

*Pela Salvaguarda e Protecção
dos Patrimónios!*

**ANÁLISE ESTÁVEL DE ISÓTOPOS APLICADA À
ZOOARQUEOLOGIA
- CONCEITOS, EXEMPLOS E CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DO
PASSADO -**

**STABLE ISOTOPE ANALYSIS APPLIED TO ZOOARQUEOLOGY
- CONCEPTS, EXAMPLES AND CONTRIBUTION TO THE STUDY OF
THE PAST –**

Cátia Sofia Machado Teixeira

Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências Humanas e Sociais
Departamento de Artes e Humanidades
Núcleo de Alunos em Arqueologia e Paleoecologia
Campus Gambelas, 8005-139, Faro
catia.teixeira90@gmail.com

Análise Estável de Isótopos Aplicada à Zooarqueologia - conceitos, exemplos e contribuição para o estudo do passado -

Cátia Sofia Machado Teixeira

Historial do artigo:

Recebido a 15 de abril de 2019

Revisto a 20 de junho de 2019

Aceite a 07 de julho de 2019

RESUMO

A análise estável de isótopos representa uma das inovações fundamentais que mais impacto teve na Arqueologia Ambiental nos últimos 30 anos. Atualmente, a análise estável de isótopos constitui uma ferramenta crucial nos estudos da paleoclimatologia, no estudo da osteologia humana, e sobretudo, nas diferentes áreas que englobam a Arqueologia, como por exemplo, na Zooarqueologia. Esta nova ferramenta laboratorial permite responder a questões paleoambientais de forma mais concreta, estando constantemente a ser refinada e a desenvolver técnicas inovadoras. A importância dos isótopos é bastante clara, uma vez que estão presentes em todo o ambiente. Os isótopos são incorporados nas plantas através do solo e água, e em animais através da sua alimentação e respiração.

Em suma, as inúmeras questões que são abordadas no campo da Arqueologia poderão ser respondidas pela análise estável de isótopos feita através de laboratórios de bioquímica, mais precisamente relacionadas com o estudo das paleodietas, no estudo de questões paleoambientais e no estudo de mobilidade.

Palavras-chave: Análise estável de isótopos, Arqueologia Ambiental, Zooarqueologia.

ABSTRACT

The stable isotope analysis is an essential innovation that represents one of the most crucial advances in the study of Environmental Archaeology during the last 30 years. Currently, the stable isotope analysis is a crucial tool for the studies of paleoclimate, human osteology, and mainly, through the different disciplines that encompasses Archaeology, for example, in Zooarchaeology. This new laboratorial tool allows us to answer paleoenvironmental issues in a more tangible way. It continues to be constantly developed and thus emerging with innovative techniques. The significance of isotopes is quite clear, as they are existent throughout the environment. The isotopes are incorporated on plants through soil and water, and into animals through their feeding and breathing.

Summing up, the numerous questions that are addressed in the Archeological field can be answered by the stable isotope analysis studied in biochemical laboratories. More precisely, related to the study of paleodiets, the study of paleoenvironmental problems and the study of mobility.

Key-words: Stable isotope analysis, Environmental Archaeology, Zooarchaeology.

1. Introdução

A aplicação da análise isotópica na Arqueologia e, sobretudo, na Zooarqueologia, progrediu substancialmente nos últimos anos, utilizando técnicas químicas inovadoras em análise laboratorial.

Quando a análise estável de isótopos é usada para discutir tópicos em Zooarqueologia, esta poderá fornecer dados fundamentais para compreender a ecologia, a fisiologia e o desenvolvimento osteológico de taxa amostrados (Makarewicz, 2016). A recolha de amostras de informações paleoambientais tornou-se uma prática bem estabelecida. Por exemplo, alguns estudos de isótopos estáveis em arqueologia centram-se no fracionamento isotópico de oxigénio ($\delta^{18}\text{O}$) em conchas para reconstruir a estação de recolha e, por extensão, a estação de utilização do local (Cramp e Evershed, 2014). Por outro lado, a análise de fracionamento isotópico de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e azoto ($\delta^{15}\text{N}$) do colagénio ósseo permite estabelecer diferenças entre as dietas de origem vegetal C_3 e/ou C_4 de origem animal (Bocherens e Drucker, 2003). Relativamente ao estrôncio ($^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$), este permite investigar questões sobre a dieta humana e animal, bem como estratégias de pastoreio sazonal, redes de intercâmbio económico, entre muitos outros (Bentley, 2006).

O objetivo principal deste estudo consiste na obtenção de informação sobre a análise estável de isótopos aplicada à Zooarqueologia. Os objetivos específicos a abordar ao longo da realização deste estudo constam de:

- 1.1. Estabelecimento e definição dos isótopos e dos respetivos fracionamentos;
- 1.2. Explicação das metodologias analíticas;
- 1.3. Contributo e limitações da aplicação isotópica em Zooarqueologia.

Pretende-se com este estudo responder aos objetivos específicos referidos anteriormente. Sobretudo, na compreensão sobre a importância da análise isotópica na Arqueologia, especialmente na Zooarqueologia. A importância da análise isotópica no estudo das sociedades humanas do passado será abordada com frequência ao longo deste estudo. Particularmente, na sua representação como uma ferramenta indispensável na relação do Homem com a fauna existente. Outros aspectos como o estudo das paleodietas, a reconstrução paleoambiental, e mobilidade serão, de igual forma, abrangidos nesta análise, correspondendo sempre com via em questões faunísticas.

2. Análise Estável de Isótopos

2.1. Terminologia e Definições

Originalmente introduzido pelo químico Frederick Soddy e pela escocesa Margaret Todd em 1913, o termo isótopo só veio a ser diferenciado por J. J. Thomson no mesmo ano, descobrindo que nem todos

os isótopos são radioativos, mas que alguns são estáveis (Brown e Brown, 2011). A terminologia para “Isótopo” provém do grego *Ísos* (mesmo) e *tópos* (lugar) (Saragoça, 2014).

A descoberta da existência de formas alternadas de um mesmo elemento veio a definir a seguinte definição para “Isótopo”: os isótopos são átomos de um dado elemento que têm o mesmo número atômico de prótons e diferente número de massa ou de neutrões (Umbelino, 2006; Brown e Brown, 2011; Saragoça, 2014) (vd. **Figura 1.**).

