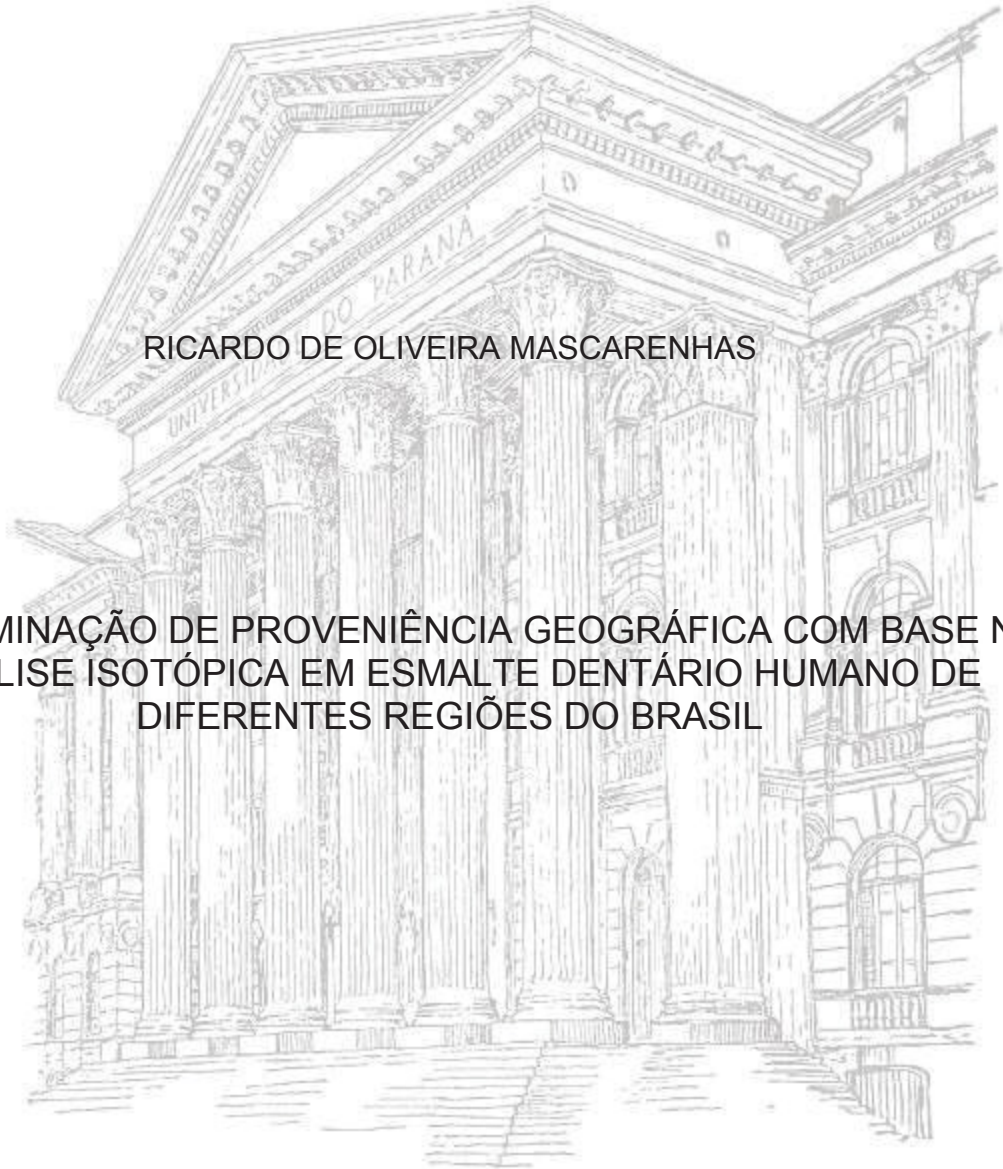


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RICARDO DE OLIVEIRA MASCARENHAS

DETERMINAÇÃO DE PROVENIÊNCIA GEOGRÁFICA COM BASE NA  
ANÁLISE ISOTÓPICA EM ESMALTE DENTÁRIO HUMANO DE  
DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL



CURITIBA

2019

RICARDO DE OLIVEIRA MASCARENHAS

DETERMINAÇÃO DE PROVENIÊNCIA GEOGRÁFICA COM BASE NA  
ANÁLISE ISOTÓPICA EM ESMALTE DENTÁRIO HUMANO DE  
DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

Dissertação apresentada como requerimento parcial à obtenção do grau de Mestre em Geologia Exploratória pelo programa de mestrado em Geologia Exploratória, no Programa de Pós-Graduação em Geologia, Setor de Ciências da Terra, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger.

