



Literature review

Forensic Anthropology

Isótopos aplicados à Antropologia Forense**Isotopes applied for Forensic Anthropology****Cláudia R. Plens^{*1,2}, Carlos Eduardo Palhares^{2,3}, Luciano O. Valenzuela^{4,5}**¹ Laboratório de Estudos Arqueológicos² Núcleo de Estudos e Pesquisa em Arqueologia e Antropologia Forense (Grupo Pesquisa CNPq)³ Polícia Federal do Distrito Federal/ Diretoria Técnico Científica/ Instituto Nacional de Criminalística.⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)⁵ School of Biological Sciences, University of Utah, USA.

* Corresponding author:

Cláudia R. Plens

Rua Ministro Adauto Lucio Cardoso, 200 (R3 C38)

Vila Gomes

São Paulo – SP

05589-000

E-mail: clauplens@gmail.com

Received 14 March 2020; Received in revised form 07 April 2020; Accepted 09 April 2020.

Available online 04 May 2020

RESUMO

Análises isotópicas vêm sendo cada vez empregadas com finalidades forenses para compreensão do deslocamento geográfico, de modo a refinar os critérios para identificação do indivíduo, se tornando cada vez mais eficazes, sobretudo com o

desenvolvimento de novas técnicas e a confecção de *isoscapes* (mapas preditivos). Para além disso, o emprego de radioisótopos tem sido desenvolvido como um bom critério para se avaliar tempo decorrido desde a morte. O objetivo do presente artigo é apresentar o potencial dos isótopos estáveis e instáveis para fins forenses, tanto dentro de estudos acadêmicos, como com exemplo do papel das análises isotópicas dentro de investigações criminais e, por fim, apontar o futuro dos isótopos estáveis forenses no Brasil.

Descritores: isótopos forenses; isoscapes; radioisótopos; Antropologia Forense.

ABSTRACT

Isotopic analyzes have being increasingly used for forensic purposes to understand geographic displacement, in order to refine criteria for estimating the biological profile, becoming effective, especially with the development of new techniques and confection of isoscopes (predictive maps). In addition, the use of radioisotopes has been developed as a good criterion for assessing the postmortem interval (PMI). The objective of this article is to present the potential of stable and unstable isotopes for forensic purposes within academic studies and their role within criminal investigations. Therefore, we also aim to point out the future of stable forensic isotopes analyses in Brazil.

Keywords: Forensic isotopes; Isoscapes; Radioisotopes; Forensic Anthropology.

Introdução

Em 2000, um crânio humano foi localizado dentro de um plástico, em uma cova rasa, às margens do Great Salt Lake, nos EUA¹. Além disso, a polícia averiguou a existência de mais doze ossos humanos, além de pertences pessoais, como uma meia branca, uma camiseta tamanho grande e um colar de trançado azul. Contudo, nem a análise da dentição nem os pertences localizados possibilitaram a identificação da vítima. Por falta de maiores informações, e conscientes de que a análise de DNA sem uma amostra comparativa em nada ajudaria na identificação da vítima, o caso foi arquivado em 2003.

Passados os anos, com o avanço de métodos e tecnologia científica, a polícia demandou a uma equipe do IsoForensics, Salt Lake City, que respondesse a partir de

dados isotópicos de oxigênio e hidrogênio informações sobre a vítima como seu local de origem, possíveis mudanças regionais e, se positivo este mapeamento, as localizações geográficas pelas quais ela teria passado.

Realizada as primeiras análises para fins forenses desse tipo pelo grupo em 2012, os resultados mostraram que a assinatura isotópica de Oxigênio-18 (^{18}O) obtidas a partir do cabelo - em comparação com o mapeamento regional da água de torneira -, apontavam para uma mobilidade constante nos dois últimos anos de vida da vítima, por regiões consistentes com Salt Lake City e Intermountain West e, ainda, um terceiro lugar mais a noroeste (Fig. 1).

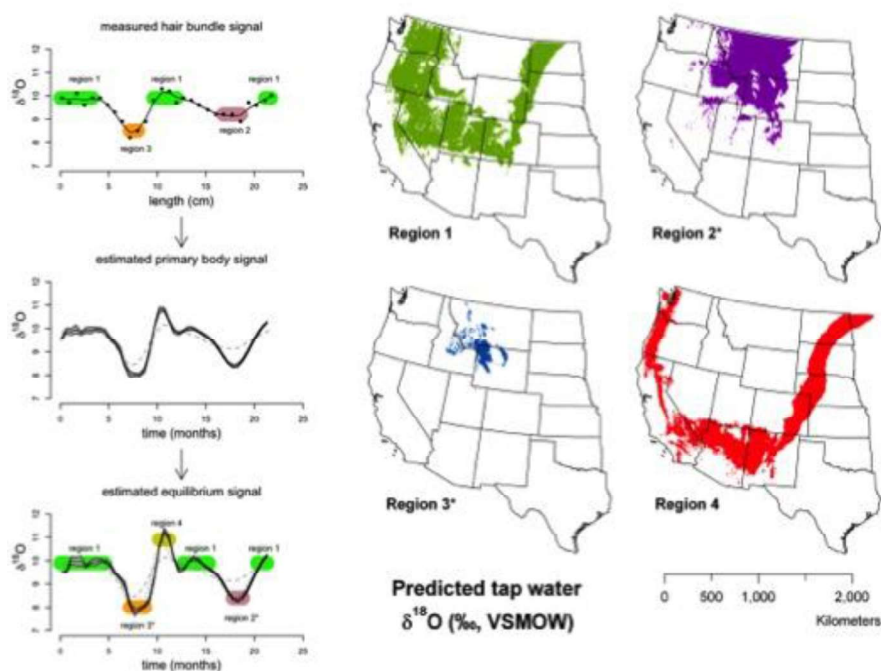


Fig. 1 - Mapeamento preditivo de água de torneira nos EUA. Fonte: Ehleringer et al., 2015¹.

Nesse ano, com os dados obtidos por meio do cruzamento dos valores isotópicos de ^{18}O do cabelo e da água com dados provenientes do relatório de pessoas desaparecidas, foi possível para a polícia identificar, com base no padrão de deslocamento geográfico, uma possível vítima. Apoiado nessas informações, e tendo a partir desse momento um perfil genético em mãos para ser comparado, a análise fez sentido, e um teste de DNA foi realizado confirmando o perfil identificado pelos dados isotópicos.

Nikole Bakoles era uma jovem de 20 anos de idade que teria sido vista pela última vez em março de 2000, época em que residia em um hotel no subúrbio de Salt

Lake City com o namorado e uma criança. Nos anos anteriores, ela teria viajado para Seattle algumas vezes para visitar seus familiares, conforme a composição isotópica de oxigênio de seus cabelos já havia apontado.

Esse caso é um exemplo do potencial informativo dos isótopos estáveis quanto a proveniência e deslocamento geográfico de uma pessoa. Não obstante, análises dentárias e genéticas tenham potencial mais categóricos para a identificação de indivíduos, muitas vezes esses métodos não são suficientes para resolver casos de maior complexidade e a aplicabilidade de diferentes métodos nas Ciências Forenses vêm adicionando dados que permitem um cruzamento de informações que permitam melhor traçar o perfil do indivíduo investigado, possibilitando, por vezes, o uso de métodos com maior precisão identitária.