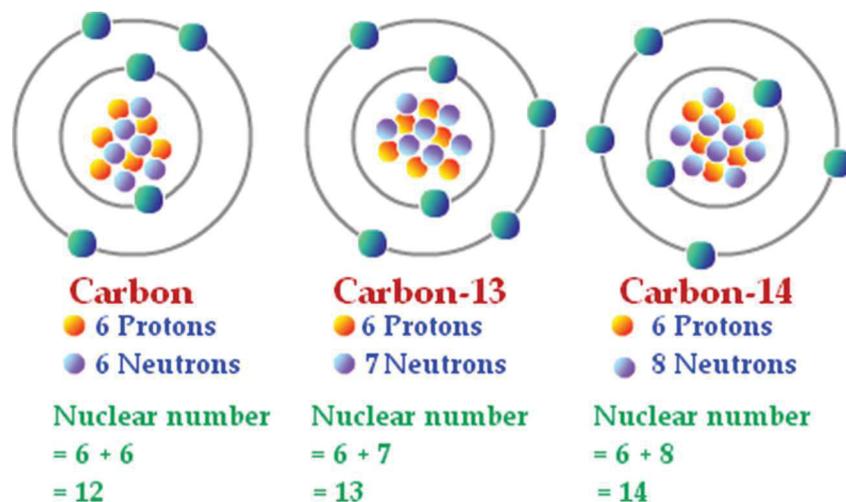


Figura 1. Diagrama com as diferentes representações do Isótopo de Carbono. **Fonte:** Tutor Circle, 2017.

Tal como J. J. Thomson haveria afirmado, os isótopos poderão ser classificados em dois grupos: radioativos ou estáveis. Os isótopos radioativos, por exemplo, Carbono-14 ou ^{14}C , tratam-se de elementos capazes de emitir radiação uma vez que os átomos são bastante instáveis. Esse processo recebe o nome de decaimento radioativo e são utilizados para calcular com precisão a idade dos fósseis encontrados (Bicho, 2012). Este elemento se tornou fundamental para o processo de datação de ossos e de outros tipos de matéria viva. Ao contrário dos isótopos radioativos, os isótopos estáveis não sofrem decaimento ou não se decompõem, permanecendo energeticamente estáveis e presentes na natureza (Saragoça, 2014). Ainda que os isótopos de um dado elemento tenham propriedades atômicas semelhantes, a diferença de massa leva a que não se comportem da mesma forma a nível químico, sendo denominada de “*variação nas razões de abundância dos isótopos*” (Umbelino, 2006; Saragoça, 2014). Junto a esta definição vamos encontrar duas formas principais de fracionamento isotópico: fracionamento de equilíbrio e fracionamento cinético (Brown e Brown, 2011; Saragoça, 2014). O fracionamento de equilíbrio denomina o contraste entre duas fases físicas que estão em equilíbrio uma com a outra a nível químico, por exemplo, a condensação da água da chuva nas nuvens (Saragoça, 2014, p. 2). O fracionamento cinético consiste em taxas diferentes de reação para os diferentes isótopos de um mesmo elemento numa mesma reação química, tornando nessa reação o enriquecimento dos isótopos mais leves e, por conseguinte, resultando em processos físicos e/ou químicos irreversíveis, como por exemplo, a evaporação da água (*idem*).

Para a investigação de fracionamentos isotópicos têm sido utilizadas técnicas laboratoriais especializadas, entre elas e a mais recorrente, a espectrometria de massa de razões isotópicas (*Isotope Ratio Mass Spectrometry*) (*idem*). Com este procedimento são medidas as razões isotópicas através da comparação entre a razão isotópica R do elemento considerado na amostra e a razão isotópica R do mesmo elemento num padrão de referência. Para o efeito, as razões isotópicas são apresentadas como

a diferença relativa delta (δ). Os valores de delta são expressos em diferenças por mil (‰) (Umbelino, 2006; Saragoça, 2014). Para tal, é efetuada a seguinte fórmula:

$$\delta(\text{‰}) = [R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1] \times 1000$$

Um exemplo prático seria, por exemplo, o fracionamento isotópico de carbono, através dessa mesma fórmula:

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = [({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C})_{\text{amostra}} / ({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C})_{\text{padrão}} - 1] \times 1000$$

Segundo Saragoça (2014, p. 3), “(...) um valor de $\delta^{13}\text{C}$ positivo significa que o teor de ^{13}C na amostra é enriquecido em comparação com o padrão, ou, pelo contrário, o teor de ^{12}C na amostra é empobrecido relativamente ao padrão utilizado. Um valor de $\delta^{13}\text{C}$ negativo indica um empobrecimento em ^{13}C e um enriquecimento em ^{12}C (...)”.

2.2. Carbono, Azoto, Oxigénio e Estrôncio

Os isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), azoto ($\delta^{15}\text{N}$), oxigénio ($\delta^{18}\text{O}$) e estrôncio ($^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$) são os isótopos mais utilizados pela arqueologia biomolecular, por outras palavras, são os isótopos que foram submetidos a uma maior pesquisa laboratorial que visa responder a questões arqueológicas, tais como, na análise de restos humanos e animais, e também pela Arqueobotânica (Brown e Brown, 2011; Saragoça, 2014).

A análise isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) visa responder a questões de reconstrução das paleodietas em populações humanas e animais do passado. O carbono é, de facto, importante pois permite indicar que tipos de alimentos foram ingeridos pelos humanos e/ou animais no passado uma vez que o valor da composição isotópica de carbono permanece nos tecidos do indivíduo. O carbono está presente na atmosfera, na água e no solo e é absorvido pelas plantas durante a fotossíntese (Caxito e Silva, 2015). É através deste processo natural que todas as plantas terrestres vão ter como fonte de carbono o dióxido de carbono atmosférico (CO_2). As plantas assimilam CO_2 através dos ciclos fotossintéticos C_3 (ciclo de Calvin), C_4 (ciclo de Hatch-Slack) ou CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas ou *Crassulacean Acid Metabolism*) (*idem*).

Cada planta absorve o carbono em taxas diferentes dependendo do tipo de espécie e do clima que vive. Nas plantas C_3 (vd. **Figura 2.**) “(...) correspondem à maioria das plantas das regiões temperadas, tais como Europa, Ásia e América do Norte, e incluem trigo, cevada, arroz, centeio, a maioria das frutas e legumes, ervas, árvores e arbustos (...)” (Saragoça, 2014, p. 5).