Coorientadores:  
Dr. Fábio Augusto da Silva Salvador  
Prof. Dr. Sandro Froehner

CURITIBA

2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

M395d      Mascarenhas, Ricardo de Oliveira  
                Determinação de proveniência geográfica com base na análise isotópica em esmalte dentário humano de diferentes regiões do Brasil [recurso eletrônico] / Ricardo de Oliveira Mascarenhas. – Curitiba, 2019.

                Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Terra, Programa de Pós- Graduação em Geologia, 2019.

                Orientadora: Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger. Coorientadores: Fábio Augusto da Silva Salvador, Sandro Froehner.

                1. Isótopos estáveis. 2. Esmalte dentário. 3. Geologia isotópica. I. Universidade Federal do Paraná. II. Rumbelsperger, Anelize Manuela Bahniuk. III. Salvador, Fábio Augusto da Silva. IV. Froehner, Sandro. VI. Título.

Bibliotecária: Vanusa Maciel CRB- 9/1928



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA TERRA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO GEOLOGIA -  
40001016028P5

### TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em GEOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **RICARDO DE OLIVEIRA MASCARENHAS**, intitulada: **DETERMINAÇÃO DE PROVENIÊNCIA GEOGRÁFICA COM BASE NA ANÁLISE ISOTÓPICA EM ESMALTE DENTÁRIO HUMANO DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL**, sob orientação da Profa. Dra. ANELIZE MANUELA BAHNIUK RUMBELSPERGER, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de Mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 20 de Maio de 2019.

  
ANELIZE MANUELA BAHNIUK RUMBELSPERGER  
Presidente da Banca Examinadora  
  
ROBERTO VENTURA SANTOS  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)

  
JUDITH ANN MC KENZIE  
Avaliador Interno (INSTITUTO FEDERAL DE  
TECNOLOGIA DE ZURICH)  
  
GUSTAVO BARBOSA ATHAYDE  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ)

## AGRADECIMENTOS

A todos os pacientes que doaram os dentes utilizados neste trabalho;

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio que sempre me deram ao longo de toda a vida;

À minha orientadora Profa. Dra. Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger pela confiança e apoio durante toda a pesquisa;

Aos meus coorientadores Dr. Fábio Augusto da Silva Salvador e Prof. Dr. Sandro Froehner e ao Prof. Dr. Gustavo Barbosa Athayde pelas discussões e sugestões de pontos de coleta das amostras de água;

Aos servidores do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da UFPR Idalina Marly da Luz e Ricardo Luiz Vieira pelas amostras de dentes e pelo auxílio na obtenção de informações relativas à proveniência dos pacientes;

À Dentista Naiana Mello Cançado, pelas doações de dentes de pacientes da região de Ponta Grossa;

Ao geólogo Matheus Pereira Nogueira e Silva pela elaboração dos mapas;

Ao Prof. Dr. Stefano Bernasconi, Prof. Dr. Timothy Ian Eglinton, Daniel Montluçon e Madalina Jaggi do ETHZ pelo auxílio com as análises isotópicas em água e esmalte dentário;

Ao Prof. Dr. Gareth R. Davies, Anna Pals, Richard Smeets e Lisette Marjolein Kootker da Vrije Universiteit Amsterdam pelo treinamento e análises isotópicas de estrôncio;

À Polícia Federal pela flexibilização de horário, que permitiu cursar as disciplinas e desenvolver o presente trabalho, bem como a todos os colegas do SETEC/BA e do SETEC/PR, com quem muito aprendi nesses anos de convivência;

Aos colegas das Coordenações de DVI com quem tive o prazer de trabalhar, em especial Clayton Leiva, Carlos Eduardo Palhares, Sérgio Reis e Patrícia Cancelier por, mesmo sem saber, terem desenvolvido em mim a motivação para o desenvolvimento deste trabalho;