Entendendo os tecidos humanos

As investigações isotópicas, embora já comuns na área de arqueologia para compreensão de permanências e migrações populacionais e hábitos alimentares no passado, a partir de ossos e dentes, mais recentemente vem sendo empregadas na antropologia forense para obtenção de dados acerca das origens biológicas, química e geográfica que possam indicar lugar de origem e proveniência como dado auxiliar para identificação do indivíduo, porém, com aplicabilidade em uma gama mais ampla de tecidos humanos: osso, dente, cabelo e unha.

Ossos e dentes são compostos por frações orgânicas e inorgânicas, sendo respectivamente fibras de colágeno e hidroxiapatita (ou bio-apatita)^{2,3}.

É amplamente conhecido que o osso é constantemente remodelado ao longo da vida, porém, em ritmos e em taxas distintos, com tempos mais curtos de renovação óssea na juventude em comparação em idosos. Ademais, uma costela pode fornecer dados de dieta e proveniência geográfica dos últimos 5 a 10 anos de vida, enquanto um fêmur pode fornecer um registro dos últimos 20 a 25 anos de vida^{3,4,5}.

A hidroxiapatita (apatita) presente nos ossos e esmalte dentário é formada a partir do bicarbonato dissolvido no sangue. Esse componente biomineral aponta a assinatura isotópica de carboidratos, lipídios e proteínas não utilizados na síntese tecidual de colágeno ósseo (ou seja, a apatita reflete a dieta de maneira mais global)⁶.

Os dentes também são analisados para obtenção dos isótopos estáveis, mas a partir do colágeno da dentina e, diferentemente do osso, os resultados isotópicos apresentados com base nos dentes indicam o período de sua da formação, a infância,

e não de outro período posterior, uma vez que os dentes não se remodelam ao longo da vida⁷.

Por toda a influência que o organismo recebe em diferentes fases da vida por conta do consumo de alimentos disponíveis no ambiente, e também por escolhas culturais, os tecidos humanos não são apenas resultados do histórico genético, mas também da expressão cultural dos alimentos.

A queratina do cabelo e das unhas, que comumente são preservados em esqueletos recém esqueletizados, fornece assinatura isotópica em relação tanto da dieta quanto de residência das últimas semanas e meses de vida.

Entretanto, se deve considerar que fatores como idade e condição de saúde influenciam as taxas de crescimento da queratina. Desse modo, segmentos de fios de cabelo e unhas devem ser segmentados para se precisar qual período cronológico da vida do indivíduo está sendo analisado. De acordo com Baderlink & Chesson⁵, atualmente se tem mais compreensão do ritmo do crescimento do cabelo do que da unha, sendo, portanto, o cabelo um marcador mais confiável de análise.

Entendendo os isótopos

Os átomos possuem núcleos que contém próton (positivo) e nêutron (neutro). O número de prótons é o que dá a identidade química do elemento a partir do seu número atômico, uma vez que seu valor se mantém inalterado no mesmo elemento.

Os isótopos de determinados elementos se distinguem pela quantidade de nêutrons que ele apresenta⁵. Eles se dividem entre os estáveis e os instáveis (radioativos). Os primeiros sendo aqueles que não se deterioram em outros elementos, porque as suas combinações individuais de prótons e nêutrons são estáveis. Já os isótopos instáveis, por sua vez, possuem núcleos atômicos instáveis perante o balanço entre nêutron e prótons, e emitem alguma forma de radiação em período de desintegração e, dessa forma, possuem decaimento em períodos previsíveis.

Isótopos estáveis (IE) são formas diferentes, não radioativas e estáveis do mesmo elemento químico que diferem no número de nêutrons em seu núcleo e, portanto, em sua massa atômica. As IE de um elemento reagem quimicamente de maneira semelhante, mas essa pequena diferença de massa faz com que sua distribuição não seja aleatória. Moléculas contendo isótopos pesados (por exemplo, ¹⁸O) reagem mais lentamente e formam ligações mais fortes do que aquelas com

leves (por exemplo, ^{16}O). Esse processo leva a uma separação ou fracionamento que determina amplamente a abundância relativa ($^{18}\text{O} / ^{16}\text{O}$) do IE em diferentes sistemas.

Ao trabalhar com o IE, é usada a notação δ ("delta"), que representa diferenças relativas na taxa de IE de uma amostra em relação a um material padrão e é formulada (exemplo para oxigênio) como: $\delta^{18}\text{O} = (\text{Ramostra} / \text{Rpadrão} - 1) \times 1000$, onde R representa a taxa do isótopo pesado em relação ao isótopo leve ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) e é expresso em unidades de partes por mil, ‰.

Como os isótopos podem ser usados nas Ciências Forenses?

A diversidade de isótopos que pode ser usada nas Ciências Forenses ocorre de acordo com a finalidade: crimes contra o meio ambiente, poluição e contaminação de águas, falsificação de alimentos, proveniência de drogas ilícitas, origem de animais silvestres, identificação de ossos humanos versus não humanos, zoologia forense, entre outros. Porém, são cinco os bioelementos aplicados em tecidos humanos como método auxiliar da Antropologia Forense, sendo eles os não metálicos, Hidrogênio (H), Carbono (C), Nitrogênio (N), Oxigênio (O), e Enxofre (S) e mais dois metálicos, o Chumbo (Pb) e o Estrôncio (Sr).

A análise de isótopos estáveis (AIE) é uma ferramenta particularmente útil para investigações forenses, pois é capaz de fornecer informações que sugerem a origem geográfica, biológica e / ou química de um material em observação e pode distinguir entre materiais aparentemente idênticos^{8,1}. Em essência, o AIE é um meio muito valioso de fornecer análise comparativa de materiais de interesse no trabalho de casos forenses. Além disso, os processos de incorporação de isótopos estáveis em tecidos humanos têm sido bem descritos e modelos mecanicistas podem ser postulados que permitem estabelecer previsões para casos em que não há oportunidade de comparação direta^{9,1,8}.

A AIE pode ser especialmente útil durante investigações forenses envolvendo restos humanos não identificados, particularmente quando as técnicas tradicionais de investigação, como impressões digitais ou análise de DNA, não foram bem-sucedidas. Um grande número de publicações demonstrou a capacidade de isótopos estáveis de tirar conclusões sobre movimentos e migrações humanas usando os valores isotópicos de diferentes tecidos, incluindo ossos, dentes, unhas e cabelos que preservam informações sobre as condições ambientais e de saúde do indivíduo, bem como sobre seus alimentos e bebidas¹⁰⁻¹⁵.