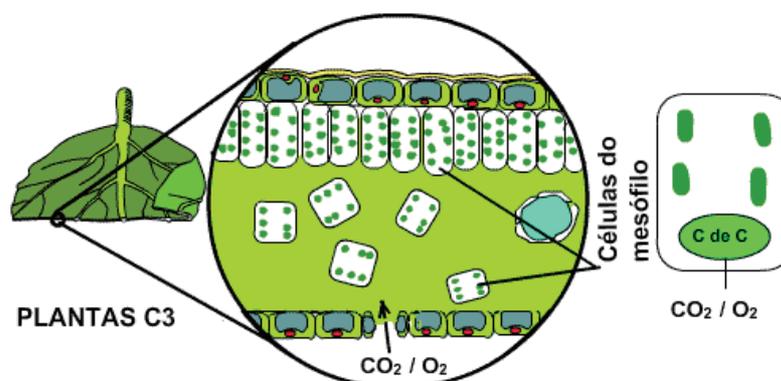


Figura 2. As células das plantas C_3 podem absorver CO_2 bem como O_2 , permitindo exercer a fotorrespiração (processo pelo qual consome O_2 e liberta CO_2 em presença de luz). **Fonte:** iesjvirtual.es., 2017.

As plantas C_4 (vd. **Figura 3.**) são aquelas “(...) plantas que crescem nas regiões tropicais e subtropicais, tais como milho, milho painço, cana-de-açúcar e sorgo, e assimilam o CO_2 através do ciclo de Hatch-Slack (...)” (Saragoça, 2014, p. 7).

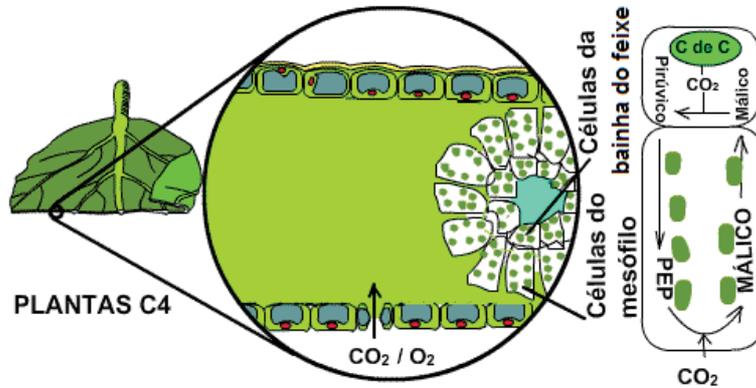


Figura 3. As células da bainha do feixe têm um fornecimento contínuo de CO_2 e poucas possibilidades de chegar O_2 , não fazendo a fotorrespiração. As células do mesófilo não têm o ciclo de Calvin e, portanto, não podem assimilar o O_2 . **Fonte:** iesjavirtual.es., 2017.

No caso das plantas CAM (vd. **Figura 4.**), como os catos, ananás, baunilha e orquídea, que são nativas de ambientes muito quentes e secos, são caracterizadas por recolher o CO_2 durante a noite (Saragoça, 2014).

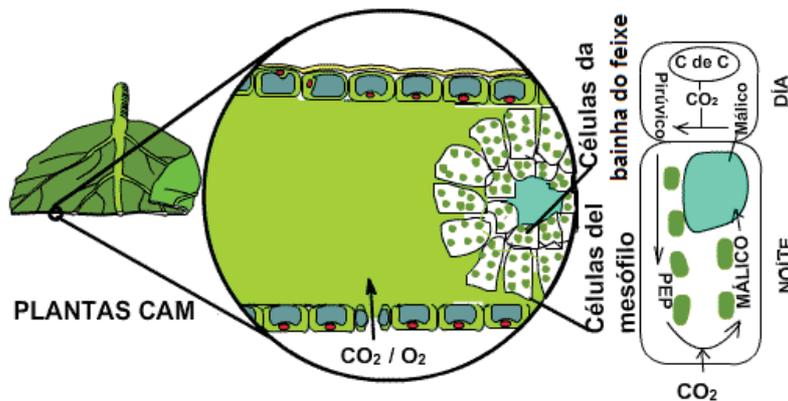


Figura 4. As plantas CAM têm estomas (comunicação do meio interno com a atmosfera) fechados durante o dia para não se desidratarem. Durante a noite, abrem os estomas para recolher CO_2 . **Fonte:** iesjavirtual.es., 2017.

Com base nas diferenças químicas existentes entre os três processos anteriormente referidos, são observados diferentes graus de fracionamento isotópico entre as plantas dos tipos C_3 , C_4 e CAM. Como consequência, as diferenças entre o fracionamento isotópico nas plantas dos tipos C_3 e C_4 permitem inferir os tipos de alimentos ingeridos pelos humanos e animais no passado.

A composição isotópica do azoto (N) nas plantas depende do modo de fixação deste elemento (Brown e Brown, 2011). Nas plantas leguminosas, como o feijão, as favas, os trevos, as ervilhas, a acácia, as sojas, entre outras, fixam diretamente o N_2 , apresentando valores semelhantes ao da atmosfera

(próximo de 0‰). Por sua vez, as plantas não-leguminosas, que englobam a maior parte das plantas, apresentam valores mais positivos do que as plantas leguminosas (por volta de +3‰), uma vez que aproveitam o azoto produzido no solo (Umbelino, 2006; Saragoça, 2014). Em suma, o principal fator controlador da composição isotópica do azoto nas plantas é a “assinatura isotópica original do solo”, que por sua vez é influenciada por fatores diversos tais como as práticas de agricultura, como também pelas condições climáticas e geográficas existentes (Caxito e Silva, 2015, p. 15).

À medida que os animais comem plantas e outros animais comem esses animais, a proporção de isótopos de azoto muda. Por exemplo, os “(...) carnívoros apresentam valores de $\delta^{15}\text{N} +3\text{‰}$ mais positivos do que os herbívoros por eles consumidos, que por sua vez, apresentam valores de $\delta^{15}\text{N} +3\text{‰}$ mais positivos do que as plantas que consomem, o que significa que ao longo da cadeia alimentar ocorre um incremento de +3‰ por cada nível trófico (...)” (Saragoça, 2014, p. 11) (vd. Figura 5.).