A todos os colaboradores do LAMIR: Prof. Dr. Leonardo Fadel Cury, Profa. Dra. Eleonora Maria G. Vasconcellos, Prof. Dr. Almério Barros França, Prof. Dr. Ricardo Jorge Jahnert, Adriana do Nascimento, Ana Maria G. Antunes, Diego P. Fernandes, Franciele de O. Czerzinski, Guilherme Fedalto, Ivan Arthur Bindo, Joicy Micheletto, Marcelo Adriano, Rodrigo E. Barbosa e em especial ao Leandro Keiji M. Ozahata por todas as discussões sobre o projeto;

A todos os alunos que desenvolvem suas pesquisas no LAMIR, em particular a Bruno G. Titon, Daniel Patias, Isis Armstrong Dias, Larissa Rocha dos Santos e Veleida Astarte P. Muller, com quem aprendi muito durante as disciplinas que cursamos juntos e à Taís R. Muniz pelas valiosas discussões sobre análises isotópicas em dentes;

Aos amigos que fiz durante as disciplinas cursadas no Departamento de Química, em especial Thiago, Leice, Princys e Katlyn;

À Profa. Dra. Judith A. McKenzie do ETHZ e à Profa. Dra. Mónica Sanchez Roman da Vrije Universiteit Amsterdam pelo apoio e amizade;

Um agradecimento especial ao Dr. Crisógono Vasconcelos por todo o suporte durante os dois períodos em Zurique. Sem o seu apoio, este trabalho não teria sido possível;

A todos os familiares e amigos de pessoas desaparecidas.

*É um alívio poder dizer que meu pai não é mais um desaparecido político*  
Fabiano Casemiro,  
filho de Dimas Antônio Casemiro, identificado em 16/02/2018 pelo Grupo de Trabalho Perus

## RESUMO

O número de desaparecidos no Brasil cresce a cada dia. Isto ocorre em parte devido a dificuldades na identificação, especialmente quando o uso de impressões digitais não é possível. Embora a análise isotópica seja uma das melhores técnicas para a determinação de proveniência, no Brasil ainda é uma técnica pouco utilizada no auxílio à identificação humana, em parte como resultado da escassez de dados disponíveis. Entre os tecidos humanos, o esmalte dentário apresenta relevância por ser altamente mineralizado, resistindo à diagênese mesmo após longos períodos de inumação. Por esse motivo, é um dos tecidos mais utilizados para este fim. Entretanto, mesmo em países nos quais perfis isotópicos já foram utilizados para solucionar casos reais, as dificuldades para obtenção de tecidos humanos com proveniência conhecida leva muitos pesquisadores a fazer uma correlação indireta com dados obtidos para a água ou a alimentação. Apesar de ser uma estratégia útil, a necessidade de uso intensivo de equações para a conversão de dados introduz erros que podem afetar a interpretação dos resultados. Nesse contexto, o presente trabalho objetiva preencher essa lacuna, estabelecendo sinais isotópicos de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ) para indivíduos de diferentes partes do Brasil. No total, foram analisados dentes de 124 indivíduos neste estudo. Valores de  $-2.00\text{‰}$  a  $-6.96\text{‰}$  ( $1\sigma < 0.06\text{‰}$ ) foram obtidos para  $\delta^{18}\text{O}$ . Para  $\delta^{13}\text{C}$ , os brasileiros mostraram um sinal médio de  $-9.72 \pm 0.20\text{‰}$  ( $n = 119$ , intervalo de confiança de 95%,  $1\sigma < 0.04\text{‰}$ ). Estes resultados foram comparados com os de indivíduos nascidos na Espanha, Chile e Japão, mas que atualmente residem em Curitiba-PR. Foi possível identificar indivíduos que imigraram para o Brasil no início da infância e aqueles que se mudaram ao final da adolescência. Adicionalmente, foi conduzida uma primeira tentativa de determinar o sinal isotópico para estrôncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) para a água utilizada no abastecimento público ( $n = 5$ ) e para o esmalte dentário de pessoas provenientes do leste do Paraná ( $n = 14$ ). Valores variando de 0.711926 a 0.729613 para a água e de 0.709641 a 0.722267 ( $2\sigma = 0.000009$ ) para os dentes foram obtidos. Por fim, um perfil isotópico para a água ( $\delta\text{D}$  e  $\delta^{18}\text{O}$ ) a partir de Paranaguá (na Costa) até Ponta Grossa (interior) foi obtido. Um efeito de continentalização pôde ser observado. Os resultados aqui agrupados podem ser utilizados como ponto de partida para um banco de dados isotópico para fins forenses e oferecem uma validação adicional para o uso de isótopos estáveis no auxílio da identificação de pessoas desaparecidas.

