenos filamentos, o pH serve como indicador de quantidade de cristais (ZHANG e DARVELL, 2011)<sup>1</sup>.

As técnicas de espectroscopia abordadas pela Arqueologia são não invasivas, ou seja, são partes da Química Analítica Verde, que vem rompendo os paradigmas para acabar com o tratamento e processamento de amostras (GARRIGUES e GUARDIA, 2013).

<sup>1</sup> Ossos também podem seguir capacidade de agregação diferenciada em sítios arqueológicos e paleontológicos de características ambientais e em cenários diferentes, uma hipótese a ser verificada em trabalhos futuros com moléculas e cristais antigos.

#### **2.1.4.1 Usos de Transformada de Fourier por Infravermelho no modo Reflectância Total Atenuada em Arqueologia**

De início, temos que entender que por volta de 1940 se popularizou a venda de espectrômetros por infravermelho por elementos dispersivos e, logo após, por difração. O avanço de fato ocorreu com acoplamento de interferômetro e com a estabilização do processo matemático da Transformada de Fourier, assim obtendo aumento na qualidade do Infravermelho (STUART, 2004).

O uso do Infravermelho é baseado na vibração de átomos de uma molécula. Assim, a radiação infravermelha ao passar por uma amostra determina qual é a fração da radiação incidente absorvida de uma energia de um material em particular. A energia representada por algum pico é um espectro de absorção e corresponde a frequência da vibração da molécula da amostra (STUART, 2004).

Um modo de espectroscopia que utiliza o fenômeno da reflectância total interna através de índices refrativos em contato com o cristal é o FTIR-ATR (Infravermelho por Transformada de Fourier modo Reflectância Total Atenuada). Para formar os espectros, a radiação atenuada resultante da parte superficial da amostra é medida (STUART, 2004).

A espectroscopia FTIR-ATR é de certa forma recente na arqueologia (HOLLUND *et al.*, 2013) principalmente na análise de diagênese óssea. A confiabilidade dos dados se mostrou bem maior que no uso do FTIR-KBr (HOLLUND *et al.*, 2013), técnica onde eram preparadas pastilhas de KBr (Brometo de Potássio) misturadas com a composição óssea para medição espectroscópica por pastilha. Uma aplicação interessante foi a do trabalho de Nagy *et al.* (2008) que identificaram sinais de mercúrio em amostras ósseas sífilíticas medievais, evidência de uso medicinal de mercúrio. Diagnósticos de fraturas ósseas por imagem fazem parte de outra técnica também por FTIR, o FTIRI que apresenta parâmetros diferentes relacionados à densidade mineral óssea – BMD (GOURION-ARSIQUAUD *et al.*, 2009).

Simulando rituais, ossos queimados e cozidos também são escopo de pesquisas arqueológicas com auxílio do FTIR-ATR. Um exemplo são os experimentos de Thompson *et al.* (2009, 2011) que apresentam os valores dos Índices de Cristalinidade e razão Carbonato/Fosfato em queimas de 15 e 45 minutos sob diversas temperaturas, outro

exemplo é o trabalho de Squires *et al.* (2011) com o protocolo de análise parecido e com o diferencial da análise histológica.

#### **2.1.4.2 Usos de Espectroscopia Raman em Arqueologia**

Não só espectroscopia por Transformada de Fourier tem sido utilizada na Arqueologia, espectroscopia Raman é utilizada para detecção forense de biomateriais e para diagnosticar a preservação de objetos de cultura material ou patrimônio cultural, as razões para o uso compreendem, primeiro que é uma técnica não destrutiva, e segundo que o espectro é amplo suficiente para analisar tanto ossos (EDWARDS *et al.*, 2007) quanto outros tipos de materiais incluindo análises pontuais para identificar pigmentos, tecidos, bronze e resinas (ROSALIE-DAVID *et al.*, 2001; PÉREZ e ESTEVE-TÉBAR, 2004; EDWARDS *et al.*, 2005).

A origem dos constituintes da matéria orgânica pode ser obtida por esse método, que isoladamente, oferece o rigor necessário para esse fim conforme evidencia Evershed (2008). Por exemplo, Espinoza *et al.* (2007) estudou os artefatos históricos feitos de queratina de bovinos e tartarugas e por espectroscopia e através de análise discriminante conseguiu distinguir dois tipos de queratina. Para Arqueologia Histórica tanto a espectroscopia Raman quanto outras como Raio-x e Ultravioleta são utilizadas para caracterização de vidros, louças e metais. Um exemplo é o estudo dos materiais arqueológicos do século XVII de Portugal por Lima *et al.* (2012). No Brasil temos a caracterização de pigmentos em ossos estudados por Edwards *et al.* (2001), que foi um estudo pioneiro com aplicação desta técnica química para Arqueologia, além de Edwards *et al.* (2006), Chiang *et al.* (2009), Thomas *et al.* (2007), que caracterizaram cristais de hidroxiapatita e compostos superficiais nos ossos, além de diferenciação entre ossos fossilizados e não fossilizados.

#### **2.5 Preservação de DNA antigo**

A idade média e a sobrevivência da molécula de ácido desoxirribonucleico antigo (aDNA) foi estudada por Adler *et al.* (2011) que mostrou que o cemento dentário é a parte mais importante para extração desta molécula ao invés do uso de dentina. Ambientes com

calor e umidade intensa como China e países próximos ao trópico mostraram uma degradação maior dessa molécula e a diminuição da razão dano/ano. Isso nos leva aos fatores ambientais e a estrutura do tecido que são importantes para análise do DNA, não somente a quantidade de anos após a morte do indivíduo. O trabalho de Misner *et al.* (2009) reforça a visão dos microambientes como importantes para correlação qualidade e quantidade de DNA, e forma dos ossos.

## **2.7 Experimentos na arqueologia**

O uso de experimentos na arqueologia foi explorado conceitualmente por Reitz e Shackley (2012) como auxiliares para entendimento de transformações de primeira ordem no contexto sistêmico. Etnoarqueologia e arqueologia experimental, segundo as autoras, expandem nosso conhecimento para entendermos a formação de processos arqueológicos, incluindo fatores bióticos e abióticos documentados como explicações alternativas de padrões observados no registro arqueológico.

De acordo com a história da antropologia e tomando como exemplo o museu de Pitt Rivers citado por Larson (2007) a antropologia passou por momentos resistência a experimentos durante os séculos XIX e XX e considerando a história do curador do museu na época, Henry Balfour, que começou a trabalhar na vertente da materialidade antropológica, além de usar princípios comparativos da anatomia, ele verificou as particularidades da materialidade usada por populações do passado, como arco, utensílios para fazer fogo, dentre outros. Alguns experimentos e análises foram feitas com ossos arqueológicos queimados e não queimados que mostraram parâmetros diagenéticos diferentes como Índice de Cristalinidade, razão Carbonato/Fosfato, e a razão Carbonato/Carbonila (PIJOAN *et al.*, 2007; LEBON *et al.*, 2008).

Por exemplo, a origem da coloração azul em ossos paleontológicos e a evidência de indução de calor foi elucidada por Chafadeux *et al.* (2009) que mostrou a influência da apatita de manganês na coloração azul da estrutura óssea. Outro estudo considerando diagênese foi a diferenciação entre a cristalinidade de ossos queimados e não queimados por Rogers *et al.* (2010) que mostrou a complexidade da diferenciação desses dois tipos de materiais através do Índice de Cristalinidade por difração de raio-x levando os autores a utilizarem análise de microestrutura óssea através do tamanho dos cristais.

Outros experimentos (DOMÍNGUEZ-RODRIGO *et al.*, 2009; BUC, 2011; KEY e LYCETT, 2011) foram realizados no sentido de entender as diferenças entre ferramentas ósseas e não ósseas, como foram feitas e o efeito de perfuradores, pontas de flecha, polidores, dentre outros. Empenamento e pequenas fraturas nos ossos devido a diferentes temperaturas foram estudados por Gonzalez *et al.* (2011) que verificou também por experimentação as mudanças na estrutura óssea por indução de calor.

Um experimento similar foi feito no bioma Cerrado por Pacheco *et al.* (2012) que verificou a conservação óssea de aves e mamíferos em um ano de enterro. As similaridades desse experimento com o experimento aqui presente foram relacionados a metodologia de análise empregada considerando a microscopia eletrônica de varredura como fonte de informações sobre a ultraestrutura óssea. A análise foi basicamente estrutural macroscópica e microscópica com identificação dos fungos presentes nas amostras. As conclusões que Pacheco *et al.* (2012) chegaram é que os ossos dos mamíferos foram melhor conservados que os ossos das aves, embora que os ossos das aves apresentaram maior resistência à degradação micológica.

Além de experimentos, estatística multivariada foi empregada em alguns trabalhos, por exemplo, uma revisão sobre tafonomia com aplicação de estatística multivariada feita por Stewart (2010) mostrou parte dos distúrbios por marcas de corte e processamento de ossos arqueológicos. Um desses tipos a Análise de Componentes Principais (PCA) é utilizada para diminuir grupos de amostras e correlacionar conjuntos, como traços craniofaciais (GONZALEZ *et al.*, 2011).

Outra aplicação de estatística multivariada em estudos arqueológicos também por PCA foi a correlação de dez variáveis diagenéticas para verificação das trajetórias de conservação óssea do tecido calcificado bem preservado à tipos diagenéticos diferentes descritos anteriormente (SMITH *et al.*, 2007).

Considerando ainda outra opção, temos a análise discriminante de elementos químicos, que foi utilizada por Castro *et al.* (2010) onde os elementos traço, ou seja, proporção de nutrientes que são limitantes à vida foram correlacionados por Análise de Componentes Principais. O protocolo utilizou ablação por laser como forma de extrair o material necessário para espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado (ICP-MS) que resultou em identificação da quantidade de diferentes indivíduos através de fragmentos dentro do escopo de estudo das ciências forenses.

## 2.8 Tafonomia e o Experimento

Quem iniciou com a terminologia “tafonomia” foi o paleontólogo russo Efremov (1940) com o conceito de “estudo de transição (em todos seus detalhes) de remanescentes de animais da biosfera para a litosfera” e o conceito foi mudando ao longo das décadas na Paleontologia para uma aproximação arqueológica considerando os processos de formação arqueológicos (SCHIFFER, 1972) e referido como teoria de médio alcance por Binford (1977). Considerando os processos de formação de depósitos mortuários temos distintas fases, algumas ligadas com as fases *ante* e *perimortem*, e outras ligadas com a fase *postmortem*, esta última parte do contexto arqueológico e não do contexto sistêmico, respectivamente, o que foi recusado do contexto sistêmico, e o que foi utilizado permanentemente ou de forma consumível por populações antigas (Schiffer, 1972).

Dentro do aspecto evolutivo da terminologia, Lyman (2010) discute como a conceituação foi se modificando e sendo utilizada equivocadamente como a parte natural da teoria sistêmica, ou até considerada como formação não cultural. Lyman (2010) ainda distingue Tafonomia, de Formação do Registro Arqueológico, considerando na discussão como similaridades a modificação por fatores naturais e culturais, e as diferenças, respectivamente, o estudo de materiais que foram vivos, e por outro lado, os materiais provenientes de atividades humanas (não vivos). Os processos que aconteceram da morte até a fossilização do material enterrado são estudados pela Tafonomia (do grego *Taphos*, significa morto). Conforme citação de Lewin (2005), o estudo da Tafonomia exige uma disciplina e uma visão bem sistemática pois “*É um estudo cheio de armadilhas e ciladas para os incautos*”.

No tocante à tafonomia, ou seja, conjuntos de processos que geram, modificam e destroem corpos já esqueletizados (O’CONNOR, 2000) a experimentação e a observação são utilizados para a melhor compreensão dos padrões de deposição, sugerindo, assim, métodos pelos quais o grau de perturbação de um depósito e a quantidade de tendências esperadas na amostra faunística possam ser verificados (REITZ e WING, 2008). O início dos principais estudos sobre tafonomia data da década de 60 (O’CONNOR, 2000).

Nesse contexto, o problema da relação entre a tafonomia e arqueologia foi defendido e esclarecido por Gifford (1981), resultando em um debate amplo no início dos

anos 80, quando a Tafonomia e Paleoecologia eram consideradas disciplinas “irmãs” da Arqueologia. Após uma década, com os trabalhos de Gifford-Gonzalez (1991) começava a ser discutida a capacidade de inferências de experimentos tafonômicos atuais para vestígios antigos. O primeiro capítulo do livro editado por Marin (1999) reúne os fundamentos da tafonomia, a metodologia em ciências históricas como também leis, regras e hierarquia, que foram mudando ao longo da história da Tafonomia.

Segundo White e Folkes (2005) o processo que opera entre o período da morte até a descoberta dos remanescentes ósseos é chamado de Tafonomia. As modificações *postmortem* são comumente identificadas como fraturas e associadas à agentes físicos, uma parte destes por reações químicas, abrasão, fogo, gelo, terra e rocha, bem como por agentes biológicos não-humanos como carnívoros, plantas, e as modificações ósseas por humanos incluindo cremação, marca de corte e de polimento, de percussão e por projéteis.

A relevância da conservação dos traços culturais como é utilizada na arqueologia de forma a representar tipos de artefatos (LYMAN e O'BRIEN, 2003) faz com que a tafonomia e a formação do registro arqueológico sejam processos para interpretação na busca pela herança cultural como esclareceu Walter Taylor em 1948, onde a herança cultural é o resultado da transmissão cultural ao longo do tempo, e onde os traços culturais são “inferidos de objetificações, do comportamento ou dos resultados do comportamento” (TAYLOR, 1948).

Segundo Plog (2011), as visões sobre o trabalho de Schiffer foram mudando no âmbito da apropriação do pós-modernismo na arqueologia, onde a ciência foi tratada com conotações pejorativas, e o próprio autor manteve o foco na inferência, a partir de palavras de Schiffer: “o processo de acessar e sintetizar linhas diversas de evidência para produzir afirmações bem fundadas sobre o passado” (SCHIFFER, 1988). Os trabalhos sobre estudos experimentais e comparativos culturais e temporais de Schiffer foram importantes para aumentar o número de métodos analíticos e, por exemplo, entender as propriedades de escolha dos artesãos de cerâmica. Considerando ainda Plog (2011) sobre o trabalho de Schiffer, é discorrido em geral que sem algumas relações plausíveis pelas quais nós possamos inferir o comportamento a partir do registro arqueológico, nosso entendimento do passado permanece problemático.

Sobre o uso de experimentos na arqueologia, SanJuán (2005) apoiou o uso da arqueologia experimental, que assim como marcas de uso e etnoarqueologia, ajudam a entender as classificações funcionais sobre os artefatos<sup>12</sup>.

O experimento foi baseado na proposta de Dent *et al.* (2004) tanto no uso de porcos, no caso, mandíbula suína, quanto no uso da diáfise de ossos longos, no caso, fêmur bovino.

No Brasil, experimentos em tafonomia são raros, um deles (PACHECO *et al.*, 2012) ocorreu no Cerrado, mais precisamente em uma reserva da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul onde ossos de pequenos mamíferos e aves foram enterrados para obtenção de dados diagenéticos macroscópicos considerando a análise de solo e dos fungos a fim de se diagnosticar as influências da química do solo e dos microrganismos associados. Os resultados mostraram que o pré-tratamento ósseo influencia preponderantemente sobre a conservação e os ossos das aves são bem conservados em solos do tipo corrosivo com elevado número de fungos.

Para embasar a simulação de sepultamento secundário, foi estudado o histórico de pesquisas do Sítio Pedra do Alexandre, onde foi encontrado que além do pigmento vermelho foram encontradas também tonalidades amarelas e brancas de acordo com o código de Munsell (RAMOS, 1995). Além das tonalidades o aspecto físico das camadas dos pigmentos varia na superfície óssea com uma interpretação de mudanças no “preparo e manipulação dos materiais corantes decorrentes da diversidade de origens que podem ter as matérias-primas utilizadas na preparação de pigmentos”. A autora considerou três tipos de variação no aspecto físico: homogênea, considerando as partículas, pó; uniforme, considerando a espessura; e contínua considerando os possíveis vazios na extensão da superfície óssea.

<sup>1</sup> O estudo da dinâmica tafonômica pode nascer das perguntas sobre a cadeia alimentar da área estudada, as marcas deixadas pela predação e uso de ferramentas em animais, incluindo humanos. Pode também indicar marcadores de dieta e conflitos, e até mesmo acidentes. A textura e medição química dos ossos são essenciais para discernir entre causa morte pré-histórica e processos pós-deposicionais. <sup>2</sup> Quanto aos agentes tafonômicos, criações de bovinos, ovinos e caprinos podem em ambientes de abrigo, desarticular e desintegrar ossos já frágeis. O pisoteio e compactação do solo, a urina, fezes e até a decomposição cadavérica dessas animais domesticados podem atrair outros grupos de animais e assim formar concentrações maiores de outros elementos químicos que podem acelerar o processo de desagregação molecular. As abrasões resultantes do transporte de ossos por longas distâncias em corpos d’água podem ser distinguidos de marcas antrópicas e zoológicas em geral e assim respaldar as interpretações sobre o modo-de-vida ancestral.

### 3 Materiais e métodos

Esse trabalho é escopo de estudo de duas áreas em conexão na arqueologia, Formação de Registro Arqueológico e Tafonomia, sendo que o protocolo de análise por espectroscopia pode ser aplicado a outros materiais como vidros, madeiras, ou seja, materiais não-vivos, que segundo Lyman (2010) fazem parte do escopo da Formação do Registro Arqueológico, e ainda requerem um atributo de atividade humana para terem o *status* Arqueológico. A partir deste experimento temos uma pequena parte das relações de causa-efeito que acontece no sítio arqueológico a partir do enterro dos ossos de mamíferos e o resultado deste enterro após um ano, isso responderá questões de equifinalidade (Lyman, 2004), ou seja, um possível estado final igual de estados iniciais diferentes, por isso o controle das variáveis se faz necessário para a criação de um modelo de degradação para termos significativamente com uso de técnicas estatísticas uma aproximação confiável da realidade passada.

Os processos de morte, o ciclo funerário, e dentro dele com os processos extra-funerário e pós-funerários, o tratamento do corpo, a deposição temporária, a deposição final são particularmente pertencentes à fase *ante e perimortem* (WEISS-KREJCI, 2011). O que se estuda com o experimento aqui presente são os processos de formação pós-funerários incluindo alguns rituais *postmortem* como pintura de ossos por óxido de ferro.

#### 3.1 O solo do sítio Pedra do Alexandre

O sítio arqueológico Pedra do Alexandre está localizado na região do Seridó no Estado do Rio Grande do Norte dentro dos limites territoriais do município de Carnaúba dos Dantas. Está inserido também no bioma Caatinga, em região caracterizada por clima semiárido e vegetação arbustiva. Na região há escassez de chuva e o material arqueológico foi encontrado em um abrigo rochoso formado por biotita-xisto, um mineral que se apresenta em camadas espelhadas. O sítio foi estudado por diversos pesquisadores (RAMOS, 1995; MARTIN, 2005; MUTZENBERG, 2007; CASTRO, 2009) e é hoje em dia pesquisado por diversos estudantes de pós-graduação em Arqueologia da Universidade Federal de Pernambuco, dentre outras Universidades de outros países através de projetos de cooperação internacional.