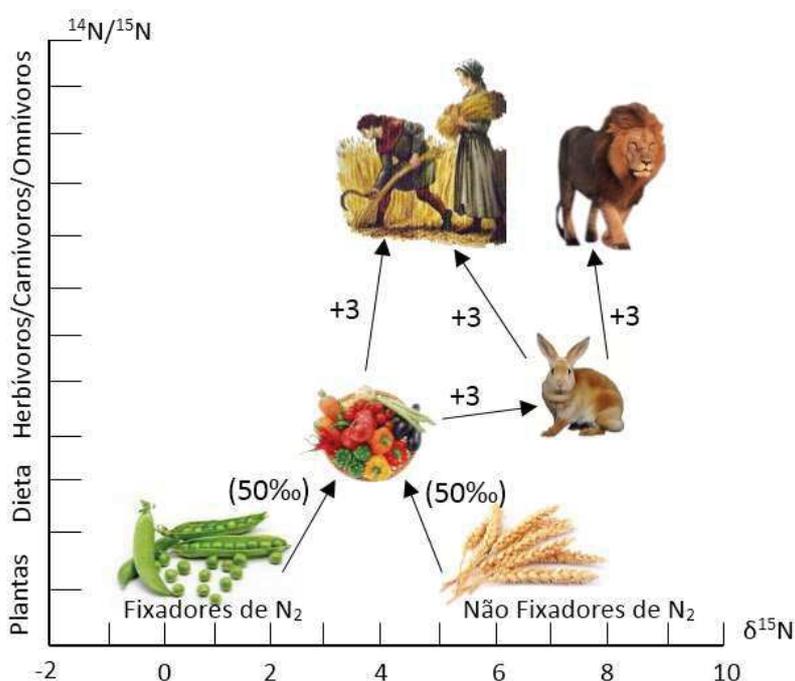


Figura 5. Efeito do nível trófico. Fonte: Adaptado de Saragoça, 2014, fig.6.

Como resultado, os isótopos estáveis de azoto podem ser usados para determinar o nível da cadeia alimentar em que um organismo estava e se eram herbívoros, carnívoros ou omnívoros. Poderá nos levar a informações fundamentais sobre uma dieta à base de plantas ou de animais marinhos e terrestres.

O oxigénio (O) é um componente básico da água e, de igual forma, importante nas análises isotópicas do oxigénio para responder a questões ambientais (Blyth, 2001). Este componente encontra-se presente em todo o ambiente em múltiplas formas. A proporção do seu isótopo varia com a temperatura e o clima, e a sua análise poderá determinar se um indivíduo se mudou para diferentes áreas geográficas durante a sua vida ou até mesmo no estabelecimento de uma relação com as mudanças atmosféricas. Por exemplo, o valor $\delta^{18}\text{O}$ constitui um “(...) indicador da temperatura de condensação e, indiretamente, da temperatura à superfície do globo terrestre. Em meios geográficos em que se verifica uma importante evaporação, como por exemplo nas regiões secas, a composição da solução na qual se dá a precipitação é sobretudo condicionada pela relação entre a afluência de água (a qual, na ausência de contribuições subterrâneas, é devida a chuva) e a evaporação. Esta conduz a

um aumento de $\delta^{18}\text{O}$ na água enquanto a chuva conduz a uma diminuição (...)” (Cruz, 1993, p. 28). Em suma, $\delta^{18}\text{O}$ poderá definir e explicar fenómenos atmosféricos fundamentais na compreensão paleoambiental, sobretudo, na relação entre a chuva e a evaporação.

Embora o oxigénio tenha um potencial bastante útil para estudos isotópicos, as técnicas ainda estão sendo desenvolvidas e os resultados devem ser interpretados cuidadosamente.

O estrôncio (Sr) é um metal puro com muitos isótopos estáveis e instáveis. É abundante na natureza e é encontrado principalmente nas rochas vulcânicas e solos. À medida que os solos corroem e se filtram em fontes de água e alimentos, o estrôncio é levado ao corpo onde é incorporado nos tecidos ósseos da mesma forma que o cálcio (Bentley, 2006). A proporção dos isótopos de estrôncio ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) também varia de uma localização geográfica para outra. Desse modo, as análises isotópicas de estrôncio são uma das mais eficazes na caracterização da mobilidade pré-histórica humana e animal.

Poderemos concluir que os isótopos de estrôncio servem como assinaturas geoquímicas que podem servir como uma “fonte” de esclarecimento de mobilidade de um humano ou animal através das análises ósseas desse mesmo indivíduo e é, de igual forma, um isótopo bastante fundamental para períodos mais remotos como a pré-história (Makarewicz, 2014).

2.3. Outros Fracionamentos Isotópicos

Para além dos isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), azoto ($\delta^{15}\text{N}$), oxigénio ($\delta^{18}\text{O}$) e estrôncio ($^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$), existe outros fracionamentos isotópicos que, apesar de não serem constantemente utilizados, têm vindo a demonstrar resultados significativos na arqueologia biomolecular, entre eles, o enxofre ($\delta^{34}\text{S}$), o hidrogénio ($\delta^2\text{H}$) e o zinco ($\delta^6\text{Zn}$).

A utilização da análise do isótopo de enxofre em colagénio ósseo tem vindo a fornecer indicações extremamente relevantes, desde dietas marinhas e/ou de água doce e, sobretudo, no fornecimento de informação do substrato geológico. Através do enxofre é possível obter resultados sobre diferenças significativas entre solos de diferentes naturezas ou clima (Richards et al., 2001). No hidrogénio, tal como no oxigénio, “(...) os produtos alimentícios dependem da composição isotópica da água (H_2O) ingerida pelos animais, que por sua vez é influenciada primordialmente por fatores geográficos tais como altitude, latitude e distância do mar (...)” (Caxito e Silva, 2015, p. 15). Para a análise isotópica de hidrogénio, a altitude demonstra ser um fator essencial na composição isotópica da água. Através do hidrogénio é possível determinar variações climáticas ou sazonais (Kirsanow et al., 2008). O isótopo de zinco é um dos “novos” fracionamentos isotópicos utilizados recentemente para responder a questões arqueológicas. As razões de isótopos estáveis de carbono e azoto do colagénio ósseo são um método estabelecido para a reconstrução das paleodietas, mas este método é limitado pela preservação da proteína. Por sua vez, o zinco permanece presente na apatita (mineral produzido e utilizado por sistemas biológicos), fazendo com que as composições isotópicas deste elemento sejam um indicador das paleodietas muito promissor (Jaouen et al., 2016).

Com o desenvolvimento constante da ciência e de novas técnicas laboratoriais, muitos outros isótopos poderão vir a fornecer informações relevantes na investigação em Zooarqueologia e ciências a fins.

3. Análise de Materiais

3.1. Ossos e Conchas

Os ossos são uns dos materiais biológicos mais frequentemente analisados, porque são duros e duradouros e são regularmente preservados em contextos arqueológicos (Brown e Brown, 2011).