Palavras-chave: isótopos estáveis, proveniência, paisagens isotópicas, geologia forense.

## ABSTRACT

The number of missing people in Brazil increases every day. This happens in part due to difficulties with the identification process, especially when the use of fingerprints is not possible. Even though the isotopic analysis is one of the best tools for provenance determination, in Brazil this technic is still not very widely used to help in human identification, in part for the lack of available data. Among the human tissues, tooth enamel has the advantage of being highly mineralized and therefore resistant to diagenesis even after long periods of inhumation. For this reason, it is one of the most used tissues for identification purposes. However, even in countries in which isotopic profiling had been used to solve real cases, the difficulties related to obtain human tissues with a known provenance led many researchers to an indirect correlation with the data measured for water or food. Despite this being a useful approach, the intensive usage of equations to convert the data is known to introduce errors that might affect data interpretation. In this sense, the current work aims to fill this gap, establishing the isotopic signals for carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and oxygen ( $\delta^{18}\text{O}$ ) for individuals from different parts of Brazil. In total, teeth from 124 individuals were analyzed in this study. Values ranging from -2.00‰ to -6.96‰ ( $1\sigma < 0.06\text{‰}$ ) were obtained for  $\delta^{18}\text{O}$ . For  $\delta^{13}\text{C}$ , Brazilians showed an average signal of  $-9.72 \pm 0.20\text{‰}$  ( $n = 119$ , 95% confidence interval,  $1\sigma < 0.04 \text{‰}$ ). These results were compared with the ones for individuals born in Spain, Chile and Japan, but who were nowadays living in Curitiba, south of Brazil. It was possible to identify individuals who immigrated to Brazil during early childhood and the ones who moved at the end of their adolescence. Additionally, a first attempt was conducted a first trial to determine the isotopic ratio for strontium ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) for the water used for public supply ( $n = 5$ ) and for tooth enamel from people living in the eastern part of Paraná, a state in the south of Brazil ( $n = 14$ ). Values ranging from 0.711926 to 0.729613 for water and from 0.709641 to 0.722267 ( $2\sigma = 0.000009$ ) for the teeth were registered. Finally, an isotopic profile for water ( $\delta\text{D}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ ) from Paranaguá (at the coast) to Ponta Grossa (in the interior) was accomplished. A continental effect was observed. The results here gathered may be used as a starting point for building an isotopic database for forensic purposes in Brazil and furthermore offer additional validation for the usage of stable isotopes to help with the identification of missing persons.