O que já foi estudado no que concerne ao solo, nos leva a caracterização como Neossolo Litólico presente da área central de vários Estados do Nordeste, tendo faixas de abrangência em duas diagonais, uma em sentido à Rondônia e outra se encaminhando para o Centro-Oeste passando pela Bahia conforme Fig. 1A. Ainda há presença em concentrações na região Sul e no Estado de Roraima, com dispersões mínimas nos restantes dos Estados.

A caracterização do solo tem como variáveis a estrutura rasa de horizontes próximos à superfície em menor profundidade, baixo grau de intemperismo considerando as reações químicas e físicas, e alto grau de erosão considerando os processos mecânicos na rocha (ALHO *et al.*,2007).

Segundo Ramos (1995) os setores com sepultamentos secundários estão à esquerda dos setores V (A e D) e XI (B e C) com grau elevado de fragmentação e dispersão, esses dois setores V e XI apresentam os enterramentos primários de datação mais antiga.

A camada PA3, próxima da superfície, pode chegar a uma profundidade de vinte centímetros e variação de mais vinte centímetros com cascalheira intensa, a camada PA2, intermediária pode chegar aos 60 centímetros com variância de 20 centímetros para mais ou para menos com a estrutura apresentando uma mistura arenosiltosa e fenoclastos. Já o PA1, próximo da matriz rochosa de biotita xisto, chega a uma profundidade de um metro e cinquenta centímetros com grande variação devido ao suporte ser não uniforme.

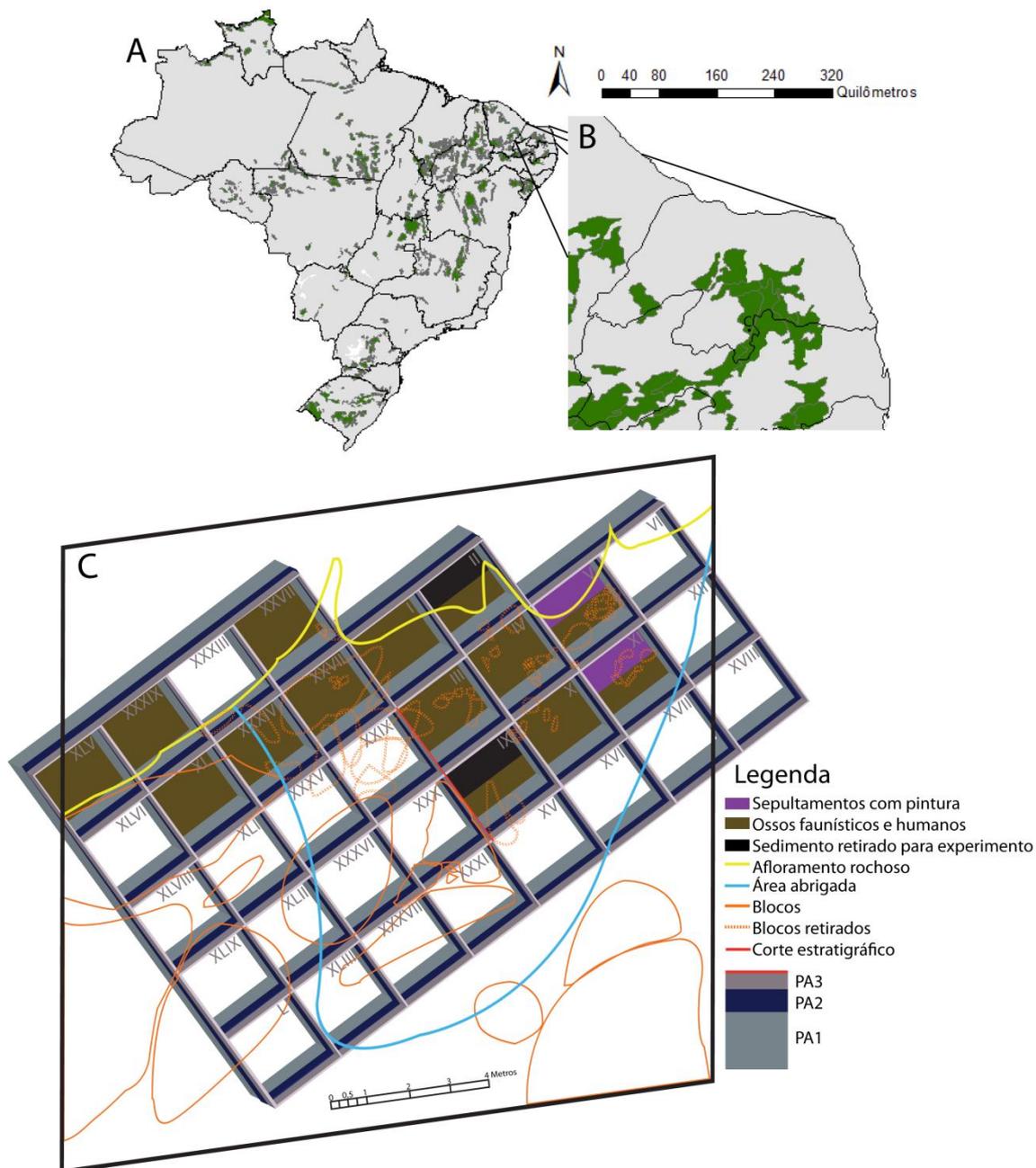


Figura 3 – (A) Distribuição do Neossolo Litólico no Brasil (em verde); (B) Neossolo Litólico no Estado do Rio Grande do Norte com a representação pontual do Sítio Pedra do Alexandre; (C) Adaptação da figura de localização dos sepultamentos do trabalho de Mutzenberg (2007) contendo a setorização e divisão da camada estratigráfica (PAs) conceituado no trabalho do mesmo autor, com a localização do corte estratigráfico da campanha 17 no ano de 2012, os setores de retirada do sedimento para o experimento e os vestígios já encontrados no Sítio Pedra do Alexandre também estão representados (Fonte: *shape* fornecido pelo IBGE).

### 3.2 Equipamentos utilizados e variáveis diagenéticas

Considerando a taxa de degradação dos tecidos moles de dias a meses exposta por Daniel e Chin (2010) e a meia-vida do colágeno (15000 anos), DNA (2500 anos) e Osteocalcina (580000 anos) a 20°C por Nielsen-Marsh (2002) foi monitorado um experimento de um ano com ossos bovinos e suínos com medições localizadas na diáfise de ossos longos concordando com a metodologia de Gutiérrez *et al.*(2010).

O *Fourier Transformed by Infrared – Attenuated Total Reflectance* (Transformada de Fourier por Infravermelho – Reflectância Total Atenuada) é um método de espectroscopia molecular obtido através do espectrômetro *Perkin Elmer* FTIR e nano-FTIR com célula diamante e acessório ATR usado obter uma amplitude completa de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$  com 4 $\text{cm}^{-1}$  de resolução e 16 repetições no modo de absorbância. O método foi usado por D'Elia *et al.* (2007) para identificar contaminantes e como método de verificação prévia antes do procedimento de datação por acelerador de espectrometria de massas (AMS), com sucesso os autores conseguiram identificar diferentes picos derivados de contaminantes em ossos arqueológicos.

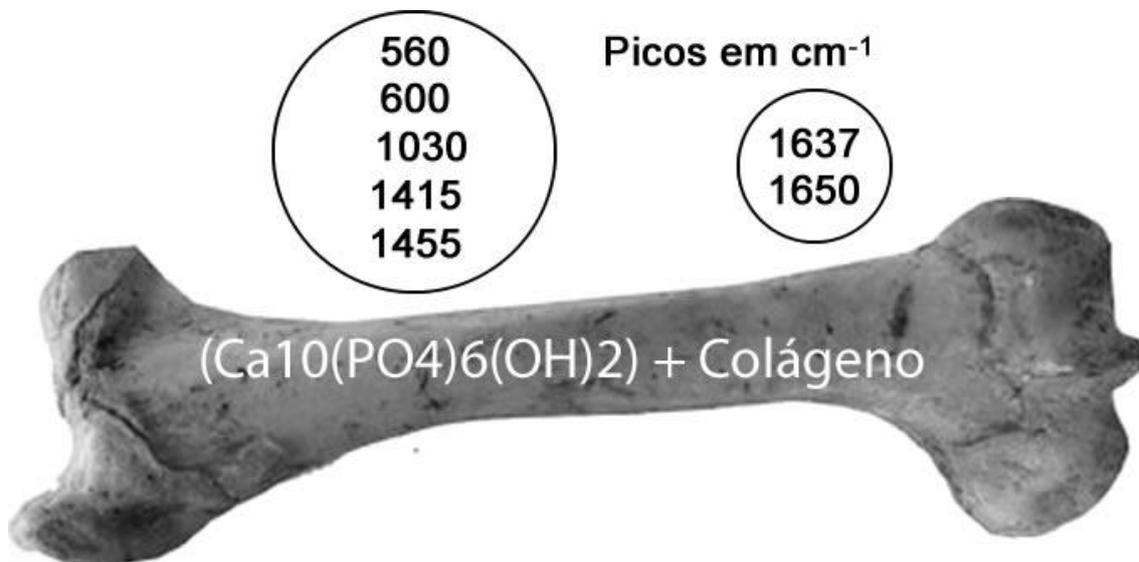


Figura 4 – Picos relativos ao colágeno tipo 1 (ligações de amido) e hidroxiapatita (ligações de carbonato e fosfato).

Para a medição foram utilizados os parâmetros diagenéticos obtidos através dos espectros médios do FTIR-ATR: o Índice de Cristalinidade, pico de 560 mais o pico 600  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_4\text{PO}_4$ ) dividido pelo base 590  $\text{cm}^{-1}$ ; a razão Carbonila/Carbonato (C/C), o pico 1455 ( $\nu_3\text{CO}_3$ ) dividido pelo pico 1415  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_3\text{CO}_3$ ); e a razão Carbonato/Fosfato (C/P)

1415 dividido por 1030 ( $\nu_3\text{PO}_4$ )  $\text{cm}^{-1}$ . Esses parâmetros foram criados por Weiner e Bar-Yosef (1990) para distinguir diferentes estados de preservação óssea Figura 2.

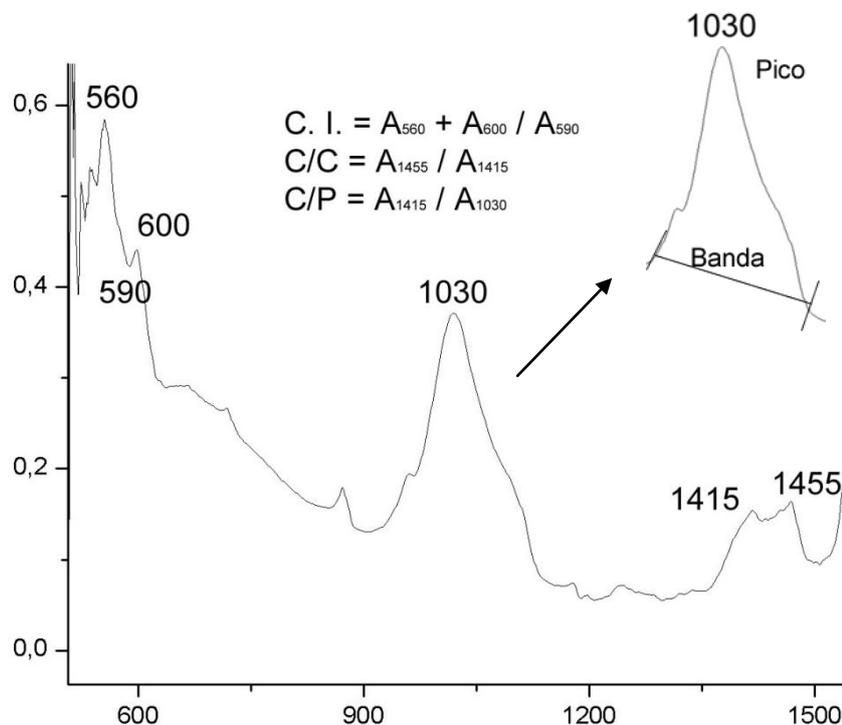


Figura 5 – Porção do espectro médio da amostra óssea moderna da mandíbula suína usada para calcular os parâmetros diagenéticos Índice de Cristalinidade (C. I.) e as razões C/C e C/P. Com uma ilustração do que é denominado banda e pico.

Os recipientes do experimento foram produzidos em duplicata e separados em três camadas estratigráficas definidas como PA (MUTZENBERG, 2007) relativos à secção vertical e datação, o primeiro denominado PA3 próximo da superfície, PA2 no interior e PA1 próximo da rocha matriz, ou seja, três estratos geológicos como cita Ramos (1995). A coleta de sedimento dos três estratos foi feita em dois setores, no setor II o PA1, e no setor IX o PA2 e PA3. O único recipiente sem duplicata foi o que apresenta a simulação dos ossos com pintura superficial de óxido de ferro.

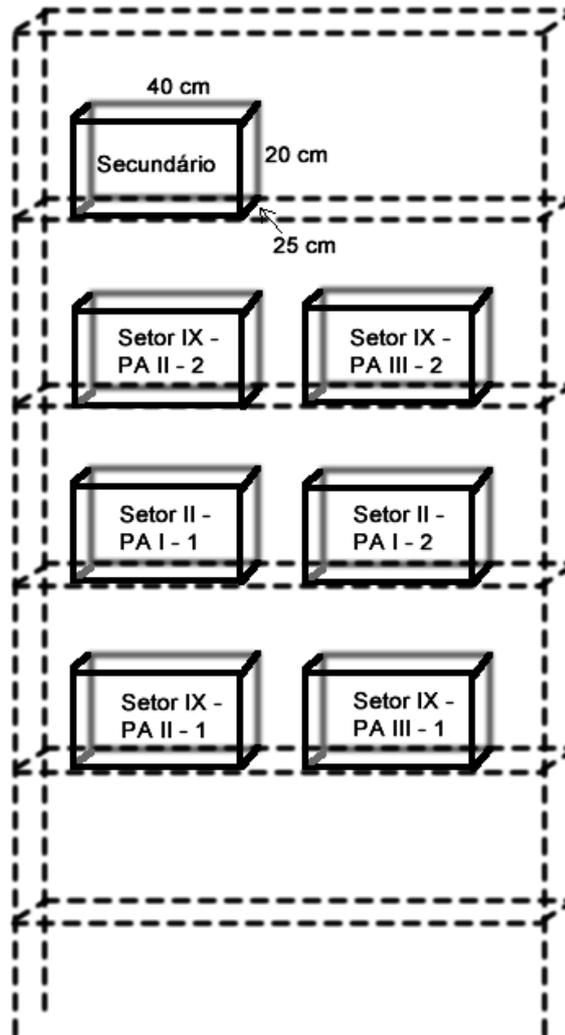


Figura 6 – Esquema didático da distribuição, armazenamento e dimensões dos recipientes plásticos do experimento em estrutura metálica.

Para o experimento foram utilizados sete recipientes de 40 x 25 x 20 cm com capacidade para 0,02 m<sup>3</sup> / 20 litros (Fig. 6), todos contendo diáfises e epífises de fêmur bovino, um com diáfises pintadas, e quatro contendo mandíbula suína conforme descrição na Tabela 1. O índice pluviométrico no posto Riacho Fundo no município de Carnaúba dos Dantas registra uma média de 447,8 mm anuais (máxima de 1.389,3 e mínima de 140,0) em 43 anos de coletas (SUDENE, 1990).

Em sistema de gotejamento foram colocados 500ml regularmente nos recipientes simulando a precipitação em 1 metro quadrado, no caso do experimento por 0,1 metro quadrado (40 x 25 cm). A Tabela 2 mostra a média dos valores para o Rio Grande do Norte (SILVA *et al.*, 2011) e os valores em mm do experimento. A água inserida nos

recipientes apresenta os seguintes parâmetros físicos e químicos, pH 7, turbidez 1UT, cloro 1mg/l.

Recipiente	Código	Descrição Anatômica	Espécie	Análise por Espectroscopia	Análise por Mev	Pintado por Óxido de Ferro
Secundário	SD1	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Sim	Sim
Secundário	SD2	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Sim
Secundário	SD3	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Não	Sim
Setor II – nível 1 (1)	SDII181	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Não	Não
Setor II – nível 1 (1)	SEII181	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor II – nível 1 (1)	SEII182	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor II – nível 1 (1)	SMII181	Mandíbula	<i>Sus domesticus</i>	Sim	Sim	Não
Setor II – nível 1 (2)	SDII201	Diáfise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Não	Não
Setor II – nível 1 (2)	SEII201	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor II – nível 1 (2)	SEII202	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 2 (1)	SDIXII2011	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Sim	Não
Setor IX – nível 2 (1)	SEIXII2011	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 2 (1)	SEIXII2021	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 2 (1)	SMIXII2011	Mandíbula	<i>Sus domesticus</i>	Sim	Não	Não
Setor IX – nível 2 (2)	SDIXII2012	Diáfise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Não	Não
Setor IX – nível 2 (2)	SEIXII2012	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 2 (2)	SEIXII2022	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 2 (2)	SMIXII2012	Mandíbula	<i>Sus domesticus</i>	Sim	Não	Não
Setor IX – nível 3 (1)	SDIXIII181	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Sim	Não
Setor IX – nível 3 (1)	SEIXIII181	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 3 (1)	SEIXIII182	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 3 (1)	SMIXIII181	Mandíbula	<i>Sus domesticus</i>	Sim	Sim	Não
Setor IX – nível 3 (2)	SEIX III201	Epífise Distal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 3 (2)	SEIXIII202	Epífise Proximal	<i>Bos taurus</i>	Não	Não	Não
Setor IX – nível 3 (2)	SDIXIII201	Diáfise Distal	<i>Bos taurus</i>	Sim	Não	Não

Tabela 1 – Descrição do conteúdo dos recipientes incluindo os códigos utilizados para análise, espécie, simulação de pintura e análises feitas com cada amostra.

A temperatura no solo do entorno do Sítio Pedra do Alexandre próximo à superfície é de 28,7°C (Fig. 7A) em ambientes com sombra e serapilheira, a 36,3°C (Fig. 7B) em ambientes com incidência intensa da luz do Sol, isso em novembro de 2011, mês da coleta de dados sobre a temperatura em campo às 16 horas.

Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Anual	
48	89	168	169	114	91	70	28	12	6	6	17	817	Rio Grande do Norte
0	20	40	40	0	20	40	30	30	0	10	0	230	Experimento

Tabela 2 – Valores médios em milímetros (mm) de precipitação no Rio Grande do Norte extraído de Silva *et al.* (2011) e valores médios convertidos para milímetros de gotejamento no Experimento.

A Tabela 3 mostra a média dos valores da temperatura após cinco medições ao longo do ano, a temperatura próxima de 27°C foi comum a todos os recipientes e ao ambiente externo, não muito distante do valor encontrado nos ambientes protegidos do calor produzido pela incidência dos raios solares (Fig. 7A). O termômetro de inserção usado para as medições é fabricado por Alla®.

Pintado	II PA1 -1	II PA1 -2	IX PA2 -1	IX PA2 -2	IX PA3 -1	IX PA3 -2	Atmosférico
27,26	27,36	27,28	27,54	27,48	27,24	27,2	27,2
1,75	1,33	1,22	1,40	1,37	1,41	1,24	0,74

Tabela 3 – Temperatura média de cinco medições em °C e desvio padrão da temperatura nos recipientes plásticos do experimento incluindo temperatura atmosférica externa, todas realizadas às 16 horas.