Diferenças nas taxas de crescimento de tecidos (ossos, cabelos, unhas, etc.) permitem o uso da AIE para reconstruir uma cronologia e documentar os movimentos geográficos de uma pessoa¹⁶. Embora a AIE não possa fornecer identificação direta, sem dúvida pode fornecer novas pistas e ajustar as opções de pesquisa (por exemplo, excluindo regiões geográficas específicas)^{16,17}. A AIE aumenta o conhecimento do perfil biológico de um indivíduo, fornecendo informações adicionais sobre sua história, incluindo região de nascimento ou infância, a última década de vida ou as semanas e meses antes da morte. A AIE ajuda a responder perguntas como: O indivíduo se mudou ou viajou antes da morte? A pessoa mudou sua dieta antes da morte? A viagem e a dieta sugerem que o indivíduo era residente de uma região específica? O histórico de viagens e a região de origem do indivíduo correspondem ao de outra pessoa?

Apesar de uma rica história de estudos isotópicos para desvendar migrações humanas no passado^{13,18-20}, aplicação da AIE para pesquisar as origens dos migrantes modernos tem sido escassa na investigação forense humanitária (pelo menos como registrado em publicações até agora). Juarez (2008)²¹ analisou a capacidade da AIE de determinar a região de origem das pessoas mortas durante sua tentativa de atravessar a fronteira entre o México e os Estados Unidos. Regan²² e Holland et al.²³ usaram a AIE para identificar soldados mortos na Guerra do Vietnã e um piloto de avião no Laos, respectivamente. Bartelink et al.²⁴ usa o AIE para estudar a possível origem de indivíduos não identificados recuperados de diferentes regiões da Califórnia.

Existem poucos casos publicados nos quais isótopos estáveis levaram diretamente à resolução de um caso criminal, embora possa haver muitos casos em que ainda não há resolução e, portanto, eles não foram publicados. Rauch et al.²⁵ descrevem a AIE de vários elementos (C, N, H, Sr e Pb) em diferentes tecidos (ossos, dentes, cabelos e unhas) recuperados de um indivíduo do sexo masculino que foi encontrado enterrado perto de uma rodovia na Alemanha. Em 2008, Meier-Augenstein e Fraser¹⁷ apresentaram uma combinação de dados isotópicos de H, O, C e N em restos mutilados de um homem descoberto em 2005 em Dublin, na Irlanda. Obviamente, o caso "Saltair Sally" mencionado acima também foi publicado em revistas científicas^{1,9,26}. Em todos esses casos, a AIE foi crucial para fornecer informações que levassem à identificação da vítima e, nos dois casos europeus, levaram às prisões e acusações dos assassinos.

A abundância natural de isótopos estáveis de hidrogênio e oxigênio da precipitação (chuva ou neve) varia com a geografia. O principal reservatório de água e a principal fonte de água da chuva (ou neve) são os oceanos, que por definição têm valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ iguais a zero²⁷⁻²⁹. Diferentes processos de fracionamento isotópico dos oceanos para o local onde chove ou neva causa diferenças geográficas na composição isotópica da água. Esses processos dependem, entre outros fatores, da temperatura e umidade, que estão, em média, globalmente relacionadas à latitude e elevação^{27,28,30,31}. A tendência geral é de valores mais altos de $\delta^{18}\text{O}$ em direção a baixas latitudes, baixa altitude e regiões costeiras e valores mais baixos de $\delta^{18}\text{O}$ em direção a altas latitudes, altitude mais alta e regiões do interior dos continentes. O padrão geográfico dos valores de $\delta^2\text{H}$ é semelhante aos valores de $\delta^{18}\text{O}$, embora locais altos de evaporação possam alterar sua correlação. Além disso, a variação espacial ou geográfica dos isótopos da precipitação se traduz em água de superfície, água da torneira e outras fontes de água, como água engarrafada, refrigerante e bebidas alcoólicas^{32,33}.

Moléculas de oxigênio e hidrogênio em tecidos humanos e animais são adquiridas diretamente da água potável, vapor de água ambiente, dieta e O_2 atmosférico. A variação geográfica dos valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ na água é traduzida em tecidos humanos com uma alta correlação porque o sinal isotópico do tecido é dominado pelo componente líquido da água bebido diretamente ou adquirido através do cozimento de alimentos^{15,34-37}. Além disso, das outras fontes de variação isotópica, o alimento é o único com potencial para mascarar o sinal geográfico local se os indivíduos consumirem alimentos importados de outras regiões.

Os isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e enxofre ($\delta^{34}\text{S}$) nos tecidos humanos são derivados exclusivamente da dieta e suas proporções refletem as dos produtos consumidos; portanto, às vezes são chamados de "isótopos alimentares"^{29,38}. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ refletem de perto as proporções dos isótopos de carbono da fonte alimentar original e foram usados como indicadores da proporção de plantas C_3 ou C_4 na dieta humana, consumidas diretamente como alimento básico ou indiretamente através da alimentação animal^{29,39-42}. Além disso, em certas regiões onde existe um grande contraste entre plantas C_3 e alimentos de origem marinha, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ têm sido utilizados para diferenciar o consumo de recursos de origem terrestre e costeira^{29,39,40,41,43}. As moléculas de nitrogênio são obtidas apenas pelo consumo de proteínas, e os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos tecidos de um consumidor são maiores em relação à sua dieta^{38,41,43,44}. Isto é devido a uma retenção preferencial do

isótopo mais pesado (^{15}N) durante a excreção, o que gera um aumento nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos consumidores para cada nível trófico de uma maneira previsível. Isso permite que os valores de $\delta^{15}\text{N}$ sejam utilizados como um indicador da proporção de proteínas animais e vegetais em uma dieta onívora^{4,29,44}.

Para além do C e N, o Enxofre (S) tem sido menos utilizado para identificação de dieta e local de proveniência geográfica, embora ele seja indicativo de ambientes marinhos versus terrestres, sendo os valores $\delta^{34}\text{S}$ marinhos mais altos do que aqueles observados em ambientes terrestres, valores $\delta^{34}\text{S}$ mais altos de um tecido humano são tipicamente interpretados como indicativos da dependência ou proximidade de um indivíduo com recursos marinhos. Contudo, os fatores que afetam as composições isotópicas de enxofre dos tecidos humanos ainda não são totalmente compreendidos. Além do mais, a poluição dos ambientes modernos afeta os valores de $\delta^{34}\text{S}$ de ecossistemas modernos⁵.

Nos últimos anos, os pesquisadores geraram informações substanciais sobre a variabilidade isotópica e a variação nas populações humanas modernas^{45,47-50}. Por exemplo, os pesquisadores conseguiram mostrar diferenças nos valores de isótopos "dietéticos" estáveis entre e dentro de países desenvolvidos que permitiriam distinguir indivíduos de diferentes regiões. Valenzuela et al.⁵¹ observaram homogeneidade nos valores de isótopos estáveis de C e N em cabelos nos EUA, porém encontraram diferenças geográficas nos valores de $\delta^{34}\text{S}$ com valores mais baixos para o centro do país e mais altos para as costas. Essa descoberta levou à construção de um isoscapes (mapa preditivo, ver adiante subitem) desse marcador para seu uso potencial na atribuição de região de origem. Valenzuela et al.⁴² relataram diferenças notáveis entre os EUA e a Europa Ocidental na composição isotópica de C e S no cabelo, bem como correlações dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{34}\text{S}$ com variáveis geográficas na Europa. Mais recentemente, foi demonstrado que o IE do cabelo difere entre os grupos socioeconômicos nas cidades dos EUA e Colômbia^{50,52}.