Keywords: stable isotopes, provenance, isoscapes, forensic geology.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Esquema representando o fracionamento isotópico do oxigênio. Valores substancialmente mais negativos são observados em regiões mais frias (calotas polares e neve) e de altitudes mais altas. Extraído de FERREIRA (2008).....	24
FIGURA 2 – <i>Isoscape</i> de oxigênio em escala global. Observam-se $\delta^{18}\text{O}$ mais negativos para as regiões mais frias (altas latitudes) e mais elevadas (BOWEN, 2003).....	25
FIGURA 3 – <i>Isoscapes</i> de oxigênio para a América do Sul, considerando-se a média anual e a sazonalidade entre verão e inverno, meses de janeiro e julho, respectivamente (BOWEN, 2003).....	26
FIGURA 4 – Anatomia de um dente. Adaptado de MOLLI; CHAITANYA, 2016.....	28
FIGURA 5 – Localização dos pontos de coleta de amostras de água.....	32
FIGURA 6 – Ponto de coleta de água do mar em Pontal do Sul (Pt01). ....	34
FIGURA 7 – Ponto de coleta de água na captação da ETA Colônia (Pr01). ....	34
FIGURA 8 – Ponto de coleta Ct1 (seta) e ponto de captação da ETA Iraí (círculo tracejado).....	34
FIGURA 9 – Ponto de Coleta Ct2, localizado entre as represas de Piraquara 1 e 2. ....	34
FIGURA 10 – Ponto de coleta Ct3 (seta), localizado na represa de Passaúna e ponto de captação da ETA Passaúna (círculo tracejado).....	35
FIGURA 11 – Ponto de coleta Ct4 (seta) e ponto de captação da ETA Iguaçu (círculo tracejado).....	35
FIGURA 12 - Fonte de água mineral localizada na propriedade de Plínio Toniolo (Cb01). ....	36
FIGURA 13 - Fonte de água mineral localizada na propriedade de Laudenir Lazarotto (Cb02).....	36
FIGURA 14 - Surgência de água mineral localizada na propriedade de João Milane (Cb03).....	36
FIGURA 15 - Surgência de água mineral localizada na propriedade de João Milane (Cb03).....	36
FIGURA 16 – Ponto de coleta na represa Alagados (PG1).....	37
FIGURA 17 – Ponto de coleta localizado imediatamente a jusante da captação de água para tratamento na ETA Alagados. ....	37
FIGURA 18 – Esquema ilustrando a cavidade de um equipamento de CRDS. O laser é ligado e diferentes comprimentos de onda podem ser obtidos utilizando o seletor de comprimento de onda. O laser entra então na cavidade, que contém a amostra de gás e é refletido nos três espelhos, enquanto vai sendo absorvido pelas moléculas presentes na cavidade. O decaimento da intensidade do laser é monitorado em função do tempo. Adaptado a partir de (DENNIS, 2015). ....	42
FIGURA 19 – Esquema simplificado de um IRMS com dupla entrada ( <i>dual-inlet</i> ) configurado para análise de $\text{CO}_2$ (copos de Faraday para $m/z$ de 44, 45, 46). Modificado de BRAND (1996).....	44

## LISTA DE FIGURAS DO PRIMEIRO MANUSCRITO

Figure 1 – Place of birth of the individuals who donated the teeth used in the present work.....	52
Figure 2 – Tukey’s schematic boxplots showing $\delta^{18}\text{O}$ variations for different Brazilian states. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamond represents an outlier. ....	54
Figure 3 – Tukey’s schematic boxplots showing $\delta^{13}\text{C}$ variations for different Brazilian states. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamonds represent the outliers. ....	56
Figure 4 – Cross-plot of the measured $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of teeth from different Brazilian states, combined with data for samples from some foreigners. The dashed lines mark the limits assumed as a range for the population of Paraná (maximum/minimum limits $\pm 1\sigma$ ). The error bars ( $1\sigma$ ) are smaller than the symbols used. ....	57
Figure 5 – $\delta^{18}\text{O}$ isoscapes built using teeth (a) and water (b) data. To allow a comparison with the water isoscape, the results for tooth enamel (on a VPBD scale) are also presented on VSMOW. Circles pinpoint sample locations for tooth enamel (this study) and meteoric water (GNIP data, available at: <a href="http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS_resources_gnip.html">http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS_resources_gnip.html</a> ; GONÇALVES, 2014). ....	58

## LISTA DE FIGURAS DO SEGUNDO MANUSCRITO

Figure 1 – Location of the sampling points. ....	62
Figure 2 – Precipitation indexes from January 2018 to January 2019 (Data source: ÁGUAS PARANÁ). ....	66
Figure 3 – Data for samples collected in April 2018. The dashed line represents the LDWL for the fresh water samples (excluding the sea water samples). The slope was fixed in 8 and a d-excess of 14.7 ‰ was obtained. Analytical uncertainties reported by the lab for the secondary standards are 0.04‰ for $\delta^{18}\text{O}$ and 0.6‰ for $\delta\text{D}$ ( $1\sigma$ ). On the top, the landscape profile is shown. The vertical scale (in meters above sealevel) was purposely exaggerated in relation to the horizontal scale (in kilometers). Watersheds and cities are indicated. ....	67
Figure 4 – Variations in $\delta^{18}\text{O}$ related to the approximate distance to the coast. The results plotted results correspond to the average of the data obtained for each area. Analytical uncertainties reported by the lab for the secondary standards are 0.04‰ for $\delta^{18}\text{O}$ ( $1\sigma$ ). ....	68
Figure 5 – Drinking water isoscape for $\delta^{18}\text{O}$ values for the eastern region Paraná. The water becomes more depleted in the heavier isotope moving from the coast to the inland, illustrating the continental effect. ....	69

