



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Tiago de Almeida Coutinho

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DAS CONDIÇÕES
DE DEPOSIÇÃO DE OSSOS E DENTES
HUMANOS NO SEU PERFIL
QUIMIOMÉTRICO

Dissertação no âmbito do Mestrado em Antropologia Forense orientada pelo Doutor David Miguel da Silveira Gonçalves e pela Professora Doutora Maria Teresa Ferreira apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia/Departamento de Ciências da Vida

Janeiro de 2020

Faculdade de Ciências e Tecnologia

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DAS CONDIÇÕES DE DEPOSIÇÃO DE OSSOS E DENTES HUMANOS NO SEU PERFIL QUIMIOMÉTRICO

Tiago de Almeida Coutinho

Dissertação no âmbito do Mestrado em Antropologia Forense orientada pelo Doutor David Miguel da Silveira Gonçalves e pela Professora Doutora Maria Teresa Ferreira apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia/Departamento de Ciências da Vida

Janeiro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Conteúdo

Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	xi
Resumo	xiii
Abstract	xv
Agradecimentos	xvii
Capítulo 1 – Introdução	1
1.1 O osso e o dente	2
1.2. Antropologia e Tafonomia Forense	4
1.2.1 Ambientes de deposição	6
1.3. O caso particular dos ossos queimados	9
1.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier	13
1.5 Índice de Cristalinidade	16
1.6 Objetivos	18
Capítulo 2 – Material e métodos	19
2.1. Materiais	20
2.2. Métodos	20
Capítulo 3 – Resultados	25
3.1 Ar livre	27
3.2 Enterramento	31
3.3 Poço	35
3.4 Congelamento	39
3.5 Betão	43
Capítulo 4 - Discussão	49
Capítulo 5 – Conclusão	53
Capítulo 6 – Bibliografia	57

Capítulo 7 – Apêndices	69
Apêndice 1 - Amostras nos ambientes	71
Apêndice 2 - Fichas de Registo	77
Apêndice 3 - Figuras complementares	81
Apêndice 4 - Tabelas de valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos aos ambientes durante três meses	89

Índice de Figuras

- 12** **Figura 1:** Exemplificação das alterações termicamente induzidas por vários patamares de temperatura durante a queima. Fonte: Mamede, 2017
- 30** **Figura 2:** Médias obtidas em cada patamar térmico, no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ar livre. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs diminuição).
- 34** **Figura 3:** Médias obtidas em cada patamar térmico, no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos inumados. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs diminuição).
- 38** **Figura 4:** Médias obtidas em cada patamar térmico, no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao poço. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs diminuição).
- 42** **Figura 5:** Médias obtidas em cada patamar térmico, no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao congelamento. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs diminuição).
- 46** **Figura 6:** Médias obtidas em cada patamar térmico, no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao betão. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs diminuição).
- 71** **Figura 7:** Ambiente deposicional referente ao ar livre
- 72** **Figura 8:** Ambiente deposicional referente ao enterramento
- 73** **Figura 9:** Ambiente deposicional referente ao poço
- 74** **Figura 10:** Ambiente deposicional referente ao congelamento
- 75** **Figura 11:** Ambiente deposicional referente ao betão
- 77** **Figura 12:** Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_45
- 78** **Figura 13:** Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_53
- 79** **Figura 14:** Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_57

- 80** **Figura 15:** Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_62
- 83** **Figura 16:** Sistema de identificação de amostras
- 84** **Figura 17:** Disposição de um grupo de ossos e dentes no forno
- 85** **Figura 18:** Capela de exaustão usada para ventilação durante a realização das secções
- 86** **Figura 19:** Espectro obtido através do software OPUS
- 87** **Figura 20:** Equipamento FTIR-ATR
- 88** **Figura 21:** Gráfico comparativo entre osso queimado e não queimado e as zonas impactantes de iões e moléculas

Índice de Tabelas

- 24 Tabela 1:** Índices Quimiométricos usados divididos por patamar de temperatura
- 26 Tabela 2:** Estimativa do sexo e da idade à morte para os indivíduos da CC_NI
- 29 Tabela 3:** Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao ar livre durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs). Itálico: valores outliers. *Cálculo não incluiu *outliers*
- 33 Tabela 4:** Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos inumados durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs)
- 37 Tabela 5:** Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos no poço durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs)
- 41 Tabela 6:** Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos em congelamento durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs)
- 45 Tabela 7:** Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos em betão durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs)
- 47 Tabela 8:** Média de alterações com base em cada índice estudado por ambiente
- 91 Tabela 9:** Diferença absoluta dos índices entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao ar livre durante três meses
- 92 Tabela 10:** Diferença absoluta dos índices entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos inumados durante três meses
- 93 Tabela 11:** Diferença absoluta dos índices entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao poço durante três meses

94 Tabela 12: Diferença absoluta dos índices entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao congelamento livre durante três meses

95 Tabela 13: Diferença absoluta dos índices entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao betão livre durante três meses

Lista de Abreviaturas

β-TCP	Beta-Fosfato Tricálcico
APB	Razão que quantifica a quantidade relativa de carbonatos do tipo B em apatite
BPI	Razão que quantifica a quantidade relativa de carbonatos do tipo A em apatite
ATR	Attenuated Total Reflectance; Reflexão Total Atenuada
C/C	Razão de carbonato A para carbonato B
CC_NI	Coleção de Esqueletos Não-Identificados do Cemitério dos Capuchos
COROA	Coleção Forense de Odontologia
IC	Índice de cristalinidade
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
INS	Inelastic Neutron Scattering; Difusão Inelástica de Neutrões
KBr	Brometo de potássio
OH/P	Razão de hidroxilo para fosfato
PMI	Intervalo <i>post mortem</i>
XRD	X-Ray Diffraction; Difração por Raio-X

Resumo

O estudo dos restos mortais humanos queimados é de considerável importância tanto em contextos arqueológicos como forenses, sendo frequentemente recuperados como resultado quer de práticas funerárias baseadas na cremação ou em consequência de desastres naturais, acidentes ou crimes. Neste último caso, o fogo é um método comum para tentar esconder a evidência da atividade criminal e a identidade da vítima. Assim, os antropólogos forenses são frequentemente confrontados com a necessidade de interpretar o osso queimado. De facto, o efeito de altas temperaturas no corpo humano pode confundir e complicar drasticamente o exame antropológico. A análise de restos queimados é um processo altamente complexo, que passa não apenas pela análise morfométrica tradicional dos ossos como também se pode socorrer de outras técnicas, tais como a espectroscopia de infravermelho em modo de reflectância total atenuada (FTIR-ATR). O objetivo desta dissertação é identificar o impacto de distintos processos tafonómicos nos ossos e dentes em diversos ambientes. Com estes ambientes tenta-se replicar casos onde restos humanos são recorrentemente encontrados, documentando também as respetivas diferenças entre eles ao nível dos seus respetivos perfis quimiométricos. Desta forma, espera-se uma visão mais completa do contexto deposicional, observando que características de individualização levam a registos de componentes diferentes nas análises mesmo sendo um “material” semelhante. Para este projeto foram recolhidas 60 secções provenientes de 12 ossos de quatro indivíduos da Coleção de Esqueletos Não-Identificados do Cemitério dos Capuchos e 15 dentes da COROA - Coleção Forense de Odontologia, perfazendo um total de 75 componentes, posteriormente separados em três patamares distintos de temperatura, os não-queimados, queimados a 500°C e queimados a 900°C. As aquisições de dados foram feitas antes e após a exposição aos diversos ambientes, registando assim as alterações ocorridas nos perfis, através de espectroscopia vibracional, neste caso, FTIR-ATR. A importância de uma análise holística a contextos forenses pode ser observada através dos resultados obtidos nesta investigação. Os resultados refletem o impacto que os vários ambientes deposicionais tiveram nos ossos apesar de já não serem frescos. Esses impactos advêm dos processos diagenéticos de que foram alvo as amostras, mesmo em deposições de curta duração. Estes processos foram principalmente observados nas amostras que interagiram com o betão, tendo esse impacto sido transversal à maioria dos índices estudados nesse ambiente. Os carbonatos serviram de referência aos índices mais afetados, mas isso deveu-se provavelmente à contaminação de carbonatos exógenos. Por outro lado, os índices com menos alterações e, portanto,

mais consistentes, foram o IC seguido do C/C e do OH/P. As amostras queimadas a 900°C foram aquelas onde se registou o maior número de alterações, contudo foi nos não-queimados que estas se registaram com mais intensidade.

Palavras chave: Tafonomia; Diagénese; Ossos e dentes humanos queimados; Análises químicas, FTIR-ATR.

Abstract

Investigating burnt human remains is of tremendous value both in archaeological and forensic contexts and, frequently, the remains are recovered as result of funerary practices based on cremations, natural disasters, accidents or crimes. Regarding this last case, fire is a common method to try and to conceal evidence of criminal activity and the victim's identity. Forensic anthropologists are frequently challenged with the necessity to decipher burned bones. In fact, the effect that high temperatures have on the human body can mislead and muddle drastically the forensic exam. The analysis of burnt remains is a highly complex process, which involves not only the traditional morphometric analysis of bones, but also other techniques such as infrared attenuated total reflectance spectroscopy (FTIR-ATR). The aim of this dissertation is to identify the impact of different taphonomic processes on bones and teeth in different environments. These environments try to replicate cases where human remains are regularly found, also documenting the respective differences between them in terms of their respective chemometric profiles. Therefore, a more complete view of the depositional context is expected, noting that features of individualization lead to records of different components in the analysis even though they are of a similar "material". For this project, 60 sections were collected from 12 bones of four individuals from the Unidentified Skeletons Collection of Capuchos Cemetery and 15 teeth from the Identified Modern Dental Collection, making a total of 75 components, subsequently separated into three distinct temperature groups, the unburned, burned at 500°C, and burned at 900°C. Data acquisition was done before and after exposure to the environments, thus recording the changes in the profiles, through vibrational spectroscopy, in this case, FTIR-ATR. The importance of a holistic analysis of forensic contexts can be observed through the results obtained in this research. The results recorded the impact that the various depositional environments had on the bones themselves despite they were no longer fresh. These impacts come from the diagenetic processes that our samples were subjected to, even in short-term deposition. These processes were mainly observed in the samples that interacted with concrete, and this impact was transversal to most of the indexes studied in that environment. The carbonates served as reference to the most affected indexes, but this was probably due to the contamination of exogenous carbonates. On the other hand, the indexes with less changes and therefore more consistent, were the CI followed by the C/C and the OH/P. The samples burnt at 900°C were those with the greatest number of changes, but the unburnt were the ones where the changes were the most intense.

Keywords: Taphonomy; Diagenesis; Burned human bones and teeth; Chemical analysis; FTIR-ATR.

Agradecimentos

Queria em primeiro lugar deixar um grande agradecimento aos meus pais, António e Deolinda, por terem sido sempre compreensivos, terem uma paciência de santo comigo e acima de tudo, pelo apoio nas escolhas que fiz mesmo não tendo sempre concordado com elas. A ajuda deles durante o meu percurso académico foi infatigável e valiosa. Usufruo também do final deste parágrafo para deixar um obrigado ao meu gatinho que foi uma bela companhia e distração nos meses stressantes de pesquisa e escrita desta dissertação.

Queria deixar um enorme obrigado à minha namorada, Mariana Rodrigues por toda a ajuda, força, conselhos, e boa disposição, foi uma fonte incansável de alegria e incentivo quando as minhas reservas já estavam no fim. Agradeço também pelas viagens que serviram para “limpar” a cabeça. Foi muito valioso todo o tempo e energia que ela gastou para me ajudar a organizar as ideias. Sem ela, a realização desta dissertação não teria sido de todo possível. Mais uma vez, muito obrigado Mimi. Aproveito também este parágrafo para agradecer aos pais dela por todo o apoio, por mais pequeno que possa ter parecido, e também à restante família da Mariana, sem esquecer os gatinhos dela, o Kinder e a Cookie, que na ausência da Mariana, nunca me deixaram distrair.

Queria agradecer a força emocional que a minha restante família me deu, mesmo não compreendendo nada do que eu estive a fazer este tempo todo, sempre me desejaram boa sorte e me ajudaram, cada um à sua maneira, quando eu precisei. Em especial aos meus primos Afonso e Filipe, que me distraíram mais do que ajudaram, mas eu gosto deles na mesma.

Queria deixar também um agradecimento ao meu orientador, David Gonçalves, pela ajuda, esclarecimento de dúvidas e partilha de conhecimento. Também gostava de deixar um muito obrigado à professora Teresa Ferreira, por toda a ajuda prestada ao longo deste tempo, por toda a amizade, e por aturar todas as minhas reclamações sempre com boa disposição. Também um obrigado ao professor Luís Carvalho e a todas as pessoas da Unidade de I&D “Química-Física Molecular” – Universidade de Coimbra (QFM-UC), pela paciência para responder às minhas dúvidas, e ajuda nas questões mais técnicas.

Um muito obrigado também aos meus amigos e colegas do mestrado, por me darem força nos piores momentos e pela partilha de histórias, foi bom saber que toda a gente

tem problemas e estávamos todos no mesmo barco. Um especial obrigado ao Calil Makhoul por todos os conselhos e ajuda prestada, especialmente na componente prática do meu trabalho, e também à Adriana Mamede com as explicações de última hora que foram uma grande ajuda.

Por fim gostava de agradecer aos professores e funcionários do DCV, bem como à Universidade de Coimbra, sem toda a infraestrutura de apoio a acompanhar o meu percurso académico não teria conseguido realizar esta dissertação.

Capítulo 1 – Introdução

1.1 O osso e o dente

White e colaboradores (2012), referem o osso como um dos materiais mais resistentes que se encontram no corpo humano. As análises realizadas em ossos humanos podem tornar-se numa tarefa difícil se tivermos em consideração a sua complexidade (Thompson et al., 2013). Ao nível da composição, o osso é constituído por 20% de matéria orgânica, ou 30% se incluirmos a água. Os restantes 60-70% fazem parte da porção inorgânica, porém estes valores podem variar, dependendo de alguns fatores como estado de conservação do osso, se é recente ou não (Reiche et al., 2002; White et al., 2012). Ao dissecar a vertente orgânica, verifica-se que esta é formada por lípidos e proteínas, sendo o constituinte de maior representatividade o colagénio, que perfaz uma percentagem de 90% do conteúdo orgânico, consequentemente conferindo características elásticas ao osso (Reiche et al., 2002; White et al., 2012). Já a parte inorgânica, é maioritariamente formada por uma matriz constituída por cristais de hidroxiapatite, uma forma de fosfato de cálcio, que atribui ao osso propriedades de dureza, rigidez e estabilidade (Klinken, 1999; Peters et al., 2000; Hedges, 2002; Wang et al., 2010; White et al., 2012). Numa visão superficial, o osso é delimitado por estratos distintos (perióstio, e endóstio) e diferentes categorias de osso (compacto e esponjoso), que se definem por diferenças na sua organização estrutural (White et al., 2012; Thompson et al., 2013). Microscopicamente a fase mineral compreende 60 a 70% do peso ósseo, que se pode referir como uma forma não estequiométrica e pouco cristalina de hidroxiapatite (Etok et al., 2007; Wang et al., 2010). Ao falar sobre a plasticidade do osso é requerido que se abordem as suas propriedades biomecânicas (Wescott, 2019). O osso fresco saudável possui uma grande elasticidade e plasticidade, que o leva a conseguir oferecer resistência a altas quantidades de tensão e deformação antes de falhar (Wheatley, 2008).

Os dentes são, como os ossos, um dos componentes do corpo humano com maior grau de resistência, contudo, diferem destes por serem com elevada frequência os elementos que apresentam maior nível de durabilidade e conservação quando sujeitos a condições hostis (Gocha e Schutkowski, 2013; Gouveia et al., 2017; Oliveira-Santos et al., 2017). O dente, dotado de uma constituição maioritariamente inorgânica, torna-se numa peça basilar que permite aos investigadores melhorar a sua compreensão do contexto e condições em que são encontrados os corpos, especialmente em cenários extremos, como no exemplo de casos de restos humanos queimados (Oliveira-Santos, 2015; Gouveia et al., 2016). Os dentes têm a sua composição composta maioritariamente por três elementos: o esmalte, a dentina e o cimento (Scott, 2000). O esmalte, envolve a dentina e é o tecido mais duro da coroa,

composto maioritariamente por matéria inorgânica, a apatite cristalina (95 – 96%), mas também por matriz orgânica (<1%) e água (Schmidt, 2008). Por seu lado, a dentina é dividida em componentes inorgânicos (75%), orgânicos (20%) e água (Ten Cate, 1996; Fairgrieve, 2008). O último integrante do trio, o cimento, é conhecido por crescer em bandas concêntricas que cobrem a dentina na zona da raiz, e por ser um tecido conjuntivo mineralizado (Solheim, 1990). Apesar do acima descrito alto grau de resistência dos dentes, a composição e estado de conservação dos dentes podem ser afetados de vários modos, entre eles, o aumento da temperatura pode levar a que haja uma eliminação de grande parte da matéria orgânica presente (Silva, 2007; Gonçalves, 2012), alterando também as suas estruturas (Grupe e Hummel, 1991). A presença de contaminantes é outro fator importante que afeta a composição (Gocha e Schutkowski, 2013; Sandholzer et al., 2014). É, por isso, importante conhecer detalhadamente todo o tipo de alterações externas ou internas a que os dentes são sujeitos, e que podem afetar exames (Gouveia et al., 2016).

As proporções de constituintes ósseos podem oscilar em cada indivíduo devido a vários fatores: (a) dieta, (b) metabolismo, (c) patologias, (d) idade à morte, (e) período *post mortem*, entre outros (Bacon, 1990). Estes fatores podem afetar a composição óssea, ultimamente influenciando a quantificação e qualidade das análises que se possam vir a fazer a componentes ósseos (McCreadie e Goldstein, 2000; Thompson et al., 2013). O termo qualidade é muito abrangente, podendo incluir uma infinidade de fatores como genética, geometria e distribuição de massa óssea, microarquitetura óssea trabecular, danos microscópicos no tecido, aumento da atividade de remodelação, fatores ambientais que causem alterações no mineral ósseo, ou propriedades do tecido (McCreadie e Goldstein, 2000). O ambiente em que os restos humanos se encontram depositados influencia o estado de conservação dos mesmos, mais concretamente no caso das inumações, observou-se que a qualidade de conservação é melhor em ambiente anaeróbios, solos com pH neutro ou ligeiramente alcalino, e, por outro lado, pior em ambientes aeróbios ou condições ácidas (Dent et al., 2004). Tendo em conta que o mineral ósseo é um biomaterial complexo e heterogêneo, é importante fazer uso de uma abordagem holística para refletir acerca das suas propriedades físicas e químicas, para que investigadores e outros profissionais, adquiram um nível maior de compreensão e conhecimento que se exige ao explorá-lo. (Thompson et al., 2013).

1.2. Antropologia e Tafonomia Forense

Zhou e Byard (2011) mencionam que a estrutura e composição do corpo humano sofrem diversas transformações após a morte, através dos vários processos bioquímicos de decomposição, que podem levar à sua completa esqueletização (Keough et al., 2017). A interação do meio ambiente com um corpo leva a que os tecidos como a pele, ou músculos e órgãos internos, sejam os componentes que normalmente desaparecerem ou ficam perdidos para o meio ambiente muito antes de haver uma desarticulação do esqueleto (Dent et al., 2004). Dent e colaboradores (2004) referem também que, a perda desses tecidos para o ambiente expõem o osso, levando-o a passar por diversas alterações que advêm de vários processos como descalcificações, quebras físicas, ou dissoluções devido ao solo ácido ou até a água, que em última instância o danifica. No que toca à decomposição de qualquer corpo, seja humano ou de uma outra espécie, muitas são as variáveis que podem interferir tanto no sentido de acelerar ou retardar e até mesmo congelar no tempo este processo. O nível celular é o primeiro a dar início aos processos de decomposição, por isso, não é visível a olho nu, contudo, com o decorrer do tempo, as transformações desenvolvem-se lentamente e crescem até se tornarem macroscópicas, atingindo o estágio de alterações *post mortem* (Hau et al., 2014).

As características de um cadáver e o contexto em que permanece até ser encontrado, afetam o “timing” de ocorrência dos processos químicos e dos seus produtos aquando da decomposição (Ioan et al., 2017). Mais concretamente estas características são primariamente afetadas por variados fatores: natureza do local; aspetos físicos do processo de inumação; biologia dos restos cadavéricos; flora e fauna do solo nativo; clima; infiltração dos gases de decomposição e/ou atmosféricos; absorção das águas subterrâneas; e, por fim, pelo tempo (Dent et al., 2004). Consequentemente, os fatores acima descritos podem fazer com que os ossos apresentem sinais de erosão, branqueamento, exfoliação, fissuras no osso cortical com subsequente exposição do osso trabecular, invasão por parte de raízes e perda de matérias orgânica e inorgânica (Vass, 2001). Todos os fatores anteriores podem ser ligados ao termo diagénesese, sendo estes todos os sistemas em ação decorridos no período pós-morte, que são desencadeados por alterações físicas e químicas, instigando consequentemente modificações na estrutura molecular, mais rigorosamente na recristalização dos minerais ósseos associados à perda de colagénio (Marques et al., 2018). Os mesmos investigadores referem ainda que as alterações ocorridas nestes sistemas, passam por um incremento no tamanho habitual

dos cristais de hidroxiapatite, diminuição da concentração de carbonatos e uma captação de íons do meio ambiente (por exemplo, fluoreto).

A identificação e análise de corpos em avançado estado de decomposição, incompletos ou mal preservados é uma tarefa difícil, o que naturalmente influencia a realização das análises forenses, realçando a importância de uma abordagem holística (Delabarde et al., 2013). A análise efetuada em restos esqueléticos humanos tem habitualmente o objetivo de alcançar uma identificação positiva do indivíduo e a obtenção de informações acerca das circunstâncias da sua morte (Thompson, 2004; Thompson, 2005). Uma característica essencial ao processo da análise antropológica passa por examinar restos humanos, tendo sempre em mente os processos tafonómicos (Sorg, 2019). Numa cena de crime, um antropólogo forense pode ser consultado para auxiliar a investigação, na tentativa de estimar quanto tempo se passou desde que um indivíduo faleceu, ou seja, estimar o intervalo *post mortem* (PMI) (Suckling et al., 2016). Ao analisar a condição dos restos ósseos no contexto ambiental, e aplicando a ciência dos processos *post mortem*, o investigador pode também tentar identificar lesões padrão ao mesmo tempo que exclui agentes de modificação *post mortem* (Sorg, 2019). Wescott e colaboradores (2019), mencionam ainda que isto é sobretudo importante durante investigações forenses, arqueológicas e paleontológicas, quando investigadores são chamados a dar auxílio na estimativa do momento do trauma ou degradação óssea. Os estudos de tafonomia humana, requerem locais com circunstâncias particulares, arranjadas especialmente de modo a reproduzir com a maior precisão possível, as diferentes condições nas quais a decomposição dos corpos humanos pode ocorrer (Ioan et al., 2017).