O osso é composto por dois componentes: uma matriz orgânica composta principalmente de colagénio e um componente mineral inorgânico feito em grande parte de fosfato de cálcio (Brown e Brown, 2011; Saragoça, 2014). Os dentes também consistem em materiais orgânicos e inorgânicos, mas ao contrário do osso, uma vez formado, o esmalte dental não remodela (*idem*). Consequentemente, os dentes são muito úteis para determinar o ambiente e as condições da vida precoce de um indivíduo, enquanto os ossos permitem averiguar os últimos anos da vida desse indivíduo (Frémondeau et al., 2012; Makarewicz, 2014).

As conchas, que se preservam ao longo do tempo devido às suas propriedades, são formadas pela deposição de cristais de carbonato de cálcio em uma matriz orgânica (Cramp e Evershed, 2014). Enquanto os ossos permitem definir com maior regularidade as paleodietas, as conchas, por sua vez, são bons indicadores de reconstrução paleoambiental e climática, por exemplo, é possível determinar qual a temperatura da água em que elas se encontravam durante a sua vida (Stevens et al., 2012).

3.2. Esmalte e Dentição

Assim como a durabilidade óssea, os dentes são constituídos como o outro material biológico mais frequentemente utilizado na análise arqueológica. A dentição quer humana ou animal, é um importante material orgânico e inorgânico, mas ao contrário do osso, uma vez formado, o esmalte dental não remodela (Brown e Brown, 2011).

Consequentemente, os dentes são muito úteis para determinar o ambiente e as condições da vida precoce de um indivíduo. Assim, como períodos de stresses físico constante, como doença ou fome (Frémondeau et al., 2012). Ao contrário dos dentes, os ossos permitem averiguar os últimos anos da vida desse indivíduo (Makarewicz, 2014). Desse modo, é importante interligar os estudos ósseos com o estudo da dentição de forma a obter dados mais concretos e completos sobre o historial da vida do indivíduo.

4. Análise Laboratorial

Como exemplo prático, para investigar os isótopos estáveis de ossos humanos e animais, uma amostra pequena de osso é suficiente para a análise. Devido aos avanços na espectrometria de massa (IRMS – *Isotope Ratio Mass Spectrometer*) uma pequena amostra que pode variar entre os 200 miligramas e um 1 grama (Caxito e Silva, 2015). Quando o material ósseo recolhido em sítios arqueológicos encontra-se mal preservado pode não haver material biológico sobrevivente para a análise ser confiável (Umbelino, 2006; Saragoça, 2014).

A pequena amostra de osso é tratada através de um conjunto de procedimentos químicos, dependendo da análise a que se pretende efetuar. Por exemplo, para a análise de isótopos estáveis em carbono e azoto, o osso é lavado em ácido clorídrico (0,25 de HCl) passando por posterior filtração após a primeira fase que consistiu na desmineralização do osso (previamente reduzido a pó) (Umbelino, 2006). Este processo químico é efetuado durante um período de tempo adequado até a amostra de osso estar pronta para os passos químicos seguintes. O resíduo é depois tratado em

processos de evaporação e é congelado em vácuo. De seguida, o resíduo é de novo evaporado, aquecido em água (90 °C) durante 20 horas (*idem*). Estes processos são levados a cabo para extrair o colagénio ósseo "puro" de componentes adicionais que compõem o osso, tais como lípidos e proteínas.

Uma vez extraído o colagénio, este é preparado e pesado para análise no espectrómetro de massa (**vd. Figura 6.**). O espectrómetro de massa funciona através da “(...) medição da abundância e da massa dos isótopos estáveis sob a forma de iões, que compreende, basicamente, três partes principais: a fonte de iões, na qual o gás é ionizado e os iões são acelerados; o analisador de massas, onde os iões acelerados são separados de acordo com a sua massa através de um campo magnético; e um detetor onde são contados os iões separados (...)” (Katzenberg, 1992 *Apud* Umbelino, 2006, p. 208-209).

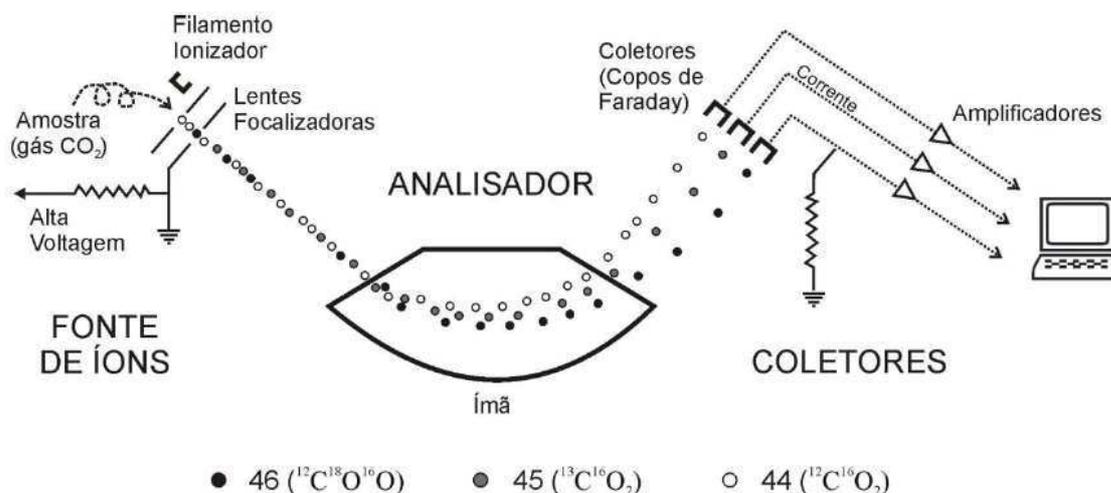


Figura 6. Esquema de funcionamento de um espectrómetro de massa de razão isotópica (IRMS). Fonte: CAXITO e SILVA, 2015, fig.2.

Os resultados da análise são comparados utilizando padrões de referência que são definidos pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA), em Viena, Áustria (Caxito e Silva, 2015).

5. Interpretação

Tal como foi referido no subcapítulo 2.1. “Terminologia e Definições”, através da espectrometria de massa são medidas as razões isotópicas através da comparação entre a razão isotópica R do elemento considerado na amostra e a razão isotópica R do mesmo elemento num padrão de referência (Umbelino, 2006; Saragoça, 2014).

Na essência, significa que, para obter a quantidade relativa de um determinado isótopo em uma amostra, esta é representada pela razão entre este isótopo e outro isótopo estável do mesmo elemento (Caxito e Silva, 2015). Assim, para as análises em questão, é formulada uma equação em que representa a razão entre o isótopo pesado (amostra) e o isótopo leve (padrão), uma vez que o isótopo leve (com menos massa) é o isótopo mais abundante do elemento em questão e predomina amplamente em proporção natural (**vd. Quadro 1.**).