O uso de isótopos estáveis para estudos de movimentos e atribuição à região de origem depende de um conhecimento profundo de sua distribuição espacial. Portanto, o sucesso das previsões de origem com base na medição de isótopos nos tecidos depende da qualidade dos dados isotópicos que foram utilizados para construir os mapas preditivos ou isoscopias da linha de base. Embora a comparação entre amostras recuperadas na mesma região (banco de dados) possa fornecer uma indicação da presença de imigrantes, a criação de mapas que representam a distribuição espacial de isótopos e capturam a variabilidade local oferece a

possibilidade de gerar probabilidades de atribuição incorporando índices de variabilidade e incerteza⁵³.

Se as análises para investigação de dieta para se saber sobre proveniência e mobilidade e migrações se baseiam em isótopos de O, C, N e S há ainda outro espectro de isótopos de traços de elementos metais como o Estrôncio (Sr) e o Chumbo (Pb)⁵⁴.

Radioisótopos para análise de tecidos humanos

Menos usual na Antropologia Forense por questões técnicas e metodológicas mais complexas, estão o Sr e o Pb. No entanto, no que concerne ao Sr, seu potencial é grande para uso forense como complemento para compreensão do C e N, pois ele pode informar sobre onde um indivíduo viveu sua infância.

No ambiente, ações ocasionadas por intemperismo acarretam na liberação de Sr da rocha no ambiente local, onde ele é primeiramente absorvido pelas plantas e, posteriormente, pelos animais em seus alimentos. Dessa forma, a variação isotópica de Sr no ambiente está relacionada a cronologia e sua suscetibilidade ao clima em que está inserido o depósito rochoso⁵⁵. O isótopo radiogênico ^{87}Sr é um produto do decaimento radioativo de ^{87}Rb . Os depósitos de base com altas concentrações iniciais de ^{87}Rb e / ou depósitos antigos normalmente apresentam taxas $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ mais altas do que depósitos jovens ou depósitos com baixas concentrações de ^{87}Rb ⁵⁴.

Semelhante ao Sr, o método do isótopo de Pb aproveita a deterioração radioativa, o tempo e as concentrações relativas de elementos de Pb, Th e U no ambiente. Os isótopos radiogênicos ^{206}Pb , ^{207}Pb e ^{208}Pb são derivados do decaimento radioativo de ^{238}U , ^{235}U e ^{232}Th , respectivamente. Algumas variações nas proporções de Pb podem se alterar por fatores cronológicos ($^{208}\text{Pb} / ^{204}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb} / ^{204}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb} / ^{204}\text{Pb}$) e as atividades antropogênicas tais como a mineração ou a introdução de tetraetiléter na gasolina na década de 1920 como um agente "antiderrapante" para motores⁵⁶.

O ^{14}C e seu decaimento

A análise ^{14}C é a técnica tradicionalmente conhecida pelo seu emprego em estudos arqueológicos para datação de amostras e remanescentes ósseos e

dentários que datem entre aproximadamente 400 e 50.000 anos. Nesse caso, o isótopo se refere a uma taxa relativamente constante de produção de ^{14}C na atmosfera superior que é absorvido por plantas verdes e toda a cadeia alimentar subsequente, ou seja, de animais que se alimentaram dessa planta e dos animais carnívoros⁵⁷.

Ao longo da vida de um organismo, ele retém valor de ^{14}C em equilíbrio, porém, a partir de sua morte, deixa de assimilar o ^{14}C e, entrando em um processo de decaimento do nível desse isótopo (de acordo com a meia-vida de aproximadamente 7.340 anos).

Como é bem conhecido na arqueologia, a datação radiocarbônica apresenta um intervalo de erro que é variável conforme o ponto da curva de decaimento da datação, como se trata de uma curva exponencial, nas partes mais recente e mais antiga a tendência é apresentar uma maior margem de erro.

Assim sendo, na investigação forense, a datação por ^{14}C , por estar em épocas muito recente, cujo processo de decaimento ainda é muito próximo, não ajuda a calcular a data de morte do indivíduo. Por exemplo, se o indivíduo morreu em 1985 e tivermos um erro de aproximadamente + 50 anos, o método mais atrapalha do que auxilia no estabelecimento de algum parâmetro do período de morte do indivíduo.

O emprego do ^{14}C na investigação de tecidos humanos forense

A estimativa do tempo decorrido desde a morte (intervalo *postmortem*) de tecidos ósseos humanos representa um componente crítico da investigação antropológica forense. Os investigadores precisam saber se os remanescentes datam do período moderno de interesse médico-legal (geralmente nas últimas décadas).

Infelizmente, uma extensa pesquisa e experiência de casos demonstraram que essas estimativas realizadas a partir de observações de preservação de tecidos humanos são extremamente imprecisas devido à grande variedade de fatores que influenciam o processo de decomposição. Na maioria dos casos, na ausência de informações contextuais de diagnóstico, os indicadores morfológicos não permitem distinguir restos modernos de antigos e / ou estimativas confiáveis de tempo desde a morte.

Ademais, sobre a idade do indivíduo no momento da morte, aspecto importante para traçar o perfil do indivíduo para cruzar com o perfil de desaparecidos, os métodos da antropologia forense conseguem dar um maior grau de precisão no caso

de remanescente juvenis do que para os adultos maduros, onde o espectro de estimativa de idade é bem mais largo e menos acurado.

Embora o método tradicional de datação por ^{14}C proveniente da arqueologia não nos auxilie compreender a cronologia dos ossos humanos, Douglas Ubelaker⁵⁸ observou que o uso de radiocarbono de bomb pulse oferecia uma solução para o problema de estimativa do tempo desde a morte (Fig. 2).

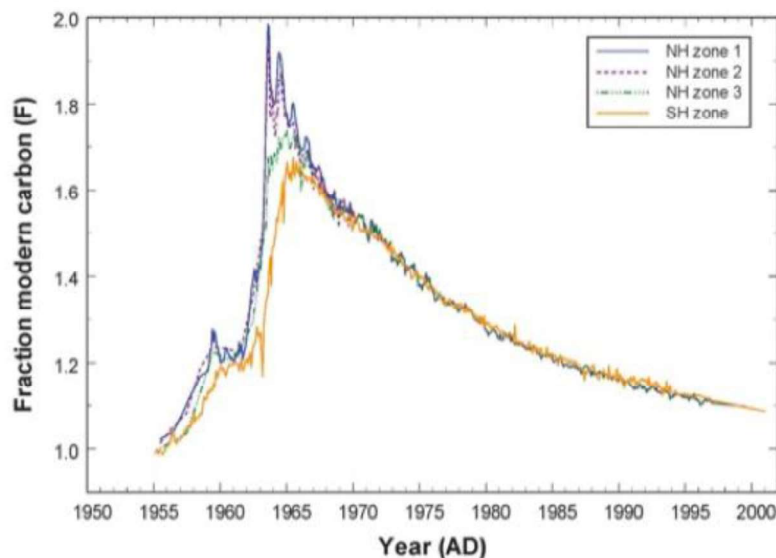


Fig. 2 - Representação de curva de radiocarbono para 04 diferentes zonas da Terra. Fonte: Hua & Barbetti, 2004⁵⁹.