Dirkmaat e Cabo (2016) referem várias questões pertinentes no caso do aparecimento de um cadáver que ajudam posteriormente na sua identificação: Quem é o indivíduo? Como é que chegou aqui? Há quanto tempo está aqui? Quais são as especificidades dos eventos que envolvem a morte (em particular, o papel que terceiros podem ter desempenhado na morte da vítima, ou como foi depositado/a naquele local)? As cenas podem ter um raio de apenas alguns metros, para a concentração central de restos e provas, podendo mais tarde ser estendidas para uma área mais difusa que se alonga por dezenas de metros, na esperança de recuperar restos dispersos ou artefactos pertinentes ao caso (Pokines, 2015). A principal diferença entre cenas interiores e exteriores, é que a evidência numa cena exterior, tem um maior potencial de ser perturbada/modificada por mais agentes e processos que não são normalmente encontrados em cenas interiores, como plantas, animais,

insetos, ambiente, água, e toda uma gama de fatores ambientais, climáticos e bióticos (Dirkmaat e Cabo, 2016). Contudo, os mesmos autores indicam que estes fatores podem levar a um aumento da complexidade da cena do crime, pois pode ter ocorrido (tentativa de) destruição de evidências ou que a quantidade de informação recuperada ou disponível a ser recuperada tenha diminuído.

1.2.1 Ambientes de deposição

Olsen e Leth (2018) referem que existe um uso regular de vários métodos de ocultação de cadáveres ou pistas, com vista a retardar ou impossibilitar as suas descobertas, usados por indivíduos que tentam remover suspeitas sobre si mesmos em atos ilícitos, como o seu envolvimento em homicídios. Na tentativa de eliminação de cadáveres em casos de homicídio, por exemplo, através de desmembramento ou evisceração, existe um aumento da complexidade na análise ao contexto do crime porque regularmente tornam o seu local primário desconhecido e complicam o exame dos vestígios (Preuss et al., 2006). Uma área arborizada é regularmente a escolha principal para a deposição de corpos, pensa-se que devido à cobertura que oferece e ao escasso trânsito de pessoas (Pokines, 2015). As tentativas mais extremistas de esconder ou eliminar cadáveres são a dissolução em produtos químicos, o seu uso na alimentação de animais, canibalismo, selagem com cimento e/ou tijolos (Preuss et al., 2006) e também a queima do corpo como já vimos em vários casos mencionados anteriormente.

Campobasso e colaboradores (2001) observaram que em condições normais, cadáveres inumados decompõem-se mais lentamente do que aqueles encontrados em deposição à superfície do solo. Outros fatores a considerar nos casos em que existe inumação, são o tipo e a profundidade da sepultura (Prangnell e McGowan, 2009). Os autores anteriores, apontam também para o fato de que a temperatura da sepultura é, regra geral, mais baixa, e sobretudo menos variável, comparativamente à temperatura ambiente, levando a uma decomposição mais lenta de um cadáver inumado. Dent e colaboradores (2004) apreciam o solo, referindo a matéria orgânica presente, inúmeros organismos microscópicos ou macroscópicos, e soluções orgânicas, bem como a presença de minerais, que aumentam a complexidade deste ambiente, influenciando por fim o contexto de uma eventual cena de crime. Por outro lado, na superfície, existem outros fatores que impedem que restos humanos se mantenham intactos como a presença de animais carnívoros ou necrófagos, que são capazes de danificar o material ósseo através de marcas de dentes, esmagamento ou

fragmentação de extremidades ósseas, podendo mesmo chegar a causar uma possível desarticulação e conseqüente ausência das peças ósseas, dispersando os restos humanos, o que por fim, dificulta ou impossibilita a sua recuperação (Moraitis e Spiliopoulou, 2010). Os mesmos autores refletem ainda sobre a pobre formação acerca do esqueleto humano fornecido a investigadores da polícia que influencia as técnicas e eficácia de recuperação.

Existe evidência de casos de corpos escondidos em arcas congeladoras, um método talvez conveniente para os agressores, uma vez que estas ou as arcas frigoríficas são utensílios frequentemente disponíveis, tendo ainda como vantagem a eliminação de risco de deteção através do cheiro (Olsen e Leth, 2018). Os restos humanos ou os seus componentes podem estar sujeitos a períodos de congelamento e descongelamento (Stokes et al., 2009), seja por influências naturais ou por ação de terceiros (Schäfer e Kaufmann, 1999). Porém, esconder um corpo num congelador pode ter um efeito adverso ao considerado pelos agentes criminosos, pois a preservação dos restos mortais num congelador é vantajoso para uma investigação, uma vez que ajuda a conservar o corpo durante muito mais tempo (Olsen e Leth, 2018). Ainda se encontram poucos estudos que disponibilizem informações acerca do efeito do congelamento na decomposição após o descongelamento, nomeadamente se há alterações ao nível da microestrutura óssea (Tersigni, 2007; Stokes et al., 2009). Algumas das alterações que a literatura nos providencia são apresentadas por Olsen e Leth (2018) quando mencionam que a decomposição é afetada pelo congelamento devido à diminuição da atividade dos organismos causada pelo frio bem como do contraste da decomposição anaeróbia, que ocorre em menor grau em corpos congelados do que em corpos frescos. É, portanto, do maior interesse ao exame forense, saber se determinados tecidos foram congelados antes de serem encontrados ou não (Schäfer e Kaufmann, 1999), isto é, se houve uma remoção e transporte do corpo do seu local original. Por exemplo, na ocorrência de um crime, há uma tentativa de esconder as evidências congelando o corpo nesse mesmo local, podendo mais tarde haver ou não um eventual transporte para outro local onde descongelou e se decompôs (Tersigni, 2007). O estudo micromorfológico realizado por Schäfer e Kaufmann (1999) menciona uma mudança nos tecidos, por efeitos osmóticos e não devido à formação de cristais de gelo como se pensava anteriormente. A formação destes cristais devido ao congelamento resulta numa expansão do líquido presente no corpo sujeitando os vasos a um incremento no diâmetro (Tersigni, 2007). O desenvolvimento de um método que permita fazer um contraste diferenciador entre os tecidos que foram congelados e aqueles que nunca o

foram, poderia portanto, ser útil para investigações, se fosse até possível fazer uma estimativa acerca da duração de congelamento (Schäfer e Kaufmann, 1999).

Em termos de preservação e dispersão de restos humanos, a água é um meio muito desafiante de investigar (Heaton et al., 2010). Apesar do vasto número de casos forenses relacionados com o meio aquático, conhecidos e falados até na comunicação social, como o caso da Ponte Entre-Os-Rios em 2001, o conhecimento produzido sobre os processos de decomposição humana sob o efeito da água ainda é insuficiente, devido à grande variabilidade presente neste meio que influencia a decomposição (Delabarde et al., 2013). Tanto Heaton e colegas (2010) como Dumser e Türkay (2008) mencionam que os ambientes aquáticos influenciam os ossos principalmente devido ao tempo de exposição e temperatura, além de outras variáveis como profundidade da água, correntes, marés, estação do ano, oxigênio dissolvido, detritos, tipo de substrato, salinidade, acidez, floras bacterianas, a composição faunística específica das comunidades como necrófagos e interações entre processos químicos e físicos. Um aprofundado conhecimento oceanográfico é uma mais valia para facilitar a interpretação de evidências (Dumser e Türkay, 2008). O meio ambiente causa uma influência ainda mais poderosa quando o cadáver permanece escondido, seja debaixo de água ou mesmo no subsolo, aumentando o tempo que demora a ser encontrado e recuperado (Ishikawa et al., 2019). Singh e colaboradores (2013) refletem acerca do afogamento *ante mortem* e da sua importância devido às diferentes implicações sobre o estado do indivíduo, tendo ou não vida, enquanto entrava na água. Estudos mais inovadores centram-se nas diatomáceas, algas microscópicas unicelulares, que podem habitar tanto ambientes de água doce como salgada. Não existe ocorrência natural de diatomáceas no corpo humano, ou seja, a realização do "teste de diatomáceas" e o seu resultado, no caso de ser positivo, pode ser um importante auxílio para a investigação de casos de afogamento quando analisado em relação à estação e ao mês do afogamento. (Singh et al., 2013).

Na literatura, existem poucos relatos de casos de homicídios referenciando cadáveres ocultados em betão (Preuss et al., 2006). Porém este método é tipicamente usado pela mafia, nomeadamente a italiana, onde os corpos são escondidos em locais isolados ou inacessíveis, como em edifícios em construção, nos seus pilares, paredes ou muros, e até mergulhando os corpos em cimento ainda na sua forma líquida (Mondello et al., 2019).

1.3. O caso particular dos ossos queimados

O fogo é um instrumento comumente usado na tentativa de ocultar a evidência da atividade criminal (Piga et al., 2016). Várias disciplinas científicas dependem da análise dos restos esqueléticos queimados (Shipman et al., 1984), especialmente em antropologia forense, investigações de cenas de crime e até na arqueologia (Silva, 2007; Sandholzer et al., 2014). Esses restos esqueléticos são submetidos a temperaturas elevadas não apenas em atividades ilícitas, mas também em cremações, acidentes de aeronaves, ou incêndios florestais. Dependendo das circunstâncias, há uma grande variação das temperaturas de exposição, por exemplo, uma fogueira média, alcança temperaturas de cerca de 400°C; uma casa em chamas pode atingir 700°C; casas de cremação comerciais operam na ordem os 900°C a 1000°C; um veículo motorizado pode alcançar facilmente os 1100°C, especialmente se a gasolina ou outros acelerantes estiverem envolvidos; e desastres naturais podem rondar temperaturas até 2000°C (Shipman et al., 1984; Symes et al., 2008). Para se obter uma interpretação correta dos restos mortais, e uma reconstrução mais semelhante à realidade dos incidentes que levam à sua queima, é necessário conseguir uma estimativa da temperatura máxima de exposição (Ellingham et al., 2015; Marques et al., 2018). A temperatura elevada, como é defendido por Piga e colegas (2009) causa uma série de alterações nos tecidos, nomeadamente nos tecidos duros, mas em contrapartida providencia informações importantes sobre as circunstâncias da morte e da intensidade da combustão, que são pontos da maior importância na análise aos restos queimados.

Os ossos queimados apresentam características macroscópicas de calibre diferenciador, que permitem mesmo a um observador sem treino específico distingui-los dos demais, como a mudança de cor ou os padrões de fratura, contudo, estas características têm de ser analisadas de forma prudente pois poderão estar associadas a outros processos tafonómicos que simulam o mesmo resultado final (Thompson et al., 2009). Tendo estes fatores em conta, segundo Thompson (2004), a escala mais fiável para estudar as alterações induzidas pelo aumento de temperatura é a microscópica. Nesta escala, conseguimos examinar mais pormenorizadamente a microestrutura do tecido ósseo, como a organização de cristais, que sofre modificações significativas com o incremento da temperatura, sendo que a magnitude dessas modificações depende de vários fatores já referidos anteriormente, como duração e temperatura da queima, bem como a composição inicial dos restos (Thompson et al., 2009). O aumento de temperatura infligida diretamente no osso, pode interferir com a análise do método osteométrico disponível, e portanto, com a sua

confiabilidade através do desencadeamento de determinadas alterações, sendo que, estas tornam a hidroxiapatite mais suscetível a trocas, que podem por sua vez e de maneira considerável, causar várias alterações no tecido (Cascant et al., 2017; Gonçalves et al., 2018; Vassalo et al., 2019). Todas estas particularidades têm capacidade de interferir, e causar um elevado grau de incerteza na aquisição de informações precisas resultantes da análise a elementos esqueléticos (Vassalo et al., 2016; Marques et al., 2018).

Thompson e colegas (2013) mencionam a problemática que advém da realização do exame a uma peça óssea afetada pelo fogo, que engloba modificações a várias escalas, tornando-se num dos materiais osteológicos mais desafiantes de analisar, compreender e interpretar. As alterações induzidas pelo aumento de temperatura podem ser divididas em dois níveis distintos: as de nível primário, compostas por exemplo, pela reorganização da fração inorgânica; e as alterações de nível secundário constituídas por exemplo por mudanças de cor (Thompson, 2004). Normalmente, o material ósseo queimado classifica-se em carbonizado – osso de aparência negra devido à carbonização do material esquelético e tecidos moles; e calcinado – osso com aparência branca, tão alterado termicamente que toda a humidade e material orgânico desaparece deixando o osso distorcido, fraturado, e deformado (Symes et al., 2008). Snoeck e colaboradores (2014), também referem que o tempo e a temperatura têm um impacto importante sobre ossos queimados, nomeadamente para determinar o grau de calcinação, ressaltando que, uma vez totalmente calcinados, a composição final e a estrutura óssea são influenciadas apenas pela temperatura. O perfil biológico de um indivíduo vai ser sempre um fator influenciador na eficácia do processo de cremação, assim como a condição de pré-cremação dos restos mortais (Gonçalves et al., 2015). Ossos “diagnósticos” normalmente usados no exame antropológico para a estimativa do perfil biológico, sendo exemplo os ossos da pélvis, sofrem alterações induzidas pelo calor como deformação ou fragmentação que, frequentemente, impedem a sua utilização (Gouveia et al. 2017). Nestes casos, temos de recorrer a outros materiais como os dentes. Os dentes oferecem grande resistência às alterações causadas por processos físicos ou químicos, e, sendo assim, são dos materiais mais importantes e essenciais em qualquer análise bioantropológica (Savio et al., 2006). Assim sendo, a investigação e desenvolvimento de técnicas que potenciem a estimativa de parâmetros para o perfil biológico através de restos queimados é evidentemente indispensável.

Voltando mais uma vez à escala microscópica, há duas características principais influenciadas pelo aquecimento que valem a pena explorar: mudanças na composição e alterações na estrutura cristalina do osso (Piga et al., 2016). As mudanças na composição são facilmente notadas, porque os elementos orgânicos, tais como o colagénio ou proteínas, são degradados e eventualmente eliminados pela exposição a elevadas temperaturas, conservando-se apenas a estrutura inorgânica como foi observado por Thompson (2011) e como se pode ver no Apêndice 3 – Figura 21. Quanto às alterações na estrutura cristalina do osso, Grupe e Hummel (1991) indicam que na presença de temperaturas superiores a 800°C, a estrutura da hidroxiapatite é alterada, o que pode acarretar alterações na ordem dos 30% na sua dimensão, por efeito da recristalização e fusão dos cristais. Person e colegas (1996) descobriram um fenómeno devido à natureza heterogénea do osso, denominado "efeito de blindagem térmica" advindo da matriz orgânica. Os mesmos autores indicam ainda que este efeito está correlacionado com a alteração tardia da fase mineral durante o aquecimento, logo, só quando a “blindagem” é perdida por volta dos 500°C é que as superfícies minerais ficam totalmente expostas ao processo de aquecimento.

Podemos, em maior detalhe, observar algumas fases relacionadas com o aumento de temperatura experienciadas pelo material ósseo, também observadas na figura 1 (Etok et al., 2007; Gonçalves et al., 2015; Thompson 2004, 2013):

- Desidratação (ruptura das ligações de hidroxilo, perda de água entre os 100°C e os 600°C, sendo a maioria perdida até aos 250°C);
- Decomposição (perda de cerca de 50% dos componentes orgânicos como lípidos e proteínas por pirólise entre 300°C e 800°C, observa-se também um aumento da dimensão dos cristais);
- Inversão (alteração da fase orgânica, onde se perde carbonatos e a restante matéria orgânica 500°C - 1100°C, os cristais voltam a aumentar o seu tamanho e grossura);

- Fusão/coalescência ou união da estrutura cristalina depois dos 700°C, que leva a uma redução do espaço intercrystalino, seguido de um aumento do tamanho dos cristais. Acima dos 900°C ou 1000°C forma-se por vezes, fosfato de β -tricálcio (β -TCP), devido à degradação térmica parcial da apatite que pode causar interferências na análise (Piga et al., 2016; Mamede, 2017; Piga et al., 2018).

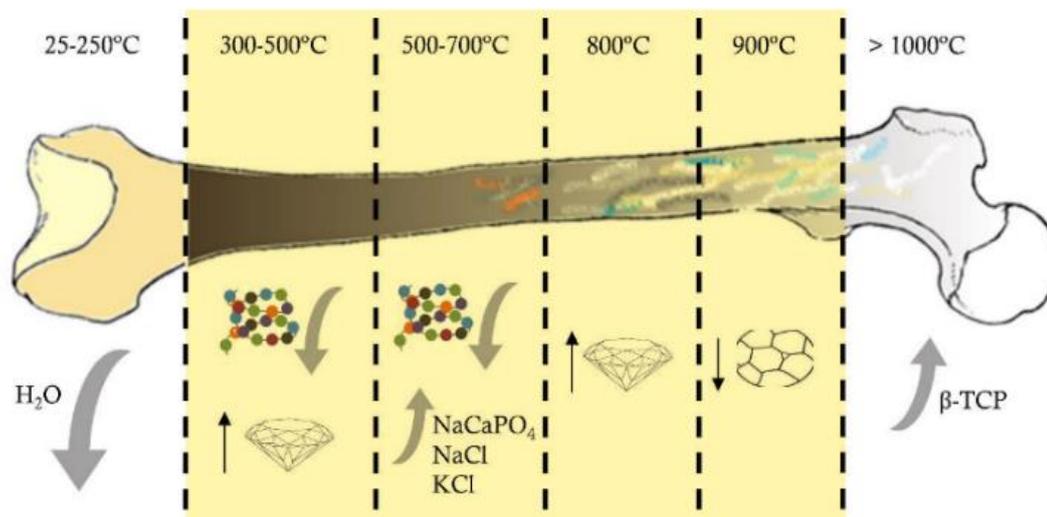


Figura 1- Exemplificação das alterações termicamente induzidas por vários patamares de temperatura durante a queima. Fonte: Mamede, 2017

A análise óssea de restos esqueléticos queimados é um campo da disciplina antropológica, a atravessar um progresso ativo, rápido, dinâmico e multifacetado (Ellingham et al., 2015). Nestas análises têm-se em conta alterações semelhantes às da diagénese aquando da morte, que já foram detetadas em ossos expostos ao calor (Snoeck et al., 2014) ou alterações bioquímicas, por exemplo em estudos de cristalinidade, que promovem vastamente a compreensão das alterações induzidas pelo calor no osso, facilitando assim uma interpretação mais precisa (Ellingham et al., 2015). Os tecidos ósseos são afetados de formas distintas durante o processo de queima (Snoeck et al., 2014). Existem várias técnicas capazes de registar as alterações químicas induzidas por diagénese no osso com precisão, uma das técnicas, através de espectroscopia vibracional ótica, como infravermelho, Raman, ou por exemplo através do uso de neutrões como a dispersão inelástica de neutrões (INS) (Marques et al., 2018). Mais concretamente em relação aos infravermelhos, nos últimos anos foram realizados vários estudos recorrendo à espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), mostrando assim que ainda existe espaço a melhorias nos modos de análise, eficácia e interpretação dos resultados.

(Thompson et al., 2009; Vassalo et al., 2016; Gonçalves et al., 2018). Esta técnica, e as referidas anteriormente, como indicado em Marques e colegas (2018), são capazes de extrair resultados que possibilitam a formulação de hipóteses para o estudo da progressão da diagénese óssea, por exemplo, através de ensaios em restos humanos queimados em condições controladas (dos 400°C até aos 1000°C).

Como já foi referido anteriormente, o aquecimento do material ósseo pode causar imensas alterações nos ossos e dentes humanos, dependendo da temperatura atingida, conseqüentemente, causando várias interferências nos métodos convencionais e na confiabilidade das análises bioantropológicas (Thompson, 2004; Ellingham et al., 2015). As técnicas comumente usadas para análise de restos humanos queimados são, normalmente, concebidas para uso em material sem modificações deste género, contudo, a queima a altas temperaturas leva a várias mudanças macroscópicas consideráveis como encolhimento, distorção, ou, mais raramente, a expansão (Coelho, 2015; Marques et al., 2018). O ponto comum de todas as situações descritas anteriormente, é a necessidade de reconstruir, se possível a cronologia de acontecimentos que levaram à queima, principalmente quando o contexto original foi interrompido, dando especial importância a alguns fatores como localização, recuperação e análise dos restos mortais, que de outro modo se perderia, impossibilitando assim a realização do perfil biológico e de outras análises pertinentes (Piga et al., 2009; Ellingham et al., 2015; Gonçalves et al., 2015; Rubio et al., 2015; Marques et al., 2018). Gonçalves e colegas (2015) alertam para a necessidade fundamental de estabelecer o contexto das condições pré-queima dos restos, ou seja, se uma determinada fonte de alterações, como o fogo, foi usada num qualquer momento *peri* ou *post mortem*. Esta conjuntura tem uma implicação legal determinante, nomeadamente no eventual uso de mecanismos que permitam ocultar as evidências na tentativa de queimar um corpo, sendo que, o primeiro caso, *peri mortem*, envolve a aplicação de fogo na altura da morte, estando assim, diretamente relacionado, enquanto que o segundo, *post mortem*, não obriga a que exista uma associação às circunstâncias da morte, podendo ter acontecido muito tempo depois dela (Gonçalves et al., 2015).

1.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

No que concerne à temática do material osteológico, a técnica de medição por infravermelho foi pioneiramente usada por Termine e Posner (1966), na quantificação

da cristalinidade em apatites sintéticas. Mais tarde, teve aplicações de modo regular para a compreensão da matriz mineral óssea, e desde o início da década de 90, viu o seu uso ampliado em análises com objetivo de observar mudanças em fatores diagenéticos (Rey et al., 1991). Uma década e meia depois, devido ao rápido aumento de interesse na análise a ossos queimados, incita estudos que melhoram e promovem a precisão da previsão da temperatura da queima (Olsen et al., 2008; Ellingham et al., 2015). No entanto, ainda existe uma grande necessidade de refinar essas técnicas e aprofundar investigações para uma melhor compreensão de outros fatores que possam ser determinantes (Ellingham et al., 2015).