Elemento	Isótopo	Abundância relativa (%)	natural
Hidrogênio	1H	99,985	0,015
	2H		
Carbono	12C	98,89	1,11
	13C		
Azoto	14N	99,63	0,37
	15N		
Oxigênio	16O	99,76	0,04
	18O	0,20	
Enxofre	32S	95,00	0,76
	33S	4,22	0,01
	34S		
	36S		
Estrôncio	84Sr	0,56	9,86
	86Sr	7,02	82,56
	87Sr		
	88Sr		

Quadro 1. Abundâncias naturais relativas dos principais isótopos. **Fonte:** GHIDINI *et al.*, 2006 *Apud* CAXITO e SILVA, 2015.

Através da fórmula representada no subcapítulo 2.1. poderemos chegar a interpretações mais eficazes na análise das amostras. Como?

$$\delta(\text{‰}) = [R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1] \times 1000$$

Na fórmula apresentada anteriormente, o “R amostra” será, como já foi mencionado, a razão isotópica medida na amostra. Por sua vez, o “R padrão” será a mesma razão de um padrão. Este padrão será geralmente um material de referência do laboratório em que as análises são efetuadas, que por sua vez, é calibrado contra um padrão internacional. Poderemos dizer que os valores δ são ponderados em comparação a um padrão internacionalmente reconhecido, que é arbitrariamente fixado em 0‰ (Saragoça, 2014; Caxita e Silva, 2015). O **Quadro 2.** representado neste texto indica os Padrões Internacionais de Razão Isotópica reconhecidos internacionalmente juntamente com as respectivas referências.

Razão Isotópica	Padrão Internacional	Valor do Padrão
$^2\text{H}/^1\text{H}$ ou D/H	Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW)	0,00015575
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB)	0,0111802
$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	Ar atmosférico (AIR)	0,0036782
$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	VSMOW ou VPDB	VSMOW = 0,0020052 VPDB = 0,0020672
$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	Vienna Canyon Diablo Troilite (VCDT)	0,0451509

Quadro 2. Padrões Internacionais de Razão Isotópica e respetivas referências. **Fonte:** WERNER e BRAND, 2001 *Apud* CAXITO e SILVA, 2015.

No procedimento da análise e na respetiva interpretação, os efeitos de fracionamento isotópico (processos químicos/físicos pelas quais causam mudanças nas abundâncias relativas dos isótopos entre reagentes e produtos) podem ser determinantes para interpretar os processos de manufatura pelos quais os produtos foram submetidos e até mesmo delimitar a sua origem (Caxito e Silva, 2015).

Segundo Caxito e Silva (2015, p. 12), no “(...) fracionamento que ocorre dentro do organismo animal, cada passo na cadeia alimentar é acompanhado por um enriquecimento nos isótopos pesados na biomassa, enquanto os isótopos leves são preferencialmente catabolizados (...)”. Por exemplo, se observarmos um enriquecimento por volta de 3 a 4‰ nos tecidos animais relativamente à dieta pode ocorrer tanto para $\delta^{13}\text{C}$ (dieta proveniente de alimentos vegetais) como para $\delta^{15}\text{N}$ (dieta proveniente em alimentos ricos em proteína) (*idem*). Referente aos valores de $\delta^{18}\text{O}$, se a comparação dos valores isotópicos da água ingerida e da água do leite produzido vierem a indicar um enriquecimento entre 2 e 6‰ no organismo animal (Kornexl et al., 1997; Schmidt et al., 2001; Renou et al., 2004 *Apud* Caxita e Silva, 2015), esse “(...) enriquecimento se deve ao fato de que, no organismo animal, à água ingerida adicionam-se os átomos de hidrogênio e oxigênio provenientes dos alimentos, da água alimentar e do O_2 molecular (...)” (Ritz et al., 1996 *Apud* Caxita e Silva, 2015, p. 12). Caxita e Silva (2015, p. 12) acaba por afirmar que “(...) os valores de $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^2\text{H}$ da celulose das plantas ingeridas pelos animais são tipicamente enriquecidos, assim como o oxigênio atmosférico inalado. Dessa forma, a composição isotópica da água produzida no metabolismo animal é tipicamente enriquecida em relação à da água ingerida (...)”.

Poderemos dar dois exemplos práticos. Nas ilustrações seguintes, vamos ter duas representações de utilização de isótopos estáveis como indicativo de origem geográfica através da alimentação animal e o que produzem. Na **Figura 7.**, o gado é criado numa região montanhosa com baixos valores de $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^2\text{H}$. A alimentação desse gado vai ser exclusivamente de gramíneas temperadas. Os produtos lácteos que os animais desse gado irão produzir evidenciam valores negativos, que tal como Caxita e Silva (2015, p. 12) referem, terão um teor de $\delta^2\text{H} = -10\%$, $\delta^{18}\text{O} = -6\%$ e $\delta^{13}\text{C} = -24\%$.

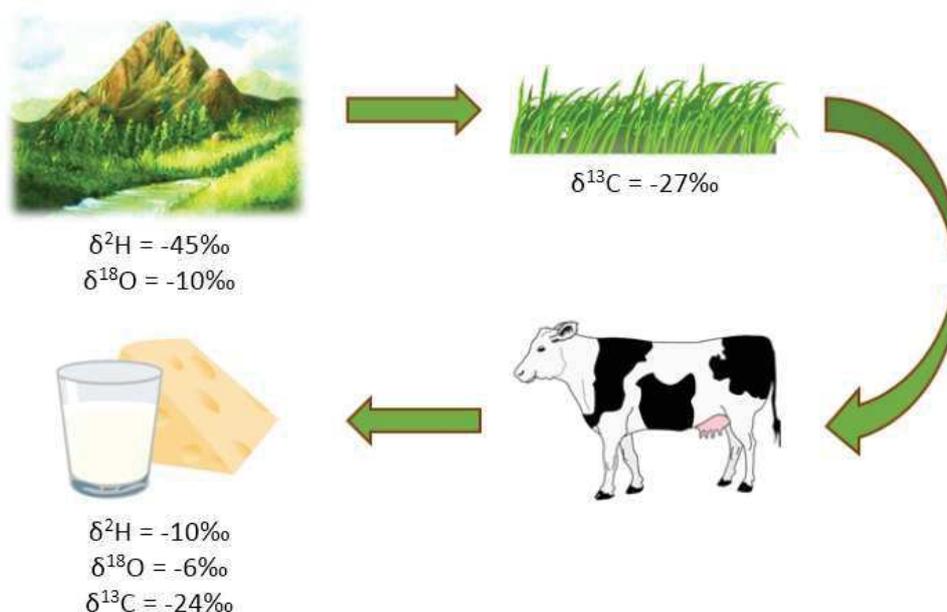


Figura 7. Origem geográfica montanhosa e alimentação em gramíneas temperadas. Fonte: adaptado de CAXITO e SILVA, 2015, fig.1.