Figura 7 – Temperaturas medidas em °C no entorno do Sítio Pedra do Alexandre, (A) em ambiente de serapilheira e sombra, e (B) em ambiente com incidência de luz solar.

A observação ultraestrutural do tecido ósseo foi feita com auxílio do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) de marca Jeol 5600LV com aproximações de 450X à 10000X com uma voltagem de aceleração de 20kv.

As amostras para as análises por FTIR-ATR e MEV foram retiradas através de furadeira com broca serra-copo acoplada para obtenção de amostras com 10 mm de diâmetro. Para microscopia, em especial, pequenas estruturas foram obtidas por talhadeira e martelo para, enfim, serem adesivadas a *stubs* de menos de 3mm.

A quantificação do carbono orgânico total (COT) foi realizada por oxidação via úmida usando-se 0,200 g de solo, 20 ml de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) 1 N e 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, com aquecimento em bloco digestor a 150 °C (30 minutos). Adição de 50 ml de água deionizada após esfriamento, 5 ml de ácido fosfórico concentrado ( $H_3PO_4$ ), 1 ml de difenilamina e titulação com sulfato ferroso amoniacal [ $Fe(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ ] 1 N até viragem da cor púrpura para verde (YEOMANS e BREMMER, 1988).

A análise estatística por componentes principais foi realizada através do programa *Statistica* (SPSS) da empresa IBM. Foram inseridos os três parâmetros diagenéticos como entrada e pelo tipo de análise escolhido chamado *Analysis Factor* (Análise de Fator) diminuímos e agrupamos os dados. O método de rotação escolhido foi Varimax, utilizado para deixar clara a separação de dados e formação de grupos de forma visível. As aplicações desse método são utilizadas em larga escala nas ciências sociais e antropologia, vide revisão de Schmitt e Sass (2011), que também explicita que Varimax é o método de rotação mais utilizado na literatura por ter bons índices de consistência após testes com dados diversos.

O protocolo de inserção dos dados é o seguinte, primeiro há o cálculo dos três parâmetros diagenéticos citados no terceiro parágrafo desta seção. Logo após há a inserção destes dados no programa SPSS, a partir daí há a escolha no *menu* Análise, a opção Redução de Dimensão, e depois a opção Fatores. Logo após são escolhidos a rotação Varimax (tipo usado por ter maior consistência), o método de extração por Componentes Principais pela matriz de Correlação. Caso os resultados por componentes não expliquem mais do que 70% de toda variância, há a opção de colocar no mesmo *menu* mais dois ou três componentes que possam explicar acima de 80% a variância dos parâmetros diagenéticos. Análise por Componentes Principais é usada na arqueologia, que explora também outras técnicas estatísticas como análise por cluster e de análise de proximidade há mais de 45 anos (Cowgill, 1968).

### 3.3 Amostras escolhidas

No experimento foi usado óxido de ferro para pintura dos ossos conforme descreve Ramos (1995) para o sítio Pedra do Alexandre que apresentou ossos pintados de vermelho nos sepultamentos humanos 1, 5 e 8, e sepultamento 11 de um mamífero. A degradação e estudo da pintura serve como critério de interpretação para diagnosticar rituais *posmortem*, parte de um contexto sistêmico como Schiffer (1972) enfatizou. O sedimento das camadas estratigráficas e o óxido de ferro foram coletados durante a campanha 17 que ocorreu do dia 30 de outubro a 12 de novembro de 2011, o experimento foi montado do dia 18 ao dia 20 de novembro de 2011.

De início, 25 ossos foram enterrados com o sedimento referentes às camadas estratigráficas, assim para cada camada foram utilizadas duas caixas de plástico, e uma caixa de plástico para os ossos pintados, conforme distribuição presente na Tabela 2. Para pintura foi utilizado óxido de ferro triturado em pó e foi usada gema como aglutinante para pintura dos ossos devido a gema ter mais lipídeo (substância hidrofóbica) na composição química que a clara, as mãos foram utilizadas como ferramenta de pintura. Como verificado em pinturas antigas italianas que utilizaram gema ao invés da clara (CHIAVARI, 1993). Para os demais ossos o procedimento foi de descarnar e retirada das camadas de gordura, além disso, foi deixada a medula amarela dos ossos longos.

Durante a preparação das amostras ósseas foram usadas facas e palitos de madeira para descarnar seguindo disposição composta por processo de redução (ato de descarnar) de natureza fragmentária, ou seja, uso de diáfises e epífises de fêmur bovino divididas em posição distal e proximal, e uso de mandíbula suína segundo nomenclatura de Sprague (2005).

A escolha do uso dos ossos é justificada após leitura do trabalho de Gutiérrez *et al.* (2010) que defendeu o uso da diáfise de ossos longos em experimentos por não apresentar grandes mudanças na densidade mineral durante a ontogenia. Os ossos a serem utilizados neste estudo experimental são fêmures de bovinos e ossos de suínos adultos, utilizados amplamente nos estudos descritos na literatura especializada (RODRIGUES *et al.*, 2003; THORWARTH *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2009; AKHTAR *et al.*, 2011; BRAUX *et al.*, 2011; HOO *et al.*, 2011) que apresentam hidroxiapatita e colágeno como duas moléculas

alvo deste experimento com proporcionalidade aos ossos humanos modernos e encontrados no sítio pré-histórico Pedra do Alexandre.

Não foram queimados ossos para servirem como simulação de amostra arqueológica, não por causa dos índices obtidos por espectroscopia que ficam similares em ossos queimados, mas por causa da modificação histológica ultraestrutural (ABDEL-MAKSOUUD, 2010) não sendo interessante para o experimento, uma vez que no primeiro ano de enterro a superfície óssea é essencial para definir o tipo de degradação, pois serve como substrato para alguns grupos de micróbios.

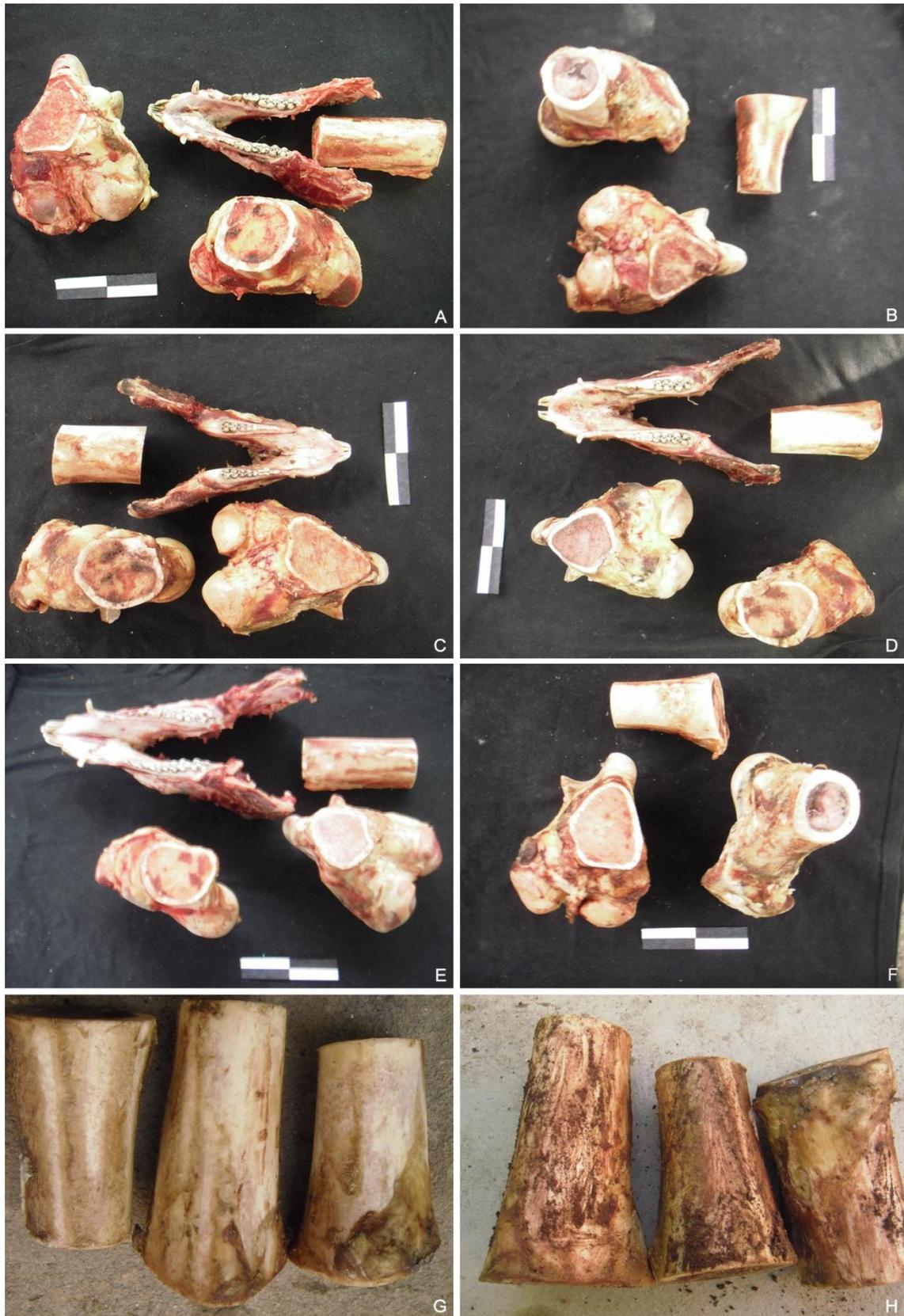


Figura 8 – Ossos enterrados nos recipientes plásticos. A e B enterrados com sedimento do setor II PA1, respectivamente 1 e 2; C e D com solo do setor IX PA2, respectivamente 2 e 1; E e F, setor IX PA3 - 1 e 2; G e H o antes e o depois da pintura dos ossos com óxido de ferro.

## **4 Resultados finais**

Os resultados finais foram divididos de acordo com diferentes amostras utilizadas para o experimento (análise macroscópica), uma parte considera a espectroscopia por FTIR-ATR dos ossos do experimento, outra parte a análise química do Carbono Orgânico Total do solo utilizado no experimento, e uma análise ultraestrutural óssea por Microscopia Eletrônica de Varredura.

### **4.1 Recipiente secundário**

Foram desenterradas três diáfises do recipiente destinado a reproduzir coloração vermelha através do pré-tratamento com óxido de ferro e aglutinante, uma característica dos sepultamentos secundários. A diáfise um apresentou resquícios de medula amarela no interior, bem como na diáfise dois, a diáfise três apresentou matéria orgânica na parte externa. Na diáfise um foram encontrados fungos de coloração amarela, vermelha, branca e laranja, bem como na diáfise dois, na parte externa da diáfise três foram encontrados os mesmos fungos. A diáfise dois apresentou descamação de matéria orgânica superficial, os três ossos não apresentaram matéria orgânica visível ou tecido mole conservado no perióstio. A característica principal é que o aspecto externo das pinturas se conservou por um ano. Foram retiradas amostras da diáfise um e três, para espectrometria e microscopia eletrônica. Fig. 8H – Depois da pintura, 8G – Antes da pintura.

### **4.2 Recipiente setor II nível 1**

Os ossos desenterrados no recipiente Setor II nível 1 (1) foram uma mandíbula, uma diáfise e duas epífises. A mandíbula apresentou fungos de coloração branca e epífises também, as epífises tiveram total permanência das partes anexas com tecido mole aparentemente com fungos. O sedimento estava extremamente compactado, com compactação também na superfície do tecido calcificado. Os dentes incisivos da mandíbula suína estavam soltos. A diáfise apresentou medula amarela completa. Fig. 8A.

Na replicata Setor II nível 1 (2), os ossos foram encontrados com sedimento incrustado e a amostra contou com duas epífises, uma distal e uma proximal, além da diáfise. A camada estratigráfica referente a esse recipiente é a mais profunda tendo a predominância de solo arenoso, característica de sedimento com grãos finos. O tecido dos ossos foi pouco preservado, e a epífise proximal apresentou separação da cabeça do fêmur e do trocânter maior. Fig. 8B.

#### **4.3 Recipientes setor IX nível 2**

No recipiente Setor IX nível 2 (1), duas epífises, uma proximal e outra distal, uma diáfise e uma mandíbula suína foram desenterradas. A mandíbula suína apresentou os incisivos soltos embora bem preservados, os outros dentes foram encontrados soltos também, mas fixados ao corpo da mandíbula, as amostras para análise para espectroscopia e microscopia foram retiradas da mandíbula e da diáfise. A epífise proximal foi encontrada inteira separação da cabeça e do trocânter. Os ossos foram encontrados com muita sedimentação associada compactada. A medula amarela da diáfise foi bem preservada, as epífises foram encontradas com presença de vários fungos com colorações distintas, a mandíbula apresenta na superfície cores vermelhas e a amostra foi retirada dessas manchas no ramo da mandíbula. Fig. 8D.

No recipiente Setor IX nível 2 (2), há sedimentação leve não compactada e a epífise proximal apresenta fungo branco e amarelo, e também sedimentação não compactada. Os incisivos da mandíbula estavam soltos, assim como os outros dentes molares. As amostras foram tiradas do ramo da mandíbula e da diáfise. O sedimento estava incrustado nas epífises proximal e distal, que não apresentavam partes soltas. Fig. 8C.

#### **4.4 Recipientes setor IX nível 3**

O recipiente Setor IX nível 3 (1) apresentou sedimento pouco compactado com presença de torrões esparsos. A mandíbula apresentou a arcada com todos os dentes soltos e ligados ao corpo inclusive os incisivos, foram retiradas amostras do ramo da mandíbula e da diáfise. Os ossos apresentaram cobertura de biotita xisto (pontos espelhados). A

mandíbula suína apresentou vestígios do perióstio com cor alaranjada. A medula da diáfise estava preservada. Fig. 8E.

Na replicata, recipiente plástico Setor IX nível 3 (2) com solo da camada estratigráfica próxima a superfície do setor IX foram desenterradas duas epífises, distal e proximal, e uma diáfise. A diáfise apresentou coloração vermelha derivada da composição química do sangue, as epífises também apresentaram coloração vermelha, principalmente a cabeça do fêmur na epífise proximal. A epífise proximal ainda apresentou falta de ligamento da cabeça do fêmur ao corpo do osso, e também apresentou o trocânter maior separado. As inserções musculares tanto da cabeça do fêmur quanto do côndilo lateral da epífise distal foram encontradas. A diáfise foi usada para análise espectrométrica e microscópica devido à coloração. Fig. 8F.

#### **4.5 Espectroscopia por Transformada de Fourier, Microscopia Eletrônica de Varredura e Carbono Orgânico Total**

Os resultados dos parâmetros diagenéticos apresentaram para o Índice de Cristalinidade valores como 2,3 para diáfise do fêmur bovino e 2,1 para mandíbula suína moderna em comparação com os ossos do experimento variando de 2,1 à 2,3 para mandíbula e 2,1 a 2,5 para diáfise, ou seja, na faixa dos valores próximos aos ossos modernos. Os valores para razão Carbonato/Fosfato e Carbonato/Carbonila também apresentaram os mesmos padrões, com o diferencial que os picos relativos ao Carbonato e ao Fosfato não terem sinal claro na espectroscopia em algumas das amostras (Tabela 4).



Figura 9 – Ossos desenterrados relativos a figura 8 após o experimento de um ano. A e B amostras SDII e SMII; C e D amostras SDIXII e SMIXII; E e F, amostras SDIXIII e SMIXIII; G, experimento com simulação de pintura por óxido de ferro; H, visão aproximada da superfície óssea de uma das diáfises presentes em G.

<b>Amostras</b>	<b>C.I.</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>C/P</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>C/C</b>	<b>Desvio Padrão</b>
SMIXII2012	2,25	0,07	0,48	0,14	0,63	0,10
SMIII181	2,30	0,02	1,05	0,07	0,87	0,08
SMIXII2011	2,11	0,01	0,71	0,03	0,80	0,07
SD1	2,20	0,08	0,36	0,16	0,55	0,14
SD3	2,27	0,01	0,40	0,04	0,69	0,12
SDII181	2,57	0,26	0,24	0,04	0,76	0,21
SDII201	2,19	N/D	0,25	0,54	1,26	N/D
SDIXII2011	2,24	0,39	N/D	N/D	N/D	N/D
SDIXII2012	2,18	0,11	N/D	N/D	N/D	N/D
SDIXIII181	2,45	0,09	0,60	0,03	1,03	0,01
SDIXIII201	2,14	0,18	0,72	0,15	0,92	0,20
SMII181	2,37	0,02	0,79	0,24	0,90	0,10
274385	2,84	0,36	0,93	0,03	0,20	0,02
274385ol	3,21	0,11	0,92	0,04	0,22	0,01
274405	2,74	0,61	0,91	0,01	0,26	0,04
284045	3,39	0,31	0,84	0,16	0,38	0,03
284329	2,64	0,19	0,91	0,10	0,33	0,08
284343	3,08	0,50	0,81	0,51	0,74	0,04
294221	2,53	0,02	0,91	0,01	0,30	0,01
294380	3,46	0,49	0,36	0,20	0,36	0,25
284907	3,39	0,31	0,87	0,00	0,30	0,07
MOD HUM	2,64	0,01	0,90	0,00	0,37	0,01
MOD M1	2,12	0,07	0,51	0,06	0,97	0,09
MOD D1	2,31	0,04	0,57	0,21	1,16	0,12

Tabela 4 – Três parâmetros diagenéticos: Índice de Cristalinidade, Carbonato/Fosfato, Carbonato/Carbonila e respectivos desvios-padrão do experimento de um ano aqui descrito (em branco), além dos resultados encontrados no sítio Pedra do Alexandre (em amarelo).

No espectro médio relativo à diáfise do fêmur bovino (Fig. 10). Os sinais de carbonato ( $1415\text{ cm}^{-1}$ ) e fosfato ( $1030\text{ cm}^{-1}$ ) apresentaram sinais fracos de reflectância nas amostras enterradas relativas ao setor IX da camada intermediária parecidos com o espectro dos sedimentos, que é distinto das amostras de sedimentos (Fig. 14) que não apresentam o sinal relativo ao fosfato. Algumas bandas, por exemplo, da amostra SDII201 foge do padrão normal do osso moderno estando na faixa do  $1000\text{cm}^{-1}$  e não do  $1030\text{cm}^{-1}$ .