O FTIR fornece uma impressão digital do ambiente químico de uma determinada amostra (D'Elia et al., 2007; Piga et al., 2014). Permite também a identificação de alterações químicas e estruturais, bem como a identificação de produtos contaminantes, ou até novas fases inorgânicas através das alterações induzidas por calor em ossos queimados (Lebon et al., 2010; Cascant et al., 2017). A técnica FTIR é verdadeiramente vantajosa por ser particularmente sensível à presença de matéria orgânica, permitindo então caracterizar eficazmente um osso fresco (D'Elia et al., 2007; Piga et al., 2014). Esta é também a técnica espectroscópica vibracional mais comumente aplicada para estes tipos de estudos (Ubelaker, 2009), tendo sido observado um claro aumento da sua aplicação na área forense (Wang et al., 2017) e arqueológica (Lachowicz et al., 2017; Mamede, 2018a), demonstrado pela precisa avaliação da cristalinidade óssea bem como da análise dos constituintes orgânicos e minerais (Thompson et al., 2009). Além disso, o FTIR também consegue produzir outro tipo de informações relevantes, por exemplo, sobre a estrutura do osso queimado, ou potencialmente sobre cremações ou vários outros modos de queima, e até sobre as condições de deposição (Snoeck et al., 2014) que são dois pontos abordados nesta dissertação. Como já foi referido, é necessário aprofundar o conhecimento sobre os métodos existentes, bem como iniciar o desenvolvimento de melhores métodos que permitam ampliar o estudo de toda a complexidade apresentada pelo esqueleto humano sujeito a fontes de calor, permitindo assim uma compreensão mais completa dos processos diagenéticos induzidos pelo aumento de temperatura (Marques et al., 2018).

Paschalis (2009) menciona que os espectros FTIR fornecem informação sobre todos os componentes do tecido, sendo isto possível através de uma característica particular das ligações moleculares, estas não são estacionárias, fazem movimentos de torção, flexão, rotação e vibração. O mesmo autor refere ainda que, irradiar uma

molécula com radiação infravermelha, nos fornece várias informações relevantes, resultantes da absorção, em comprimentos de onda específicos, dos seus movimentos vibracionais, típicos da configuração geral dos átomos, provindos de grupos funcionais particulares. A espectroscopia FTIR fornece normalmente três informações valiosas: (1) relação mineral/matriz, (2) maturidade mineral e (3) maturação do colagénio (Paschalis, 2009). Segundo Ellingham e colaboradores (2015) é possível através da ligação de técnicas quantitativas, tais como a determinação de índices, produto do cálculo dos sinais obtidos nos espectros do FTIR, com dados qualitativos, como a cor e a microestrutura, fazer uma estimativa mais precisa da temperatura máxima de exposição a que determinadas peças ósseas foram submetidas. Thompson e colegas (2013) indicam que através de uma análise holística a todo o espectro infravermelho do osso, tendo assim em conta todos os componentes orgânicos e inorgânicos, é possível obter ainda mais exatidão na estimativa da temperatura.

O FTIR possui várias vantagens e permite: (a) exame simultâneo de todos os componentes do tecido ósseo; (b) identificação de material contaminante, caso exista; (c) deteção de substituições dentro da estrutura molecular; (d) contenção de custos (Weiner et al., 1993; Wright e Schwarcz, 1996; Paschalis et al., 1997; D'Elia et al., 2007; Munro et al., 2007); (e) abordagem pouco destrutiva pois exige uma quantidade muito pequena de amostra (Weiner et al., 1993; Wright e Schwarcz, 1996); (f) maior rapidez porque, não exige preparação da amostra, em ATR, e fornece resultados instantaneamente (Marques et al., 2018); (g) maior precisão a temperaturas inferiores (D'Elia et al., 2007). Existem dois tipos de técnica FTIR, a KBr e a ATR, sendo a ATR a preferencial entre as duas devido às vantagens posteriormente descritas, razão pela qual foi escolhida para a parte metodológica desta dissertação. A amostragem em ATR é mais simples, rápida, há um menor erro associado ao operador e não tem de se manusear KBr (brometo de potássio) durante a preparação da amostra; a única desvantagem encontra-se na realização de correções no espectro devido à variação da profundidade de penetração do feixe infravermelho (Surovell e Stiner, 2001) caso se queria fazer comparações com espectros registados em modo de transmitância. Marques e colegas (2018) referem que o FTIR-ATR, é considerado atualmente uma técnica pertinente e rotineira para identificar e caracterizar restos esqueléticos queimados, devido à sua capacidade de produzir informações relevantes sobre a diagénese, induzida pelo aumento de temperatura, permitindo obter uma identificação dos biomarcadores espectroscópicos que a caracterizam. Os autores defendem ainda que o osso no seu estado pré-queima, providencia uma correlação decisiva entre a estrutura cristalina, e as alterações dimensionais macroscópicas induzidas por uma

fonte de calor, proporcionadas pelas condições específicas do osso no seu estado pré-queima.

Combinar as informações obtidas pelos diferentes índices infravermelhos, calculados a partir de pontos distintos dos espectros obtidos, além de nos permitir obter informações sobre todos os componentes presentes, torna possível a discriminação entre os ossos queimados em diferentes condições (Snoeck et al., 2014) como se pode ver no Apêndice 3 - Figura 21. Nesta figura podemos observar a diferença entre um osso queimado e não-queimado através da sobreposição dos espectros. Mais especificamente, podemos ver por exemplo, que a zona da amida e da água praticamente desaparecem na temperatura mais elevada, isto deve-se à eliminação do colagénio e da água, permanecendo apenas as bandas referentes aos hidroxilos e fosfatos devido à presença da hidroxiapatite. Podem ainda ser obtidos outros índices através do FTIR-ATR que não o índice de cristalinidade, como o C/C, relativo à razão entre a soma dos carbonatos A e B e o carbonato B, é portanto proporcional. Calcula-se ao usar diferentes picos de carbonatos nos seus comprimentos de onda específicos (Gonçalves et al., 2018); API e BPI alusivas às razões que quantificam a quantidade relativa de carbonatos do tipo A e B, respetivamente, em apatite em relação ao fosfato, e como o anterior, usam-se os picos dos carbonatos mas desta vez individualmente (Gonçalves et al., 2018), de referir que os carbonatos A deixam de ser calculados aos 900°C pela não existência dos mesmos nesta temperatura (Mamede et al., 2018). E finalmente o OH/P alusivo à razão hidroxilo/fosfato, calculado através dos picos de ambos em comprimentos de onda particulares, e, apenas aos 900 °C, por causa dos hidroxilos e fosfatos serem das únicas variáveis que ainda se podem encontrar (Mamede et al., 2018). Foi um índice proposto inicialmente por Snoeck e colaboradores (2014) valioso para diferenciar ossos recentes e arqueológicos queimados de ossos fósseis muito antigos, ou seja, em que o componente orgânico foi totalmente substituído por substâncias minerais (Mamede, 2018b; Vassalo, et al. 2018).

1.5 Índice de Cristalinidade

O índice de cristalinidade ou fator de desdobramento infravermelho (Termine e Posner, 1966; Stiner et al., 2001; Squires et al., 2011) é uma medida da ordem da estrutura cristalina, composição óssea e indicação do tamanho relativo dos cristais de bio-apatite (Skinner, 2005; Thompson et al., 2009). Este índice é calculado através de

bandas de iões de fosfato em zonas de comprimento de onda específicos, e é geralmente tido em conta como um índice seguro por não ser afetado habitualmente por outras bandas (Gonçalves et al., 2018). Os valores do IC (índice de cristalinidade) no osso moderno inalterado geralmente encontram-se em torno de 2,50 – 3,25, mas podem ser ampliados à medida que a estrutura cristalina se torna mais ordenada (Nagy et al., 2008). O estado de preservação do osso pode afetar o seu índice de cristalinidade, por exemplo, quando o osso ainda é fresco a sua cristalinidade é mais baixa, comparativamente a um osso já seco (Thompson et al., 2011); a idade do osso também pode ser uma fonte de alterações, sendo osso maduro diferente de osso jovem, estando este último mais sujeito a remodelação e assim torna-se menos cristalizado (Paschalis, 1997). Nielsen-Marsh e Hedges (1999) indicam ainda que as porosidades ósseas resultantes de fatores diagenéticos também têm correlações com este índice. Há várias técnicas de espectroscopia já referidas, como FTIR ou Raman que permitem o estudo do IC, mas também outras, como XRD que funciona através de raios-x, contudo, a preparação, abordagem, análise, cálculos, e resultados nos valores finais são diferentes, não se podendo comparar diretamente os resultados entre os três (D'Elia et al., 2007).

A cristalinidade de um dado material ósseo pode ser influenciada de várias formas, uma das quais consiste em sujeitar o material a uma fonte de aquecimento (Schiegl et al., 2003; Thompson et al., 2011). Oferecer uma fonte de calor a um osso, resulta portanto, num aumento do índice de cristalinidade, ou seja, numa estrutura cristalina mais ordenada e com cristais maiores, derivada de uma maior distancia equidimensional entre os cristais e a uma redução da tensão (Etok et al., 2007). Munro e colegas (2007) propuseram que para análises a temperaturas de queima baixas o FTIR consegue um nível de precisão maior. Contudo deve-se ter alguma cautela na interpretação dos resultados, porque existem evidências do aumento do tamanho de cristais, em queimas da baixa intensidade, confundindo um observador não treinado com as alterações diagénicas (Sillen e Hoering, 1993). Distinguir se uma peça óssea sofreu remodelações providas de aumentos de temperatura ou de processos diagénicos é um dos maiores problemas apontados na utilização deste índice (Bartsiokas e Middleton, 1992; Trueman et al., 2008). Thompson e colaboradores (2009) destacam algumas conclusões sobre o índice de cristalinidade: (a) este índice é grandemente influenciado pela região de osso de que a amostra é originária; (b) sofre influencias distintas de acordo com o método de FTIR usado; (c) pode ser medido de forma confiante por FTIR-ATR; (d) poderá estabilizar em torno do ponto de queima a 700°C (mais uma vez, relevante devido à grande quantidade de mudança estrutural

ocorre aqui); (e) permite distinguir osso não-queimado de ossos queimados a diferentes intensidades.

1.6 Objetivos

O que se pretende neste trabalho é identificar o impacto de distintos processos tafonómicos pós-deposicionais na composição de ossos e dentes queimados e não-queimados ao longo do tempo e em diversos ambientes, sendo eles, ar livre, enterramento, água de poço, arca congeladora, e betão. Estes ambientes replicarão assim casos onde restos humanos são recorrentemente encontrados, documentando também as respetivas diferenças entre eles ao nível dos perfis quimiométricos, de maneira a ter uma visão mais completa do contexto deposicional onde são encontrados restos humanos. As medições fazem-se antes e após a exposição aos ambientes, para registar as alterações ocorridas nos perfis, através de espectroscopia vibracional, neste caso, FTIR-ATR. Em particular, o presente estudo pretende constituir um seguimento do trabalho de Amarante (2016), na investigação do progresso da diagénese em ossos inumados, sujeitos a queima e sem queima. Também se pretende verificar se existe uma correlação entre os ambientes deposicionais e os resultados obtidos através dos vários índices utilizados, com algum foco nas diferenças intra-ambiente e inter-ambiente, tanto em termos de temperatura como de índices entre os ossos/dentes queimados nos vários patamares de temperatura. Dado que é uma área de estudo ainda com pouca informação, e a abordagem aqui usada é pioneira devido ao uso de ambientes distintos, pretende-se que este trabalho possa encorajar novas análises relativas ao tema e ao seu desenvolvimento.

Capítulo 2 – Material e métodos

2.1. Materiais

Para o presente estudo foram utilizados material osteológico e dentes humanos. O material osteológico pertence à Coleção de Esqueletos Não-Identificados do Cemitério dos Capuchos (CC_NI) proveniente de Santarém (José 2019; Tomé 2019), cujos esqueletos permaneceram inumados durante um período desconhecido. Os dentes usados neste projeto, pertencem à Coleção Forense de Odontologia do Laboratório de Antropologia Forense, fornecidos por várias clínicas dentárias e extraídos de mulheres adultas (Gouveia et al., 2017; Oliveira-Santos et al., 2018).

De maneira a evitar um possível enviesamento pela utilização de esqueletos distintos, e assim aumentar a fiabilidade de toda a experiência, permitindo comparações intra e inter-indivíduos, foram selecionados quatro indivíduos da coleção CC_NI (CC_NI_45, CC_NI_53, CC_NI_57 e CC_NI_62). Para cada um deles efetuaram-se algumas análises de forma a estimar alguns parâmetros do seu perfil biológico, nomeadamente, o sexo e a idade à morte. Para a estimativa do sexo utilizaram-se as recomendações de Buikstra e Ubelaker (1994) para o crânio e o coxal, e o método de Wasterlain (2000) para o fémur e úmero.

A amostra compreende ainda quinze dentes, todos terceiros molares de indivíduos diferentes (Oliveira-Santos, 2015) selecionados por serem os que mais frequentemente se extraem, e por isso, serem mais frequentes na COROA, além disso, são também os dentes com maior área de raiz disponível, o que facilita a amostragem.

Concluindo, a amostra final selecionada para o presente estudo engloba 60 secções provenientes de quatro indivíduos da CC_NI e 15 dentes de 15 indivíduos da Coleção Forense de Odontologia.

2.2. Métodos

Dos quatro indivíduos da CC_NI foram selecionados alguns ossos longos, a saber, o úmero, fémur e tibia direitos, preferencialmente, e esquerdos quando o direito não estava disponível devido a questões de preservação ou à presença de próteses. Estes ossos foram escolhidos por serem maioritariamente compostos por osso compacto e corresponderem por isso ao tipo de osso usualmente selecionado para estudos quimiométricos (Gonçalves et al., 2018; Piga et al., 2018). Esta opção foi tomada com vista à realização de estudos comparativos.

Foram preenchidas fichas de registo, pré-queima dos esqueletos (Apêndice 2), pelo signatário e outras duas estudantes de mestrado no âmbito das suas próprias dissertações de mestrado (José, 2019; Tomé, 2019). Houve um registo fotográfico com uma Canon EOS 70D e escalas apropriadas, antes de qualquer intervenção potenciando o registo mais fiável possível, para futuros estudos. As diferentes experiências beneficiaram da utilização de secções do mesmo osso para minimizar possíveis variações inter-osso e inter-esqueleto. É importante recolher as amostras de um mesmo local específico para reduzir ao máximo as hipóteses de enviesamento (Gonçalves et al., 2018). Foram feitas medições do comprimento máximo de todos os ossos com a tábua osteométrica, para garantir uma divisão uniforme por secções da diáfise do osso. As secções foram marcadas de dois em dois centímetros com uma caneta fina, e medidas com uma régua de borracha devido às irregularidades ósseas. Posteriormente, foram seccionadas dentro de uma capela de exaustão (Apêndice 3 – Figura 18), da marca Cruma, com uma serra elétrica Dremel 3000, resultando em oito secções com \pm dois centímetros de espessura por osso.

No caso dos dentes, devido à sua reduzida dimensão não foi obviamente possível adotar o mesmo procedimento, ou seja, foram usados diferentes dentes completos para cada ambiente.

Para evitar uma possível confusão do leitor com a numeração das amostras, fica a advertência que, inicialmente, foram feitas oito secções em cada um dos três ossos selecionados dos quatro indivíduos, mais os 24 dentes, totalizavam 120 amostras únicas, para separar por oito ambientes escolhidos, como se pode ver nas imagens iniciais em anexo e em alguns registos e marcações. Por motivos alheios à investigação não foi possível realizar três dos ambientes, correspondentes a câmaras de envelhecimento (marcadas inicialmente como ambientes 5, 6 e 7), tendo ocorrido uma renumeração. Mais tarde, foi decidido dividir o ambiente (4) arca congeladora, em dois, com análises distintas em estado congelado e descongelado. Devido aos problemas causados aquando das análises FTIR pelo uso das amostras ainda em estado congelado, o então ambiente 5 foi eliminado.

No final, foram utilizadas sessenta secções provenientes dos quatro indivíduos da CC_NI e quinze dentes da Coleção Forense de Odontologia, perfazendo um total de setenta e cinco amostras.

As secções foram então divididas pelos ambientes finais: (1) Ar livre; (2) Caixa com terra; (3) Poço; (4) Arca congeladora; (6) Betão.

As amostras dividiram-se por cinco ambientes distintos com a duração de aproximadamente três meses e meio (22.01.2019 – 11.05.2019):

- (1) **Ar livre:** Sendo um meio rural, as amostras foram depositadas numa caixa de plástico vermelha com divisórias (Apêndice 1 – figura 7), confinando as amostras para permitir a sua segurança, devido às possíveis interferências de animais (como gatos) ou da meteorologia (experiência decorreu durante o inverno), não permitindo contudo, o contacto direto entre elas, para não haver contaminação cruzada.
- (2) **Caixa com terra:** Caixa de esferovite (Apêndice 1 – figura 8), guardada no interior de casa, numa sala sem luz direta, para proteger a experiência de eventual atividade animal ou do clima. Foram usados palitos como indicadores de profundidade. De 2 em 2 semanas foram retiradas as ervas que iam nascendo, o que aconteceu até ao primeiro mês e meio.
- (3) **Poço:** usaram-se caixas de plástico (Apêndice 1 – figura 9), uma para cada amostra, e os dentes foram mantidos dentro dos sacos com pequenos buracos, para garantir que não saíam pelos buracos maiores das caixas feitos para a circulação da água. Foram introduzidas numa caixa maior, preenchida com pedras, para colocar no fundo do poço e garantir que lá permanecia.
- (4) **Arca congeladora:** caixas vermelhas com divisórias (Apêndice 1 – figura 10), para não permitir o contacto direto entre elas, impossibilitando contaminação cruzada. Esteve a -3°C durante toda duração da experiência. Os ossos foram transportados para o laboratório dentro de uma caixa térmica com gelo e packs gelados para conservar a temperatura baixa.
- (6) **Betão:** Amostras depositadas numa caixa de esferovite com divisórias (Apêndice 1 – figura 11), guardadas no interior de casa, na mesma sala da caixa com terra pelas mesmas razões. A secção depositada no betão foi novamente cortada a meio, formando duas semicircunferências para pousar cada face externa no betão. Deste modo, a face do osso interna (não depositada no betão) foi escavada até chegar à superfície externa (está pousada sobre o betão), permitindo a amostragem e funcionando de igual modo como apenas uma secção.

Cada ambiente conteve uma secção e um dente de cada patamar de temperatura estudada:

- Não-queimados – 5 dentes e 20 secções de úmero;
- 500°C – 5 dentes e 20 secções de tibia;

- 900°C – 5 dentes e 20 secções de fémur

Diferentes patamares de temperatura foram investigados para permitir comparações entre eles, nomeadamente, entre duas temperaturas de queima distintas, 500°C e 900°C. Estas temperaturas, foram escolhidas para a investigação por serem pontos importantes de queima, correspondem respetivamente, à temperatura onde a maioria da matéria orgânica já desapareceu, deixando a matéria inorgânica sem proteção (“efeito de blindagem térmica”) e, aos 900°C, atingimos o momento em que a temperatura sobe ao ponto de colapsar os cristais presentes nos ossos, seguido da recristalização, e aumento do tamanho dos cristais. Usou-se o forno elétrico “Barracha K-3 trifásico 14A” do CIAS – Centro de Investigação em Antropologia e Saúde para as temperaturas referidas, queimando os ossos de maneira controlada, aerobiamente, durante 1 ou 2 horas, para permitir documentar e analisar eventuais variações entre ossos submetidos a tratamentos térmicos diferentes.

Os ossos foram dispostos em círculo, por indivíduo, com um dente no meio, como se pode ver no Apêndice 3 – Figura 17. Esta disposição teve como objetivo “proteger” o dente, caso houvesse um impacto térmico muito grande, causando fissuras e separação de partes.

Terminada a queima, seguiu-se para o próximo passo, a obtenção de pó das amostras, para posteriormente poderem ser analisadas por FTIR-ATR. Com um bisturi removeu-se a parte mais superficial de osso e da raiz do dente molar, numa área pequena (aproximadamente 5 mm²), descartando-se esse pó, pois contem eventuais impurezas. Nessa mesma área, raspou-se mais pó do osso ou raiz de dente, sendo a quantidade necessária pequena (inferior a 0,05ml) depositada em tubos *Eppendorf* de 1,5ml. Todas as amostras foram sendo separadas, guardadas em sacos herméticos, e devidamente etiquetadas com um sistema de identificação tanto no saco como no frasco: CC_NI_AE (antes da experiência)_Indivíduo_Osso_Temperatura e Ambiente de 1 a 8. Existe uma divisão no ambiente 8 (em 8.1 e 8.2 derivado ao corte adicional para acondicionar no betão). Depois da experiência estar terminada a sigla passou de “AE” para “DE” (depois da experiência), tudo o resto se manteve igual.

Seguiram-se as análises químicas que corresponderam à aquisição de espectros com FTIR-ATR (Apêndice 3 – Figura 20). Em estudos anteriores, concluiu-se que FTIR-ATR é a melhor técnica para o tipo de análise pretendida neste projeto. Os espectros foram registados num espectrómetro Bruker Optics Vertex 70 FTIR equipado com um cristal de diamante, do laboratório de Química-Física Molecular da

Universidade de Coimbra. Este equipamento também possui um detetor MCT (mercúrio-cadmio-telúrio), permitindo análises com maior resolução, diminuição da razão/ruído. Este registo é feito com auxílio de nitrogénio líquido no arrefecimento do equipamento, e por uma purga que retira da análise irregularidades como CO₂ e vapor de água. Os índices a serem estudados podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1. Índices quimiométricos usados, divididos por patamar de temperatura

Índices Temperatura	IC	C/C	API	BPI	OH/P1	OH/P2
Não-queimado	x	x	x	x		
500°C	x	x	x	x		
900°C	x	x		x	x	x

As análises em FTIR-ATR foram realizadas antes e após a experiência. Os espectros foram registados com o auxílio do programa *OPUS spectroscopy software* versão 7.2 (Apêndice 3 – Figura 19), onde foram feitos 128 scans para cada amostra com uma resolução de 2cm⁻¹. Os espectros são obtidos na região do IV médio, entre os 400 e os 4000cm⁻¹ de comprimento de onda, no modo absorvância.