## LISTA DE FIGURAS DOS RESULTADOS ADICIONAIS

- FIGURA 1 - Espectro de infravermelho típico observado para as amostras de esmalte dentário. São observadas as bandas de absorção referentes aos íons fosfato e carbonato, características da bioapatita com substituições dos tipos A e B.....71
- Figure 2 – Tukey’s schematic boxplots showing  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamond represents an outlier. ....73

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Abundância relativa dos isótopos com maior interesse forense. ....	22
TABELA 2 - Idades de formação dos dentes em seres humanos (ASH; NELSON, 2003). .....	30
TABELA 3 – Identificação e localização dos pontos de coleta de amostras de água....	39
TABELA 4 – Razões isotópicas apresentadas pelos padrões secundários utilizados, padronizadas na escala VSMOW.....	42

## LISTA DE TABELAS DO PRIMEIRO MANUSCRITO

Table 1 - Descriptive statistics for $\delta^{18}\text{O}$ (results in ‰, on the VPBD scale) for different Brazilian States: Paraná (PR), Santa Catarina (SC), São Paulo/Minas Gerais/Bahia (SP/MG/BA), Mato Grosso/Mato Grosso do Sul/Brasília (MT/MS/DF), Amazonas (AM), Pará (PA), Ceará/Paraíba (CE/PB). .....	54
Table 2 - Descriptive statistics for $\delta^{13}\text{C}$ (results in ‰, on the VPBD scale) for different Brazilian States: Paraná (PR), Santa Catarina (SC), São Paulo/Minas Gerais/Bahia (SP/MG/BA), Mato Grosso/Mato Grosso do Sul/Brasília (MT/MS/DF), Amazonas (AM), Pará (PA), Ceará/Paraíba (CE/PB). .....	55

## LISTA DE TABELAS DO SEGUNDO MANUSCRITO

Table 1 – Sample description and isotopic data. ....	65
--	----

## LISTA DE TABELAS DOS RESULTADOS ADICIONAIS

Table 1 – Isotopic values for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa ( $2\sigma = -0.000023$ ). .....	72
Table 2 - Descriptive statistics for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa.....	55

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 OBJETIVO.....	21
1.2 JUSTIFICATIVA.....	21
1.3 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
1.3.1 <i>Isótopos estáveis</i> .....	21
1.3.2 <i>O ciclo da água e o fracionamento isotópico do oxigênio</i> .....	23
1.3.3 <i>Razão isotópica do carbono (<math>\delta^{13}\text{C}</math>)</i> .....	26
1.3.4 <i>Razão isotópica do estrôncio na biosfera (<math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math>)</i> .....	26
1.3.5 <i>Formação dos dentes e análise de isótopos estáveis</i> .....	27
1.4 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA ESTUDO (AMOSTRAS DE ÁGUA).....	31
CAPÍTULO II.....	38
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
2.1 AMOSTRAS DE ÁGUA.....	38
2.2 AMOSTRAS DE DENTES.....	40
2.3 ANÁLISES DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS.....	41
2.3.1 <i>Análise de isótopos de hidrogênio e oxigênio na água</i> .....	41
2.3.2 <i>Análise de isótopos de carbono e oxigênio nos dentes</i> .....	43
2.3.3 <i>Análise de isótopos de estrôncio (<math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math>)</i> .....	44
2.4 ANÁLISES POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR).....	45
CAPÍTULO III.....	47
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.1 MANUSCRITOS.....	47
Building an isotopic database based on tooth enamel for human provenance determination in Brazil.....	47
Isotopic profiling of drinking water in the eastern part of Paraná, South of Brazil...	60
3.2 RESULTADOS ADICIONAIS.....	71
3.3.1 <i>Espectroscopia no infravermelho (FT-IR)</i> .....	71
3.3.2 <i>Análise isotópica de estrôncio (<math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math>)</i> .....	71
CAPÍTULO IV.....	74
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXO I.....	81
ANEXO II.....	84

---

## 1 INTRODUÇÃO

Ciências forenses é o termo utilizado para abranger o conjunto de técnicas científicas, de diferentes áreas do conhecimento, aplicadas a casos que demandem decisão judicial (KHANDASAMMY et al., 2018). A aplicação do método científico na análise da prova material é importante pois a prova testemunhal por vezes não é isenta de preconceitos, distorções de impressão causadas pelo nervosismo ou mesmo lapsos de memória.