Os níveis de ^{14}C na atmosfera permaneceram inalterados até 1955 quando, a partir de então, devido aos mais de 1000 testes realizados com bomba nucleares durante o 1945 a 1962, período que engloba a Guerra Fria, a quantidade de ^{14}C presente na atmosfera aumentou gradualmente, chegando em seu pico em 1963, ano em que foi assinado o Tratado de Interdição Parcial de Ensaio Nucleares, no qual diversos países signatários se comprometeram com a cessação dos testes com bombas nucleares, com o objetivo de retardar a corrida armamentista e conter a excessiva liberação de cinzas nucleares na atmosfera.

Após a cessação dos principais testes termonucleares no início dos anos 1960, os níveis de radiocarbono atmosférico atingiram um pico em cerca de 1963 e, subsequentemente, começaram a entrar em um lento declínio.⁵⁸

Dessa forma, tanto a introdução desse elemento na atmosfera como sua incorporação pelas plantas resultaram em um gráfico no qual é possível conhecer, em determinado ano, a concentração desse elemento no ar e vice-versa.

Na análise forense de tecidos humanos, elevados níveis de radiocarbono acima dos níveis anteriores a 1950 provam que a pessoa representada estava viva após 1950. Como os anos seguintes a 1950 correspondem aproximadamente ao período de interesse médico-legal, o radiocarbono de bomb pulse oferece informações importantes em relação à estimativa do intervalo *postmortem*.

Se forem descobertos valores elevados (modernos) de radiocarbono, o objetivo forense passa a estimar quando, durante o período moderno, ocorreu a morte. Com um único valor moderno de radiocarbono, geralmente não é possível determinar se ele se relaciona com os níveis atmosféricos / dietéticos no aspecto de ascensão precoce da curva ou na parte posterior da curva posterior a 1963.

Ubelaker et al.⁶⁰ demonstraram ser possível estimar a data da morte por meio da análise a partir do tecido ósseo, apontando que análises de radiocarbono de dois tecidos que refletem diferenças na formação e / ou taxas de remodelação sendo, portanto, a comparação dos valores desses dois tecidos adequados para melhor posicionamento na curva.

Por exemplo, o osso trabecular do corpo de uma vértebra lombar remodela mais rapidamente que o osso cortical denso da diáfise femoral. Assim, dentro de um único esqueleto adulto, os valores de radiocarbono derivados do osso trabecular cruzariam a curva da bomba em um ponto mais próximo da data da morte do que os derivados do osso cortical. A partir da perspectiva de bomb pulse de ^{14}C , foi constatado ser possível estimar o ano de nascimento e de morte de um indivíduo por conta do decaimento em taxas conhecidas do ^{14}C .

Ubelaker e Parra⁶¹ apresentaram um importante estudo realizado em quatro indivíduos provenientes dos Andes peruano (16, 27, 44 e 56 anos de idade). Em relação ao indivíduo mais jovem, a análise ^{14}C do esmalte permitiu a determinação precisa do ano de nascimento e da cortical e as atividades do osso trabecular, cujos resultados foram de valor de ^{14}C consistentes com a data da morte. Para os três indivíduos mais velhos os resultados apontaram atividades de esmalte dentário de ^{14}C consistentes com os anos de nascimento. No entanto, para esses três indivíduos, houve descompasso mínimo entre a formação óssea trabecular e a morte. Quanto a idade de morte para os três indivíduos mais velhos, o método apresentou discrepância (≥ 11 anos) entre o ano da morte e o valor de ^{14}C do osso cortical

analisado. Por essa razão, faz-se ainda necessário ampliar os estudos em ossos em remanescentes de indivíduos identificados para balizar a taxa de remodelamento ósseo em relação as atividades de 14C.

Ainda assim, o método se mostrou promissor desde o início e já tem se demonstrado eficaz, nos últimos anos outros pesquisadores passaram a tentar estimar as atividades de 14C a partir de medições realizadas em dentes únicos, ou na comparação de dentes formados em momentos diferentes da infância do indivíduo, podendo fornecer estimativas do ano de nascimento entre aproximadamente um ou dois anos do real⁵⁷.

Baseados no gráfico do bomb pulse, Spalding et al.⁶² apresentaram um estudo no qual foi demonstrado o sucesso da determinação do ano de nascimento de um indivíduo por meio da análise quantitativa de 14C em esmalte de dentes humanos de adultos. A estimativa da data de nascimento é baseada na obtenção da quantidade de 14C contida no esmalte no período correspondente na curva de 14C atmosférico associando-se à verificação da cronologia de mineralização do elemento dentário em questão em tabelas validadas em outros estudos.

Com o objetivo de obter solução para a questão de ambiguidade de qual lado do pico os resultados se relacionavam, foram medidos os índices de 14C em dois dentes que se formam em momentos diferentes. Cook et al.⁵⁷ e Cook & MacKenzie⁶³ propuseram a determinação de um ano preciso de nascimento do indivíduo a partir de análises 14C a partir de dois materiais distintos, o esmalte e o colágeno da dentina e cemento combinados. Dessa forma, os autores concluíram que o resultado de 14C do esmalte da coroa, formado antes da raiz, combinado com o 14C da dentina / cemento apontar um índice maior, a idade deve estar na curva ascendente e, se for menor, a idade deve estar na curva descendente.

Wang et al.⁶⁴ realizaram um teste a partir da seleção de esmalte próximo ao colo do dente, para redução do erro causado pela diferença entre o tempo de formação da amostra e o tempo considerável para a formação de todo o componente do esmalte. Por sua vez, Kondo-Nakamura et al.⁶⁵ precisaram idades em dentes únicos medindo 14C no esmalte de duas regiões, oclusal e cervical, à medida que se formam em diferentes momentos.

Os isótopos estáveis na Arqueologia Forense / Local de Crime

A partir de recursos metodológicos tradicionais da arqueologia, o arqueólogo com experiência em estudos forenses pode trabalhar em conjunto com equipes que trabalham em cenas de crime com o objetivo de reconstruir as atividades em locais de crimes mais recentes, a partir da contextualização das evidências e objetos *in loco*.

Nesse momento uma série de protocolos focados para interpretação de diversas áreas das Ciências Forenses devem ser aplicados de modo a não perder informações relevantes para a compreensão dos episódios que se sucederam, bem como preservação das evidências. Dentro desse cenário, ter em foco a possibilidade de interpretação de um caso de antropologia forense por meio de isótopos estáveis é essencial já em campo.

Como visto anteriormente, a base da incorporação dos isótopos nos tecidos humanos tem origens ambientais, geográficas e culturais e, em campo, o profissional deve estar atento para observar elementos que possam ser indicativos de fonte e origem de isótopos estáveis para recomendação de análises.

Vale lembrar que, embora tratado como um dado absoluto, como o DNA ou a impressão digital, os números dos isótopos não são precisos, e podem sofrer alterações a partir da sua fonte de origem, dependendo dos processos que possam alterar sua composição, e o investigador tem que ter em mente essa precaução na hora da interpretação de seus dados³.