Depois do registo, faz-se uma compensação de atmosfera para retirar eventuais contribuições da água e CO₂ presentes no espectro, e ainda se faz uma correção ATR para:

- i. corrigir o efeito de distorção das intensidades relativas dos picos resultante do facto da profundidade de penetração da radiação incidente variar em função do comprimento de onda (Mamede et al., 2018c);
- ii. compensar o efeito de dispersão anómala, ou seja, deslocações dos picos causadas pelas rápidas alterações no índice de refração da amostra junto a um pico de absorção. (Mamede et al., 2018c; Gonçalves, et al. 2018).

Os espectros foram analisados e os dados foram exportados para Excel para calcular vários índices. Esta abordagem foi adotada para investigar eventuais alterações quimiométricas que possam ser causadas pelo ambiente de deposição dos ossos e dentes.

Capítulo 3 – Resultados

Através dos métodos de perfil biológico que foram possíveis realizar, tendo em conta a preservação óssea, foi feita a respetiva estimativa de idade à morte e diagnose sexual, preenchendo as fichas de registo, em colaboração com as duas colegas anteriormente mencionadas, onde obtivemos a informação apresentada na seguinte tabela:

Tabela 2: Estimativa do sexo e da idade à morte para os indivíduos da CC_NI.

Indivíduo Método	CC_NI_45	CC_NI 53	CC_NI 57	CC_NI 62
Iscan <i>et al.</i> , 1984	N.D	N.D	N.D	N.D
Suchey e Brooks, 1990	N.D	N.D	[26-70] anos	[42-87] anos
Buikstra e Ubelaker, 1994	♂	♀	♀	♀
Wasterlain, 2000	♂	♀	♀	♀
Buckberry e Chamberlain, 2002	[39-91] anos	[53-92] anos	[39-91] anos	[53-92] anos
Rougé-Maillart <i>et al.</i> , 2009	[45-54] anos	[65-74] anos	[55-64] anos	[55-64] anos
Curate <i>et al.</i> , 2016	♂	♀	♀	♀
Bruzek <i>et al.</i> , 2017	N.D	♀	♀	♀
Resultado	♂ [45-54] anos	♀ [65-74] anos	♀ [55-64] anos	♀ [55-64] anos

Legenda: N.D – Não disponível

Foram seleccionados os métodos mais apropriados ao trabalho que originaram os subsequentes resultados:

- **Indivíduo CC_NI_45:**
 - **Masculino** (Buikstra e Ubelaker 1994; Curate *et al.*, 2016; Wasterlain 2000)
 - **[45-54] anos** (Rougé-Maillart *et al.*, 2009)

- **Indivíduo CC_NI_53:**
 - **Feminino** (Buikstra e Ubelaker, 1994; Bruzek *et al.*, 2017; Curate *et al.*, 2016; Wasterlain 2000)
 - **[65-74] anos** (Rougé-Maillart *et al.*, 2009)

- **Indivíduo CC_NI_57:**
 - **Feminino** (Buikstra e Ubelaker, 1994; Bruzek *et al.*, 2017; Curate *et al.*, 2016; Wasterlain 2000)
 - **[55-64] anos** (Rougé-Maillart *et al.*, 2009)

- **Indivíduo CC_NI_62:**
 - **Feminino** (Buikstra e Ubelaker, 1994; Bruzek *et al.*, 2017; Curate *et al.*, 2016; Wasterlain 2000)
 - **[55-64] anos** (Rougé-Maillart *et al.*, 2009)

As diferenças relativas entre os valores pré-e pós experiência nos índices quimiométricos são apresentadas nas tabelas seguintes ao texto descritivo de cada ambiente. As tabelas estão apresentadas em função de cada tratamento térmico.

3.1 Ar livre

Geralmente, nos elementos esqueléticos queimados – tanto a 500°C como a 900°C – observou-se uma diminuição pouco relevante, na maioria dos casos inferior a 5%, do índice de cristalinidade (IC). Nos elementos não-queimados, nenhuma tendência clara foi observada, tendo-se assistido tanto a aumentos como diminuições do IC. Se tivermos em consideração as diferenças relativas médias sem ter em atenção a sua direção (diminuição ou aumento) de acordo com o tratamento térmico, concluímos que em nenhum caso estas foram muito relevantes. A mais elevada correspondeu a cerca de 6% no caso dos elementos não-queimados. Nenhuma evidência clara de comportamentos distintos entre os dentes e os ossos foi encontrada. Apenas no caso dos elementos queimados a 900°C, o dente exibiu uma reação diferente (IC aumentou), mas a diferença foi demasiado pequena para poder ser considerada importante. Os resultados da Tabela 3 sugerem assim que a avaliação do IC em ossos expostos ao ar livre por períodos curtos não é afetada de forma substancial. É de salientar que os valores do IC para o osso CC_NI_45U foram considerados *outliers* e por isso não foram incluídos nesta descrição dos resultados. Contudo nenhum valor absoluto é relevante nos diferentes patamares de temperatura. Não considerando a sua direção, o valor máximo que obtivemos foi nos não-queimados (mediana = 6%), não sendo, portanto, relevante.

No caso do rácio C/C, duas tendências foram observadas. Para os elementos do esqueleto não-queimados e queimados a 500°C, nenhuma diferença importante foi observada entre os valores pré- e pós-experiência. Esta tendência alterou-se radicalmente nos ossos queimados a 900°C, visto que exibiram uma diminuição radical do rácio C/C na ordem dos 19%. Significa isto que, após a exposição ao ar livre, a proporção de carbonatos em ossos queimados a elevada temperatura alterou-se no sentido de uma maior representação dos carbonatos de tipo B em relação aos carbonatos de tipo A. Esta inferência é obtida porque o dividendo no rácio C/C refere-se à soma de carbonatos tipo A e tipo B e o divisor refere-se apenas ao último. Por isso, variações neste índice espelham essencialmente variações no carbonato tipo A em termos proporcionais. Apesar de apresentar também alguma redução, a alteração

observada no dente queimado a 900°C (~1%) não pode ser considerada importante, destoando assim dos ossos. O C/C também não apresenta valores relevantes nas duas primeiras temperaturas (mediana < 3%). Todavia, os 900°C indicam uma pequena suscetibilidade do ambiente neste índice (mediana =16%).

Em relação aos carbonatos de tipo A, os valores de API aumentaram após a exposição ao ar livre dos ossos não-queimados e queimados a 500°C. No entanto, essa tendência foi muito mais marcada nos ossos não-queimados, para os quais o aumento mínimo registrado foi na ordem dos 40%. Os dentes apresentaram registros distintos, revelando um claro aumento do API no caso não-queimado e uma diminuição substancial no caso queimado a 500°C. As mesmas tendências foram observadas para os carbonatos de tipo B (BPI). O API e o BPI apresentaram resultados diferentes mas simétricos na temperatura, por um lado, foi detetada uma suscetibilidade considerável dos ossos não-queimados a este ambiente (mediana = 53% e 38% respetivamente); por outro, os elementos queimados a 500°C não apresentaram a mesma magnitude de valores da temperatura anterior (mediana = 14% e 18% respetivamente).

Finalmente, os índices referentes às bandas dos hidroxilos (OH/P1 e OH/P2) apresentaram resultados variáveis nos elementos esqueléticos queimados a 900°C. Na generalidade, observaram-se diminuições de valores após a experiência, mas o cenário contrário foi também observado, não sendo por isso possível identificar uma tendência clara. Apesar da direção das alterações observadas em ambos os índices ter sido igual nos ossos, resultados opostos foram obtidos para o dente. É de salientar que a magnitude das diferenças foi quase sempre maior para o OH/P2 do que para o OH/P1. O que também se conseguiu observar nos valores absolutos, com valores pouco relevantes (mediana <19%).

As alterações médias pré- e pós-experiências em função de cada tratamento térmico são apresentadas na Figura 2. Entre todos os índices quimiométricos estudados, o IC foi aquele que revelou maior estabilidade. Os índices envolvendo os carbonatos demonstraram ser mais suscetíveis às trocas ambientais. Esse foi principalmente o caso do API e do BPI.

Tabela 3 – Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao ar livre durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs). Itálico: valores outliers. *Cálculo não incluiu outliers.

Elemento	°C	Dur.	IC		C/C		API		BPI		OH/P1		OH/P2	
			% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs
Dente B2	-	-	-0,68	0,68	1,06	1,06	63,26	63,26	47,44	47,44	-	-	-	-
CC_NI_45 U	-	-	39,83	39,83	-2,02	2,02	-31,56	-31,56	-32,84	-32,84	-	-	-	-
CC_NI_53 U	-	-	-4,11	4,11	-0,03	0,03	40,42	40,42	101,91	101,91	-	-	-	-
CC_NI_57 U	-	-	6,46	6,46	-1,19	1,19	109,66	109,66	30,84	30,84	-	-	-	-
CC_NI_62 U	-	-	13,04	13,04	0,02	0,02	53,12	53,12	37,83	37,83	-	-	-	-
Média*			3,68	6,07	-0,43	0,86	66,62	66,62	54,5	54,5	-	-	-	-
Mediana			6,46	6,46	-0,03	1,06	53,12	53,12	37,83	37,83				
Dente Y5	500	60	-3,9	3,9	3,34	3,34	-25,16	25,16	-21,83	21,83	-	-	-	-
CC_NI_45 T	500	60	-2,63	2,63	0,17	0,17	15,31	15,31	17,63	17,63	-	-	-	-
CC_NI_53 T	500	60	-0,11	0,11	2,04	2,04	2,63	2,63	3,25	3,25	-	-	-	-
CC_NI_57 T	500	60	0,29	0,29	2,3	2,3	1,07	1,07	2,12	2,12	-	-	-	-
CC_NI_62 T	500	60	-7,61	7,61	-5,17	5,17	14,21	14,21	18,68	18,68	-	-	-	-
Média			-2,79	2,91	0,54	2,6	1,62	11,68	3,97	12,7	-	-	-	-
Mediana			-2,63	2,63	2,04	2,3	2,63	14,21	3,25	17,63				
Dente AA5	900	176	1,78	1,78	-1,32	1,32	-	-	-17,2	17,2	6,47	6,47	-5,23	5,23
CC_NI_45 F	900	176	-7,27	7,27	-34,41	34,41	-	-	376,61	376,61	-12,13	12,13	-29,69	29,69
CC_NI_53 F	900	176	-7,98	7,98	-30,61	30,61	-	-	242,45	242,45	-7,04	7,04	-18,56	18,56
CC_NI_57 F	900	176	-1,5	1,5	-15,63	15,63	-	-	72,66	72,66	-5,58	5,58	-29,8	29,8
CC_NI_62 F	900	176	-1,59	1,59	-13,16	13,16	-	-	76,96	76,96	9,05	9,05	16,01	16,01
Média			-3,31	4,02	-19,02	19,02	-	-	150,29	157,17	-1,85	8,06	-13,45	19,86
Mediana			-1,59	1,78	-15,63	15,63			76,96	76,96	-5,58	7,04	-18,56	18,56

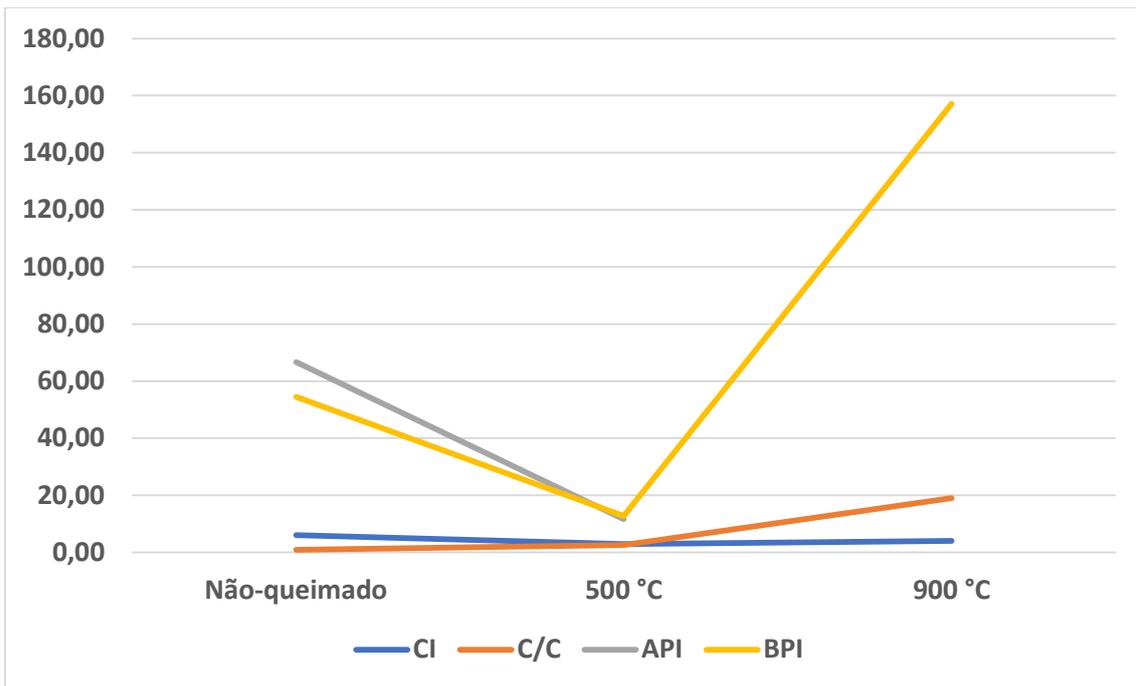


Figura 2 – Alterações médias obtidas em cada patamar térmico no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao ar livre. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs. diminuição).

3.2 Enterramento

Em relação ao índice de cristalinidade neste ambiente, podemos notar uma clara tendência negativa na grande maioria dos casos, percorrendo todas as temperaturas, mas geralmente de pouca relevância, com a diminuição maior a cifrar-se nos 13% (no caso do CC_NI_62U) como se pode observar na Tabela 4. Considerando os elementos a 900°C, não se observou uma tendência óbvia, tendo havido aumentos e diminuições do IC. Porém, em nenhum dos casos se pode dizer que estas alterações tenham sido substanciais. Em termos de comportamento dos dentes e ossos, não se observou diferença nos não-queimados. Para os elementos queimados a 500°C e 900°C, a alteração registada no dente situou-se no intervalo de variação observado nos ossos. Estes resultados indicam que a avaliação do IC em ossos inumados por curtos períodos não é afetada de maneira relevante. As alterações absolutas, não tendo em consideração a direção da alteração, indicaram não haver suscetibilidade dos elementos, em nenhum patamar de temperatura deste índice, nem nos não-queimados (mediana = 4%), nem nos queimados a 500°C (mediana = 7%), nem nos queimados a 900°C (mediana = 5%).

Considerando o C/C, observámos uma tendência de aumento generalizado nos valores das categorias “não-queimado” e “500°C”, apenas destoando o osso CC_NI_62T. O valor absoluto mais elevado cifrou-se nos 12%, uma diferença importante, mas todos outros casos apresentaram alterações relativamente pequenas. A 900°C, não se notou nenhuma tendência clara ao nível das alterações, tanto havendo aumentos como decréscimos nos valores. Contudo, o dente apresentou um aumento substancial no C/C. Assim como no índice anterior, tendo em conta os valores absolutos, não foram registados valores relevantes para os elementos não-queimados, nem para os queimados a 500°C (mediana < 3%). Contudo, neste índice foi obtido um valor considerável aos 900°C, e podemos afirmar que os elementos ósseos foram afetados pelo ambiente (mediana = 26%).

No API, duas tendências diferentes foram observadas. Os elementos não-queimados obtiveram um aumento do API, sendo que em duas das amostras esse aumento foi muito considerável - 191% e 292%. Nos elementos queimados a 500°C, observou-se um decréscimo no valor do índice em toda a gama de resultados com a exceção do osso CC_NI_62T. Se excluirmos este último, conclui-se que os dentes e os ossos apresentaram o mesmo tipo de alterações. A mediana encontra neste índice o seu valor máximo por via dos elementos não-queimados (116%), porém, os 500°C não parecem causar alterações consideráveis (mediana = 10%).

No caso dos carbonatos de tipo B (BPI), observou-se uma tendência de aumento no caso dos ossos não-queimados que foi invulgarmente elevado no caso do osso CC_NI_45U. Em contraponto, o dente não-queimado apresentou uma diminuição do BPI. Nos elementos queimados a 500°C e a 900°C, não se observou uma tendência clara, registando-se tanto aumentos como diminuições. É de salientar o decréscimo considerável do BPI no caso do dente queimado a 900°C, na ordem dos 80%. Semelhante redução foi observada - em menor grau - em apenas um único osso exposto a esta temperatura. Neste índice, as alterações absolutas, apresentaram um valor considerável nos elementos não-queimados (mediana = 32,47%), aos 500°C os valores não parecem ser afetados pelo ambiente (mediana = 7%), subindo aos 900°C, existe uma certa suscetibilidade dos elementos ao ambiente (mediana = 22%).

Por fim, no caso dos hidroxilos, observámos um aumento nos dentes. Em relação aos ossos, registou-se variação no tipo de alterações, mas, no caso do OH/P2, a tendência geral foi também de aumento. Apenas num caso se registou uma diminuição. Mais uma vez, a magnitude das diferenças voltou a ser maior no caso do OH/P2 relativamente ao OH/P1. Os hidroxilos mostram valores baixos, sendo, portanto, pouco afetados neste ambiente (mediana = 18%).

Neste segundo ambiente, o referente ao enterramento, as mais importantes alterações foram registadas ao nível do API e BPI, principalmente em elementos não-queimados e, no caso do BPI, também em elementos queimados a 900°C. Apenas no caso do IC se pode afirmar que as alterações observadas foram na sua maioria pouco importantes. O mesmo aconteceu para o C/C, mas apenas para os elementos não-queimados e queimados a 500°C.

Considerando os índices como um todo, podemos observar que o registo do IC através dos vários patamares de temperatura manteve-se algo constante, enquanto que o C/C e o APB foram semelhantes, com uma ligeira diminuição entre os não-queimados e os 500°C, seguido de um aumento na mesma ordem até aos 900°C. Por fim, no caso do API, pode-se ver uma queda abrupta (mais ou menos na ordem dos 100%) desde os não-queimados até aos queimados a 500°C (figura 3).

Tabela 4 – Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos inumados durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs).

Elemento	°C	Dur.	IC		C/C		API		BPI		OH/P1		OH/P2	
			% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs
Dente B26	-	-	-4,91	4,91	0,39	0,39	5,58	5,58	-5,42	5,42	-	-	-	-
CC_NI_45 U	-	-	-1,99	1,99	6,92	6,92	191,02	191,02	101,29	101,29	-	-	-	-
CC_NI_53 U	-	-	-4,42	4,42	0,64	0,64	39,93	39,93	13,13	13,13	-	-	-	-
CC_NI_57 U	-	-	-3,44	3,44	0,31	0,31	50,30	50,30	32,47	32,47	-	-	-	-
CC_NI_62 U	-	-	-13,47	13,47	11,76	11,76	292,94	292,94	54,48	54,48	-	-	-	-
Média*			-5,65	5,65	4,01	4,01	115,95	115,95	39,19	41,36	-	-	-	-
Mediana			-4,42	4,42	0,64	0,64	50,30	50,30	32,47	32,47				
Dente S12	500	60	-7,47	7,47	3,79	3,79	-3,72	3,72	-8,11	8,11	-	-	-	-
CC_NI_45 T	500	60	-9,92	9,92	0,79	0,79	-0,83	0,83	0,13	0,13	-	-	-	-
CC_NI_53 T	500	60	-9,57	9,57	1,10	1,10	-9,87	9,87	-7,14	7,14	-	-	-	-
CC_NI_57 T	500	60	2,50	2,50	2,92	2,92	-9,73	9,73	-2,99	2,99	-	-	-	-
CC_NI_62 T	500	60	4,19	4,19	-4,88	4,88	41,52	41,52	25,10	25,10	-	-	-	-
Média			-4,05	6,73	0,74	2,69	3,47	13,13	1,40	8,69	-	-	-	-
Mediana			-7,47	7,47	1,10	2,92	-3,72	9,73	-2,99	7,14				
Dente AA6	900	176	4,72	4,72	59,79	59,79	-	-	-80,39	80,39	10,70	10,70	17,56	17,56
CC_NI_45 F	900	176	-7,29	7,29	-25,98	25,98	-	-	36,70	36,70	-19,19	19,19	-27,77	27,77
CC_NI_53 F	900	176	-8,88	8,88	-29,41	29,41	-	-	21,90	21,90	-13,17	13,17	56,28	56,28
CC_NI_57 F	900	176	0,62	0,62	2,28	2,28	-	-	10,09	10,09	3,96	3,96	14,37	14,37
CC_NI_62 F	900	176	1,54	1,54	9,57	9,57	-	-	-19,23	19,23	8,38	8,38	6,80	6,80
Média			-1,86	4,61	3,25	25,41	-	-	-6,19	33,66	-1,86	11,08	13,45	24,56
Mediana			0,62	4,72	2,28	25,98			10,09	21,90	3,96	10,70	14,37	17,56

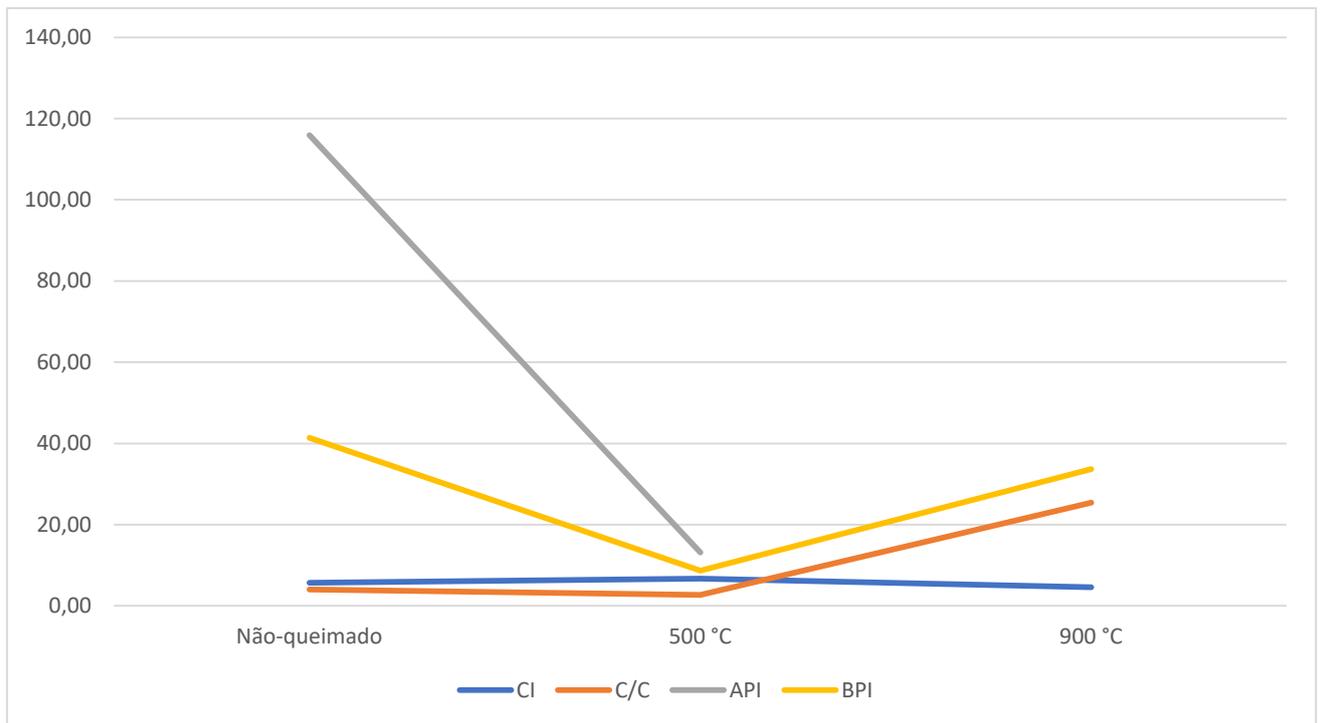


Figura 3– Alterações médias obtidas em cada patamar térmico no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao enterramento. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs. diminuição).