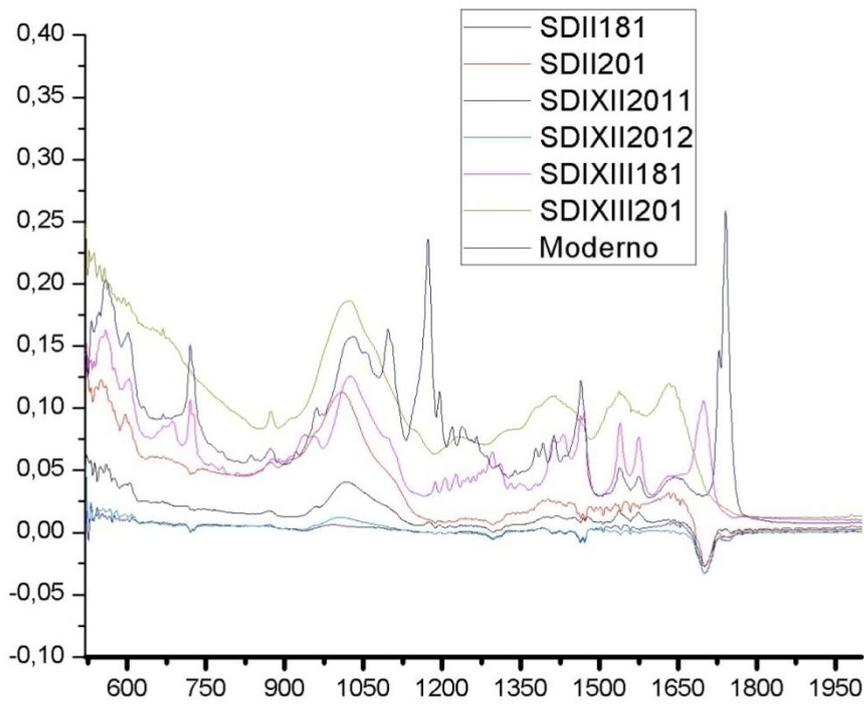


Figura 10 – Espectro médio das diáfises de fêmur bovino. SDII- sedimento mais profundo. SDIXII- camada intermediária, SDIXIII- camada próxima a superfície. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

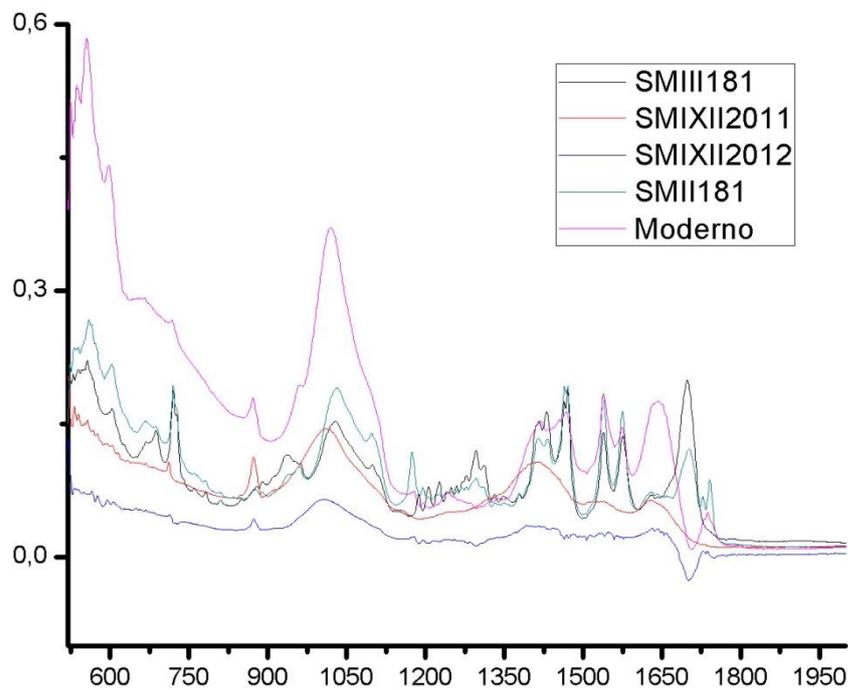


Figura 11 – Espectro médio do ramo de mandíbulas suínas. SMII – camada profunda, SMIXII - camada intermediária, SMIII – camada superficial. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

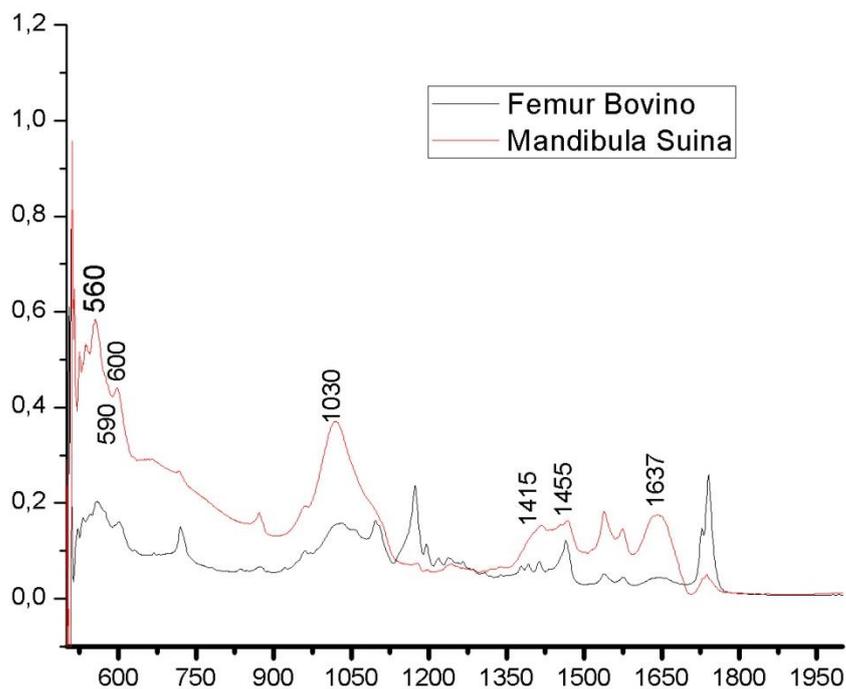


Figura 12 – Espectro médio de ossos modernos de bovinos e suínos. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

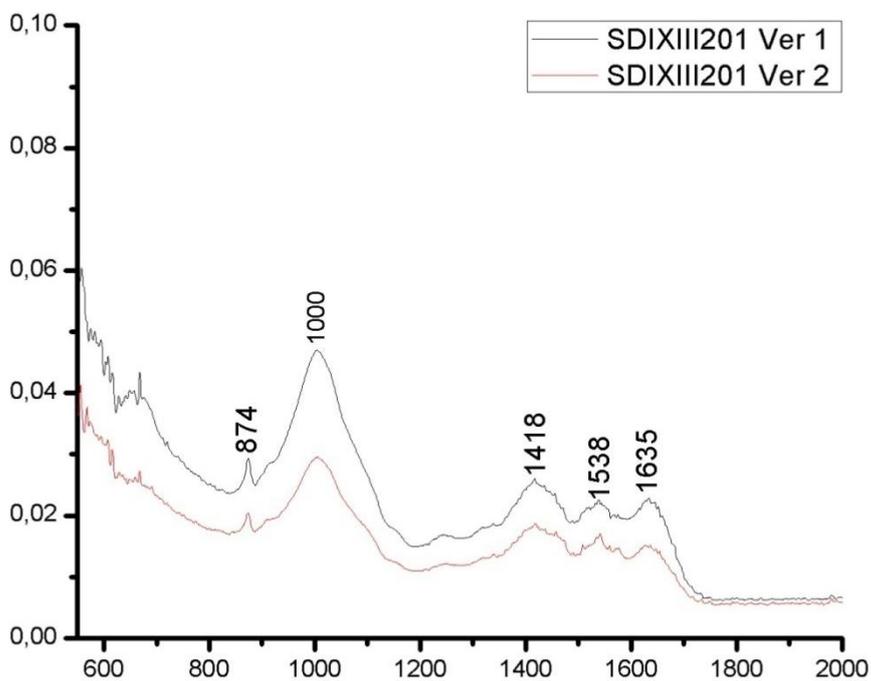


Figura 13 – Espectro médio de manchas de sangue encontradas na superfície da diáfise bovina. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

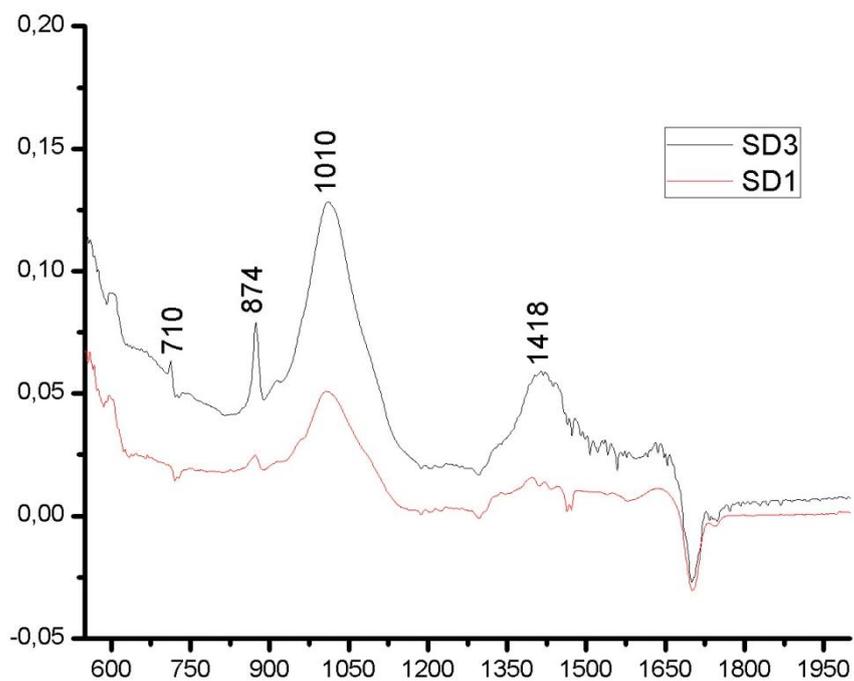


Figura 14 – Espectro médio dos ossos pintados por óxido de ferro, Recipiente Secundário descrito na página 35. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda (cm<sup>-1</sup>).

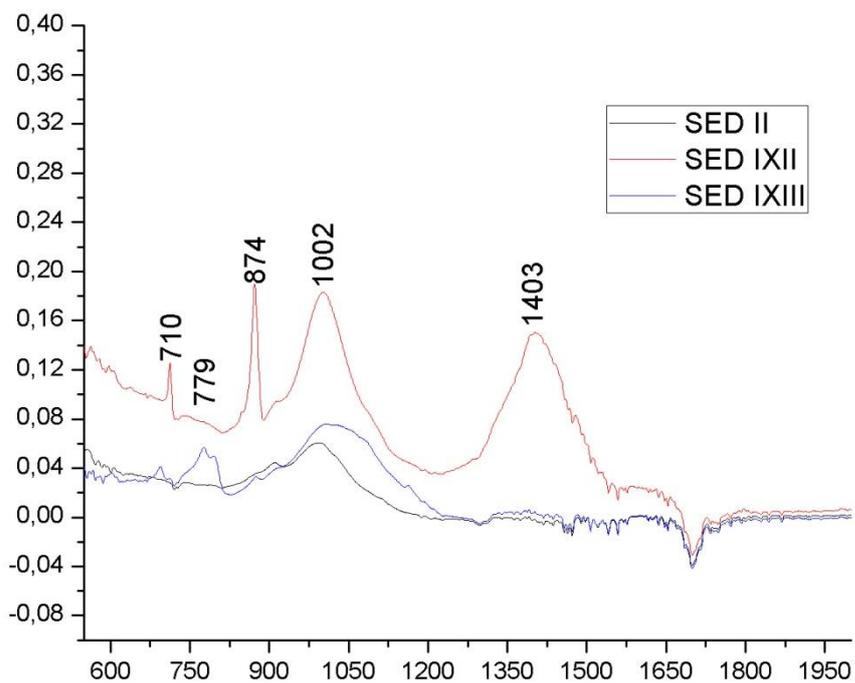


Figura 15 – Espectro médio do sedimento das três camadas estratigráficas II – mais profundo, IXII médio, IXIII próximo à superfície. Eixo X: Unidades de Absorbância (u.a.); Eixo Y: Número de onda (cm<sup>-1</sup>).

<b>Amostras</b>	<b>% Carbono</b>	<b>C g kg<sup>-1</sup></b>
Não utilizado*	0,90	9,0
Ossos pintados	1,05	10,5
SII18	0,75	7,5
SII20	0,60	6,0
SIXII1	1,65	16,5
SIXII2	0,67	6,7
SIXIII18	0,83	8,3
SIXIII20	0,52	5,2

Tabela 5 – Análise do conteúdo de Carbono Orgânico Total do solo do recipiente utilizado no experimento. % Carbono = Porcentagem de carbono; C g kg<sup>-1</sup> = Total de carbono em grama por quilograma. \*Solo do nível II armazenado fora dos recipientes.

O espectro relativo ao ramo da mandíbula suína (Figura 11) apresentou também sinais fracos relativos às amostras no recipiente da camada intermediária do setor IX. Outro fato interessante é que alguns picos apareceram na região 750 cm<sup>-1</sup>, que podem ser relativos aos minerais aderidos a superfície, o mesmo que acontece com as amostras da diáfise bovina (Figura 10).

As amostras modernas com as bandas em evidência aparecem na Figura 12, e para comparação as amostras das marcas de sangue com as amostras de pintura por óxido ferro são bem parecidas quimicamente. A distinção se faz pela localização da banda na amostra pintada 1010 cm<sup>-1</sup> e na amostra de sangue 1000 cm<sup>-1</sup> (Figuras 13 e 14).

Os espectros das amostras sedimentares apresentam uma pequena diferença considerando a camada intermediária com a presença do pico 874 cm<sup>-1</sup>.

A quantidade de carbono orgânico (Carbono Orgânico Total) apresentou grandes diferenças em uma mesma camada e isso reflete a dinâmica da degradação microbiológica do primeiro ano de enterro, Tabela 5.

Com os dados arqueológicos do sítio Pedra do Alexandre e do experimento temos uma trajetória diagenética passando dos ossos modernos (MOD) para os ossos do experimento diáfises (SD) e mandíbulas (SM) até os fragmentos de ossos arqueológicos trabécula (Tra), crânio (C), fêmur (F), Figura 16.

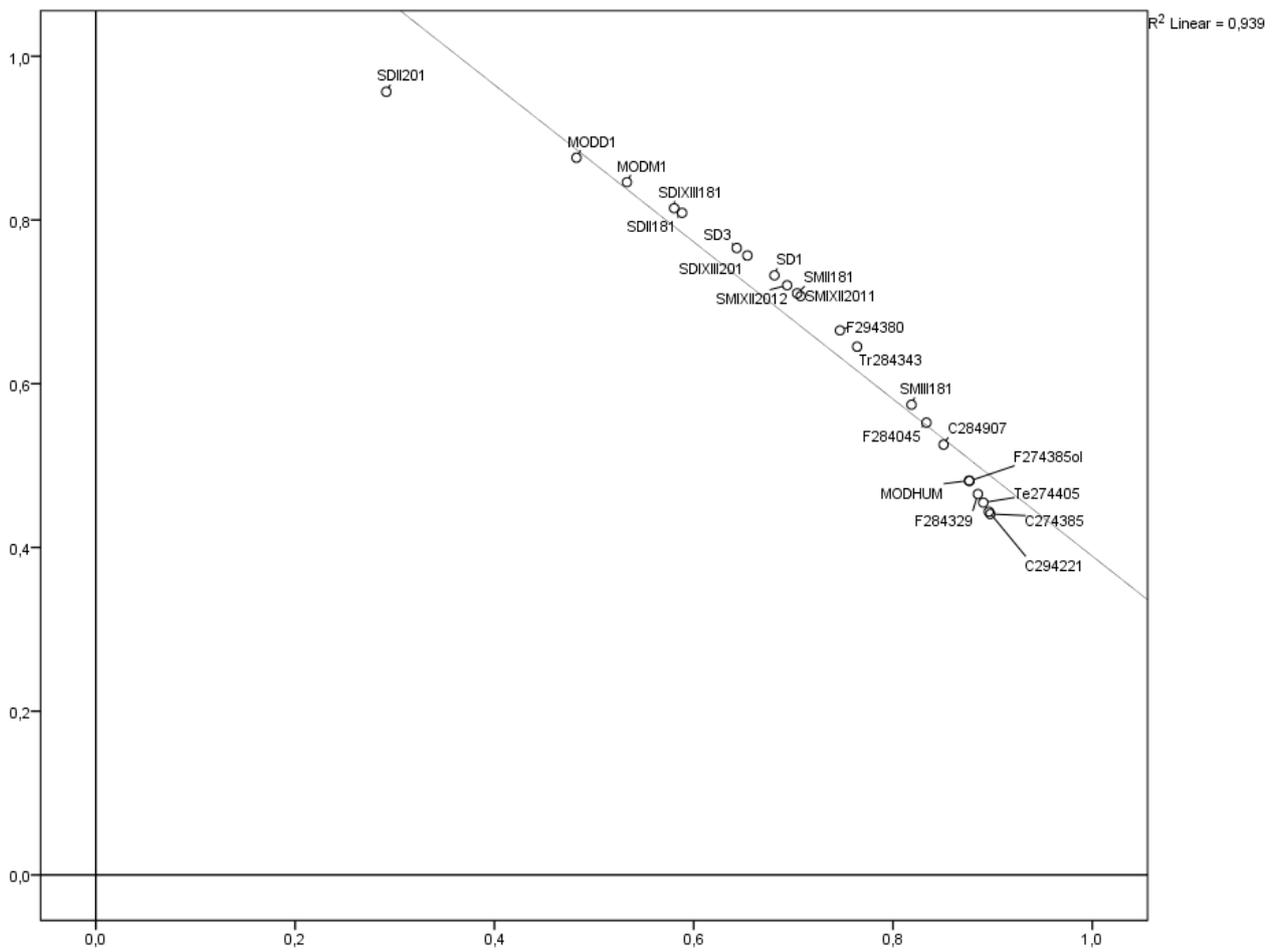


Figura 16 – Tendência linear dos parâmetros diagenéticos por Análise de Componente Principal entre as amostras do experimento e utilizando os dados das amostras arqueológicas do Sítio Pedra do Alexandre. O componente 1 (eixo X) é relativo aos valores altos de C/C, e o componente 2 (eixo Y) é relacionado ao Índice de Cristalinidade de razão C/P.