No estudo dos vestígios encontrados em locais de crime, em geral são utilizadas diferentes técnicas que permitem identificar as substâncias que compõem o material. Técnicas como a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), a Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (SEM/EDS), a absorção atômica, além de técnicas cromatográficas (cromatografia em fase líquida ou gasosa), com as mais diversas formas de detecção, já fazem parte da rotina de laboratórios forenses. Outras técnicas, como a Fluorescência de Raios-X (XRF), a Ressonância Magnética Nuclear (NMR) ou a Difração de Raios-X (XRD) podem ser menos comuns, mas também são frequentemente utilizadas (BENSON et al., 2006), por vezes em colaboração com Universidades e Institutos de Pesquisa.

Estas técnicas permitem caracterizar a composição de um material, sua morfologia ou estrutura cristalina, mas dificilmente permitirão individualizar um suspeito. Na verdade, poucos são os vestígios encontrados em um local de crime que efetivamente permitem individualizar um suspeito. Na prática, apenas vestígios biológicos, a partir dos quais podem ser obtidos perfis genéticos, ou impressões papiloscópicas são capazes de inequivocamente colocar um suspeito em uma cena de crime. De qualquer forma, os demais vestígios também encontram utilidade pois podem corroborar depoimentos de testemunhas ou direcionar linhas investigativas. O problema é que as vezes a simples composição química de um material leva a um número muito elevado de possibilidades, a ponto de apresentar utilidade reduzida. Nesse contexto, a utilização de assinaturas isotópicas pode contribuir para restringir enormemente a origem de determinado vestígio.

O estudo das proporções entre isótopos estáveis é atualmente uma das melhores ferramentas para identificar a proveniência de determinado material (CHESSON et al., 2013; LONGOBARDI et al., 2015). Isso tem inúmeras aplicações não apenas no processamento de locais de crime, mas também no campo da inteligência policial, como no mapeamento de rotas de tráfico, e ainda em perícias ambientais, na determinação da origem de óleo despejado no mar, ou em exames merceológicos, na avaliação de adulteração ou procedência de uma amostra de mel (BARONI et al., 2015) ou azeite (ANGEROSA et al., 1997), por exemplo.

No campo da identificação humana, embora o uso de isótopos estáveis não permita chegar a uma individualização nos mesmos níveis que os exames de DNA ou de impressões digitais, é possível restringir a classe de indivíduos em função de sua proveniência ou hábitos alimentares e isso, por vezes, pode ser de grande utilidade. A Interpol classifica os métodos de identificação humana em dois tipos: primários e secundários. Os três métodos primários, únicos capazes de individualizar de forma inequívoca um indivíduo, são: exames de DNA (desde que este não possua gêmeos univitelíneos), exames de impressões digitais e exames de odontologia forense. Os demais métodos são considerados secundários e permitem restringir o número de possibilidades a serem confrontadas posteriormente por métodos primários. São exemplos de métodos secundários de identificação: o reconhecimento de uma tatuagem, das vestes, de uma joia ou aliança com a gravação do nome do cônjuge, entre outras (INTERPOL, 2014). A análise de razões isotópicas poderia ser incluída neste segundo grupo.

Tão importante quanto subsidiar a condenação de um suspeito, é a identificação da vítima de um crime. Ela permite que familiares e amigos finalizem seu processo de luto, realizem um enterro digno e possibilita ainda o encerramento da vida civil, com as implicações que isso possa ter em processos de herança ou indenizações. Por vezes, quando a vítima é localizada, passaram-se anos desde a sua morte, o que obviamente inviabiliza a identificação por meio de impressões digitais (KLEPINGER, 2006), que seria o método mais barato e rápido em países que possuem um banco de identificação civil, como o Brasil. Restam então os exames de odontologia forense ou de DNA. O problema é que atualmente não existem bancos públicos exaustivos com estes padrões. Ou seja, encontrada a ossada de uma vítima, é praticamente impossível saber com qual dentista estariam seus últimos prontuários ou ainda em qual família de pessoa desaparecida procurar amostras para confronto de perfil genético. É desta forma que as pesquisas

com isótopos estáveis podem contribuir para a identificação de vítimas: restringindo o universo de possíveis confrontos. (KATZENBERG; KROUSE, 1989).