3.3 Poço

A maioria das amostras depositadas no poço não revelou alterações acima de 10% no índice de cristalinidade. A tendência geral foi a de diminuição do IC em todos os grupos de ossos com as seguintes exceções: nos elementos não-queimados, a amostra do indivíduo CC_NI_62 aumentou 18%; e nos elementos queimados a 500°C e 900°C, os dentes revelaram igualmente aumentos contrastando assim com os ossos (Tabela 5). Apenas os indivíduos queimados a 500°C (mediana =9%) foram ligeiramente afetados pelo ambiente.

No C/C dos elementos não-queimados e queimados a 500°C, houve uma clara tendência de aumento, apesar de pouco substancial. Esta tendência foi apenas contrariada por um elemento queimado a 500°C com um pouco importante decréscimo de 1%. Nos elementos queimados a 900°C, não se observou uma tendência clara do tipo de alteração, apesar da maioria das amostras ósseas ter registado diminuições do C/C após a experiência. É, no entanto, de salientar que a mais importante alteração ocorreu no dente (+90.6%). No C/C não encontramos relevância no impacto do ambiente nas duas primeiras temperaturas (mediana <2,5%). Neste índice, o único valor absoluto considerável, por pouco, encontra-se nos 900°C (mediana = 14%).

Quanto ao API, notou-se uma clara tendência ascendente nas amostras não-queimadas. Observaram-se aumentos relevantes em todos os elementos, sendo o mais pequeno na ordem dos 24% e o maior na ordem dos 294%. No caso dos elementos queimados a 500°C, nenhuma tendência clara foi observada, tendo-se registado igualmente aumentos e decréscimos. No API temos uma situação contrastante nas duas temperaturas registadas, por um lado os não-queimados apresentam valores que demonstram um grande impacto causado pelo ambiente (mediana = 118%), por outro aos 500°C o contexto de deposição não teve alterações de destaque (mediana = 8%).

Em relação ao BPI, tal como no API, tanto no caso dos elementos não-queimados como no dos queimados a 500°C, as principais alterações foram observadas nas amostras do indivíduo CC_NI_62, com valores na ordem dos 150% aproximadamente. Aliás, as alterações no BPI foram em tudo semelhantes às observadas no caso do API. Em relação aos elementos queimados a 900°C, nenhuma tendência clara foi registada. Foi registada uma suscetibilidade considerável nos não-queimados deste índice (mediana = 43%), não apresentada aos 500°C (mediana = 7%), por fim, os valores absolutos da mediana voltam a ter uma pequena relevância aos 900°C (16%).

Por fim, as bandas dos hidróxilos de algumas amostras registaram importantes alterações, mas sem uma tendência esclarecedora. Novamente, tal como foi visto nos ambientes anteriores, o OH/P2 exibiu alterações relativas superiores às observadas para o OH/P1. Os hidroxilos demonstram pouca importância na magnitude das alterações causadas pelo ambiente (mediana <12%).

Neste ambiente, as maiores alterações afetaram o API e o BPI, a menor das quais se cifrou na ordem dos 39%. Se excluirmos os valores atípicos obtidos para as amostras do indivíduo CC_NI_62 (não-queimado e 500°C), conclui-se que o IC e o OH/P1 foram os índices mais estáveis.

Como podemos ver na figura 4, referente aos elementos submetidos à deposição no poço, o IC registou um pequeno aumento dos não-queimados aos 500°C e um decréscimo até aos 900°C. Por outro lado, o C/C manteve-se mais ou menos constante nos dois primeiros patamares de temperatura, crescendo de seguida por volta dos 30% até aos 900°C. O API, como anteriormente sofre uma diminuição íngreme entre os dois primeiros patamares de temperatura. Finalmente, o BPI sofre uma quebra de ordem semelhante, mais acentuada entre os não-queimados e os 500°C, e menos acentuada dos 500°C aos 900°C.

Tabela 5 – Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos submersos no poço durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs).

Elemento	°C	Dur.	IC		C/C		API		BPI		OH/P1		OH/P2	
			% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs
Dente B19	-	-	-5,94	5,94	2,32	2,32	24,48	24,48	2,80	2,80	-	-	-	-
CC_NI_45 U	-	-	-3,07	3,07	2,41	2,41	70,91	70,91	43,09	43,09	-	-	-	-
CC_NI_53 U	-	-	-4,08	4,08	4,08	4,08	97,18	97,18	40,39	40,39	-	-	-	-
CC_NI_57 U	-	-	-4,15	4,15	1,58	1,58	102,18	102,18	70,89	70,89	-	-	-	-
CC_NI_62 U	-	-	18,30	18,30	8,29	8,29	293,65	293,65	148,17	148,17	-	-	-	-
Média*			0,21	7,11	3,74	3,74	117,68	117,68	61,07	61,07	-	-	-	-
Mediana			-4,08	4,15	2,41	2,41	97,18	97,18	43,09	43,09				
Dente S1	500	60	4,72	4,72	6,65	6,65	-27,01	27,01	-17,00	17,00	-	-	-	-
CC_NI_45 T	500	60	-2,07	2,07	3,67	3,67	-2,30	2,30	-5,87	5,87	-	-	-	-
CC_NI_53 T	500	60	-10,52	10,52	2,43	2,43	-7,74	7,74	-6,10	6,10	-	-	-	-
CC_NI_57 T	500	60	-9,24	9,24	0,66	0,66	4,31	4,31	7,09	7,09	-	-	-	-
CC_NI_62 T	500	60	-25,63	25,63	-1,00	1,00	188,96	188,96	159,79	159,79	-	-	-	-
Média			-8,55	10,44	2,48	2,88	31,24	46,06	27,58	39,17	-	-	-	-
Mediana			-9,24	9,24	2,43	2,43	-2,30	7,74	-5,87	7,09				
Dente AE25	900	176	13,60	13,60	90,06	90,06	-	-	-82,82	82,82	12,86	12,86	23,40	23,40
CC_NI_45 F	900	176	-2,88	2,88	-47,01	47,01	-	-	16,48	16,48	-8,04	8,04	-12,05	12,05
CC_NI_53 F	900	176	-8,93	8,93	6,45	6,45	-	-	-31,83	31,83	-1,51	1,51	-11,03	11,03
CC_NI_57 F	900	176	-1,64	1,64	-13,01	13,01	-	-	14,54	14,54	3,09	3,09	-5,58	5,58
CC_NI_62 F	900	176	-1,35	1,35	-13,67	13,67	-	-	-10,38	10,38	8,89	8,89	37,45	37,45
Média			-0,24	5,68	4,57	34,04	-	-	-18,80	31,21	3,06	6,88	6,44	17,90
Mediana			-1,64	2,88	-13,01	13,67			-10,38	16,48	3,09	8,04	-5,58	12,05

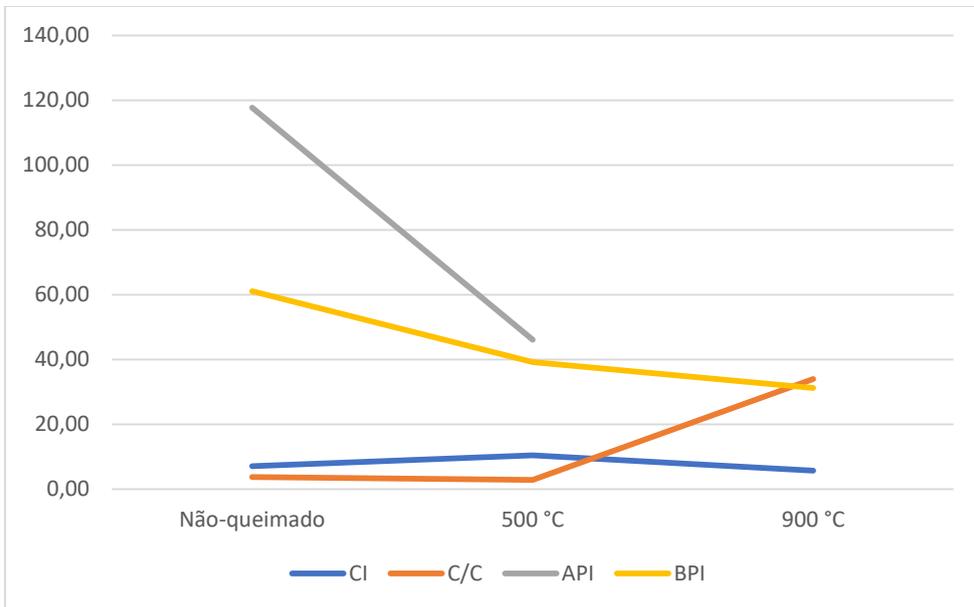


Figura 4 – Alterações médias obtidas em cada patamar térmico no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao poço. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs. diminuição).

3.4 Congelamento

A Tabela 6 mostra-nos que a tendência do IC nos elementos não-queimados foi essencialmente decrescente. Todos os valores pós-experiência diminuíram até um máximo de 10%. No caso dos queimados, a tendência manteve-se, tanto a 500°C como a 900°C, onde apenas o CC_NI_53T e o CC_NI_62F, respetivamente, contrariaram essa propensão. Porém, os aumentos nos valores destas amostras foram muito pouco importantes (cerca de 2%). Cenário diferente foi observado no dente queimado à temperatura mais elevada, apresentando um aumento mais importante, na ordem dos 13%. Este índice não mostrou ser afetado de maneira relevante pelo ambiente, com o valor máximo absoluto da mediana a chegar perto de 8%.

O C/C revelou uma tendência de aumento após a experiência no caso dos elementos não-queimados. Porém, este aumento foi muito ligeiro, sendo no máximo de apenas 5%, valor apresentado pelo dente; nos elementos que estiveram sujeitos à queima a 500°C, todos apresentaram um aumento neste índice, exceto, mais uma vez, o 62T. Contudo, a 900°C, essa tendência desapareceu, e obtivemos tanto aumentos como decréscimos. Podemos afirmar também que neste índice os dentes mantiveram comportamentos consistentes em todos os patamares de temperatura, tendo sido registado em todos os casos um aumento dos valores pós-experiência. O C/C, assim como o índice anterior, revela uma fraca suscetibilidade ao ambiente, através dos valores absolutos da mediana, com um máximo aos 900°C (mediana = 8%).

Passando aos carbonatos tipo A, observou-se uma clara tendência geral de aumento após a experiência em ambos os patamares de temperatura estudados (não-queimados e 500°C). No entanto, esse aumento foi muito mais evidente nos elementos não-queimados do que nos elementos queimados a 500°C durante a sua curta estadia no congelador. Os elementos não-queimados tiveram alterações mínimas na ordem dos 140%, ou seja, a curta estadia destes elementos no congelador teve ainda assim um impacto muito considerável nos valores do índice. Por outro lado, no caso dos elementos queimados a 500°C, o ambiente não teve o mesmo impacto, com uma alteração máxima na ordem dos 38% no caso do 45T. Porém, a mediana para este conjunto de amostras foi muito mais baixa (9%). No API, temos alterações absolutas causadas pelo ambiente relevantes nos não-queimados, onde foram registados valores perto de 209%. No entanto, aos 500°C, somos confrontados com uma descida grande para 9%, mostrando uma fraca suscetibilidade do índice causa pelo ambiente.

Nos carbonatos tipo B, a tendência observada para o API repetiu-se com alterações mais impactantes nos elementos não-queimados (103 a 217%) do que no caso dos 500°C (valor mínimo = 31%). Nos elementos queimados a 900°C, a tendência de aumento, muito substancial em alguns casos, manteve-se. Contudo, um caso de decréscimo na ordem dos 9% foi também registrado (53F). As alterações absolutas, sem ter em consideração a direção dessa alteração, indicaram importante suscetibilidade do BPI em elementos não-queimados (mediana = 126%) e elementos queimados a 900°C (mediana = 24%). Esse também foi o caso dos elementos queimados a 500°C, apesar de expressada em menor grau (mediana = 9%).

No caso dos OH/P dos elementos queimados a 900°C, não se obteve uma tendência clara ao nível das alterações pós-experiência, o índice OH/P2 continuou a apresentar alterações com valores mais elevados em relação aos OH/P1. No último caso, as alterações foram sempre menores a 8% com exceção do dente (19%). Os valores absolutos impactantes na nossa amostra vêm sem surpresa do OH/P2 (mediana = 21%).

Neste ambiente, observaram-se valores relativamente constantes no caso do IC e do CC, em todos os patamares de temperatura, observável na figura 5. Notou-se um decréscimo acentuado mais ou menos na mesma magnitude no caso do API e BPI. Neste último caso houve um ligeiro aumento dos valores até aos 900°C.

Tabela 6 – Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos congelados durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs).

Elemento	°C	Dur.	IC		C/C		API		BPI		OH/P1		OH/P2	
			% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs
Dente B28	-	-	-6,84	6,84	5,15	5,15	200,89	200,89	103,46	103,46	-	-	-	-
CC_NI_45 U	-	-	-8,86	8,86	4,52	4,52	226,65	226,65	128,13	128,13	-	-	-	-
CC_NI_53 U	-	-	-10,40	10,40	3,55	3,55	140,45	140,45	105,16	105,16	-	-	-	-
CC_NI_57 U	-	-	-0,07	0,07	0,04	0,04	292,02	292,02	217,88	217,88	-	-	-	-
CC_NI_62 U	-	-	-3,57	3,57	0,20	0,20	183,88	183,88	125,67	125,67	-	-	-	-
Média*			-5,95	5,95	2,69	2,69	208,78	208,78	136,06	136,06	-	-	-	-
Mediana			-6,84	6,84	3,55	3,55	200,89	200,89	125,67	125,67				
Dente S15	500	60	-3,13	3,13	1,70	1,70	8,79	8,79	4,26	4,26	-	-	-	-
CC_NI_45 T	500	60	-16,92	16,92	0,88	0,88	38,24	38,24	31,49	31,49	-	-	-	-
CC_NI_53 T	500	60	2,05	2,05	2,02	2,02	5,36	5,36	4,85	4,85	-	-	-	-
CC_NI_57 T	500	60	-1,98	1,98	0,23	0,23	7,94	7,94	9,35	9,35	-	-	-	-
CC_NI_62 T	500	60	-4,82	4,82	-3,98	3,98	11,87	11,87	16,80	16,80	-	-	-	-
Média			-4,96	5,78	0,17	1,76	14,44	14,44	13,35	13,35	-	-	-	-
Mediana			-3,13	3,13	0,88	1,70	8,79	8,79	9,35	9,35				
Dente AE7	900	176	13,11	13,11	6,60	6,60	-	-	23,75	23,75	18,48	18,48	21,42	21,42
CC_NI_45 F	900	176	-14,05	14,05	-11,50	11,50	-	-	66,67	66,67	-7,59	7,59	29,03	29,03
CC_NI_53 F	900	176	-5,03	5,03	5,81	5,81	-	-	-9,15	9,15	-0,78	0,78	-3,32	3,32
CC_NI_57 F	900	176	-7,98	7,98	-7,81	7,81	-	-	38,66	38,66	7,77	7,77	26,84	26,84
CC_NI_62 F	900	176	1,70	1,70	-8,81	8,81	-	-	5,53	5,53	-0,96	0,96	-8,84	8,84
Média			-2,45	8,37	-3,14	8,11	-	-	25,09	28,75	3,38	7,12	13,03	17,89
Mediana			-5,03	7,98	-7,81	7,81			23,75	23,75	-0,78	7,59	21,42	21,42

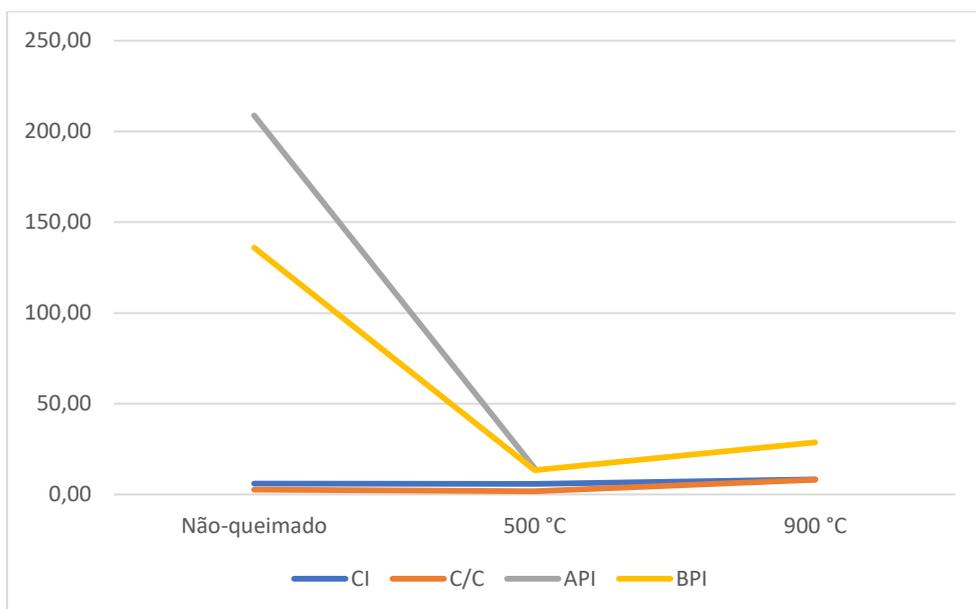


Figura 5 – Alterações médias obtidas em cada patamar térmico no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao congelador. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs. diminuição).

3.5 Betão

Devido a fragmentação do úmero, não foi possível fazer a experiência com o 62U. Assim sendo, os resultados não incluem esta amostra em nenhum índice desta temperatura, explicando o espaço em branco na Tabela 7.

O índice IC apresentou uma tendência negativa dos valores pós-experiência nos elementos não-queimados. Por seu lado, os elementos queimados a 500°C apresentaram alterações negligenciáveis. Finalmente, uma forte tendência positiva foi registada nos elementos queimados a 900°C. Portanto, no patamar dos 500°C, a deposição em betão durante os 3 meses parece não ter afetado em nada os ossos e dentes. Como podemos ver, a alteração com o valor absoluto maior encontrou-se na casa dos 2%. As alterações absolutas infligidas pelo ambiente fizeram-se notar pouco nos não-queimados (mediana = 9%), e foram minúsculas aos 500°C (mediana = 1%). O seu maior valor, já relevante deu-se aos 900°C (mediana = 16%).

O C/C nos elementos não-queimados apresentou uma clara tendência negativa após a experiência. Em relação aos elementos queimados a 500°C, a mesma tendência negativa foi registada, mas com um maior impacto do ambiente visto que a mediana das alterações absolutas se cifrou em 10%. Nos elementos queimados a 900°C, a tendência negativa observada nos outros dois conjuntos foi substituída por um cenário mais inconstante de amostras revelando aumentos e outras revelando diminuições. Em termos de valores absolutos da interação do ambiente com os ossos, temos uma tendência ascendente, os não queimados não apresentam valores relevantes (mediana = 5%), aos 500°C a media ascende a 10%, um valor que já se pode considerar, e, por fim, finaliza nos 24%, um resultado substancial.

No API, ambos os patamares de temperatura (não-queimados e 500°C) obtiveram aumentos muito relevantes, ou seja, o ambiente teve um impacto positivo considerável. No geral, as alterações absolutas foram da mesma magnitude, apresentando medianas acima entre os 116% e os 125%. Em ambos os casos talvez se deva notar que os dentes possuem dos valores mais altos. No API conseguimos assinalar alterações influentes do ambiente nos ossos e dentes, com ambos os registos de temperatura a dobrarem os seus valores originais, não-queimados (mediana = 104%) e 500°C (mediana = 125%).

No índice dos carbonatos do tipo B, o betão causou um maior impacto ao nível dos elementos não-queimados em relação ao API, com uma alteração absoluta mediana de 175%. No patamar dos 500°C a tendência manteve-se claramente positiva, mas

com alterações menores (mediana = 93%), ou seja, não houve um impacto tão substancial como o observado nos elementos não-queimados. O caso mais flagrante de alteração pós-experiência voltou a ser com uma amostra do indivíduo CC_NI_62, sugerindo que os seus ossos podem ter sido mais suscetíveis a alterações diagenéticas. Por fim, os elementos queimados a 900°C não revelaram uma tendência clara ao nível da direção da alteração. Porém, estes ossos queimados a esta temperatura revelaram menores alterações absolutas aparentemente causadas pelo ambiente (44%). Todo este índice é afetado em vários graus pelo ambiente em que foi registado, o valor absoluto mínimo foi obtido aos 900°C (mediana = 44%) e o máximo foi registado nos não queimados (mediana = 172%).