Para ser útil a assinatura isotópica de um osso, é necessário que se diferencie as alterações que ocorreram em momentos antemortem, perimortem dos postmortem, resultantes por exemplo da exposição ao solo e às águas subterrâneas. Os dados *antemortem* são indicativos de atividades durante a vida da pessoa que pode ajudar em sua identificação, os dados *perimortem* auxiliarão a entender a cena do crime enquanto os dados *postmortem* auxiliarão a compreender atividades que possam tentado ocultar o crime ou, ainda, processos diagenéticos que podem ser cruciais para a boa interpretação dos eventos.

De modo geral, a diagênese não atua em tecidos duros de corpos recém esqueletizados, pois eles são resistentes à alteração química a curtos intervalos de tempo. Porém, em tecidos humanos, sobretudo em cabelos e unhas, expostos e em contato com elementos que levam a ações diagenéticas, pode ocorrer uma degradação do isótopo significativa em curto prazo de tempo, e mais lentamente, nos ossos e dentes.

A diagênese acontece a partir de mudanças químicas e estruturais que ocorrem nas matérias à medida que são expostas a diferentes condições de modo a afetar, inclusive, os isótopos presentes nos tecidos e em que proporções.

O modo como a diagênese e os isótopos atuam em diferentes matérias dependem do tipo e grau de exposição a que foi submetido e, portanto, influenciam suas assinaturas isotópicas.

Por meio do contato da água subterrânea, por exemplo, a diagênese pode alterar a hidroxiapatita de superfícies ósseas ou permeando no interior do osso através de canais, canais de Haversian e Volkmann ou rachaduras *postmortem*. Ademais, evidências de que o ataque microbacteriano pode alterar a fração orgânica do osso, o colágeno, que é de especial relevância para a datação por radiocarbono⁵⁴.

Dentre os problemas de fatores diagenéticos a serem considerados na análise de isótopos estáveis recai especialmente no isótopo de Estrôncio (Sr), pois este elemento é mais suscetível a trocas diagenéticas com elementos do ambiente onde o um indivíduo enterrado ou está exposto, o que pode alterar o sinal de Sr/Ca. Processos que levem a troca de Sr podem ser ainda mais intensos se facilitados pela ação d'água no local. Desta forma, a presença deste elemento no osso não permite saber se essa concentração foi diageneticamente alterado ou não. Na tentativa de contornar o problema, por muito tempo foi usado a dentina como fonte mais confiável para essa análise, levando, no entanto a se interpretar o início da vida, quando então o dente foi formado, restando a lacuna do período final da vida adulta do indivíduo analisado⁶⁶.

Atualmente, muitos laboratórios já possuem metodologia adequada para remover o Sr contaminado de amostras analisada. Recentemente, um estudo realizado por Snoeck et. al.⁶⁷ em amostras de esmalte dentário e osso calcinado que foram expostas a ^{87}Sr durante o período de um ano. As amostras foram lavadas com ácido acético e ultrassom. As taxas de $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ foram mensuradas antes e após o tratamento em um espectrômetro de massa de plasma. As razões isotópicas de estrôncio de todas as amostras imersas na solução foram fortemente modificadas, mostrando que quantidades significativas de estrôncio foram adsorvidas ou incorporadas.

Após o pré-tratamento, as amostras de esmalte ainda continham quantidades significativas de contaminação enriquecida com ^{87}Sr , enquanto os fragmentos ósseos calcinados não. Os resultados, contudo, demonstram que as amostras de esmalte dentário ainda preservaram quantidades significativas de contaminação enriquecida

com ^{87}Sr mesmo após a limpeza do material, enquanto que o osso calcinado não. Assim, o osso calcinado manteve preservada a assinatura isotópica antemortem, se demonstrando mais resistente à troca postmortem do que o esmalte do dente.

Isoscapes

Isoscapes são mapas georreferenciados onde são descritos nível de processo de fracionamento ou distribuição de isótopos elementares para melhor interpretação de padrões espaciais⁶⁸.

Esses mapas preditivos podem ser gerados para diferentes matérias como ossos, água e solo e vários elementos isotópicos, C, N, O etc, sendo extremamente úteis para correlacionar com dados de perfis isotópicos, com a finalidade de em conjunto com o perfil biológico e outras informações de identificação do esqueleto, fornecer dados que possibilitem restringir possíveis regiões geográficas pelas quais o indivíduo esteve durante sua vida.

Esses mapas são extremamente necessários para possibilitar cruzamento de dados confiáveis em quantidade e qualidade suficientes para apoiar a interpretação das composições isotópicas dos tecidos humanos. A falta desse tipo de mapeamento, pode ser um empecilho na utilização de dados provenientes de isótopos para finalidade forense em um tribunal.

No Brasil, a possibilidade de criação de isoscapes em isótopos estáveis forenses é um projeto da Polícia Federal que está em fase de implementação do seu Programa Nacional de Isótopos Forenses com a criação do Laboratório de Isótopos Forenses da PF (Lanif), com o objetivo de desenvolver e análises isotópicas para exames periciais de vestígios criminais de diversas origens, inclusive de tecidos humanos.

Em 2019, por realização da Polícia Federal, foi promovido o I Workshop de Isótopos Forenses, no Instituto Nacional de Criminalística, Brasília. O evento reuniu peritos criminais federais e estaduais, acadêmicos e demais profissionais atuantes no ramo da ciência isotópica com a finalidade de pensar estratégias e protocolos de pesquisas de modo a desenvolver e integrar os temas de isótopos forenses em uma rede nacional.

Dentre os Grupos de Trabalho que foram formados para a promoção de protocolos de coleta, preparação, armazenamento e análises isotópicas, com o

objetivo de se recolher dados para se criar diversos isoscapes, foi consolidado o GT Tecidos Humanos, ao qual integram os três autores desse artigo.

Essa iniciativa, se devidamente implantada, gerará informações importantes para as investigações forenses, sobretudo de interface com as análises antropológicas forenses, possibilitando uma maior quantidade de filtros que restrinjam o leque de possibilidades para identificação de indivíduos, devendo, portanto, beneficiar todos os Estados brasileiros.

Conflict of interest

There are no known conflicts of interest associated with this publication, and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

References

- ¹ Ehleringer JR, Chesson LA, Valenzuela LO, Tipple BJ, Martinelli, LA. Stable isotopes trace the truth: From adulterated foods to crime scenes. *Elements*. 2015; 11(4): 259–264. <https://doi.org/10.2113/gselements.11.4.259>
- ² Eriksson G. *Norm and difference. Stone Age dietary in the Baltic region*. Ph.D. Thesis. Archaeological Research Laboratory, University of Stocolm. 2003; p.12.
- ³ Meier-Augenstein W. *Stable isotope forensics: methods and forensic applications of stable isotope analysis*. 2nd ed. Chichester (UK): John Wiley & Sons. 2018; 350-364.
- ⁴ Hedges REM, Reynard, LM. Nitrogen isotopes and the trophic level of humans in archaeology. *Journal of Archaeological Science*. 2007; 34(8): 1240–1251. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.10.015>
- ⁵ Bartelink EJ, Chesson LA. Recent applications of isotope analysis to forensic anthropology. *Forensic Sci Res*. 2019; 17, 4(1): 29-44. doi: 10.1080/20961790.2018.1549527.
- ⁶ Ambrose SH, Norr L. Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein to those of bone collagen and carbonate. In: Lambert JB, Grupe G, editors. *Prehistoric human bone*. Berlin (Germany): Springer Berlin Heidelberg. 1993; 1–37.
- ⁷ Richard M, Stiner M, Trinkaus E. “Stable isotope evidence for increasing dietary breadth in the Europeans mid-Upper Paleolithic.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98 (11): 6528–6532.