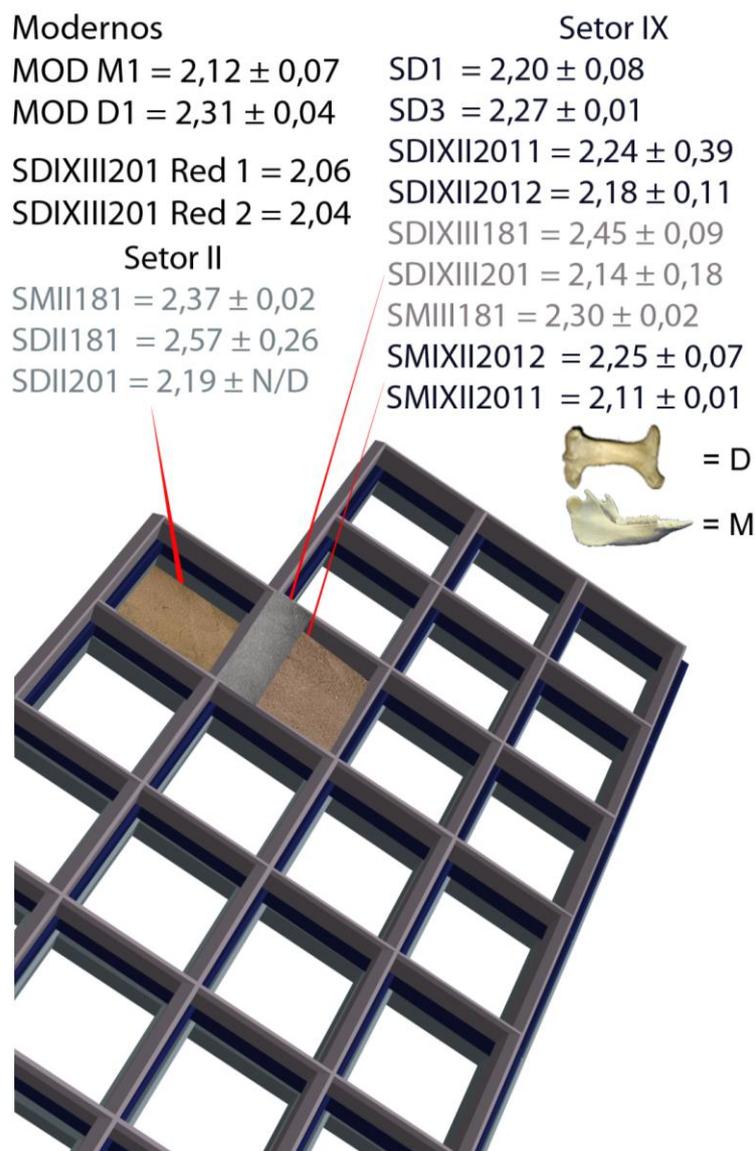


Figura 18 – Distribuição do Índice de Cristalinidade em três camadas estratigráficas diferentes no experimento de um ano. D = diáfise do fêmur bovino; M = mandíbula suína.

Nas amostras da Figura 17 há divisão de grupos a partir do Índice de Cristalinidade (C.I), as razões de Carbonato/Fosfato e Carbonato/Carbonil seguem curvas distintas.

As curvas ligadas ao Carbono Orgânico Total e aos parâmetros diagenéticos também não mostraram ligação devido ao comportamento desordenado e contrário às curvas relativas ao carbono orgânico do solo Figura 19 - 21. A distribuição dos parâmetros diagenéticos por setor foi feita na Figura 18. O Carbono Orgânico Total serve como parâmetro de qualidade de solo, quanto maior o COT melhor o solo para a vegetação se fixar.

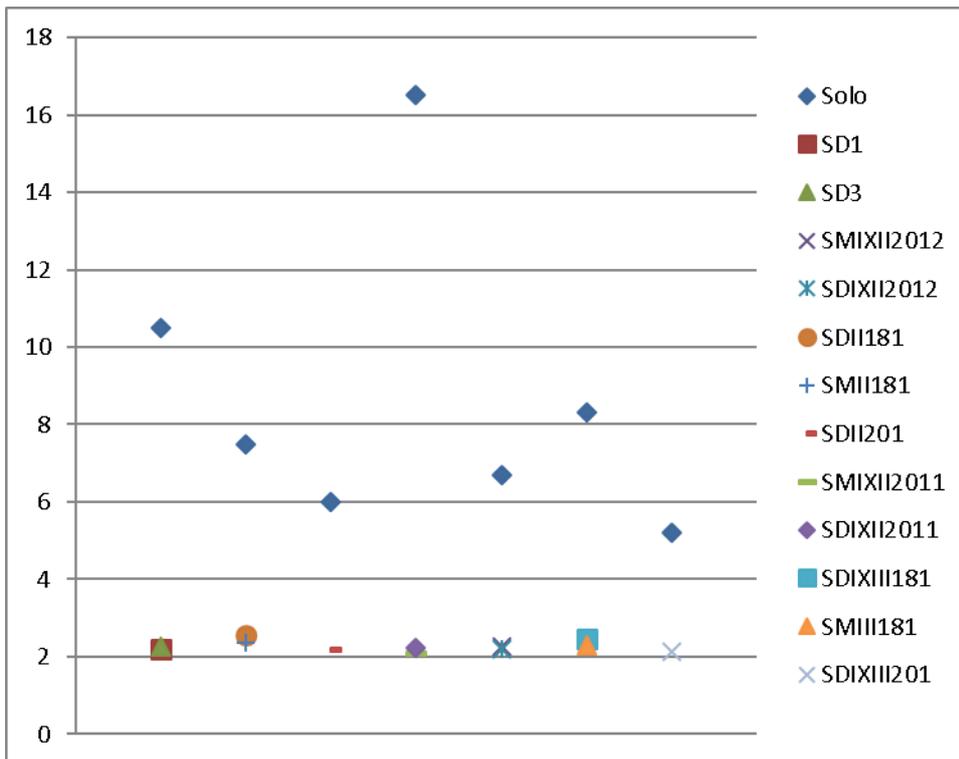


Figura 19 – Variação do Índice de Cristalinidade e do Carbono Orgânico (Amostra Solo) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total ( $C\ g\ kg^{-1}$ ) Tabela 4; como também média de absorbância do Índice de Cristalinidade Tabela 5.

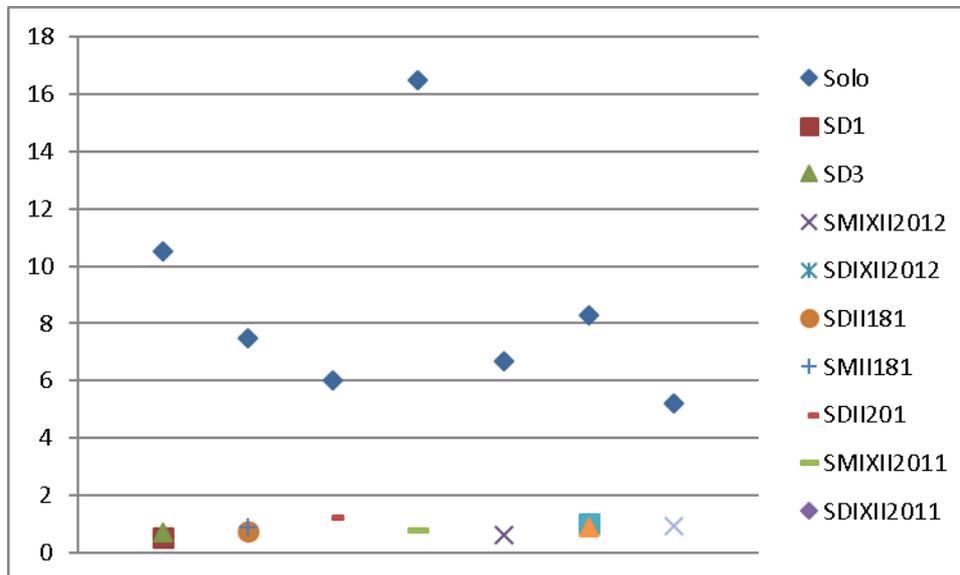


Figura 20 – Variação da razão Carbonato / Fosfato e do Carbono Orgânico (Amostra Solo em azul) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total ( $C\ g\ kg^{-1}$ ) Tabela 4; como também média de absorbância do Índice de Cristalinidade Tabela 5.

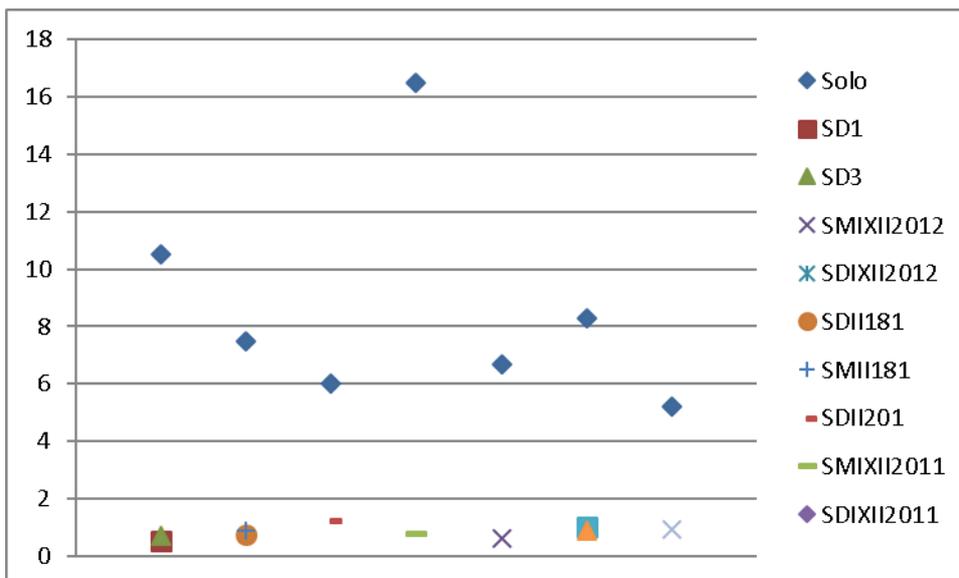


Figura 21 – Variação da razão Carbonato / Carbonila e do Carbono Orgânico (Amostra Solo em azul) nos ossos do experimento de acordo com o recipiente. Eixo X: recipientes e amostras de solo e ossos contidas neles (conforme o sufixo da amostra); Eixo Y: distribuição dos dados de acordo com os resultados do Carbono Orgânico Total ( $C \text{ g kg}^{-1}$ ) Tabela 4; como também média de absorvância do Índice de Cristalinidade Tabela 5.

A Microscopia Eletrônica de Varredura registrou resultados que permitiram diferenciar as amostras recentes, tanto de ossos do experimento quanto de ossos modernos. Ao contrário da espectroscopia e da análise química do solo, que permitiram diferenciar amostras antigas de amostras recentes através de parâmetros diagenéticos e análise estratigráfica respectivamente.

Nesse sentido, o recipiente com sedimento de ossos pintados (Fig. 22CD) não teve influências de degradação microbiológica ou abiótica de forma visível ultraestruturalmente, com aspecto bem próximo ao osso moderno que apresenta fibras de colágeno e matéria orgânica (Fig. 22B) e estrutura superficial de aspecto homogêneo (Fig. 22A). Uma característica aparente nos ossos pintados por óxido de ferro é a presença de canais de Volkmann bem preservados (Fig. 22D)

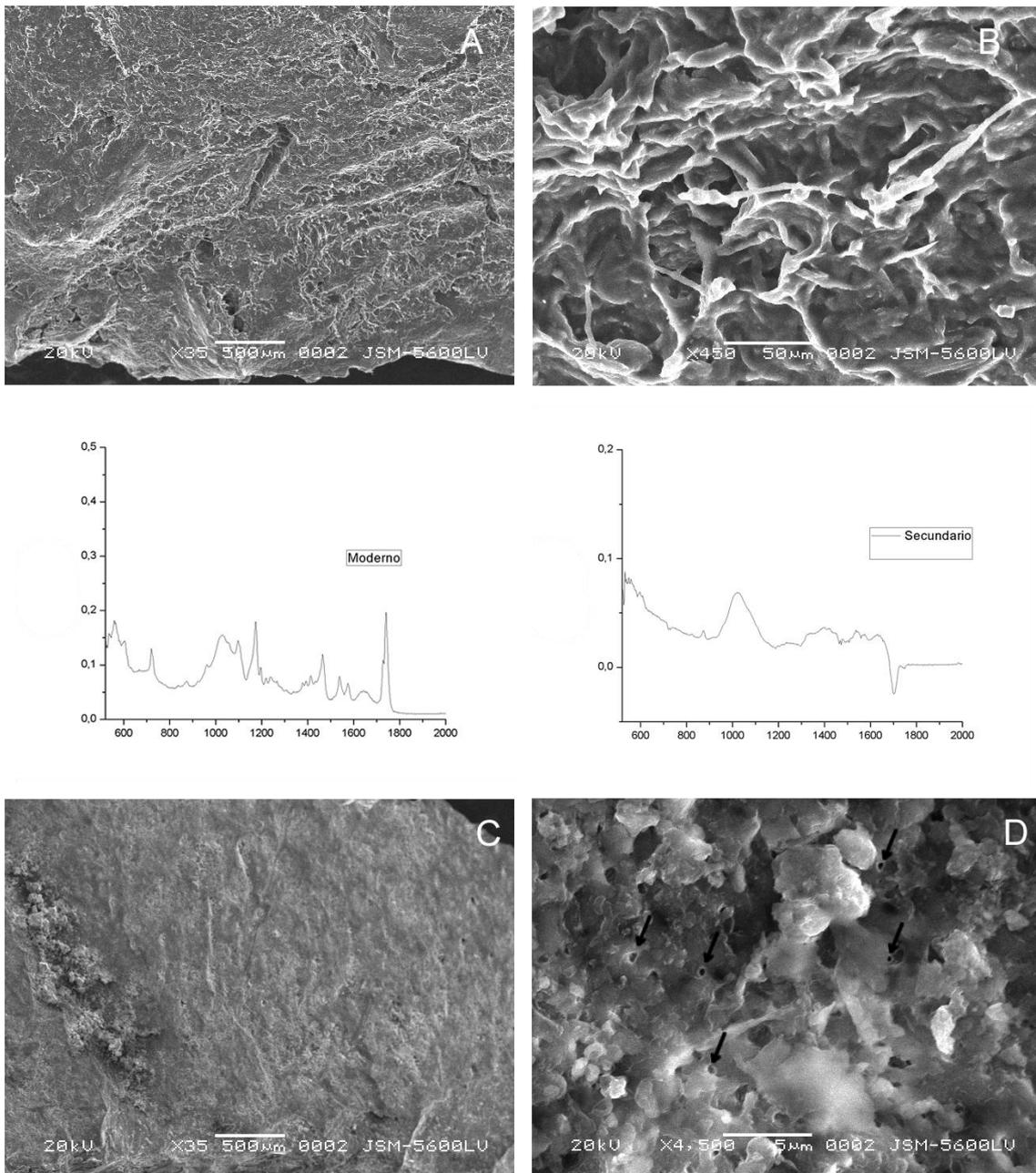


Figura 22 - Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e respectivos espectros médios por FTIR-ATR. A – Camada superficial da amostra da diáfise de fêmur bovino moderno; B – Imagem aproximada de A, fibras de colágeno cobertas por material orgânico; C – Osso pintado por óxido de ferro, fragmento de diáfise de fêmur bovino pintado por óxido de ferro; D – ultraestrutura da imagem C, presença dos canais de Volkmann (setas pretas) além de matéria orgânica.

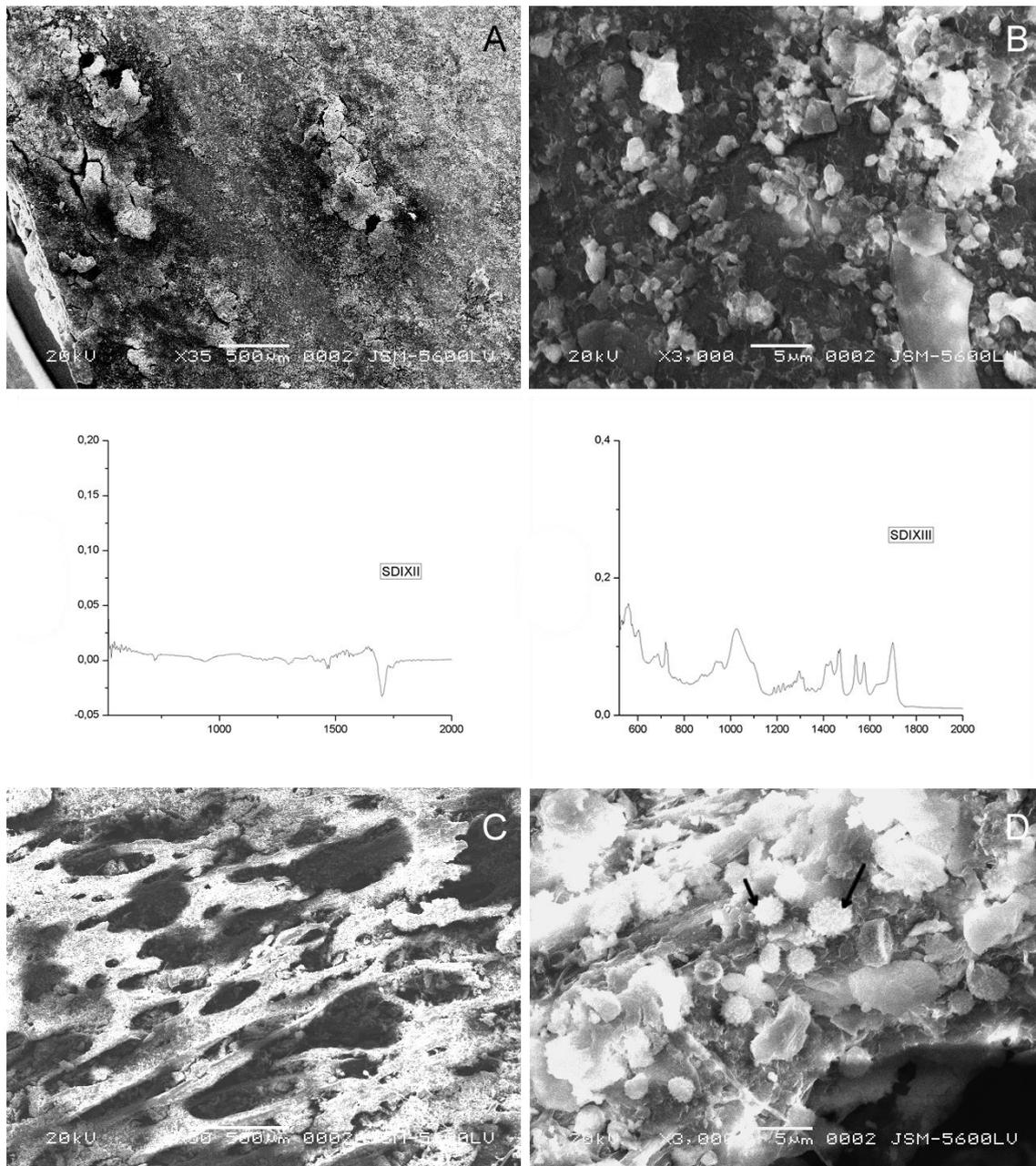


Figura 23 - Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e respectivos espectros médios por FTIR-ATR A – Amostra SDIXII, fragmento de diáfise de fêmur bovino com sedimento da camada intermediária do Setor IX; B – Imagem aproximada de A, sedimentos incorporados à superfície óssea áspera; C – amostra SDIXIII, fragmento de diáfise de fêmur bovino com sedimento camada próxima à superfície do setor IX; D – Imagem aproximada de C, esporos de fungos (setas pretas) e cristais de sedimento espalhados (em branco).

As imagens ultraestruturais dos ossos das diáfises bovinas que foram enterradas apresentaram tanto cristais do sedimento associado (Fig. 23B) quanto estruturas de fungos (Fig. 23D). As amostras que foram enterradas junto ao sedimento de nível

superficial (SDIXIII, Fig. 23CD) apresentaram esporos de fungos colonizando o tecido ósseo (Fig. 23D). O tecido cortical foi encontrado mais poroso na diáfise enterrada com sedimentos da camada próxima à superfície (Fig. 23C). A diáfise que foi enterrada na camada intermediária apresentou descamações isoladas (Fig. 23A).

A amostra referente a mandíbula óssea da camada profunda (SMII) exibiu descamações por toda zona cortical (Fig. 24A), além de presença de esporos e hifas de fungos (Fig. 24B).