Comparando com os resultados para o OH/P1 e OH/P2 dos elementos queimados a 900°C nos outros ambientes, estes revelaram diferenças claras. Primeiro, os valores obtidos para o OH/P1 e o OH/P2 foram mais ou menos semelhantes em termos de mediana das alterações absolutas (5% vs 4%). Segundo, registou-se uma diferença ao nível das tendências de alteração de cada ambiente. Desta vez, as bandas dos hidroxilos apresentaram nos OH/P1 uma tendência de aumento não muito importante na maioria dos casos. No OH/P2, a tendência foi essencialmente de diminuição dos valores após a experiência, tendo, no entanto, sido registado um aumento importante na amostra 62F. Nenhum dos valores absolutos deste índice causou impacto nas amostras (mediana < 5%).

O C/C e o IC revelaram ser os índices mais consistentes em elementos não queimados e elementos queimados a 500°C. Essa consistência foi perdida em elementos queimados a 900°C, sendo que neste caso esse papel foi desempenhado pelos índices envolvendo os grupos hidroxilos (figura 6). Esta e outras diferenças podem ser rapidamente observadas na Tabela 8, referente à média de alterações relativas em cada índice estudado por ambiente.

Tabela 7 – Diferenças relativas entre valores antes e após a exposição dos elementos esqueléticos inseridos em betão durante três meses. São apresentados os valores com a direção da diferença (% Dir) e sem a direção da diferença (% Abs).

Elemento	°C	Dur.	IC		C/C		API		BPI		OH/P1		OH/P2	
			% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs	% Dir	% Abs
Dente J29	-	-	-11,03	11,03	-3,50	3,50	197,47	197,47	208,21	208,21	-	-	-	-
CC_NI_45 U	-	-	-13,39	13,39	-14,63	14,63	151,23	151,23	276,85	276,85	-	-	-	-
CC_NI_53 U	-	-	-5,32	5,32	-5,61	5,61	57,59	57,59	136,56	136,56	-	-	-	-
CC_NI_57 U	-	-	-6,43	6,43	-1,68	1,68	55,91	55,91	77,12	77,12	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Média*			-9,04	9,04	-6,35	6,35	115,55	115,55	174,68	174,68	-	-	-	-
Mediana			-8,73	8,73	-4,55	4,55	104,41	104,41	172,38	172,38				
Dente Y9	500	60	1,18	1,18	-9,96	9,96	126,09	126,09	93,21	93,21	-	-	-	-
CC_NI_45 T	500	60	-0,10	0,10	-3,95	3,95	73,73	73,73	59,63	59,63	-	-	-	-
CC_NI_53 T	500	60	1,55	1,55	-5,26	5,26	98,22	98,22	86,49	86,49	-	-	-	-
CC_NI_57 T	500	60	0,05	0,05	-10,95	10,95	125,21	125,21	92,79	92,79	-	-	-	-
CC_NI_62 T	500	60	-1,09	1,09	-23,03	23,03	160,83	160,83	127,10	127,10	-	-	-	-
Média			0,31	0,79	-10,63	10,63	116,82	116,82	91,85	91,85	-	-	-	-
Mediana			0,05	1,09	-9,96	9,96	125,21	125,21	92,79	92,79				
Dente AE14	900	176	12,88	12,88	-24,28	24,28	-	-	6,78	6,78	4,73	4,73	-1,38	1,38
CC_NI_45 F	900	176	21,22	21,22	48,73	48,73	-	-	-47,62	47,62	4,93	4,93	-13,81	13,81
CC_NI_53 F	900	176	15,68	15,68	6,52	6,52	-	-	44,36	44,36	0,98	0,98	-3,28	3,28
CC_NI_57 F	900	176	27,86	27,86	-6,35	6,35	-	-	125,46	125,46	4,69	4,69	-4,02	4,02
CC_NI_62 F	900	176	13,32	13,32	76,19	76,19	-	-	-39,38	39,38	16,06	16,06	18,75	18,75
Média			18,19	18,19	20,16	32,41	-	-	17,92	52,72	6,28	6,28	-0,75	8,25
Mediana			15,68	15,68	6,52	24,28			6,78	44,36	4,73	4,73	-3,28	4,02

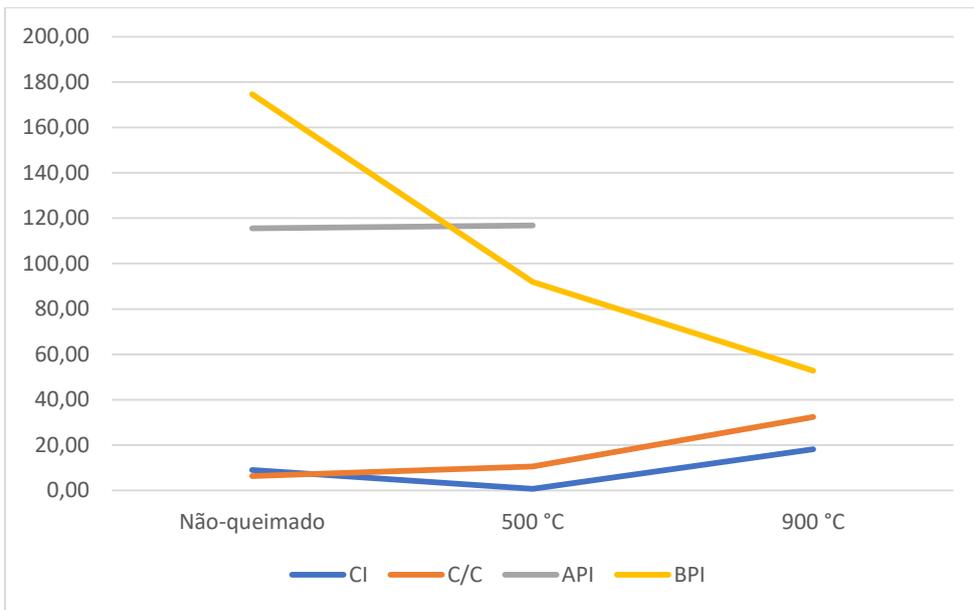


Figura 6– Alterações médias obtidas em cada patamar térmico no cálculo de cada índice quimiométrico após a exposição dos elementos esqueléticos ao betão. Foi tido em conta o valor da alteração sem a direção dessa mesma alteração (aumento vs. diminuição).

Tabela 8 – Média de alterações relativas, independentemente da direção da alteração (positiva ou negativa), com base em cada índice estudado por ambiente

	IC	C/C	API	BPI	OH/P2
Não-Queimado					
Ar livre	6,07	0,86	66,62	54,5	
Enterrado	5,65	4,01	115,95	41,36	
Poço	7,11	3,74	117,68	61,07	
Congelado	5,95	2,69	208,78	136,06	
Betão	9,04	6,35	115,55	174,68	
500 °C					
Ar livre	2,91	2,6	11,68	12,7	
Enterrado	6,73	2,69	13,13	8,69	
Poço	10,44	2,88	46,06	39,17	
Congelado	5,78	1,76	14,44	13,35	
Betão	0,79	10,63	116,82	91,85	
900 °C					
Ar livre	4,02	19,02		157,17	19,86
Enterrado	4,61	25,41		33,66	24,56
Poço	5,68	34,04		31,21	17,90
Congelado	8,37	8,11		28,75	17,89
Betão	18,19	32,41		52,72	8,25

Capítulo 4 - Discussão

O betão apresenta-se como o ambiente que mais alterações provocou às nossas amostras, em termos de impacto. Estas alterações atingem tanto os dentes como os ossos, afetando mais os índices com maior exposição aos carbonatos (API e BPI), com médias máximas de alterações de 116% e 175%, ambos nas amostras não queimadas, como se vê na Tabela 7. Este ambiente causou alterações consideráveis na maioria das amostras. Confirmou-se que este era o ambiente com mais impacto nas nossas amostras, e isso deveu-se sem dúvida à sua composição. Supomos que o grande impacto causado pelo ambiente nas amostras advém da grande disponibilidade de carbonato de cálcio presente no betão. Quando as amostras foram depositadas, o betão ainda se encontrava em estado aquoso, situação que muito provavelmente promoveu a sua penetração nos ossos e dentes e facilitou as trocas químicas (Cazalbou et al. 2005).

O ambiente que ficou mais próximo do nível de alterações revelado pelo betão foi o poço, também com mais de metade das amostras a sofrerem alterações pertinentes, mas de menor intensidade em relação ao betão. De novo, observou-se maior incidência de alterações nos índices API e BPI. Estes resultados também seriam de esperar porque é um ambiente muito facilitador de trocas, por ser um meio aquoso. Isto poderá indicar que a água do poço usado tem um elevado nível de carbonatos presentes na sua constituição elementar, e, assim sendo, estamos perante um caso de contaminação dos carbonatos exógenos (Snoeck et al. 2014). A concentração de cálcio é maior nas águas profundas porque normalmente o carbonato precipita até ao solo, como é o caso do poço tubular usado nesta experiência (Mendonça et al., 2008). Há uma precipitação de cálcio até às águas profundas devido à atividade biológica, maior solubilidade de carbonato de cálcio a temperaturas mais baixas e à decomposição da matéria orgânica em águas profundas (Paulos, 2008). Contudo esta última suposição não se pode confirmar porque não foram feitos exames à composição elementar da água, ou outro número relevante de fatores como pH ou temperatura. A explicação pode estar no facto de a dissolução do carbonato de cálcio ser uma reação exotérmica, logo favorecida a temperaturas baixas, e ainda, a decomposição da matéria orgânica libertar dióxido de carbono, consequentemente baixando o pH.

Por outro lado, o ambiente menos afetado pelas alterações diagenéticas foi o ar livre, como apresentado na Tabela 8. Na maioria das vezes, as reduzidas alterações observadas não foram muito consideráveis, com a exceção do BPI nos ossos queimados a 900°C. Este resultado é esperado porque com o aumento de temperatura, há um aumento do tamanho dos cristais, levando, portanto, a um maior

espaço nas lacunas entre eles, logo, maior permeabilidade e mais suscetibilidade à integração de carbonatos exógenos (Snoeck et al., 2014).

Snoeck e colaboradores (2014) explicam ainda que a matéria orgânica, mais propriamente o colagénio funciona como efeito de escudo para a matéria inorgânica garantindo a sua estabilidade. Quando este “efeito de blindagem térmica” é perdido até por volta dos 500°C, as superfícies minerais ficam totalmente expostas ao processo de aquecimento e a proteção começa a desaparecer (Person et al., 1996). Por volta dos 900°C toda a matéria orgânica foi perdida, o que conseqüentemente levaria à ocorrência de mais trocas com os ambientes na tentativa de encontrar um ponto de estabilidade, mas, como temperaturas acima dos 700°C conduzem a uma recristalização óssea e aumento dos cristais minerais, estes tornam-se menos reativos (Trueman, 2008; Snoeck et al., 2014). Assim sendo, seria expectável observarmos maiores alterações nas amostras queimadas a 500°C. Porém, isso não foi observado nas nossas experiências.

Como se pode observar pela análise das tabelas anteriores, nos nossos ambientes foram as amostras queimadas a 900°C que produziram mais vezes alterações atravessando vários índices. Contudo, em termos de magnitude das alterações, foi nos não-queimados que se registaram os maiores valores, mais concretamente através dos valores dos índices API e BPI, onde por várias vezes houve registos de alterações na ordem das centenas em termos de percentagem. Isto talvez se explique por as nossas amostras não-queimadas não estarem frescas. Passaram por um período de inumação prévio que certamente levou a alguma degradação da matéria orgânica e à conseqüente perda de algum do seu efeito protetor. No entanto, isto não explica porque é que as amostras a 500°C apresentaram o menor grau de alterações. Para além do mais, a perda de matéria orgânica em osso queimado a esta temperatura conduz a uma maior porosidade do osso, situação que deveria promover a penetração de materiais exógenos (Nielsen-Marsh e Hedges, 1999). A recristalização ocorrida a temperaturas mais elevadas conduz novamente a maior porosidade, como já foi descrito anteriormente, explicando esse efeito. De momento, não temos explicação para este cenário, mas os resultados sugerem que os processos diagenéticos envolvendo o esqueleto encerram grande complexidade de variáveis influentes.

O índice menos afetado foi o C/C para os não-queimados e queimados a 500°C possivelmente porque, tratando-se de um rácio calculado a partir dos carbonatos tipo A e carbonatos tipo B, estes acabam por revelar reações ao ambiente semelhantes, mantendo assim a sua proporção inicial. Isto só não ocorre nas

amostras queimadas a 900°C, revelando que estes dois tipos de carbonatos reagem de forma diferente ao ambiente. Os grandes aumentos dos valores do IC nos ossos queimados a 900 °C depositados no betão explicam-se talvez por uma recristalização acelerada das amostras. Esses IC, particularmente nos ossos, apresentam valores pouco comuns acima dos 7,50 revelando maior cristalinidade. Seja como for, o IC esteve claramente entre os índices mais estáveis e aparenta ser consistente em deposições curtas como a testada nesta investigação. Esse foi também o caso dos OH/P, mesmo no caso do OH/P2, cujo cálculo poderia ter sido mais afetado nos ambientes ricos em água cuja banda se sobrepõe frequentemente ao pico referente à alongação dos OH a 3572 cm⁻¹ (Mamede et al., 2018b).

Em termos de carbonatos, o osso recente, mesmo o inumado, é muito diferente em termos de composição do osso arqueológico (Snoeck et al. 2014). Os ossos usados nesta investigação já tinham sido sujeitos a diagénese durante a inumação no cemitério, e mesmo apesar do curto tempo de deposição, tanto no cemitério, como nos ambientes deposicionais, as amostras usadas revelaram claramente que havia ainda potencial para alterações químicas adicionais nos ossos, especialmente nos índices que envolvem carbonatos. Utilizar ossos humanos frescos seria assim ideal, e uma mais valia tanto nesta como noutras investigações antropológicas para documentar o real potencial de alteração diagenética. Visto que os dentes usados na nossa experiência eram relativamente frescos, esse problema não se coloca. As diferenças em termos de reação ao ambiente entre ossos e dentes pode em parte ter-se devido a essa questão. Porém, não se podem também descurar as diferenças de composição entre estes dois tipos de elementos (Barnuni et al., 2009).

Os nossos resultados sugerem que, para aumentar o nível de confiabilidade dos índices que usam os carbonatos, que como vimos foram os índices onde se registou maior impacto, seria importante pré-tratar os ossos com ácido acético para remover uma possível fonte de carbono exógeno nas amostras não-queimadas e queimadas a 500°C, tal como recomendado por Snoeck e colaboradores (2014). Trabalhos futuros que repliquem este poderão investigar até que ponto o nível de alterações registadas no API e no BPI, mas também no C/C em menor grau, diminui após a remoção dos carbonatos exógenos.

Capítulo 5 – Conclusão

Os resultados obtidos nesta investigação mostram-nos o impacto que os vários ambientes deposicionais conseguem ter nos ossos mesmo já não sendo frescos. Os processos diagenéticos, mesmo em deposições de curta duração foram principalmente observadas nas amostras que interagiram com o betão, tendo esse impacto sido transversal à maioria dos índices estudados nesse ambiente. Os carbonatos referenciaram os índices mais afetados mais isso deveu-se provavelmente à contaminação de carbonatos exógenos. O CI, o C/C e os OH/P revelaram estar menos sujeitos a alterações diagenéticas, apresentando-se por isso como índices que permitem inferências mais sólidas acerca dos ossos.

Este estudo é importante para investigações forenses, ao refletir sobre o impacto do ambiente deposicional em restos esqueléticos humanos, e da necessidade de se realizarem mais estudos inovadores, nomeadamente acerca do uso de outros índices além daqueles aqui estudados. Os estudos dos perfis infravermelhos em ossos e dentes são potencialmente importantes para, por exemplo, determinar a temperatura a que foram queimados e os seus limiares (Etok et al., 2007; Ellingham et al., 2015), qual o seu grau de preservação (Stiner et al. 2001) ou qual o seu teor de colagénio (Surovell e Stiner 2001).

Em investigações futuras seria interessante estudar mais condições deposicionais através do uso de câmaras de envelhecimento. Estas podem-nos dar informações sobre os processos diagénicos noutros contextos pertinentes como o ambiente marinho ou uma exposição solar intensa. Seria também aliciante fazer uma abordagem mais aprofundada a este tipo de investigação, e, se possível, usando restos humanos frescos. A abordagem poderia ser semelhante à adotada nesta investigação, fazendo uma análise quimiométrica a esses restos como controlo, uma sequente análise depois de passarem por um tratamento térmico, e por fim, uma nova análise depois de um período deposicional.

Além disso também seria bom examinar os próprios ambientes deposicionais para obter o maior nível de informação possível. No caso desta investigação, teria sido interessante saber as temperaturas do poço, pH da água e da terra, e outros constituintes elementares, e até registar as condições climatéricas bem como a fauna e flora existentes nas amostras depositadas ao ar livre. No caso das amostras congeladas, seria interessante que algumas experienciassem ciclos de gelo e degelo para simular melhor a sua exposição a fenómenos climatéricos reais.

É importante realçar o uso de uma abordagem holística em investigações forenses, pois só assim se conseguirá identificar eventos químicos passados e

presentes, ou outras pistas facultadas pelo contexto deposicional, para ter uma compreensão mais profunda e precisa da história tafonómica do osso, combinando análises macroscópicas e FTIR (Stiner et al., 2001).

Capítulo 6 – Bibliografía

- Amarante, A.I.C. da C. de M. 2016. *Burned bones vs unburned bones: a pilot study about the impact of differential post-depositional taphonomy on bioanthropological research*. Dissertação de Mestrado em Evolução e Biologia Humana, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra.
- Barnuni, C.P.; Rockenmacher, M.; Kramer, B. 2009. Composition of Bones and Teeth. *Nutrition Reviews*, 7(8): 239–242.
- Bartsiokas, A.; Middleton, A.P. 1992. Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19(1): 63–72.
- Basu, N.; Bandyopadhyay, S.K. 2017. Crime scene reconstruction—Sex prediction from blood stained foot sole impressions. *Forensic Science International*, 278(2017): 156–172.
- Campobasso, C. P.; Di Vella, G.; Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*, 120(1–2): 18–27.
- Cascant, M.M.; Rubio, S.; Gallello, G.; Pastor, A.; Garrigues, S.; Guardia, M. de la. 2017. Burned bones forensic investigations employing near infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 90: 21–30.
- Cate, A. T. 2008. The role of epithelium in the development, structure and function of the tissues of tooth support. *Oral Diseases*, 2(1): 55–62.
- Cazalbou, S.; Eichert, D.; Ranz, X.; Drouet, C.; Combes, C.; Harmand, M.F.; Rey, C. 2005. Ion exchanges in apatites for biomedical application. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(5): 405–409.
- Coelho, J. 2015. *Unwarping Heated Bones: A Quantitative Analysis of Heat-induced Skeletal Deformations Using 3D Geometric Morphometrics*. Dissertação de Mestrado em Evolução e Biologia Humana, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra.
- D’Elia, M.; Gianfrate, G.; Quarta, G.; Giotta, L.; Giancane, G.; Calcagnile, L. 2007. Evaluation of Possible Contamination Sources in the ¹⁴C Analysis of Bone Samples by FTIR Spectroscopy. *Radiocarbon*, 49(2): 201–210.
- Delabarde, T.; Keyser, C.; Tracqui, A.; Charabidze, D.; Ludes, B. 2013. The potential of forensic analysis on human bones found in riverine environment. *Forensic Science International*, 228(1–3): e1–e5.

- Dent, B.B.; Forbes, S.L.; Stuart, B.H. 2004. Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology*, 45(4): 576–585.
- Dirkmaat, D.C.; Cabo, L.L. 2016. Forensic Archaeology and Forensic Taphonomy: Basic Considerations on how to Properly Process and Interpret the Outdoor Forensic Scene. *Academic Forensic Pathology*, 6(3): 439–454.
- Dumser, T.K.; Türkay, M. 2008. Postmortem Changes of Human Bodies on the Bathyal Sea Floor—Two Cases of Aircraft Accidents Above the Open Sea. *Journal of Forensic Sciences*, 53(5): 1049–1052.
- Ellingham, S.T.D.; Thompson, T.J.U.; Islam, M.; Taylor, G. 2015. Estimating temperature exposure of burnt bone - A methodological review. *Science and Justice*, 55(3): 181–188.
- Etok, S.E.; Valsami-Jones, E.; Wess, T.J.; Hiller, J.C.; Maxwell, C.A.; Rogers, K.D.; Manning, D.A.C.; White, M.L.; Lopez-Capel, E.; Collins, M.J.; Buckley, M.; Penkman, K.E.H.; Woodgate, S.L. 2007. Structural and chemical changes of thermally treated bone apatite. *Journal of Materials Science*, 42(23): 9807–9816.
- Ferreira, J.L.; Ferreira, Á.E. de; Ortega, A.I. 2008. Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperatures. *Forensic Science International*, 178(2–3): 119–124.
- Gocha, T.P.; Schutkowski, H. 2013. Tooth Cementum Annulation for Estimation of Age-at-Death in Thermally Altered Remains. *Journal of Forensic Sciences*, 58(SUPPL. 1): S151–S155.
- Gonçalves, D. 2012. *Cremins: The value of quantitative analysis for the bioanthropological research of burned human skeletal remains*. Dissertação de Doutoramento em Antropologia Biológica, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra
- Gonçalves, D.; Cunha, E.; Thompson, T.J.U. 2015. Estimation of the pre-burning condition of human remains in forensic contexts. *International Journal of Legal Medicine*, 129(5): 1137–1143.
- Gonçalves, D.; Vassalo, A.R.; Mamede, A.P.; Makhoul, C.; Piga, G.; Cunha, E.; Marques, M.P.M.; Batista de Carvalho, L.A.E. 2018. Crystal clear: Vibrational spectroscopy reveals intrabone, intraskeleton, and interskeleton variation in human bones. *American Journal of Physical Anthropology*, 166(2): 296–312.