- ⁸ Meier-Augenstein W. *Stable Isotope Forensics*. 2010; p. 1-5. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9780470688762>
- ⁹ Ehleringer JR, Scott MM. *Stable Isotopes and Courts*. *Utah Law Review*. 2010; p. 385.
- ¹⁰ Nakamura K, Schoeller, D. A, Winkler FJ, Schmidt, HL. Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in contemporary man. *Biological Mass Spectrometry*. 1982; 9(9): 390–394. <https://doi.org/10.1002/bms.1200090906>
- ¹¹ DeNiro MJ. Postmortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction. *Nature*. 1985; 317(6040): 806–809. <https://doi.org/10.1038/317806a0>
- ¹² Wright LE, Schwarcz HP. Correspondence Between Stable Carbon, Oxygen and Nitrogen Isotopes in Human Tooth Enamel and Dentine: Infant Diets at Kaminaljuyú. *J Archaeol Sci*. 1999; 26(9): 1159–1170. <https://doi.org/10.1006/jasc.1998.0351>
- ¹³ Hodell DA, Quinn RL, Brenner M, Kamenov G. Spatial variation of strontium isotopes ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) in the Maya region: A tool for tracking ancient human migration. *J Archaeol Sci*. 2004; 31: 585–601.
- ¹⁴ West JB, Bowen GJ, Cerling TE, Ehleringer JR. Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology & Evolution*. 2006; 21(7): 408–414.
- ¹⁵ Ehleringer JR, Bowen GJ, Chesson LA, West AG, Podlesak DW, Cerling TE. Hydrogen and oxygen isotope ratios in human hair are related to geography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008; 105(8): 2788–2793. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712228105>
- ¹⁶ Wilson AS, Gilbert MTP. Hair and nail. In: Thompson, T. and Black, S. (eds.) *Forensic Human Identification*. London, U.K.: CRC Press. 2007; 147–174.
- ¹⁷ Meier-Augenstein W, Fraser I. Forensic isotope analysis leads to identification of a mutilated murder victim. *Science & Justice*. 2008; 48(3): 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.scijus>.
- ¹⁸ Müller W, Fricke HC, Halliday AN, McCulloch MT, Wartho JA. Origin and migration of the Alpine Iceman. *Science*. 2003; 302: 862–866.
- ¹⁹ Price TD, Burton JH, Bentley RA. The characterization of biologically available strontium isotope ratios for the study of prehistoric migration. *Archaeometry*. 2002; 44: 117–135.
- ²⁰ Schwarcz HP, White CD, Longstaffe FJ. Stable and Radiogenic Isotopes in Biological Archaeology: Some Applications. In *Isoscapes*. 2010; 335–356. http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3_16
- ²¹ Aggarwal J, Habicht-Mauche J, Juarez C. Application of heavy stable isotopes in forensic isotope geochemistry: A review. *Applied Geochemistry*. 2008; 23: 2658–2666.
- ²² Regan LA. Isotopic determination of region of origin in modern peoples: Applications for identification of U.S. war-dead from the Vietnam Conflict. PhD thesis, University of Florida, Gainesville, FL. 2006.

- ²³ Holland TD, Berg GE, Regan L. Identification of a United States airman using stable isotopes. *Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences*. 2012; 18: 420–421.
- ²⁴ Bartelink EJ, Juarez CA. Extending the Biological Profile Using Stable Carbon and Nitrogen Isotope Analysis: Prospects and Pitfalls. *Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences*. 2008; H2, 216.
- ²⁵ Rauch E, Rummel S, Lehn C, Büttner A. Origin assignment of unidentified corpses by use of stable isotope ratios of light (bio-) and heavy (geo-) elements - a case report. *Forensic Sci Int*. 2007; 168 (2–3): 215–218. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.02.011>
- ²⁶ Remien CH, Adler FR, Chesson LA, Valenzuela LO, Ehleringer JR, Cerling TE. Deconvolution of isotope signals from bundles of multiple hairs. *Oecologia*. 2014; 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-2945-3>
- ²⁷ Craig H. Isotopic Variations in Meteoric Waters. *Science*. 1961; 133 (3465): 1702–1703. <https://doi.org/10.1126/science.133.3465.1702>
- ²⁸ Dansgaard W. (1954). The O¹⁸-abundance in fresh water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1954; 6: 241–260. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(54\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(54)90003-4)
- ²⁹ Fry B. *Stable Isotope Ecology*. 2006. Available at: <http://www.springerlink.com/content/978-0-387-30513-4/contents/>
- ³⁰ Bowen GJ, Revenaugh J. Interpolating the isotopic composition of modern meteoric precipitation. *Water Resources Research*. 2003; 39, 13. <https://doi.org/200310.1029/2003WR002086>
- ³¹ Bowen GJ, Wilkinson B. Spatial distribution of $\delta^{18}\text{O}$ in meteoric precipitation. *Geology*. 2002; 30(4):315–318. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(2002\)030<0315:SDOIM>2.0.CO](https://doi.org/10.1130/0091-7613(2002)030<0315:SDOIM>2.0.CO)
- ³² Bowen G, Ehleringer J, Chesson LA., Stange E, Cerling T. Stable isotope ratios of tap water in the contiguous United States. *Water Resources Researc*. 2007; 43 (W03419): 1–12.
- ³³ Chesson LA, Valenzuela LO, O’Grady, SP, Cerling TE, Ehleringer JR. Links between Purchase Location and Stable Isotope Ratios of Bottled Water, Soda, and Beer in the United States. *J Agricult Food Chem*. 2010; 58(12): 7311–7316. <https://doi.org/10.1021/jf1003539>
- ³⁴ Longinelli A. Oxygen isotopes in mammal bone phosphate: A new tool for paleohydrological and paleoclimatological research? *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1984; 48(2): 385–390.
- ³⁵ Luz B, Kolodny Y. Oxygen isotope variations in phosphate of biogenic apatites, IV. Mammal teeth and bones. *Earth Planet Sc Lett*. 1985; 75: 29–36.
- ³⁶ Kohn M. Predicting animal $\delta^{18}\text{O}$: Accounting for diet and physiological adaptation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1996; 60: 4811–4829. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(96\)00240-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(96)00240-2)
- ³⁷ Daux V, Lécuyer C, Héran MA, Amiot R, Simon L, Fourel F, Escarguel G. Oxygen isotope fractionation between human phosphate and water revisited. *Journal of Human Evolution*. 2008; 55(6): 1138–1147.