Na **Figura 8.**, o gado é criado numa região plana. A alimentação desse gado vai ser, não de gramíneas temperadas, mas sim de silagem de milho. Os produtos lácteos que os animais desse gado irão produzir evidenciam na sua maior parte valores positivos, que tal como Caxita e Silva (2015, p. 12) referem, terão um teor de $\delta^2\text{H} = +10\text{‰}$, $\delta^{18}\text{O} = +2\text{‰}$ e $\delta^{13}\text{C} = -10\text{‰}$.

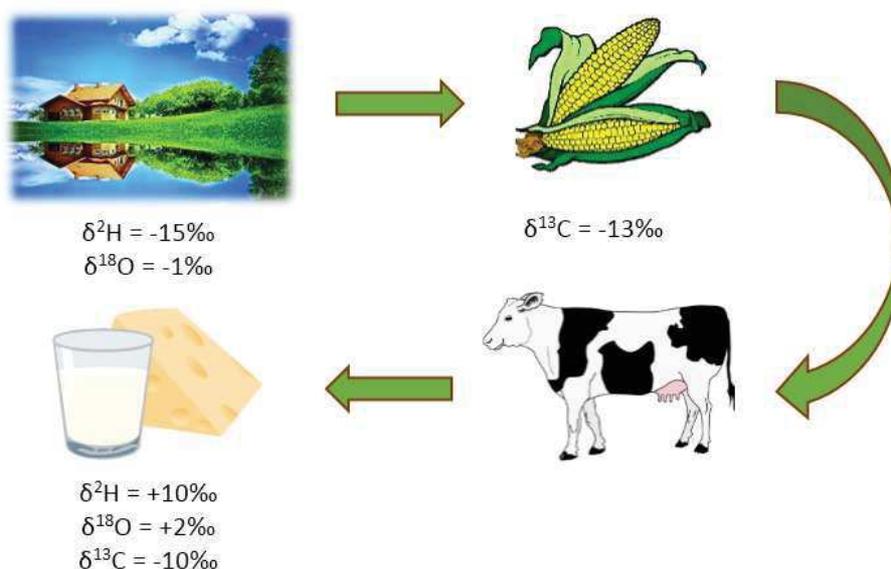


Figura 8. Origem geográfica plana e alimentação em silagem de milho. Fonte: adaptado de CAXITO e SILVA, 2015, fig.2.

“Apesar do fracionamento isotópico que ocorre no metabolismo animal e que tende a enriquecer os elementos em isótopos pesados, a análise isotópica dos produtos lácteos originados de cada animal permite reconhecer a sua origem” (*idem*).

6. Limitações, Implicações e Direção Futura da análise isotópica em Zooarqueologia

A Zooarqueologia tem vindo a abordar temas que vão desde a alimentação, tanto de seres humanos e animais, economia, domesticação, pastorícia, ambiente, clima e formação de sítios, entre muitos outros. Esta grande variedade de questões de pesquisa reflete as relações universais e íntimas que os animais tiveram com os humanos durante a pré e proto-história e história e revela a natureza multidisciplinar e interdisciplinar da Zooarqueologia e da sua herança intelectual diversificada (Steele, 2015).

Recentemente, a emergência da pesquisa arqueológica com o auxílio das ciências naturais tem vindo a ajudar na investigação zooarqueológica. Entre as várias ciências naturais, o auxílio da bioquímica tem possibilitado responder a questões zooarqueológicas pertinentes, entre elas, a análise estável de isótopos (Makarewicz, 2016). A análise estável de isótopos teve uma abordagem dentro da arqueologia relativamente tardia devido em grande parte ao ritmo lento dos desenvolvimentos metodológicos dentro da bioquímica de isótopos estáveis, e também devido aos desenvolvimentos teóricos mais recentes dentro da arqueologia que expandiram os modos de investigação arqueológica que antes se encontravam indetetáveis (Matás, 2014; Makarewicz, 2016).

Apesar da crescente utilização das análises isotópicas na Zooarqueologia, esta área ainda tem que se afirmar dentro da comunidade arqueológica. Por outras palavras, a união das análises isotópicas na Zooarqueologia e, no geral, na arqueologia, ainda carece de coesão (*idem*). A adoção de abordagens isotópicas pela Zooarqueologia poderá revelar lacunas na interpretação dos dados se faltar um domínio preciso da bioquímica nas análises que se pretendem realizar. Atualmente existem relativamente poucos indivíduos que são treinados tanto na Zooarqueologia como nas análises bioquímicas de isótopos estáveis. Um dos principais problemas consiste nos vários estudos académicos que acaba por se tornar em tempo demasiado extenso (*idem*). Os zooarqueólogos que desejam integrar a análise estável de isótopos nos seus quadros de pesquisa arqueológica não só precisam acompanhar os novos desenvolvimentos na bioquímica em isótopos, mas também entender as limitações da abordagem. Sem um aprofundamento na bioquímica de isótopos estáveis, é muito fácil produzir interpretações com lacunas evidentes que acabam por retirar a credibilidade da análise de estável de isótopos na Zooarqueologia. Por outro lado, os praticantes de análise estável de isótopos precisam entender não apenas as questões de pesquisa em que a Zooarqueologia aborda, mas também estar informado de debates ativos sobre a utilização de abordagens analíticas específicas usadas para responder a questões faunísticas.

Uma limitação a considerar é o estado de conservação do material que pretendemos analisar (Matás, 2014; Makarewicz, 2016). O estado do material e a sua exposição a diferentes condições podem afetar a determinação dos isótopos presentes, ou seja, diferentes isótopos são afetados de maneiras diferentes e tais mudanças podem influenciar as assinaturas isotópicas resultantes. A contaminação também é uma preocupação para os estudos isotópicos (Makarewicz, 2016). Como os isótopos estão presentes em todo o ambiente, há sempre a possibilidade de que a assinatura capturada em um tecido provenha de outra fonte que não o corpo, seja por lixiviação com água, pela exposição a solos locais ou no laboratório. Embora existam técnicas disponíveis para minimizar estes efeitos, a contaminação continua a ser um problema desafiador na sua análise. De igual forma, os ratios isotópicos podem nem sempre fornecer resultados claros e nem sempre são fáceis de ler e interpretar uma vez que são

apresentados em valores numéricos. Por exemplo, para os padrões alimentares, os valores de carbono e azoto podem não conseguir determinar ou distinguir duas populações que viveram em climas semelhantes ou que se alimentaram com os mesmos tipos de alimentos (Bogaard e Outram, 2013; Makarewicz, 2016). Apesar de culturalmente distintos e, por vezes, geograficamente afastados, as assinaturas isotópicas serão muito semelhantes entre si.