- Gouveia, M.; Oliveira-santos, I.; Luísa, A.; Gonçalves, D. 2016. Tons de fogo : estudo experimental sobre alterações térmico-induzidas em dentes humanos soltos. , (June): 29–42.
- Gouveia, M.F.; Oliveira Santos, I.; Santos, A.L.; Gonçalves, D. 2017. Sample-specific odontometric sex estimation: A method with potential application to burned remains. *Science and Justice*, 57(4): 262–269.
- Gouveia, M.F. 2015. *Avaliação do potencial da odontometria para a diagnose sexual em vestígios humanos queimados*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Biológica, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra
- Grupe, G.; Hummel, S. 1991. Trace element studies on experimentally cremated bone. I. Alteration of the chemical composition at high temperatures. *Journal of Archaeological Science*, 18(2): 177–186.
- Hau, T.C.; Hamzah, N.H.; Lian, H.H.; Amir Hamzah, S.P.A. 2014. Decomposition process and post mortem changes: Review. *Sains Malaysiana*, 43(12): 1873–1882.
- Heaton, V.; Lagden, A.; Moffatt, C.; Simmons, T. 2010. Predicting the Postmortem Submersion Interval for Human Remains Recovered from U.K. Waterways. *Journal of Forensic Sciences*, 55(2): 302–307.
- Hedges, R.E.M. 2002. Bone diagenesis: an overview of processes. *Archaeometry*, 44(3): 319–328.
- Ioan, B.G.; Manea, C.; Hanganu, B.; Statescu, L.; Solovastru, L.G.; Manoilescu, I. 2017. The chemistry decomposition in human corpses. *Revista de Chimie*, 68(6): 1450–1454.
- Ishikawa, N.; Miake, Y.; Kitamura, K.; Yamamoto, H. 2019. A new method for estimating time since death by analysis of substances deposited on the surface of dental enamel in a body immersed in seawater. *International Journal of Legal Medicine*, 133(5): 1421–1427.
- José A. 2019. *Reconstruir uma identidade: Caracterização de uma amostra da Coleção de Esqueletos Não Identificados do Cemitério dos Capuchos*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Forense. Universidade de Coimbra.
- Keough, N.; Myburgh, J.; Steyn, M. 2017. Scoring of Decomposition: A Proposed

- Amendment to the Method When Using a Pig Model for Human Studies. *Journal of Forensic Sciences*, 62(4): 986–993.
- Klinken, G.J. Van. 1999. Bone Collagen Quality Indicators for Palaeodietary and. *Journal of Archaeological Science*: 687–695.
- Lachowicz, J.I.; Palomba, S.; Meloni, P.; Carboni, M.; Sanna, G.; Floris, R.; Pusceddu, V.; Sarigu, M. 2017. Multi analytical technique study of human bones from an archaeological discovery. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 40: 54–60.
- Lebon, M.; Reiche, I.; Bahain, J.-J.; Chadeaux, C.; Moigne, A.-M.; Fröhlich, F.; Sémah, F.; Schwarcz, H.P.; Falguères, C. 2010. New parameters for the characterization of diagenetic alterations and heat-induced changes of fossil bone mineral using Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Archaeological Science*, 37(9): 2265–2276.
- Lozano, L.F.; Peña-Rico, M.A.; Heredia, A.; Ocotlán-Flores, J.; Gómez-Cortés, A.; Velázquez, R.; Belío, I.A.; Bucio, L. 2003. Thermal analysis study of human bone. *Journal of Materials Science*, 38(23): 4777–4782.
- Mamede, A.M.P. 2017. *Burned bones: a comparison of methodological approaches to assess heat-induced alterations*. Dissertação de Mestrado em Química Forense. Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra
- Mamede, A.P.; Gonçalves, D.; Marques, M.P.M.; Batista de Carvalho, L.A.E. 2018. Burned bones tell their own stories: A review of methodological approaches to assess heat-induced diagenesis. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(8): 603–635.
- Mamede, A.P.; Vassalo, A.R.; Piga, G.; Cunha, E.; Parker, S.F.; Marques, M.P.M.; Batista de Carvalho, L.A.E.; Gonçalves, D. 2018. a. Potential of Bioapatite Hydroxyls for Research on Archeological Burned Bone. *Analytical Chemistry*, 90(19): 11556–11563.
- Mamede, A.P.; Vassalo, A.R.; Piga, G.; Cunha, E.; Parker, S.F.; Marques, M.P.M.; Batista De Carvalho, L.A.E.; Gonçalves, D. 2018. b. Potential of Bioapatite Hydroxyls for Research on Archeological Burned Bone. *Analytical Chemistry*, 90(19): 11556–11563.
- Marques, M.P.M.; Mamede, A.P.; Vassalo, A.R.; Makhoul, C.; Cunha, E.; Gonçalves, D.; Parker, S.F.; Batista de Carvalho, L.A.E. 2018. Heat-induced Bone Diagenesis

Probed by Vibrational Spectroscopy. *Scientific Reports*, 8(1).

McCreadie, B.R.; Goldstein, S.A. 2000. Biomechanics of fracture: Is bone mineral density sufficient to assess risk? *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(12): 2305–2308.

Mendonça, L. A. R.; Santiago, M. O.; Frischkorn, H.; Sasaki, J. M. 2008. Problemas de cálcio na água de abastecimento de Nova Olinda – CE; 298-305 Vol13 Nº3

Mondello, C.; Cardia, L.; Ventura Spagnolo, E. 2019. Killing methods in Sicilian Mafia families. *The Medico-legal journal*, 87(1): 27–32.

Moraitis, K.; Spiliopoulou, C. 2010. Forensic implications of carnivore scavenging on human remains recovered from outdoor locations in Greece. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 17(6): 298–303.

Munro, L.E.; Longstaffe, F.J.; White, C.D. 2007. Burning and boiling of modern deer bone: Effects on crystallinity and oxygen isotope composition of bioapatite phosphate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 249(1–2): 90–102.

Nagy, G.; Lorand, T.; Patonai, Z.; Montsko, G.; Bajnoczky, I.; Marcsik, A.; Mark, L. 2008. Analysis of pathological and non-pathological human skeletal remains by FT-IR spectroscopy. *Forensic Science International*, 175(1): 55–60.

Nielsen-Marsh, C.M. & Hedges, R.E.M. 1997. Dissolution experiments on modern and diagenetically altered bone and the effect on the infrared splitting factor. *Bulletin de la Societe Geologique de France*. 168. 485-490.

Nielsen-Marsch, C.M.; Hedges, R.E.M.. 1999. Bone Porosity and the use of mercury intrusion in bone diagenesis studies. *Archaeometry*, 41(1): 165–174.

Oliveira-Santos, I. 2015. *Cimentocronologia: Estimativa de Idade-à-Morte numa Amostra de Dentes Queimados Identificados de Indivíduos Portugueses*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Biológica, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra

Oliveira-Santos, I.; Gouveia, M.; Cunha, E.; Gonçalves, D. 2017. The circles of life: age at death estimation in burnt teeth through tooth cementum annulations. *International Journal of Legal Medicine*, 131(2): 527–536.

Oliveira-Santos, I.; Ferreira, M.T.; Vassalo, A.R.; Cunha, E. 2018. Une Nouvelle Collection de Dents Modernes Identifiés au Laboratoire D ' Anthropologie

Forensique de L ' Université de Coimbra. XXXIIIème Colloque du GALF.

- Olsen, T.B.; Leth, P.M. 2018. Homicide victims concealed in a freezer. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 14(3): 386–389.
- Paschalis, E.P. 2009. Fourier transform infrared analysis and bone. *Osteoporosis International*, 20(6): 1043–1047.
- Paschalis, E.P.; Betts, F.; DiCarlo, E.; Mendelsohn, R.; Boskey, A.L. 1997. FTIR Microspectroscopic Analysis of Normal Human Cortical and Trabecular Bone. *Calcified Tissue International*, 61(6): 480–486.
- Paulos, E. 2008. *Qualidade da água para consumo humano*. Dissertação de Mestrado em Química Industrial, Universidade da Beira Interior.
- Person, A.; Bocherens, H.; Mariotti, A.; Renard, M. 1996. Diagenetic evolution and experimental heating of bone phosphate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 126(1–2): 135–149.
- Peters, F.; Schwarz, K.; Epple, M. 2000. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochimica Acta*, 361(1–2): 131–138.
- Piga, G.; Thompson, T.J.U.; Malgosa, A.; Enzo, S. 2009. The Potential of X-Ray Diffraction in the Analysis of Burned Remains from Forensic Contexts. *Journal of Forensic Sciences*, 54(3): 534–539.
- Piga, G.; Brunetti, A.; Lasio, B.; Enzo, S.; Malgosa, A. 2014. XRF investigation on skeletal remains from King Peter III of Aragon (1239–1285 A.D.) and Queen Blanche of Anjou (1280–1310 A.D.). *Applied Physics A*, 114(3): 647–653.
- Piga, G.; Gonçalves, D.; Thompson, T.J.U.; Brunetti, A.; Malgosa, A.; Enzo, S. 2016. Understanding the Crystallinity Indices Behavior of Burned Bones and Teeth by ATR-IR and XRD in the Presence of Bioapatite Mixed with Other Phosphate and Carbonate Phases. *International Journal of Spectroscopy*, 2016: 1–9.
- Piga, G.; Amarante, A.; Makhoul, C.; Cunha, E.; Malgosa, A.; Enzo, S.; Gonçalves, D. 2018. β -Tricalcium Phosphate Interferes with the Assessment of Crystallinity in Burned Skeletal Remains. *Journal of Spectroscopy*, 2018.
- Pokines, J.T. 2015. A procedure for processing outdoor surface forensic scenes yielding skeletal remains among leaf litter. *Journal of Forensic Identification*, 65(2): 161–172.

- Prangnell, J.; McGowan, G. 2009. Soil temperature calculation for burial site analysis. *Forensic Science International*, 191(1–3): 104–109.
- Preuss, J.; Strehler, M.; Dressler, J.; Risse, M.; Anders, S.; Madea, B. 2006. Dumping after homicide using setting in concrete and/or sealing with bricks--six case reports. *Forensic science international*, 159(1): 55–60.
- Reiche, I.; Vignaud, C.; Menu, M. 2002. The crystallinity of ancient bone and dentine: New insights by transmission electron microscopy. *Archaeometry*, 44(3): 447–459.
- Rey, C.; Renugopalakrishnan, V.; Collins, B.; Glimcher, M.J. 1991. Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging. *Calcified Tissue International*, 49(4): 251–258.
- Rubio, L.; Sioli, J.M.; Suarez, J.; Gaitan, M.J.; Martin-de-las-Heras, S. 2015. Spectrophotometric analysis of color changes in teeth incinerated at increasing temperatures. *Forensic Science International*, 252: 193.e1-193.e6.
- Sandholzer, M.A.; Sui, T.; Korsunsky, A.M.; Damien Walmsley, A.; Lumley, P.J.; Landini, G. 2014. X-ray Scattering Evaluation of Ultrastructural Changes in Human Dental Tissues with Thermal Treatment. *Journal of Forensic Sciences*, 59(3): 769–774.
- Savio, C.; Merlati, G.; Danesino, P.; Fassina, G.; Menghini, P. 2006. Radiographic evaluation of teeth subjected to high temperatures: Experimental study to aid identification processes. *Forensic Science International*, 158(2–3): 108–116.
- Schäfer, A.T.; Kaufmann, J.D. 1999. What happens in freezing bodies? Experimental study of histological tissue change caused by freezing injuries. *Forensic Science International*, 102(2–3): 149–158.
- Schiegl, S.; Goldberg, P.; Pfretzschner, H.-U.; Conard, N.J. 2003. Paleolithic burnt bone horizons from the Swabian Jura: Distinguishing between in situ fireplaces and dumping areas. *Geoarchaeology*, 18(5): 541–565.
- Schmidt, W. 2008. *The Analysis of Burned Human Remains*. 2nd Edition. Academic Press
- Scott, G. R.; Turner, C. G. 2000. *The anthropology of modern human teeth: dental morphology and its variation in recent human populations*. Cambridge, Cambridge University Press
- Shipman, P.; Foster, G.; Schoeninger, M. 1984. Burnt bones and teeth: an

- experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *Journal of Archaeological Science*, 11(4): 307–325.
- Sillen, A., Hoering, T. 1993. Chemical characterization of burnt bones from Swartkrans. In: Brain, C.K. (Ed.), *Swartkrans: a Cave's Chronicle of Early Man*. Transvaal Museum Monograph #8, pp. 243–249. Cape.
- Silva, F.C. 2007. Abordagem ao ritual funerário da cremação através da análise dos restos ósseos. *Al-Madan*, 11ª Série, 15: 40-48.
- Singh, R.; Deepa; Kaur, R. 2013. Diatomological mapping of water bodies – A future perspective. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20(6): 622–625.
- Snoeck, C.; Lee-Thorp, J.A.; Schulting, R.J. 2014. From bone to ash: Compositional and structural changes in burned modern and archaeological bone. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 416: 55–68.
- Solheim, T. 1990. Dental cementum apposition as an indicator of age. *European Journal of Oral Sciences*, 98(6): 510–519.
- Sorg, M.H. 2019. Differentiating trauma from taphonomic alterations. *Forensic Science International*, 302: 109893.
- Squires, K.E.; Thompson, T.J.U.; Islam, M.; Chamberlain, A. 2011. The application of histomorphometry and Fourier Transform Infrared Spectroscopy to the analysis of early Anglo-Saxon burned bone. *Journal of Archaeological Science*, 38(9): 2399–2409.
- Stiner, M.C.; Kuhn, S.L.; Surovell, T.A.; Goldberg, P.; Meignen, L.; Weiner, S.; Bar-Yosef, O. 2001. Bone preservation in Hayonim Cave (Israel): A macroscopic and mineralogical study. *Journal of Archaeological Science*, 28(6): 643–659.
- Stokes, K.L.; Forbes, S.L.; Tibbett, M. 2009. Freezing skeletal muscle tissue does not affect its decomposition in soil: Evidence from temporal changes in tissue mass, microbial activity and soil chemistry based on excised samples. *Forensic Science International*, 183(1–3): 6–13.
- Suckling, J.K.; Spradley, M.K.; Godde, K. 2016. A Longitudinal Study on Human Outdoor Decomposition in Central Texas. *Journal of Forensic Sciences*, 61(1): 19–25.
- Surovell, T.A.; Stiner, M.C. 2001. Standardizing Infra-red Measures of Bone Mineral Crystallinity: an Experimental Approach. *Journal of Archaeological Science*, 28(6):

633–642.

- Symes, S.A.; Rainwater, C.W.; Chapman, E.N.; Gipson, D.R.; Piper, A.L. 2008. Patterned thermal destruction of human remains in a forensic setting. In: *The Analysis of Burned Human Remains*. Elsevier, pp. 15–vi.
- Termine, J.D.; Posner, A.S. 1966. Infra-Red Determination of the Percentage of Crystallinity in Apatitic Calcium Phosphates. *Nature*, 211(5046): 268–270.
- Tersigni, M.A. 2007. Frozen Human Bone: A Microscopic Investigation. *Journal of Forensic Sciences*, 52(1): 16–20.
- Thompson, T.J.U. 2004. Recent advances in the study of burned bone and their implications for forensic anthropology. *Forensic Science International*, 146(SUPPL.): S203–S205.
- Thompson, T.J.U.; Gauthier, M.; Islam, M. 2009. The application of a new method of Fourier Transform Infrared Spectroscopy to the analysis of burned bone. *Journal of Archaeological Science*, 36(3): 910–914.
- Thompson, T.J.U.; Islam, M.; Piduru, K.; Marcel, A. 2011. 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*, 299(1–2): 168–174.
- Thompson, T.J.U.; Islam, M.; Bonniere, M. 2013. A new statistical approach for determining the crystallinity of heat-altered bone mineral from FTIR spectra. *Journal of Archaeological Science*, 40(1): 416–422.
- Tomé L. 2019. *O primeiro passo para a identificação: caracterização de uma amostra da Coleção de Esqueletos Não Identificados do Cemitério dos Capuchos*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Forense. Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Coimbra.
- Trueman, C.N.; Privat, K.; Field, J. 2008. Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 266(3–4): 160–167.
- Ubelaker, D.H. 2009. The forensic evaluation of burned skeletal remains: A synthesis. *Forensic Science International*, 183(1–3): 1–5.
- Vass, A. 2001. Beyond the grave – understanding human decomposition. *Microbiology Today*, 28(28): 190–192.

- Vassalo, A.R.; Cunha, E.; de Carvalho, L.A.E.B.; Gonçalves, D. 2016. Rather yield than break: assessing the influence of human bone collagen content on heat-induced warping through vibrational spectroscopy. *International Journal of Legal Medicine*, 130(6): 1647–1656.
- Vassalo, A.R.; Mamede, A.P.; Ferreira, M.T.; Cunha, E.; Gonçalves, D. 2019. The G-force awakens: the influence of gravity in bone heat-induced warping and its implications for the estimation of the pre-burning condition of human remains. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 51(2): 201–208.
- Wang, Q.; Zhang, Y.; Lin, H.; Zha, S.; Fang, R.; Wei, X.; Fan, S.; Wang, Z. 2017. Estimation of the late postmortem interval using FTIR spectroscopy and chemometrics in human skeletal remains. *Forensic Science International*, 281: 113–120.
- Wang, X.Y.; Zuo, Y.; Huang, D.; Hou, X.D.; Li, Y.B. 2010. Comparative study on inorganic composition and crystallographic properties of cortical and cancellous bone. *Biomedical and Environmental Sciences*, 23(6): 473–480.
- Weiner, S.; Goldberg, P.; Bar-Yosef, O. 1993. Bone Preservation in Kebara Cave, Israel using On-Site Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Journal of Archaeological Science*, 20(6): 613–627.
- Wescott, D.J. 2019. Postmortem change in bone biomechanical properties: Loss of plasticity. *Forensic Science International*, 300: 164–169.
- Wheatley, B.P. 2008. Perimortem or postmortem bone fractures? An experimental study of fracture patterns in deer femora. *Journal of Forensic Sciences*, 53(1): 69–72.
- White, T.D.; Black, M.T.; Folkens, P.A. 2012. Human Osteology. 3rd Edition San Diego, California: Elsevier Academic Press.
- Wright, L.E.; Schwarcz, H.P. 1996. Infrared and Isotopic Evidence for Diagenesis of Bone Apatite at Dos Pilas, Guatemala: Palaeodietary Implications. *Journal of Archaeological Science*, 23(6): 933–944.
- Zhou, C.; Byard, R.W. 2011. Factors and processes causing accelerated decomposition in human cadavers – An overview. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 18(1): 6–9.

Capítulo 7 – Apêndices

Apêndice 1 - Amostras nos ambientes



Figura 7 - Ambiente deposicional referente ao ar livre



Figura 8 - Ambiente deposicional referente ao enterramento



Figura 9 - Ambiente deposicional referente ao poço



Figura 10 - Ambiente deposicional referente ao congelamento



Figura 11 - Ambiente deposicional referente ao betão

Apêndice 2 - Fichas de Registo



COLEÇÃO DE ESQUELETOS NÃO IDENTIFICADOS DO CEMITÉRIO DOS CAPUCHOS

Esqueleto Não Identificado nº 45 Data: 23/10/18

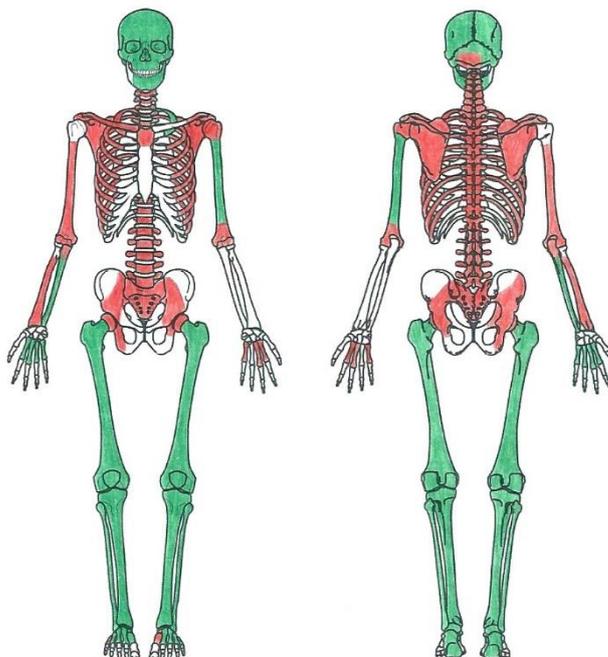
Observador: Laura Tomé Andreia Amor e Tiago Goulinho

Esqueleto utilizado em outro estudo

Qual: Dimensão do Membro de Tiago Goulinho

Esqueleto passível de ser utilizado em futuras análises destrutivas

Preservação e representatividade esquelética:



Legenda: Ausente (branco); Presente e completo (verde); Presente e fragmentado (vermelho); Queimado (azul); Dispositivos médicos (preto).



1

Figura 12 - Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_45



COLEÇÃO DE ESQUELETOS NÃO IDENTIFICADOS DO CEMITÉRIO DOS
CAPUCHOS

Esqueleto Não Identificado nº 53 Data: _____

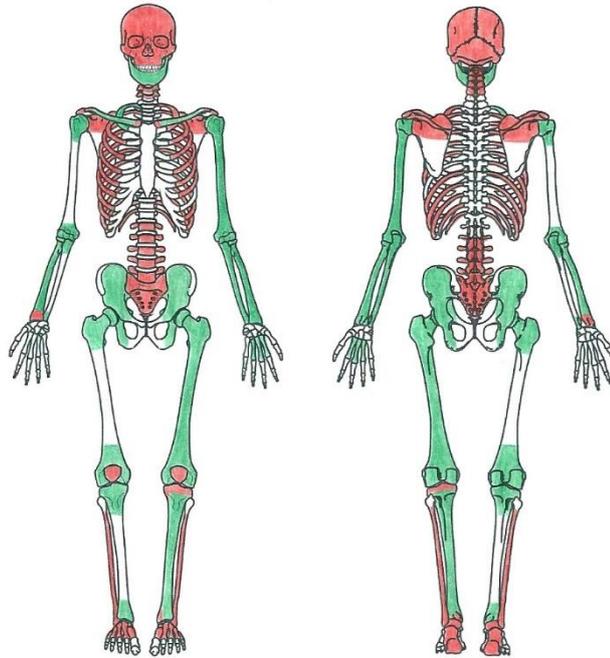
Observador: Laísia Romei Andreia yori e Jéago Gaudêncio

Esqueleto utilizado em outro estudo

Qual: Diagnóstico de Aberração de Patrícia Gláudio e Jéago Gaudêncio

Esqueleto passível de ser utilizado em futuras análises destrutivas

Preservação e representatividade esquelética:



Legenda: Ausente (branco); Presente e completo (verde); Presente e fragmentado (vermelho); Queimado (azul); Dispositivos médicos (preto).