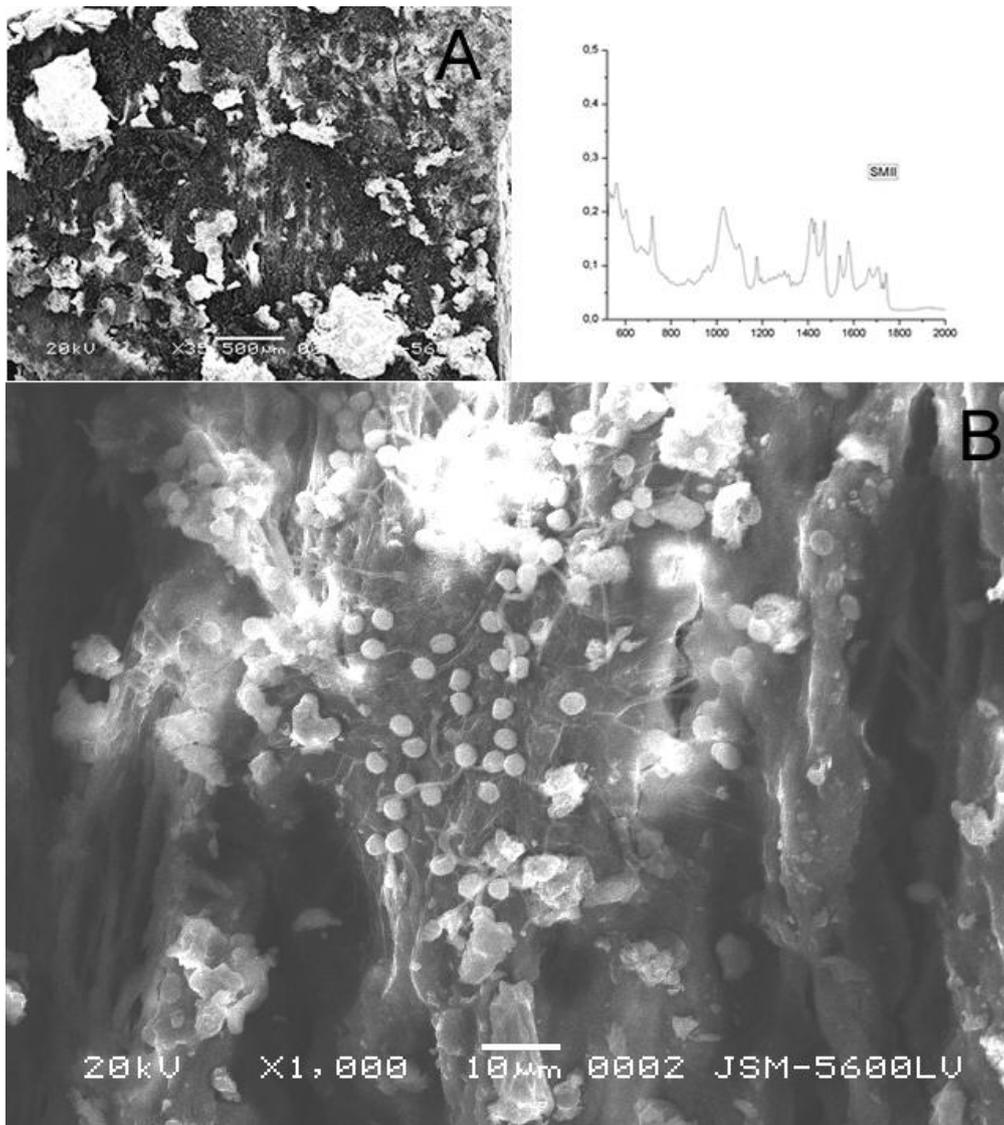


Figura 24 – Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura e espectro médio por FTIR-ATR da amostra SMII. A - Fragmento do arco de mandíbula suína com superfície áspera no recipiente com sedimentos do nível intermediário; B – aproximação na figura A, esporos e hifas colonizando a ultraestrutura óssea.

## 5 Discussão

Segundo o diagrama de Dent *et al.* (2004) a decomposição do corpo humano passa por distintas fases, começando pela autólise (primeiro estágio de decomposição), passando pela quebra de carboidratos, proteínas e ácidos graxos produtos de enzimas hidrolíticas, continuando até a putrefação (estágio tardio de decomposição) liberando gás carbônico, água e gases, posteriormente os tecidos liberam oxigênio, e o oxigênio restante oxida parte dos carboidratos, ácidos graxos e proteínas. Durante o experimento foram notadas essas fases iniciais durante as três primeiras semanas, bem como a destruição dos tecidos moles por microorganismos identificado através do odor (AUFDERHEIDE, 2011). Ainda segundo Dent *et al.* (2004), a putrefação começa por processos autolíticos em dois ou três dias depois da morte. Liquefação e desintegração são os estágios que tem como produto massa putrescente e gases. A parte final é a esqueletonização tendo como produtos ossos, dentes e cartilagem, e a degradação química que ocorre ao longo dos anos que o corpo permaneça enterrado. Por um lado foi possível identificar a decomposição dos tecidos moles através do odor característico, mas por outro não foram feitas lâminas de histologia e citologia para estudo por Microscopia de Transmissão para avaliar a presença abundante de lisossomos durante o primeiro ano de decomposição, assim não podemos comparar esse resultado com o de Aufderheide (2011).

Em comparação com os resultados de Nagy *et al.* (2008) ossos arqueológicos (1000 – 1500 A. C.) infectados com tuberculose aparecem com índices de cristalinidade altos. Ossos arqueológicos infectados com *Mycobacterium tuberculosis* têm índice de cristalinidade (C.I.) similar aos ossos modernos, enquanto ossos com lesões sifilíticas apresentam comportamento parecido aos ossos arqueológicos conforme C. I. e razão carbonato/fosfato (C/P).

Os espectros tanto do fêmur quanto da mandíbula são similares aos espectros por FTIR obtidos por Rajendran (2011). O trabalho ainda evidenciou o papel dos francolitos (derivado da fluorapatita) como ótimo marcador para distinção de ossos arqueológicos e modernos e o sinal inicial desse mineral é evidente na Figura 11 (1090-1093  $\text{cm}^{-1}$ ) assim é fortemente considerável a incorporação desse derivado da apatita durante o primeiro ano da diagênese óssea em ambiente semiárido.

Considerando o trabalho de revisão dos quatro tipos de diagênese (SMITH *et al.*, 2007) temos ossos bem preservados (C.I. = 3, C/P = 0,4+), ossos que sofreram dissolução catastrófica mineral (C.I. = 3,5-4,0; C/P = <0,2), ossos que sofreram acelerada perda de colágeno (C.I. = >3,9, C/P = 0,1) e ossos que sofreram ataques microbiológicos (C.I. = 3-4. C/P = 0,3-0,4). Todos os ossos do experimento estão na faixa dos ossos modernos considerando o Índice de Cristalinidade (C. I.) com variação na razão carbonato/fosfato. Essa variação coloca os ossos do experimento no caminho da trajetória ataque microbiano a partir das descamações vistas pela Figura 23-24 por Microscopia Eletrônica de Varredura. Foram utilizadas duas das dez variáveis que Smith *et al.* (2007) usou para construção da Análise por Componentes Principais, uma trajetória foi obtida com a inclusão de mais uma variável diagenética não utilizada pelo trabalho citado. Desta forma, temos claramente um conjunto dos ossos modernos e outro conjunto para os ossos arqueológicos, passando pelos ossos do experimento sendo necessária no futuro uma comparação com ossos provenientes de sítios históricos para conclusões sobre o comportamento da degradação óssea no ambiente semiárido.

Uma parte dos ossos do experimento sofreu recristalização, processo de troca de cristais na estrutura óssea, tendo a presença de apatita autigênica (C. I. acima de 3,4) ao invés da biogênica (C. I. acima de 2,6) segundo Berna *et al.* (2004). O processo de recristalização promove a mudança de cristais gradualmente, portanto, a apatita produzida pelo próprio osso pode persistir em Índice de Cristalinidade acima de 3,4. No caso do experimento, as amostras foram medidas por ATR (contato) e não por pastilhas de KBr, portanto a assembleia amostral pode sofrer pequenas mudanças, por exemplo, o osso moderno suíno e bovino tiveram, respectivamente, valores como 2,1 e 2,3 diferente dos valores do trabalho de Berna *et al.* (2004) e alguns ossos chegaram a exibir valores como o fêmur bovino do recipiente com solo da camada mais profunda, setor II, com C.I. = 2,57.

Um experimento parecido com o aqui descrito foi feito por Howes *et al.* (2012) que preparou três tipos de solo; siltoso, arenoso e argiloso e enterrou ossos suínos por quase dois anos (23 meses). Os ossos utilizados foram costelas suínas, que segundo os autores, e amplamente registrado em literatura das ciências forenses, é o ser vivo que mais se assemelha às características biológicas humanas. Os ossos foram analisados por Transformada de Fourier pelo método de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr), porém os resultados foram descritos por desvios-padrão. Assim, a média dos desvios-

padrão para o Índice de Cristalinidade foi de 1,43 e para a razão Carbonato/Fosfato foi de 2,39. Outras variáveis foram mensuradas como a acidez do solo influenciando fortemente o desvio-padrão das variáveis diagenéticas dos ossos enterrados. Os desvios em solo siltoso e silte arenoso foram parecidos, e como descrito no trabalho de Howes *et al.* (2012) sem muita variação das amostras ósseas dependente dos tipos de solo em um ano. A metodologia de cálculo do índice de cristalinidade e da razão Carbonato/Fosfato do referido trabalho não ficou bem clara e portanto não foi utilizada aqui nesse trabalho como parâmetro de comparação.

Outra aplicação da Transformada de Fourier por Infravermelho é verificar a cronologia em escalas forenses (recentes) e arqueológicas (antigas). Por exemplo, Patonai *et al.* (2013) separou amostras forenses e arqueológicas baseado no Índice de Cristalinidade e na razão Carbonato/Fosfato por FTIR-KBr. No grupo dos ossos da Pedra do Alexandre temos as amostras 274385ol (trabécula), 284045, 284343, 274385, 294380, 284907 com Índice de Cristalinidade e a razão C/P na faixa dos ossos arqueológicos (C.I. = 2,84 -3,78; C/P = 0,24 - 0,07). Para efeito de comparação, vértebras torácicas foram utilizadas no estudo de Patonai *et al.* (2013) e não fêmures bovinos e mandíbulas suínas como utilizados nesse estudo, em comparação os dados de ossos longos ovinos com 2,36 como Índice de Cristalinidade Médio (THOMPSON *et al.*, 2011) valor próximo à diáfise bovina deste experimento com C.I. médio de 2,312 por FTIR-ATR, a mesma técnica utilizada no trabalho de Thompson *et al.* (2011). Segundo Sillen e Parkington (1996) os valores dos parâmetros diagenéticos não são bem correlacionados às idades das camadas estratigráficas, ou seja, as características microambientais das camadas estratigráficas influenciam mais que as idades datadas obtidas delas. Por outro lado, o tamanho dos cristais pode ter uma correlação fraca com temporalidade, especialmente em escala paleontológica (PIGA *et al.*, 2009).

De acordo com Hollund *et al.* (2013) temos como fazer medições dos ossos material triturado, mas por secções transversais. Ruídos (nome dados às anomalias na espectroscopia) podem ter acontecido devido a irregularidade do perióstio e porosidade óssea. O que pode ter acontecido com os espectros das amostras SDII201, SDIXII2011 e SDIXII2012 onde só um espectro foi usado, pois os outros dois apresentaram a falta dos picos relativos ao carbonato e fosfato. O ruído no sinal do espectro referente às imagens da Figura 23AB pode ser ocasionada pela estrutura do material, em espectros de esmalte dentário a falta de sinal também é evidente.

Considerando a influência da profundidade de onde o sedimento foi retirado e considerando a quantidade de água distribuída ao longo do tempo no experimento igual para todos os recipientes não houve mudança brusca na distribuição das amostras visto que os ossos modernos não degradados ficaram na mesma faixa dos ossos do desenterrados do experimento considerando o conjunto dos três parâmetros (CI, C/P e C/C). Comparando com o trabalho de Douterelo *et al.* (2009) a variação em sedimentos de três camadas estratigráficas distintas mostrou que há dinâmicas diferentes em uma mesma estratigrafia considerando o Carbono Orgânico Total (remanescente de matéria orgânica decomposta), ao contrário do trabalho citado que mudou bruscamente em distâncias de 20 centímetros de 0 a 100, embora o ambiente de enterro estudado pelos autores citados foi anaeróbico em ambiente alagado onde usada uma tábua de água para medição. A análise do carbono orgânico do solo (Tabela 5) retirado da estratigrafia do sítio Pedra do Alexandre nos mostra que há variação, com valores altos, na própria camada estratigráfica. Segundo Bianchi *et al.* (2008) os valores de carbono orgânico aumentam com a profundidade e a matéria orgânica também tem relação direta com os valores de carbono orgânico. Esses valores de carbono orgânico refletem as múltiplas interferências ao longo dos anos de partes mortas e vivas de árvores, em especial raízes, e de animais de solo.

A análise do comportamento da química do solo de Carbono Orgânico Total por setores nos leva a entender que a dinâmica da ligação de outros elementos com carbono (matéria orgânica) não se comporta como os parâmetros diagenéticos, embora os valores dos parâmetros diagenéticos estejam sobrepostos indicando uma degradação uniforme por outros fatores (microbiológicos) e não diretamente os fatores abióticos como o solo orgânico.

A imagem de Karkanas *et al.* (2000) feita por microscopia eletrônica de varredura para identificação de apatitas autigênicas apresenta cristais bem diferentes dos encontrados em ambiente com predominância de biotita-xisto. A tentativa de identificação do hábito do cristal de biotita-xisto é a reflexão do feixe eletrônico pela formação uma estrutura bem iluminada (essencialmente branca) sem ser fosca, ao contrário da montgomerita presente no trabalho citado. Fungos foram encontrados em abundância em todas as amostras onde macroscopicamente foram vistos a matéria degradada e de aspecto colorido, principalmente o tecido da medula amarela, tecido hematopoiético, assim os fungos estudados por Gorbushina e Petersen (2000)

influenciando pinturas rupestres podem ser comparados aos fungos encontrados nesse trabalho devido a distribuição da estruturas reprodutivas explicitas na Figura 19D e 19J extremamente parecido com as hifas e esporos das imagens por microscopia de varredura por Gorbushina e Petersen (2000). Jurado *et al.* (2008) revisou as espécies de fungos que degradam material enterrado em cavernas, mas nesse trabalho a identificação dos fungos foi mantida de fora por não ser objetivo deste trabalho identificar as espécies de fungos.

Os fungos identificados por Pacheco *et al.* (2012) no experimento de um ano no Cerrado representam os principais grupos presentes na serapilheira, e isso precisa ser verificado na estrutura do solo do abrigo rochoso do cemitério indígena Pedra do Alexandre, bem como a diferença estratigráfica da conservação da amostra. Considerando um ambiente de enterro extremamente salino foram encontradas várias estruturas ósseas com quebras, abrasões e várias modificações na superfície óssea como cristalização salina, descoloração, mostrando que devido à diferença na coloração há um indicativo de diferentes temperaturas afetando as fases orgânicas e inorgânicas dos ossos (ABDEL-MAKSOUUD e ABDEL-HADY, 2011). No experimento se verificou que as diferentes colorações durante o primeiro ano de degradação não tem relação com a temperatura e sim com outros fatores como a presença, durante o ato de descarnar, de hemácias formadas por átomos de ferro. A comparação com ossos que foram pintados por óxido de ferro não deixou muito claro a distinção entre as duas substâncias nas duas amostras (Fig. 13 e 14), embora seja claro, o pico  $1010\text{ cm}^{-1}$  relativo ao óxido de ferro e  $1000\text{ cm}^{-1}$  para a mancha de sangue.

A composição química do solo da camada mais profunda do setor II (Figura 15) tem um espectro similar às calcitas do Regev *et al.* (2010) sendo estas de origem geológica e não biológica relacionadas às mudanças no pico 710 que é relacionado à calcita ( $\text{CaCO}_3$ ). Ainda considerando a composição química do solo não há relação entre o carbono orgânico derivado de matéria em decomposição no solo e as variáveis diagenéticas (Fig. 19-21), um resultado contrário à conclusão de Bartolomucci (2008) que analisou a tafonomia dos ossos nas diferentes estratigrafias dos sambaquis do Estado de São Paulo. Os micróbios, essencialmente bactérias e fungos, tiveram papel primordial no primeiro ano de degradação dos ossos concordando com as conclusões de Daniel e Chin (2010) e Aufderheide (2011) sobre os balanços de conservação e degradação dos ossos mediados por esses microorganismos e conservação dos tecidos

moles nos primeiros anos de enterro. A ultraestrutura do tecido ósseo pintado por óxido de ferro (Fig. 22CD) foi mais bem preservada que a ultraestrutura das outras diáfises utilizadas no experimento (Fig. 23). Outra característica ausente que foi encontrada no trabalho de Bartolomucci (2008) foram os “buracos tafonômicos” uma categoria em abundância que não ocorreu no experimento de um ano. Levar em consideração que foram trabalhos em ambientes distintos de solos, clima e micróbios de Sambaquis de zonas litorâneas comparando com solo, clima e micróbios provenientes de um abrigo rochoso do semiárido.

Comparando com os ossos estudados por Maat (1993) não foram encontradas evidências de ‘hemácias fossilizadas’ nos ossos do experimento, que são mostradas nas figuras por microscopia de varredura. Os aspectos de pátina micológica e sedimentar foram encontrados o mesmo das estruturas com processos de corte que foram feitos durante o pré-tratamento, ou seja, durante a retirada dos tecidos moles adjacentes. Em abundância foram encontradas hifas e esporos de fungos.

Nielsen-Marsh (2002) deixou claro que com o aumento de temperatura há a perda acelerada das moléculas de colágeno e osteocalcina, além da estrutura de DNA. Em temperaturas de uma região tropical como presente na Tabela 3 temos degradações diferenciadas em um mesmo tipo de temperatura assim as meia-vidas das moléculas explícitas pela autora podem em um ambiente semiárido ter taxas de degradação aceleradas. Sendo necessário um estudo comparativo para ver se outros fatores desaceleram essa degradação fazendo com que haja a presença do colágeno.

Ossos com pigmentação azulada ou cinza são indicativos de queima, nesse sentido Chadeaux *et al.* (2009) mostrou que os ossos queimados têm Índice de Cristalinidade acima de 4. Ossos com pigmentação vermelha comparados aos ossos modernos não apresentaram mudança no Índice de Cristalinidade como já era esperado por falta de queima, vide Squires *et al.* (2011) e Thompson *et al.* (2009, 2011).

Muitos dos trabalhos sobre Microarqueologia [neologismo cunhado por Weiner (2010)] citados no início da dissertação não foram comparados com os resultados aqui presentes por diferenças na metodologia de análise, incluindo técnicas e distintas composições materiais.

## 6 Conclusões

As três diferentes camadas estratigráficas do sítio Pedra do Alexandre não influenciaram de forma direta a degradação dos ossos em um ano de experimento. Todos os ossos foram bem conservados com presença de estruturas de fungos. Estruturalmente a parte mineral óssea foi bem preservada, enquanto a parte orgânica de tecidos moles foi degradada e os sinais químicos relativos ao colágeno não apareceram nos ossos que foram pintados por óxido de ferro.