Contudo, mesmo com a existência desses desafios, as análises isotópicas na Zooarqueologia têm feito progressos fundamentais para entender as populações do passado, tanto humanas como animais. A incorporação de novas abordagens teóricas e tecnologias analíticas tem vindo a facilitar este constante crescimento (Steele, 2015). No futuro, os zooarqueólogos devem continuar a pensar de forma crítica sobre os seus dados, bem como promover o compartilhamento mútuo com outras ciências e análises, e lutar pelo acesso global. Ao seguir estes princípios, a Zooarqueologia bem como a análise estável de isótopos prosperarão em conjunto através do século XXI e além.

BIBLIOGRAFIA

Bentley, Alexander (2006). Strontium isotopes from the Earth to the archaeological skeleton: a review. *Journal of Archaeological Method and Theory*, 13 (3), p. 135-187. ISSN 1072-5369.

Bicho, Nuno (2012). *Manual de Arqueologia Pré-Histórica*. Edições 70, Lisboa. ISBN 9789724416397.

Blyth, Lisa (2001). Oxygen Isotope Analysis and Tooth Enamel Phosphate and Its Application to Archaeology. *The University of Western Ontario Journal of Anthropology*, Vol. 9, Iss. 1, Art. 2.

Bocherens, Hervé; Drucker, Dorothee (2003). Trophic Level Isotopic Enrichment of Carbon and Nitrogen in Bone Collagen: Case Studies from Recent and Ancient Terrestrial Ecosystems. *International Journal of Osteoarchaeology*, 13, p. 46–53.

Bogaard, Amy; Outram, Alan (2013). Palaeodiet and beyond: stable isotopes in bioarchaeology. *World Archaeology*, 45:3, p. 333-337. ISSN 0043-8243.

Brown, Terry; BROWN, Keri (2011). *Biomolecular Archaeology - An Introduction*. Wiley-Blackwell, Reino Unido. ISBN 9781444392449.

Caxito, Fabrício de Andrade; Silva, Almir - Isótopos Estáveis: Fundamentos e Técnicas Aplicadas à Caracterização e Proveniência Geográfica de Produtos Alimentícios. *Geonomos*, 23 (1), 2015, p. 10-17. ISSN 2446-6964.

Cramp, Lucy; Evershed, Richard (2014). Reconstructing Aquatic Resource Exploitation in Human Prehistory using Lipid Biomarkers and Stable Isotopes. In. *Treatise on Geochemistry: Archaeology and Anthropology*. Elsevier, Oxford, p. 319-339. ISBN 008095975X, 9780080959757.

Cruz, António João (1993). Química e Arqueologia: Os isótopos de oxigénio e a reconstituição do clima. *Química*, 50, p. 25-28.

Frémondeau, Delphine et al. (2012). Seasonality of birth and diet of pigs from stable isotope analyses of tooth enamel ($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$): a modern reference data set from Corsica, France. *Journal of Archaeological Science*, 39, p. 2023-2035.

Jaouen, Klervia; Szpak, Paul; Richards, Michael (2016). Zinc Isotope Ratios as Indicators of Diet and Trophic Level in Arctic Marine Mammals. *PLoS ONE*, 11(3): e0152299, p. 1-13.

Kirsanow, Karola; Makarewicz, Cheryl; Tuross Noreen (2008). Stable oxygen ($\delta^{18}\text{O}$) and hydrogen (δD) isotopes in ovicaprid dentinal collagen record seasonal variation. *Journal of Archaeological Science*, 35, p. 3159–3167. ISSN 0305-4403.

Makarewicz, Cheryl (2014). Winter pasturing practices and variable fodder provisioning detected in nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) and carbon ($\delta^{13}\text{C}$) isotopes in sheep dentinal collagen. *Journal of Archaeological Science*, 41, p. 502-510.

Makarewicz, Cheryl (2016). Toward an Integrated Isotope Zooarchaeology. In. *Isotopic Landscapes in Bioarchaeology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 189-209. ISBN 978-3-662-48339-8.

Matás, Gonzalo Linares (2014). *New Perspectives in Zooarchaeology. Researching Animals Beyond diet*. Trowel, Vol. XV, 2014, p. 81-90.

Richards, Michael; Fuller, Benjamin; Hedges, Robert (2001). Sulphur isotopic variation in ancient bone collagen from Europe: implications for human palaeodiet, residence mobility, and modern pollutant studies. *Earth and Planetary Science Letters*, 191, p. 185-190.

Saragoça, Patrícia (2014). *Análise isotópica de material osteológico – uma contribuição para o conhecimento da dieta romana na região de Pax Julia (Beja)*. Tese de Mestrado. Évora: Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Química.

Steele, Teresa (2015). The contributions of animal bones from archaeological sites: the past and future of zooarchaeology. *Journal of Archaeological Science*, 56, p. 168-176. ISSN 0305-4403.

Stevens, Rhiannon et al. (2012). Reconstruction of late Pleistocene climate in the Valsequillo Basin (Central Mexico) through isotopic analysis of terrestrial and freshwater snails. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 319-320, p. 16–27. ISSN 0031-0182.

Umbelino, Cláudia (2006). *Outros Sabores do Passado: As análises de oligoelementos e de isótopos estáveis na reconstituição da dieta das comunidades humanas do Mesolítico Final e do Neolítico Final/Calcolítico do território português*. Tese de Doutoramento. Coimbra: Universidade de Coimbra, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Antropologia.

DOCUMENTOS ELECTRÓNICOS

IES Josefina Aldecoa - Fisiología Celular: La Fotosíntesis. 2016. Disponível na [www:<URL: http://www.iesjavirtual.es/iesja15/sitiobiob/principal/fotosintesisPpal.htm>](http://www.iesjavirtual.es/iesja15/sitiobiob/principal/fotosintesisPpal.htm) [Consultado a 8 de Dez de 2017]. *Website* atualmente indisponível.

S.A. - Isotopes. 2014. Disponível na [www:<URL: http://chemistry.tutorcircle.com/inorganic-chemistry/isotopes.html.>](http://chemistry.tutorcircle.com/inorganic-chemistry/isotopes.html)