1

Figura 13 - Ficha de registro de preservação do indivíduo CC_NI_53



COLEÇÃO DE ESQUELETOS NÃO IDENTIFICADOS DO CEMITÉRIO DOS
CAPUCHOS

Esqueleto Não Identificado nº 57 Data: 28/10/18

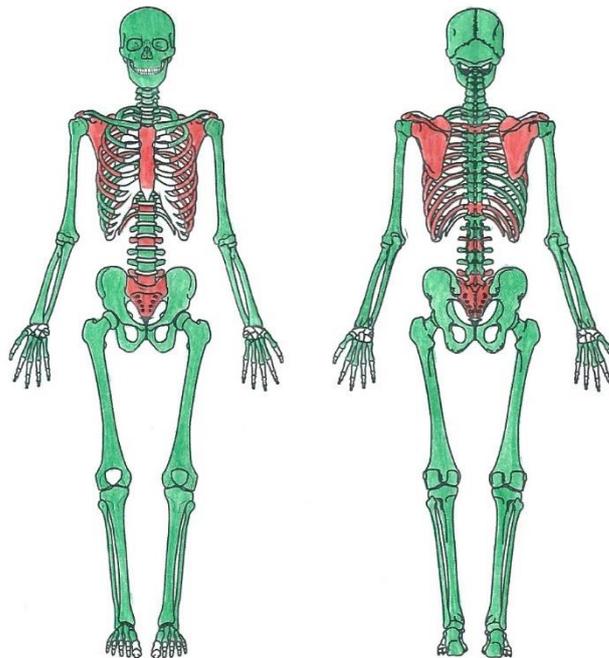
Observador: Ásua Joana Almeida Peres e Tiago Goulinho

Esqueleto utilizado em outro estudo

Qual: Discretação de Alvarado de Tiago Goulinho

Esqueleto passível de ser utilizado em futuras análises destrutivas

Preservação e representatividade esquelética:



Legenda: Ausente (branco); Presente e completo (verde); Presente e fragmentado (vermelho); Queimado (azul); Dispositivos médicos (preto).



1

Figura 14 - Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_57



COLEÇÃO DE ESQUELETOS NÃO IDENTIFICADOS DO CEMITÉRIO DOS
CAPUCHOS

Esqueleto Não Identificado nº 62 Data: _____

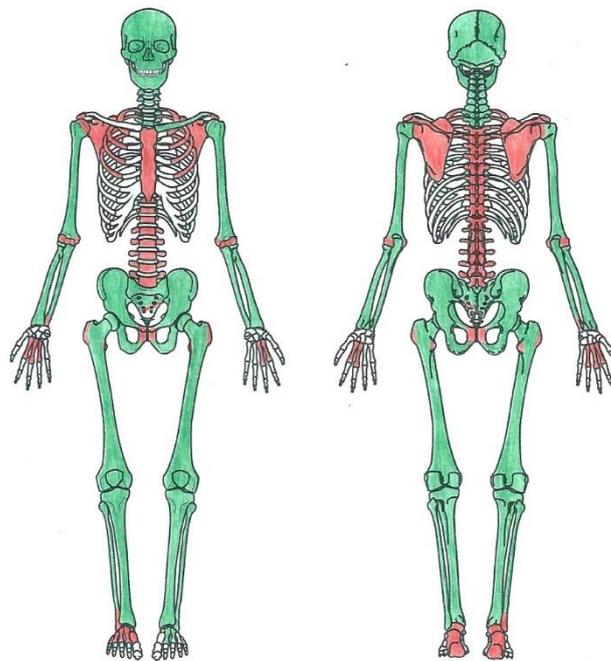
Observador: Laura Tomé Andreia yoná e Tiago Coutinho

Esqueleto utilizado em outro estudo

Qual: Dimentação do dentado de Tiago Coutinho

Esqueleto passível de ser utilizado em futuras análises destrutivas

Preservação e representatividade esquelética:



Legenda: Ausente (branco); Presente e completo (verde); Presente e fragmentado (vermelho); Queimado (azul); Dispositivos médicos (preto).



I

Figura 15 - Ficha de registo de preservação do indivíduo CC_NI_62

Apêndice 3 - Figuras complementares



Figura 16 - Sistema de identificação amostras



Figura 17 - Disposição de um grupo de ossos e dentes no forno



Figura 18 - Capela de exaustão utilizada para ventilação durante a realização das secções

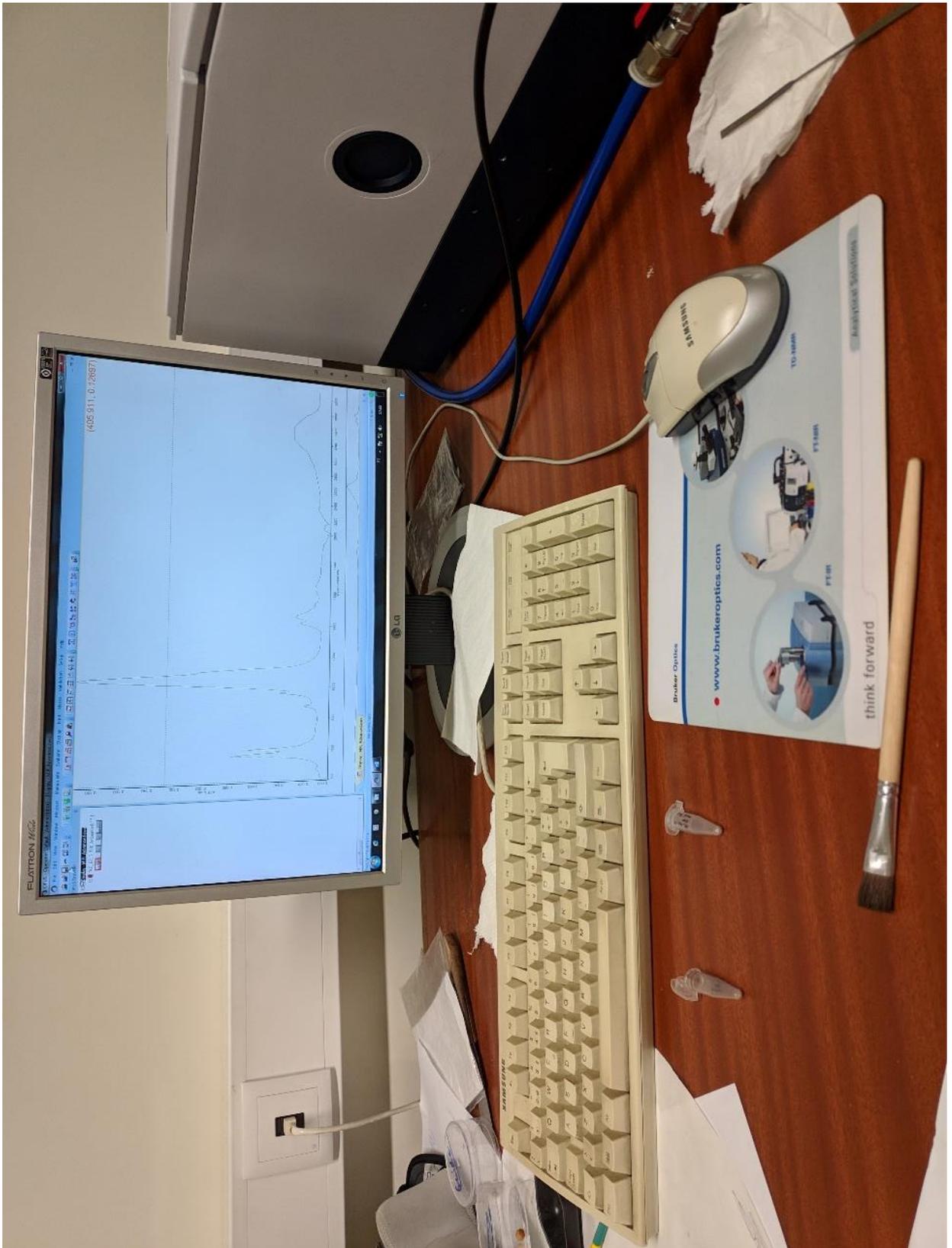


Figura 19 - Espectro obtido através do Software OPUS



Figura 20 - Equipamento FTIR-ATR

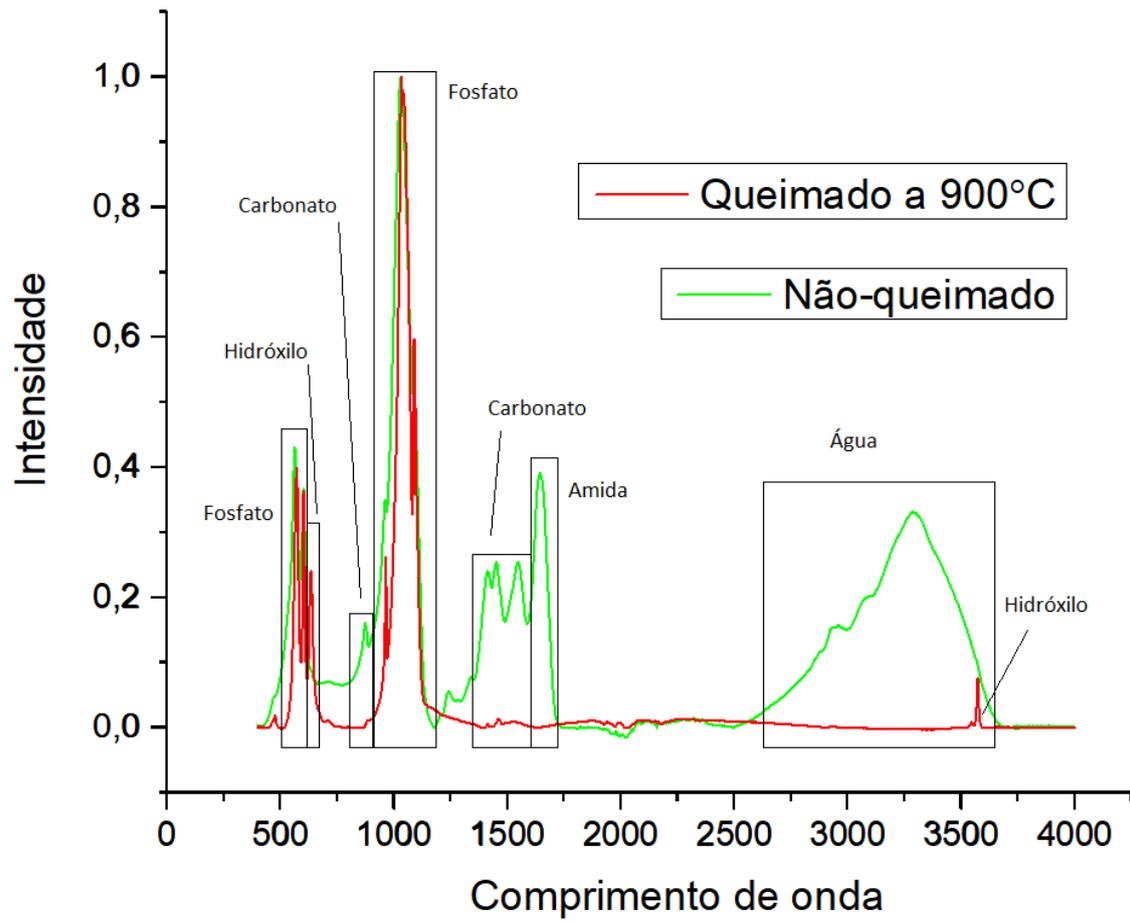


Figura 21 - Gráfico comparativo entre osso queimado e não queimado e as zonas impactantes de íões e moléculas

Apêndice 4 - Tabelas de valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos aos ambientes durante três meses

Tabela 9: Valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao ar livre durante três meses

Designação	Osso ou dente	Osso	Experiência	Temperatura	Duração (min)	CI AE	CI DE	C/C AE	C/C DE	API AE	API DE	BPI AE	BPI DE	OH/P2 AE	OH/P2 DE
B2	0	3	1	0	999	2,84	2,82	0,94	0,95	0,86	1,41	1,14	1,67		
CC_NI_45 U	1	0	1	0	999	3,11	4,35	1,01	0,99	0,69	0,47	0,76	0,51		
CC_NI_53 U	1	0	1	0	999	2,98	2,86	0,99	0,99	1,02	1,43	1,19	1,55		
CC_NI_57 U	1	0	1	0	999	2,93	3,12	0,98	0,97	0,89	1,87	0,98	1,97		
CC_NI_62 U	1	0	1	0	999	3,19	3,60	1,01	1,01	0,79	1,21	0,81	1,12		
Y5	0	3	1	1	60	3,32	3,19	0,97	1,01	0,25	0,19	0,77	0,60		
CC_NI_45 T	1	2	1	1	60	3,79	3,69	1,10	1,10	0,14	0,16	0,45	0,53		
CC_NI_53 T	1	2	1	1	60	3,48	3,48	1,04	1,06	0,21	0,22	0,63	0,65		
CC_NI_57 T	1	2	1	1	60	3,39	3,40	1,01	1,04	0,21	0,21	0,66	0,68		
CC_NI_62 T	1	2	1	1	60	4,30	3,97	1,21	1,15	0,13	0,15	0,38	0,45		
AA5	0	3	1	2	176	6,42	6,53	1,24	1,22			0,07	0,06	0,23	0,22
CC_NI_45 F	1	1	1	2	176	7,54	6,99	2,29	1,50			0,02	0,08	0,21	0,15
CC_NI_53 F	1	1	1	2	176	6,98	6,42	1,44	1,00			0,14	0,46	0,21	0,17
CC_NI_57 F	1	1	1	2	176	6,06	5,97	1,51	1,27			0,13	0,23	0,15	0,11
CC_NI_62 F	1	1	1	2	176	6,47	6,36	1,38	1,20			0,14	0,26	0,13	0,15

Tabela 10: Valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos à inumação durante três meses

Designação	Osso ou dente	Osso	Experiência	Temperatura	Duração (min)	CI AE	CI DE	C/C AE	C/C DE	API AE	API DE	BPI AE	BPI DE	OH/P2 AE	OH/P2 DE
B26	0	3	2	0	999	2,85	2,71	0,95	0,95	0,90	0,95	1,17	1,11		
CC_NI_45 U	1	0	2	0	999	3,51	3,44	1,06	1,13	0,70	2,05	0,66	1,32		
CC_NI_53 U	1	0	2	0	999	2,84	2,71	0,97	0,98	0,99	1,39	1,18	1,34		
CC_NI_57 U	1	0	2	0	999	2,82	2,72	0,94	0,94	0,93	1,40	1,19	1,57		
CC_NI_62 U	1	0	2	0	999	3,70	3,20	0,97	1,08	0,30	1,18	0,58	0,90		
S12	0	3	2	1	60	3,31	3,06	0,99	1,02	0,19	0,18	0,64	0,59		
CC_NI_45 T	1	2	2	1	60	3,36	3,03	0,96	0,97	0,25	0,25	0,75	0,75		
CC_NI_53 T	1	2	2	1	60	3,40	3,08	1,00	1,01	0,28	0,25	0,77	0,72		
CC_NI_57 T	1	2	2	1	60	3,58	3,67	1,01	1,04	0,23	0,21	0,65	0,63		
CC_NI_62 T	1	2	2	1	60	4,24	4,42	1,32	1,26	0,10	0,14	0,29	0,36		
AA6	0	3	2	2	176	5,74	6,01	1,16	1,85			0,04	0,01	0,21	0,25
CC_NI_45 F	1	1	2	2	176	6,72	6,23	2,09	1,55			0,10	0,13	0,18	0,13
CC_NI_53 F	1	1	2	2	176	7,20	6,56	2,17	1,53			0,06	0,08	0,29	0,46
CC_NI_57 F	1	1	2	2	176	6,23	6,27	1,36	1,39			0,16	0,18	0,12	0,14
CC_NI_62 F	1	1	2	2	176	6,46	6,56	1,22	1,33			0,17	0,14	0,13	0,13

Tabela 11: Valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao poço durante três meses

Designação	Osso ou dente	Osso	Experiência	Temperatura	Duração (min)	CI AE	CI DE	C/C AE	C/C DE	API AE	API DE	BPI AE	BPI DE	OH/P2 AE	OH/P2 DE
B19	0	3	3	0	999	2,86	2,69	0,95	0,97	0,79	0,99	1,08	1,11		
CC_NI_45 U	1	0	3	0	999	3,33	3,23	1,05	1,07	0,76	1,30	0,73	1,05		
CC_NI_53 U	1	0	3	0	999	2,91	2,79	0,98	1,02	0,91	1,80	1,09	1,53		
CC_NI_57 U	1	0	3	0	999	2,81	2,69	0,95	0,96	0,94	1,90	1,16	1,98		
CC_NI_62 U	1	0	3	0	999	3,25	3,84	1,00	1,09	0,89	3,50	0,90	2,22		
S1	0	3	3	1	60	3,17	3,32	0,99	1,05	0,20	0,15	0,64	0,53		
CC_NI_45 T	1	2	3	1	60	3,47	3,40	1,02	1,06	0,20	0,19	0,61	0,57		
CC_NI_53 T	1	2	3	1	60	3,52	3,15	1,02	1,04	0,23	0,21	0,66	0,62		
CC_NI_57 T	1	2	3	1	60	3,49	3,17	1,02	1,03	0,22	0,23	0,63	0,68		
CC_NI_62 T	1	2	3	1	60	4,88	3,63	1,24	1,22	0,04	0,13	0,14	0,37		
AE25	0	3	3	2	176	5,58	6,34	1,09	2,08			0,06	0,01	0,17	0,21
CC_NI_45 F	1	1	3	2	176	7,14	6,94	2,13	1,13			0,04	0,04	0,20	0,17
CC_NI_53 F	1	1	3	2	176	7,13	6,49	1,24	1,32			0,15	0,10	0,18	0,16
CC_NI_57 F	1	1	3	2	176	5,90	5,81	1,39	1,21			0,20	0,23	0,12	0,11
CC_NI_62 F	1	1	3	2	176	6,39	6,30	1,38	1,19			0,16	0,15	0,12	0,17

Tabela 12: Valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao congelamento durante três meses

Designação	Osso ou dente	Osso	Experiência	Temperatura	Duração (min)	CI AE	CI DE	C/C AE	C/C DE	API AE	API DE	BPI AE	BPI DE	OH/P2 AE	OH/P2 DE
B28	0	3	4	0	999	2,81	2,62	0,94	0,99	0,93	2,81	1,21	2,45		
CC_NI_45 U	1	0	4	0	999	3,49	3,18	1,06	1,11	0,69	2,26	0,65	1,49		
CC_NI_53 U	1	0	4	0	999	2,97	2,66	0,98	1,02	1,03	2,47	1,17	2,41		
CC_NI_57 U	1	0	4	0	999	2,80	2,80	0,93	0,93	0,89	3,49	1,18	3,76		
CC_NI_62 U	1	0	4	0	999	3,32	3,20	0,97	0,97	0,82	2,32	0,92	2,08		
S15	0	3	4	1	60	3,21	3,11	0,97	0,98	0,21	0,23	0,67	0,70		
CC_NI_45 T	1	2	4	1	60	3,51	2,92	1,01	1,02	0,20	0,28	0,62	0,82		
CC_NI_53 T	1	2	4	1	60	3,43	3,50	0,99	1,01	0,25	0,27	0,72	0,76		
CC_NI_57 T	1	2	4	1	60	3,39	3,32	1,00	1,00	0,24	0,26	0,71	0,78		
CC_NI_62 T	1	2	4	1	60	4,14	3,94	1,30	1,25	0,11	0,12	0,32	0,37		
AE7	0	3	4	2	176	6,20	7,01	1,22	1,30			0,05	0,06	0,20	0,25
CC_NI_45 F	1	1	4	2	176	6,81	5,86	1,45	1,29			0,22	0,37	0,13	0,17
CC_NI_53 F	1	1	4	2	176	7,29	6,93	1,32	1,40			0,12	0,11	0,19	0,18
CC_NI_57 F	1	1	4	2	176	6,41	5,89	1,40	1,29			0,18	0,25	0,14	0,17
CC_NI_62 F	1	1	4	2	176	6,41	6,52	1,65	1,51			0,06	0,06	0,17	0,16

Tabela 13: Valores absolutos dos índices obtidos antes e após a exposição dos elementos esqueléticos ao betão durante três meses

Designação	Osso ou dente	Osso	Experiência	Temperatura	Duração (min)	CI AE	CI DE	C/C AE	C/C DE	API AE	API DE	BPI AE	BPI DE	OH/P2 AE	OH/P2 DE
J29	0	3	6	0	999	2,94	2,62	0,95	0,92	0,82	2,45	1,07	3,31		
CC_NI_45 U	1	0	6	0	999	3,56	3,09	1,07	0,92	0,74	1,87	0,68	2,56		
CC_NI_53 U	1	0	6	0	999	2,90	2,74	0,98	0,92	1,21	1,91	1,22	2,89		
CC_NI_57 U	1	0	6	0	999	2,80	2,62	0,92	0,91	1,00	1,56	1,33	2,36		
Y9	0	3	6	1	60	3,34	3,38	1,00	0,90	0,21	0,49	0,71	1,37		
CC_NI_45 T	1	2	6	1	60	3,39	3,39	0,97	0,93	0,23	0,40	0,71	1,13		
CC_NI_53 T	1	2	6	1	60	3,61	3,66	1,01	0,96	0,23	0,46	0,65	1,21		
CC_NI_57 T	1	2	6	1	60	3,54	3,54	1,06	0,95	0,20	0,45	0,61	1,17		
CC_NI_62 T	1	2	6	1	60	4,15	4,10	1,24	0,95	0,11	0,29	0,33	0,75		
AE14	0	3	6	2	176	5,97	6,74	1,25	0,95			0,08	0,08	0,21	0,21
CC_NI_45 F	1	1	6	2	176	6,80	8,24	1,11	1,65			0,43	0,22	0,16	0,14
CC_NI_53 F	1	1	6	2	176	7,14	8,26	1,89	2,01			0,08	0,11	0,23	0,23
CC_NI_57 F	1	1	6	2	176	6,34	8,11	1,51	1,41			0,13	0,29	0,17	0,17
CC_NI_62 F	1	1	6	2	176	6,61	7,49	1,74	3,07			0,03	0,02	0,18	0,22