Portanto, a compreensão do contexto arqueológico em ambiente semiárido a partir da Tafonomia e Formação do Registro Arqueológico está direcionada para mudanças estruturais que levam a interpretação de desarticulação dos esqueletos. Os ossos perderam parte da matéria orgânica depois de um ano considerando a cabeça do fêmur, que foi encontrada solta em relação ao corpo do fêmur.

A característica da coloração por óxido de ferro e por vestígios de sangue não apresenta distinção química de forma clara, um possível indicativo que tem que ser testado em uma amostra maior é a posição do fosfato no pico  $1010\text{ cm}^{-1}$  relativo ao óxido de ferro e  $1000\text{ cm}^{-1}$  para coloração por vestígios de sangue.

O interessante para a modelagem da degradação de ossos em ambiente semiárido é o controle das variáveis. Em um experimento em campo, isso não é possível, sendo também difícil entender a dinâmica dos diversos tipos influências desde microartrópodes até níveis elevados de antropismo. Com níveis hídricos, de temperatura, de composição do solo, e uso de partes anatômicas iguais de um mesmo grupo de vertebrado, temos um controle sobre um microambiente que é uma parte, das incontáveis variáveis para registro da degradação óssea do primeiro ano de deposição dos ossos no sítio arqueológico. Esta aproximação por experimento em microambiente isolado nos leva a ter indicativos e predições sobre o que teremos de amostra em um abrigo rochoso em partes específicas da região do Seridó, Rio Grande do Norte, e em partes onde há neossolo litólico no Brasil.

Para o primeiro ano da diagênese óssea, a análise por Microscopia Eletrônica de Varredura forneceu dados relevantes ultraestruturais. Enquanto que as análises por espectroscopia infravermelha para os ossos e análise química por Carbono Orgânico Total para o solo apresentaram resultados parecidos para todas as amostras recentes. O

uso da espectroscopia e análise química do solo pode ser melhor aproveitado para ossos arqueológicos, do que para ossos recentes, no caso do experimento e dos ossos modernos.

## 7 Referências bibliográficas

- ABDEL-MAKSOU, G. Comparison between the properties of "accelerated-aged" bones and archaeological bones. *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*, v. 10, n. 1, 89-112, 2010.
- ABDEL-MAKSOU, G.; ABDEL-HADY, M. Effect of burial environment on crocodile bones from Hawara excavation, Fayoum, Egypt. *Journal of Cultural Heritage*, v. 12, p. 180-189, 2011.
- ADLER, C. J.; HAAK, W.; DONLON, D.; COOPER, A.; GENOGRAPHIC CONSORTIUM. Survival and recovery of DNA from ancient teeth and bones. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 958-964, 2011.
- ALHO, D. R.; JÚNIOR, J. M.; CAMPOS, M. C. C. Caracterização física, química e mineralógica de Neossolos Litólicos de diferentes materiais de origem. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 2, n. 2, p. 117-122, 2007.
- AKHTAR, R.; DAYMOND, M. R.; ALMER, J. D.; MUMMERY, P. M. Lattice strains and load partitioning in bovine trabecular bone. *Acta Biomaterialia*, v. 7, n. 2, p. 716-723, 2011.
- AMBROSE, S. H.; KRIGBAUM, J. Bone chemistry and bioarchaeology. *Journal of Anthropological Archaeology*, v. 22, p. 193-199, 2003.
- ARNAY-DE-LA-ROSA, M.; GONZÁLEZ-REIMERS, E.; YANES, Y.; ROMANEK, C. S.; NOAKES, J. E.; GALINDO-MARTIN, L. Paleonutritional and paleodietary survey on prehistoric humans from Las Cañadas del Teide (Tenerife, Canary Islands) based on chemical and histological analysis of bone. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 884-895, 2011.
- AUFDERHEIDE, A. C. Soft tissue taphonomy: a paleopathology perspective. *International Journal of Paleopathology*, v. 1, p. 75-80, 2011.
- BARTOLOMUCCI, R. Preservação óssea: um estudo tafonômico dos remanescentes ósseos humanos dos sambaquis fluviais do vale do Ribeira de Iguape, SP. Dissertação de Mestrado em Arqueologia, São Paulo: Universidade de São Paulo, 2008.
- BEHRENSMEYER, A. K. Taphonomic and ecologic information from bone weathering. *Paleobiology*, v. 4, p. 150-162, 1978.
- BELBACHIR, K.; NOREEN, R.; GOUSPILLOU, G.; PETIBOIS, C. Collagen types analysis and differentiation by FTIR spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 395, p. 829-837, 2009.
- BELL, L. S.; BOYDE, A.; JONES, S. J. Diagenetic alteration to teeth in situ illustrated by backscattered electron imaging. *Scanning*, v. 13, p. 173-183, 1991.
- BENTLEY, R. A. Strontium isotopes from the Earth to the archaeological skeleton: a review. *Journal of Archaeological Method and Theory*, v. 13, n. 3, p. 135-187, 2006.
- BERNA, F.; MATTHEWS, A.; WEINER, S. Solubilities of bone mineral from archaeological sites: the recrystallization window. *Journal of Archaeological Science*, v. 31, p. 867-882, 2004.
- BIANCHI, R. S.; MIYAZAWA, M.; OLIVEIRA, E. L.; PAVAN, M. A. Relationship between the mass of Organic Matter and Carbon in soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 51, n. 2, 2008.

- BIN, G.; JU-HONG, C. An interpretation method for sandstone porosity based on diagenesis effect. *Acta Petrolei Sinica*, v. 25, n. 5, p. 44-47, 2004.
- BINFORD, L. R. For theory building in archaeology. New York: Editora Acadêmica, 1977. 419p.
- BLANCHETTE, R. A. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments, *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p. 189-204, 2000.
- BRANCO, R. P. O.; SILVA, S. F. S. M. Química & Arqueologia Forense. Cap. 1: p. 1-34, 2012. Em: BRANCO, R. P. O. Química forense: Ampliando o horizonte da perícia. Ed. Millennium, vol. 2, 2012. 215 p.
- BRAUX, J.; VELARD, F.; GUILLAUME, C.; BOUTHORS, S.; JALLOT, E.; NEDELEC, J. M.; LAURENT-MAQUIN, D.; LAGUIRRIÈRE, P. A new insight into the dissociating effect of strontium on bone resorption and formation. *Acta Biomaterialia*, v. 7, n. 6, p. 2593-2603, 2011.
- BROCK, F.; RAMSEY, C. B.; HIGHAM, T. F. G.; Quality assurance of ultrafiltered bone dating. *Radiocarbon*, v. 49, p. 187-192, 2007.
- BROCK, F.; HIGHAM, T.; RAMSEY, C. R. Pre-screening techniques for identification of samples suitable for radiocarbon dating of poorly preserved bones. *Journal of Archaeological Science*, v. 37, p. 855-865, 2010.
- BUC, N. Experimental series and use-wear in bone tools. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 546-557, 2011.
- CASTRO, V. M. C. *Marcadores de identidades coletivas no contexto funerário pré-histórico no Nordeste do Brasil*. Tese (doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, CFCH, Arqueologia, 2009.
- CASTRO, W.; HOOGEWERFF, J.; LATKOCZY, C.; ALMIRALL, J. R. Application of laser ablation (LA-ICP-SF-MS) for the elemental analysis of bone and teeth samples for discrimination purposes. *Forensic Science International*, v. 195, p. 17-27, 2010.
- CESCHIN, S.; KUMBARIC, A.; CANEVA, G.; ZUCCARELLO, V. Testing flora as bioindicator of buried structures in the archaeological area of Maxentius's villa (Rome, Italy). *Journal of Archaeological Science*, v. 39, p. 1288-1295, 2012.
- CHADEFAUX, C.; VIGNAUD, C.; CHALMIN, E.; ROBLES-CAMACHO, J.; ARROYO-CABRALES, J.; JOHNSON, E.; REICHE, I. Color origin and heat evidence of paleontological bones: Case study of blue and gray bones from San Josecito Cave, Mexico. *American Mineralogist*, v. 94, p. 27-33, 2009.
- CHEN, P. -Y.; STOKES, A. G.; MCKITTRICK, J. Comparison of the structure and mechanical properties of bovine femur bone and antler of the North American elk (*Cervus elaphus canadensis*). *Acta Biomaterialia*, v. 5, p. 693-706, 2009.
- CHIANG, H. K.; PENG, F.-Y.; HUNG, S.-C.; FENG, Y.-A. *In situ* Raman spectroscopy monitoring of hydroxyapatite as human mesenchymal stem cells differentiate into osteoblasts. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 40, p. 546-549, 2009.
- CHIAVARI, G.; GALLETI, G. C.; LANTERNA, G.; MAZZEO, R. The potential of pyrolysis – gas chromatography/mass spectrometry in the recognition of ancient painting media. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, n. 24, p. 227-242, 1993.

- COLLINS, M. J.; NIELSEN-MARSH, C. M.; HILLER, J.; SMITH, C. I.; ROBERTS, J. P.; PRIGODICH, R. V.; WESS, T. J.; CSAPO, J.; MILLARD, A. R.; TURNER-WALKER, G. The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 383-394, 2002.
- COLLINS, M. J.; RILEY, M. S.; CHILD, A. M.; TURNER-WALKER, G. A basic mathematical simulation of the degradation of ancient collagen. *Journal of Archaeological Science*, v. 22, p. 175-183, 1995.
- COWGILL, G. L. Archaeological applications of factor, cluster and proximity analysis. *American Antiquity*, v. 33, n. 3, 1968.
- D'ELIA, M.; GIANFRATE, G.; QUARTA, G.; GIOTTA, L.; GIANCANE, G. Evaluation of possible contamination sources in the <sup>14</sup>C analysis of bone samples by FTIR spectroscopy. *Radiocarbon*, v. 49, n. 2, p. 201-210, 2007.
- DANIEL, C. J.; CHIN, K. The role of bacterially mediated precipitation in the permineralization of bone. *Palaeos*, v. 25, n. 8, p. 507-516, 2010.
- DENT, B. B.; FORBES, S. L.; STUART, B. H. Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology*, v. 45, p. 576-585, 2004.
- DENYS, C. Taphonomy and experimentation. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 469-484, 2002.
- DOBBERSTEIN, R. C.; COLLINS, M. J.; CRAIG, O. E.; TAYLOR, G.; PENKMAN, K. E. H.; RITZ-TIMME, S. Archaeological collagen: Why worry about collagen diagenesis? *Archaeological and Anthropological Sciences*, v. 1, p. 31-42, 2009.
- DOMÍNGUEZ-RODRIGO, M.; JUANA, S.; GALÁN, A. B.; RODRÍGUEZ, M. A new protocol to differentiate trampling marks from butchery cut marks. *Journal of Archaeological Science*, v. 36, p. 2643-2654, 2009.
- DOUTERELO, I.; GOULDER, R.; LILLIE, M. Response of the microbial community to water table variation and nutrient addition and its implications for in situ preservation of organic archaeological remains in wetland soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 63, p. 795-805, 2009.
- EDWARDS, H. G. M.; FARWELL, D. W.; FARIA, D. L. A.; MONTEIRO, A. M. F.; AFONSO, M. C.; BLASIS, P.; EGGERS, S. Raman spectroscopic study of 3000-year-old human skeletal remains from a sambaqui, Santa Catarina, Brazil. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 32, p.17-22, 2001.
- EDWARDS, H. G. M.; MUNSHI, T. Diagnostic Raman spectroscopy for the forensic detection of biomaterials and the preservation of cultural heritage. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 382, p. 1398-1406, 2005.
- EDWARDS, H. G. M.; HASSAN, N. F. N.; ARYA, N. Evaluation of Raman spectroscopy and application of chemometric methods for the differentiation of contemporary ivory specimens I: elephant and mammalian species. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 37, p. 353-360, 2006.
- EDWARDS, H. G. M.; WILSON, A. S.; HASSAN, N. F. N.; DAVIDSON, A.; BURNETT, A. Raman spectroscopic analysis of human remains from a seventh century cist burial on Anglesey, UK. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 387, p. 821-828, 2007.
- ESPINOZA, E. O.; BAKER, B. W.; BERRY, C. A. The analysis of sea turtle and bovid keratin artifacts using drift spectroscopy and discriminant analysis. *Archaeometry*, v. 49, n. 4, p. 685-698, 2007.

- EVERSHED, R. P. Organic residue analysis in archaeology: the archaeological biomarker revolution. *Archaeometry*, v. 50, n. 6, p. 895-924, 2008.
- EFREMOV, L. A. Taphonomy: a new branch of paleontology. *Pan American Geologist*, v. 74, p. 81-93, 1940.
- FERNÁNDEZ-JALVO, Y.; ANDREWS, P. Small mammal taphonomy of Gran Dolina, (Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Archaeological Science*, v. 19, p. 407-428, 1992.
- FERNÁNDEZ-JALVO, Y.; SANCHEZ-CHILLÓN, B.; ANDREWS, P.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, S.; MARTINEZ, L. A. Morphological taphonomic transformations of fossil bones in continental environments, and repercussions on their chemical composition. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 353-361, 2002.
- GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. Non-invasive analysis of solid samples. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 43, p.161 – 173, 2013.
- GIFFORD, D. P. Taphonomy and Palaeocology: A Critical Review of Archaeology's Sister Disciplines. *Advances in Archaeological Method and Theory*, v.4, p. 365-438, 1981.
- GIFFORD-GONZALEZ, D. Bones Are Not Enough: Analogues, Knowledge, and Interpretative Strategies in Zooarchaeology. *Journal of Anthropological Archaeology*, v. 10, p. 215-254, 1991.
- GONZALEZ, P. N.; BERNAL, V.; PEREZ, S. I. Analysis of sexual dimorphism of craniofacial traits using geometric morphometric techniques. *International Journal of Osteoarchaeology*, v. 21, p. 82-91, 2011.
- GORBUSHINA, A. A.; PETERSEN, K. Distribution of microorganisms on ancient wall paintings as related to associated faunal elements. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p. 277-284, 2000.
- GÖTHERSTRÖM, A.; COLLINS, M. J.; ANGERBJÖRN, A.; LIDÉN, K. Bone preservation and DNA amplification. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 395-404, 2002.
- GOURION-ARSIQUAUD, S.; FAIBISH, D.; MYERS, E.; SPEVAK, L.; COMPSTON, J.; HODSMAN, A.; SHANE, E.; RECKER, R. R.; BOSKEY, E. R.; BOSKEY, A. L. Use of FTIR spectroscopic imaging to identify parameters associated with fragility fracture. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 24, n. 9, p. 1565-1571, 2009.
- GUTIÉRREZ, M. A.; KAUFMANN, C.; GONZÁLEZ, M.; MASSIGOGE, A; ÁLVAREZ, M. C. Intrataxonomic variability in metapodial and femur bone density related to age in guanaco (*Lama guanicoe*). Zooarchaeological and taphonomical implications. *Journal of Archaeological Science*, v. 37, p. 3226-3238, 2010.
- HASLAM, M. The decomposition of starch grains in soils: implications for archaeological residue analyses. *Journal of Archaeological Science*, v. 31, p. 1715-1734, 2004.
- HEDGES, R. E. M. Bone diagenesis: An overview processes. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 319-328, 2002.
- HERRERA, K. L.; VIDELA, H. A. The importance of atmospheric effects on biodeterioration of cultural heritage constructional materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 54, p. 125-134, 2004.

HOKE, N.; BURGER, J.; WEBER, C.; BENECKE, N.; GRUPE, G.; HARBECK, M. Estimating the chance of success of archaeometric analysis of bone: UV-induced bone fluorescence compared to histological screening. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v. 310, p. 23-31, 2011.

HOLLIDAY, V. T.; LAWRENCE-ZUNIGA, D.; BUCHLI, V. Prologue to uses of chemical residues to make statements about human activities. *Journal of Archaeological Method and Theory*, v. 17, p. 175-182, 2010.

HOLLUND, H. I.; ARIESE, F.; FERNANDES, R.; JANS, M. M. E.; KARS, H. Testing an alternative high-throughput tool for investigating bone diagenesis: FTIR in attenuated total reflection (ATR) mode. *Archaeometry*, v. 55, n. 3, p. 507 – 532, 2013.

HOLMES, K. M.; BROWN, K. A. R.; OATES, W. P.; COLLINS, M. J. Assessing the distribution of African Palaeolithic sites: a predictive model of collagen degradation. *Journal of Archaeological Science*, v. 32, n. 4, p. 157-166, 2005.

HOO, R. P.; FRATZL, P.; DANIELS, J. E.; DUNLOP, J. W.; HONKIMÄKI, V.; HOFFMAN, M. Cooperation of length scales and orientations in the deformation of bovine bone. *Acta Biomaterialia*, v. 7, n. 7, p. 2943-2951, 2011.

HOWES, J. M.; STUART, B. H.; THOMAS, P. S.; RAJA, S.; O'BRIEN, C. An investigation of model forensic bone in soil environments studied using Infrared Spectroscopy. *Journal of Forensic Sciences*, v. 57, n. 5, p. 1161-1167, 2012.

JANS, M. M. E.; NIELSEN-MARSH, C. M.; SMITH, C. I.; COLLINS, M. J.; KARS, H. Characterization of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science*, v. 31, p. 87-95, 2004.

JELLISON, J.; JASALAVICH, C. A review of selected methods for the detection of degradative fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p. 241-244, 2000.

JURADO, V.; SANCHEZ-MORAL, S.; JIMENEZ-SAIZ, C. Entomogenous fungi and the conservation of the cultural heritage: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 62, p. 325-330, 2008.

KARKANAS, P.; BAR-YOSEF, O.; GOLDBERG, P.; WEINER, S. Diagenesis in prehistoric caves: the use of minerals that form *in situ* to assess the completeness of the archaeological record. *Journal of Archaeological Science*, v.27, p. 915-929, 2000.

KEY, A. J. M.; LYCETT, S. J. Technology based evolution? A biometric test of the effects of handsized versus tool form on efficiency in an experimental cutting task. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 1663-1670, 2011.

KING, C. L.; TAYLES, N.; GORDON, K. C. Re-examining the chemical evaluation of diagenesis in human bone apatite. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 2222-2230, 2011.

KOPPE, K. A.; KOCH, P. L.; FURUTANI, T. T. Assessing the preservation of biogenic strontium in fossil bones and tooth enamel. *International Journal of Osteoarchaeology*, v. 13, p. 20-28, 2003.

LAGE, M. C. S. M. Análise química de pigmentos de arte rupestre do sudeste do Piauí. *Revista de Geologia*, v. 9, p. 83-96, 1996.

LARSON, F. Anthropology as comparative anatomy? Reflecting on the study of material culture during the late 1800s and the late 1900s. *Journal of Material Culture*, v. 12, p. 89-112, 2007.