- ³⁸ DeNiro MJ, Epstein S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1981; 45(3): 341–351. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(81\)90244-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1)
- ³⁹ Schoeninger MJ, DeNiro MJ, Tauber, H. Stable nitrogen isotope ratios of bone collagen reflect marine and terrestrial components of prehistoric human diet, *Science*. 1983; 220: 1381–3.
- ⁴⁰ Kellner CM, Schoeninger MJ. A simple carbon isotope model for reconstructing prehistoric human diet. *American Journal of Physical Anthropology*. 2007; 133(4): 1112–1127. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20618>
- ⁴¹ Kelly JF. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*. 2000; 78(1): 1–27. <https://doi.org/10.1139/cjz-78-1-1>
- ⁴² Valenzuela LO, Chesson LA, Bowen GJ, Cerling TE, Ehleringer JR. Dietary Heterogeneity among Western Industrialized Countries Reflected in the Stable Isotope Ratios of Human Hair. *PLoS ONE*. 2012; 7(3): 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034234>
- ⁴³ Peterson BJ, Fry B. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecological Systems*. 1987; 18: 293-320.
- ⁴⁴ SHOENINGER, M.J.; DENIRO, M.J. Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1984; 48:625-639.
- ⁴⁵ Petzke KJ, Boeing H, Metges, CC. Choice of dietary protein of vegetarians and omnivores is reflected in their hair protein C-13 and N-15 abundance. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2005; 19(11):1392–1400.
- ⁴⁶ Petzke KJ, Fuller B T, Metges CC. Advances in natural stable isotope ratio analysis of human hair to determine nutritional and metabolic status. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2010; 13(5): 532–540. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32833c3c84>
- ⁴⁷ Nardoto, GB, Silva S, Kendall C, Ehleringer JR, Chesson, LA, Ferraz ESB, Martinelli, LA. Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *Am J Phys Anthropol*. 2006; 131(1): 137–146. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20409>
- ⁴⁸ Nardoto GB, Sena-Souza JP, Chesson LA, Martinelli LA. Tracking geographical patterns of contemporary human diet in Brazil using stable isotopes of nail keratin. In *Forensic Science and Humanitarian Action*; 2020. p. 441–455. <https://doi.org/10.1002/9781119482062.ch28>
- ⁴⁹ Thompson AH, Chesson LA, Podlesak DW, Bowen GJ, Cerling TE, Ehleringer JR. Stable isotope analysis of modern human hair collected from Asia (China, India, Mongolia, and Pakistan). *Am J Phys Anthropol*. 2010; 141(3): 440–451. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21162>
- ⁵⁰ Valenzuela LO, O’Grady SP, Enright LE, Murtaugh M, Sweeney C, Ehleringer JR. Evaluation of childhood nutrition by dietary survey and stable isotope analyses of hair and breath. *Am J Human Biol*, 2018; p. 1-16. <https://doi.org/10.1002/ajhb.23103>

- ⁵¹ Valenzuela LO, Chesson LA, O'Grady SP, Cerling TE, Ehleringer, JR. Spatial distributions of carbon, nitrogen and sulfur isotope ratios in human hair across the central United States. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2011; 25(7): 861–868. <https://doi.org/10.1002/rcm.4934>
- ⁵² Bender RL, Dufour DL, Valenzuela LO, Cerling TE, Sponheimer M., Reina JC, Ehleringer JR. Stable isotopes (carbon, nitrogen, sulfur), diet, and anthropometry in urban Colombian women: Investigating socioeconomic differences: Stable Isotopes and Diet in Colombian Women. *Am J Human Biol*. 2015; 27(2): 207–218. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22640>
- ⁵³ Wunder MB. Using Isoscapes to Model Probability Surfaces for Determining Geographic Origins. In West JB, Bowen GJ, Dawson TE, Tu KP (Eds.), *Isoscapes*; 2010. 251–270. Available at: <http://www.springerlink.com/content/j372nr5740t71163/>
- ⁵⁴ Bartelink EJ, Chesson LA. Recent applications of isotope analysis to forensic anthropology. *Forensic Sci Res*. 2019; 17;4(1):29-44. 10.1080/20961790.2018.1549527.
- ⁵⁵ Capo RC, Stewart BW, Chadwick OA. Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods. *Geoderma*. 1998; 82:197–225.
- ⁵⁶ Gulson B. Stable lead isotopes in environmental health with emphasis on human investigations. *Sci Total Environ*. 2008; 400:75–92
- ⁵⁷ Cook GT, MacKenzie AB. Radioactive isotope analyses of skeletal materials in forensic science: a review of uses and potential uses. *Int J Legal Med*. 2014;128(4):685–698.
- ⁵⁸ Ubelaker DH. Artificial Radiocarbon as an Indicator of Recent Origin of Organic Remains in Forensic Cases. *J Forensic Sci*. 2001; 46(6):1285-1287.
- ⁵⁹ Hua Q, Barbetti M. Review of tropospheric bomb ¹⁴C data for carbon cycle modeling and age calibration purposes. *Radiocarbon*. 2004; 46 (3):1273-98.
- ⁶⁰ Ubelaker DH, Buchholz BA, Stewart JEB. Analysis of Artificial Radiocarbon in Different Skeletal and Dental Tissue Types to Evaluate Date of Death. *J Forensic Sci*. 2006; 51(3): 484-488.
- ⁶¹ Ubelaker DH, Parra RC. Radiocarbon analysis of dental enamel and bone to evaluate date of birth and death: perspective from the southern hemisphere. *Forensic Sci Int*. 2011; 208:103–107.
- ⁶² Spalding KL, Buchholz BA, Bergman L-E, Druid H, Frisén J. Forensics: age written in teeth by nuclear tests. *Nature*. 2005; 437(7057): 333-4.
- ⁶³ Cook GT, Dunbar E, Black SM, Xu S. A preliminary assessment of age at death determination using the nuclear weapons testing ¹⁴C activity of dentine and enamel. *Radiocarbon*. 2006; 48: 305-313.
- ⁶⁴ Wang N, Shen CD, Ding P, Yi WX, Sun WD, Liu KX, Ding XF, Fu DP, Yuan J, Yang XY, Zhou LP. Improved application of bomb carbon in teeth for forensic investigation. *Radiocarbon*. 2010; 52: 706-716.
- ⁶⁵ Kondo-Nakamura M, Fukui K, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadata K. Single tooth tells us the date of birth. *Int J Legal Med*. 2011; 125: 873–877.

⁶⁶ Lewis ME. *The Bioarchaeology of Children: Perspectives from Biological and Forensic Anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press. 2007.

⁶⁷ Snoeck C, Lee-Thorp JA, Schulting R, Debouge W, de Jong J, Mattielli N. Calcined bone provides a reliable substrate for strontium isotopes ratios as shown by an enrichment experiment. *Rapid Commun Mass Spectrum*. 2015; 29: 107-114.

⁶⁸ Sena-Souza, JP, Costa, FJV, Nardoto, GB. Background and the use of isoscapes in the Brazilian context: essential tool for isotope data interpretation and natural resource management. *Rev. Ambient. Água* [online]. 2019, vol.14, n.2 [cited 2020-03-13], e2282. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2019000200306&lng=en&nrm=i.