- LAURENCIN, D.; ALMORA-BARRIOS, N.; LEEUW, N. H.; GERVAIS, C.; BONHOMME, C.; MAURI, F.; CHRZANOWSKI, W.; KNOWLES, J. C.; NEWPORT, R. J.; WONG, A.; GAN, Z.; SMITH, M. Magnesium incorporation into hydroxyapatite. *Biomaterials*, v. 32, p. 1826-1837, 2011.
- LEBON, M.; REICH, I.; FRÖLICH, J.; BAHAIN, J.-J.; FALGUÈRES, C. Characterization of archaeological burnt bones: contribution of a new analytical protocol based on derivative FTIR spectroscopy and curve fitting of the  $\nu_1\nu_3$  PO<sub>4</sub> domain. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 392, p. 1479-1488, 2008.
- LEWIN, R. Human evolution: an illustrated introduction. 5<sup>a</sup> ed., Editora Blackwells, 2005. 277p.
- LIMA, A.; MEDICI, T.; MATOS, A. P.; VERITÀ, M. Chemical analysis of 17th century *Millefiori* glasses excavated in the Monastery of Sta. Clara-a-Velha, Portugal: comparison with Venetian and *façon-de-Venise* production. *Journal of Archaeological Science*, v. 39, p. 1238-1248, 2012.
- LISCI, M.; MONTE, M.; PACINI, E. Lichens and higher plants on stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 51, p. 1-17, 2003.
- LYMAN, R. L. The concept of equifinality in taphonomy. *Journal of Taphonomy*, v. 2, n. 1, p. 15-26, 2004.
- LYMAN, R. L. What taphonomy is, what it isn't, and why taphonomists should care about the difference? *Journal of Taphonomy*, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2010.
- LYMAN, R. L.; O'BRIEN, M. J. Cultural traits: units of analysis in early twentieth-century anthropology. *Journal of Anthropological Research*, v. 59, p. 225-250, 2003.
- MAAT, G. J. R. Bone preservation, decay and its related conditions in ancient human bones from Kuwait. *International Journal of Osteoarchaeology*, v. 3, p. 77-86, 1993.
- MARIN, R. E. Taphonomy: A process approach. *Cambridge Paleobiology Series 7*, 1999.
- MARTIN, Gabriela. *Pré-história do Nordeste do Brasil*. 4. ed. Recife: Editora Universitária/UFPE. 2005. 395 p.
- MACCLURE, S. B.; GARCÍA, O.; TOGORES, C. R.; CULLETON, B. J.; KENNETT, D. J. Osteological and paleodietary investigation of burials from Cova de la Pastora, Alicante, Spain. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 420-428, 2011.
- MATSUMOTO, T.; OKAZAKI, M.; INOUE, M.; HAMADA, Y.; TAIRA, M.; TAKAHASHI, J. Crystallinity and solubility characteristics of hydroxyapatite adsorbed amino acid. *Biomaterials*, v. 23, p. 2241-2247, 2002.
- MATTHIESEN, H. In situ measurement of soil pH. *Journal of Archaeological Science*, v. 31, p. 1373-1381, 2004.
- MAURER, A. -F.; GERARD, M.; PERSON, A.; BARRIENTOS, I.; CARMEN RUIZ, P.; DARRAS, V.; DURLET, C.; ZEITOUN, V.; RENARD, M.; FAUGÈRE, B. Intra-skeletal variability in trace elemental content of Precolumbian Chupicuaro human bones: the record of post-mortem alteration and a tool for palaeodietary reconstruction. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 1784-1797, 2011.

MCMAHON, P. B.; CHAPELLE, F. H.; FALLS, W. R.; BRADLEY, P. M. Role of microbial processes in linking sandstone diagenesis with organic-rich clays. *Journal of Sedimentary Petrology*, v. 62, n. 1, p. 1-10, 1992.

MELLO E ALVIM, M. C.; UCHÔA, D. P.; SILVA, S. M. Osteobiografia da população pre-histórica do abrigo Pedra do Alexandre, Carnaúba dos Dantas, RN. *Clio (série arqueológica)*, v. 1, n. 11, p.17 – 42, 1995/1996.

MILLARD, A. R. 'Book review of 'Microarchaeology: beyond the visible archaeological record' by Stephen Weiner, Cambridge, Cambridge University Press, 2010, *Antiquity*, v. 85, n. 328, p. 687-688, 2011.

MISNER, L. M.; HALVORSON, A. C.; DREIER, J. L.; UBELAKER, D. H.; FORAN, D. R. The correlation between skeletal weathering and DNA quality and quantity. *Journal of Forensic Science*, v. 54, n. 4, p. 822-828, 2009.

MUTZENBERG, D. Gênese e ocupação pré-histórica do sítio arqueológico Pedra do Alexandre: uma abordagem a partir da caracterização paleoambiental do vale do rio Carnaúba – RN. Dissertação de Mestrado em Arqueologia, Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

NAGANO, M.; NAKAMURA, T.; KOKUBO, T.; TANAHASHI, M.; OGAWA, M. Differences of bone bonding ability and degradation behavior in vivo between amorphous calcium phosphate and highly crystalline hydroxyapatite coating. *Biomaterials*, v. 17, p. 1771-1777, 1996.

NAGY, G.; LORAND, T.; PATONAI, Z.; MONTSKO, G.; BAJNOCZKY, I.; MARCSIK, A.; MARK L. Analysis of pathological and non-pathological human skeletal remains by FT-IR spectroscopy. *Forensic Science International*, v. 175, p. 55-60, 2008.

NHAURO, G. Characterization of the elemental deposits in fossils from the Cradle of Humankind in South Africa and modern bones from the same geological area. Dissertação de Mestrado em Arqueologia, Johannesburgo: Universidade de Witwatersrand, 2010.

NORTON, C. J.; HASEGAWA, Y.; KOHNO, N.; TOMIDA, Y. Distinguishing archaeological and paleontological faunal collections from Pleistocene Japan: taphonomic perspectives from Hanaizumi. *Anthropological Science*, v. 115, p. 91-106, 2007.

NICHOLSON, R. A. Bone Degradation, Burial Medium and Species Representation: Debunking the Myths, an Experiment-based Approach. *Journal of Archaeological Science*, v. 23, p. 513-533, 1996.

NIELSEN-MARSH, C. Biomolecules in fossil remains: Multidisciplinary approach to endurance. *The Biochemist*, p. 12-14, junho de 2002.

NIELSEN-MARSH, C. M.; SMITH, C. I.; JANS, M. M. E.; NORD, A.; KARS, H.; COLLINS, M. J. Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. *Journal of Archaeological Science*, v.34, p. 1523-1531, 2007.

NIELSEN-MARSH, C. M.; STEGEMANN, C.; HOFFMANN, R.; SMITH, T.; FEENEY, R.; SMITH, T.; FEENEY, R.; TOUSSAINT, M.; HARVATI, K.; PANAGOPOULOU, E.; HUBLIN, J.-J.; RICHARDS, M. P. Extraction and sequencing of human and Neanderthal mature enamel proteins using Maldi-TOF/TOF MS. *Journal of Archaeological Science*, v. 36, p.1758 – 1763, 2009.

O'CONNOR. The archaeology of animal bones. 1ª ed. Sutton publishing, 2000. 206 p.

PACHECO, M. L. A. F.; VILLAGRAN, X. S.; MARTINS, G. R. Macroscopic and microbiological alterations of bird and small mammal bones buried in a Cerrado biome (south western Brazil). *Journal of Archaeological Science*, v. 39, p. 1394-1400, 2012.

PATONAI, Z.; MAASZ, G.; AVAR, P.; SCHMIDT, J.; LORAND, T.; BAJNOCZKY, I.; MARK, L. Novel dating method to distinguish between forensic and archeological human skeletal remains by bone mineralization indexes. *International Journal of Legal Medicine*, v. 127, p. 529-533, 2013.

PEACOCK, E. E. Characterization and simulation of water-degraded archaeological textiles: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 38, p. 1-17, 2003.

PÉREZ, J. M.; ESTEVE-TÉBAR, R. Pigment identification in greek pottery by raman microspectroscopy. *Archaeometry*, v. 46, n. 4, 2004.

PEREZ-JIMENEZ, R.; INGLÉS-PRIETO, A.; ZHAO, Z-M.; SANCHEZ-ROMERO, I.; ALEGRE-CEBOLLADA, J.; KOSURI, P.; GARCIA-MANYES, S.; KAPPOCK, T. J.; TANOKURA, M.; HOLMGREN, A.; SANCHEZ-RUIZ, J. M.; GAUCHER, E. A.; FERNANDEZ, J. M. Single-molecule paleoenzymology probes the chemistry of resurrected enzymes. *Nature Structural and Molecular Biology*, v.18, p. 592-596, 2011.

PESTLE, W. J. Chemical, elemental, and isotopic effects of acid concentration and treatment duration on ancient bone collagen: an exploratory study. *Journal of Archaeological Science*, v. 37, p. 3124-3128, 2010.

PIGA, G.; SANTOS-CUBEDO, A.; SOLÀ, S. M.; BRUNETTI, A.; MALGOSA, A.; ENZO, S. An X-ray Diffraction (XRD) and X-ray Fluorescence (XRF) investigation in human and animal fossil bones from Holocene to Middle Triassic. *Journal of Archaeological Science*, v. 36, p. 1857-1868, 2009.

PIJOAN, C. MA.; MANSILLA, J.; LEBOREIRO, I.; LARA, V. H.; BOSCH, P. Thermal alterations in archaeological bones. *Archaeometry*, v. 49, n. 4, 2007.

PLOG, S. The contribution of behavioral archaeology and the research of Michael B. Schiffer to the discipline. *Journal of Archaeological Method and Theory*, v. 18, n. 4, p. 278-283, 2011.

PORTER, A. E.; TAAK, P.; HOBBS, L. W.; COATHUP, M. J.; BLUNN, G. W.; SPECTOR, M. Bone bonding to hydroxyapatite and titanium surfaces on femoral stems retrieved from human subjects at autopsy. *Biomaterials*, v. 25, p. 5199-5208, 2004.

RAJENDRAN, J. XANES and FTIR study on dried and calcined bones. Dissertação em Ciências dos Materiais e Engenharia. *University of Texas at Arlington*, 2011.

RAMOS, A. C. P. T. O sítio pré-histórico rupestre Pedra do Alexandre em Carnaúba dos Dantas-RN: Estudo dos Pigmentos. Dissertação de Mestrado em História, Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 1995.

REGEV, L.; PODUSKA, K. M.; ADDADI, L.; WEINER, S.; BOARETTO, E. Distinguishing between calcites formed by different mechanisms using infrared spectrometry: archaeological applications. *Journal of Archaeological Science*, v. 37, 3022-3029, 2010.

REICHE, I.; FAVRE-QUATTROPANI, L.; VIGNAUD, C.; BOCHERENS, H.; CHARLET, L.; MENU, M. A multi-analytical study of bone diagenesis: the Neolithic site of Bercy (Paris, France) *Measurement Science and Technology*, v. 14, p. 1608-1619, 2003.

- REICHE, I; VIGNAUD, C.; MENU, M. The crystallinity of ancient bone and dentine: new insights by transmission electron microscopy. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 447-459, 2002.
- REITZ, E.; WING, E. Zooarchaeology. Cambridge Press. Second Edition, 2008. 533 p.
- REITZ, E. J.; SHACKLEY, M. Environmental Archaeology, Springer, 2012, 560p.
- ROBERTS, S. J.; SMITH, C. I.; MILLARD, A.; COLLINS, M. J. The taphonomy of cooked bone: characterizing boiling and its physico-chemical effects. *Archaeometry*, v. 44, n. 3, p. 495-494, 2002.
- RODRIGUES, C. V. M.; SERRICELLA, P.; LINHARES, A. B. R.; GUERDES, R. M.; BOROJEVIC, R.; ROSSI, M. A.; DUARTE, M. E. L.; FARINA, M. Characterization of a bovine collagen-hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*, v. 24, p. 4987-4997, 2003.
- ROGERS, K.; BECKETT, S.; KUHN, S.; CHAMBERLAIN, A.; CLEMENT, J. Contrasting the crystallinity indicators of heated and diagenetically altered bone mineral. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v. 296, p. 125-129, 2010.
- ROSALIE-DAVID, A.; EDWARDS, H. G. M.; FARWELL, D. W.; FARIA, D. L. A. Raman spectroscopic analysis of ancient Egyptian pigments. *Archaeometry*, v. 43, n. 4, 2001.
- SANJUÁN, L. G. Introducción al reconocimiento y análisis arqueológico del território. 1ª Edição. Barcelona: Ariel, 2005. 352p.
- SANTOS, J. S.; FARIAS, A. A. Diagênese óssea nos cemitérios indígenas dos Sertões da Paraíba. *Clio (Série Arqueológica)*, v. 24, n. 2, 2009.
- SANTOS, J. C. B.; JÚNIOR, V. S. S.; CORRÊA, M. M.; RIBEIRO, M. R.; ALMEIDA, M. C.; BORGES, L. E. P. Caracterização de neossolos regolíticos da região semiárida do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. 36, n. 3, p. 683 – 985, 2012.
- SCHIFFER, M. B. Archaeological context and systemic context. *American Antiquity*, v. 37, p. 156-165, 1972.
- SCHIFFER, M. B. The structure of archaeological theory. *American Antiquity*, v. 53, n. 3, p. 461-465, 1988.
- SCHMITT, T. A.; SASS, D. A. Rotation criteria and hypothesis testing for exploratory factor analysis: Implications for factor pattern loadings and interfactor correlations. *Educational and Psychological Measurement*, v. 71, p. 95-113, 2011.
- SILLEN, A.; PARKINGTON, J. Diagenesis of bones from Eland's Bay Cave. *Journal of Archaeological Science*, v. 23, p. 535-542, 1996.
- SILVA, V. P. R.; PEREIRA, E. R. R.; AZEVEDO, P. V.; SOUSA, F. A. S.; SOUSA, I. F. Análise da pluviometria e dias chuvosos na região Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 15, n. 2, p. 131-138, 2011.
- SMITH, C. I.; CRAIG, O. E.; PRIGODICH, R. V.; NIELSEN-MARSH, C. M. JANS, M. M. E.; VERMEER, C.; COLLINS, M.J. Diagenesis and survival of osteocalcin in archaeological bone. *Journal of Archaeological Science*, v. 23, n. 1, p. 105-113, 2005.

- SMITH, C. I.; NIELSEN-MARSH, C. M.; JANS, M. M. E.; COLLINS, M. J. Bone diagenesis in the European Holocene I: patterns and mechanisms. *Journal of Archaeological Science*, v. 34, p. 1485-1493, 2007.
- SMRCKA, V.; EDRISS, A.; KORUNOVÁ, V.; DOBISÍKOVÁ, M.; ZOCOVÁ, J. Selenium in skeletal remains. *International Journal of Osteoarchaeology*, v. 21, p. 456-463, 2011.
- SPRAGUE, R. Burial terminology: a guide for researchers. AltaMira Press, 2005. 274p.
- SQUIRES, K. E.; THOMPSON, T. J. U.; ISLAM, M.; CHAMBERLAIN, A. The application of histomorphometry and Fourier Transform Infrared Spectroscopy to the analysis of early Anglo-Saxon burned bone. *Journal of Archaeological Science*, v. 38, p. 2399-2409, 2011.
- SUDENE. Dados pluviométricos mensais do Nordeste: Estado Rio Grande do Norte. Recife, 1990.
- STEWART, B. A. South Africa: stage one of a multivariate taphonomic analysis. *Azania: Archaeological Research in Africa*, v. 45, n. 3, p. 238-275, 2010.
- STRZELCZYK, A. B.; BANNACH, L.; KUROWSKA, A. Biodeterioration of archaeological leather. *International Biodegradation and Biodeterioration*, v. 39, p. 301-309, 1997.
- STUART, B. H. Infrared spectroscopy: fundamentals and applications. John Wiley & Sons, 2004. 224 p.
- TAYLOR, W. W. A study of archaeology. *American Anthropologist Memoir*, v. 69, 1948.
- THOMAS, D. B.; FORDYCE, R. E.; FREW, R. D.; GORDON, K. C. A rapid, non-destructive method of detecting diagenetic alteration in fossil bone using Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 38, p. 1533-1537, 2007.
- THOMPSON, T. J. U.; GAUTHIER, M.; ISLAM, M. The application of a new method of Fourier Transform Infrared Spectroscopy to the analysis of burned bone. *Journal of Archaeological Science*, v. 36, p. 910-914, 2009.
- THOMPSON, T. J. U.; ISLAM, M.; PIDURU, K.; MARCEL, A. An investigation into the internal and external variables acting on crystallinity index using Fourier Transform Infrared Spectroscopy on unaltered and burned bone. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v. 299, p. 168-174, 2011.
- THORWARTH, M.; SCHULTZE-MOSGAU, S.; WEHRHAN, F.; KESSLER, P.; SROUR, S.; WILTFANG, J.; SCHLEGEL, K. A. Bioactivation of an inorganic bone matrix by P-15 peptide for the promotion of early bone formation. *Biomaterials*, v. 26, p. 5648-5657, 2005.
- VAN NEST, J. The good earthworm: How natural processes preserve upland archaic archaeological sites of Western Illinois, USA. *Geoarchaeology: An international journal*, v. 17, n. 1, p. 53-90, 2002.
- VIDELA, H. A.; GUIAMET, P. S.; SARAVIA, S. G. Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p. 335-341, 2000.
- WARSCHEID, T.; BRAAMS, J. Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p. 343-368, 2000.

WATERS-RIST, A. L.; KATZENBERG, M. A. The effect of growth on stable nitrogen isotope ratios in subadult bone collagen. *International Journal of Osteoarchaeology*, v. 20, p. 172-191, 2010.

WEINER, S. *Microarchaeology: beyond the visible archaeological record*. Cambridge Press, 2010.

WEINER, S.; BAR-YOSEF, O. States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: A survey. *Journal of Archaeological Science*, v. 17, n. 2, p.187-196, 1990.

WEINER, S.; TRAUB, W. Bone structure: from angstroms to microns. *FASEB Journal*, v. 6, p. 879-885, 1992.

WEISS-KREJCI, E. The formation of mortuary deposits: implications for understanding mortuary behavior of past populations. Em: AGARWAL, S. C.; GLENCROSS, B. *Social Bioarchaeology*, p. 68-106, Blackwell studies in global archaeology, Wiley-Blackwell, 2011.

WHITE, T.; FOLKENS, P. A. *The human bone manual*. Elsevier-Academic Press, 2005. 464 p.

WRIGHT, L. E.; VALDÉS, J. A.; BURTON, J. H.; PRICE, T. D.; SCHWARCZ, H. P. The children of kaminaljuyu: Isotopic insight into diet and long distance interaction in Mesoamerica. *Journal of Anthropological Archaeology*, v. 29, p. 155-178, 2010.

XUE, W.; TAO, S.; LIU, X.; ZHENG, X.; DING, C. *In vivo* evaluation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings having different crystallinity. *Biomaterials*, v. 25, p. 415-421, 2004.

YEOMANS, J.C. & BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, v. 19, p. 1467-1476, 1988.

YONEDA, M. Review on the bone chemistry for prehistoric anthropology. *Anthropological Science (Japanese Series)*, v. 144, p. 5-15, 2006.

ZHANG, H.; DARVELL, B. W. Morphology and structural characteristics of hydroxyapatite whiskers: effect of the initial Ca concentration, Ca/P ratio and pH. *Acta Biomaterialia*, v. 7, n. 7, p. 2960-2968, 2011.

ZHANG, L.; TANG, P.; XU, M.; ZHANG, W.; CHAI, W.; WANG, Y. Effects of crystalline phase on the biological properties of collagen-hydroxyapatite composites. *Acta Biomaterialia*, v. 6, n. 6, p.2189-2199, 2010.