No Brasil, uma aplicação prática da técnica seria o auxílio na identificação das vítimas de desaparecidos políticos do regime militar, como os encontrados na Vala de Perus, no Cemitério Dom Bosco, localizado na zona norte de São Paulo. Estima-se que entre as cerca de mil ossadas estejam aproximadamente vinte vítimas do regime da época. As ossadas foram encontradas na década de 1990 e até 2015 já haviam passado por Universidades e pelo Instituto Médico Legal (IML) de São Paulo. Acreditava-se que até o início de 2017 todo o trabalho estivesse concluído (SANTIAGO, 2015). Contudo, até fevereiro de 2018 apenas quatro ossadas haviam sido identificadas. A última, de Dilmas Antônio Casemiro, foi a primeira identificada pelo Grupo de Trabalho Perus (GTP), que foi criado em 2014 (VALENTE, 2018). Caso as razões isotópicas de diferentes regiões do país já estivessem mapeadas, análises de isótopos estáveis nos dentes e ossos das vítimas poderiam agilizar os trabalhos de identificação. Lamentavelmente isso ainda não é uma realidade e o presente trabalho procura dar um passo nesse sentido.

A presente dissertação de mestrado está organizada da seguinte forma:

Inicialmente fez-se uma revisão bibliográfica sobre isótopos estáveis e suas aplicações. Particular enfoque foi dado ao ciclo da água e o fracionamento dos isótopos de oxigênio, às plantas com ciclo fotossintético do tipo C3 e C4 e sua influência na razão isotópica do carbono encontrada em tecidos humanos, à biodisponibilidade do estrôncio e ao processos de mineralização dos dentes. Por fim, fez-se uma breve caracterização da área onde foram coletadas amostras de água.

Os resultados obtidos foram indicados na forma de dois artigos intitulados:

1. *“Building an isotopic database based on tooth enamel for human provenance determination in Brazil”*, que traz os resultados obtidos para as amostras de dentes. O artigo será submetido para a revista *Applied Geochemistry* (B1);

2. *“Isotopic drinking water profiling in the eastern part of Paraná, South of Brazil”*, que traz os resultados obtidos para as amostras de água, artigo que será submetido à revista *Hydrological Sciences Journal* (B1). Ressaltamos que este manuscrito está incompleto porque estamos na iminência de receber os resultados das análises de  $\delta D$  e  $\delta^{18}O$  das última três campanhas de coleta de água.

Destacamos que em 2018 foi aceito para publicação o artigo intitulado: “*The Application of Forensic Geology to Investigate the Substitution of Zinc Ingots between China and Brazil*”, dos autores Fábio Augusto da Silva Salvador (co-orientador deste trabalho), Matheus Pereira Nogueira e Silva, Ricardo de Oliveira Mascarenhas e Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger (orientadora) na revista *Geological Society, London, Special Publications (A2)*. O texto publicado encontra-se no Anexo II, ao final desta dissertação (<https://doi.org/10.1144/SP492-2018-83>).

## 1.1 OBJETIVO

O presente estudo tem por objetivo organizar um banco de dados isotópicos baseado em esmalte dentário humano para diferentes regiões do Brasil. Adicionalmente, visa a obter um perfil isotópico das águas utilizadas para o abastecimento público das principais cidades do leste do Paraná: Paranaguá, Curitiba e Ponta Grossa, acrescidas do município de Colombo, localizado na região metropolitana da Capital.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O mapeamento do sinal isotópico presente no esmalte dentário pode auxiliar na identificação de ossadas de pessoas desaparecidas, como método secundário de identificação, na medida em que permite determinar a proveniência das vítimas. Este método ainda é pouco utilizado no Brasil, em parte por falta de dados passíveis de comparação. O mapeamento das águas utilizadas no abastecimento público também pode colaborar nesse sentido, quando dados de comparação direta não estão disponíveis. Além disso, isótopos são marcadores naturais das águas e permitem estudar a origem da água que recarrega os aquíferos e represas, tendo importância para a segurança hídrica.

## 1.3 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.3.1 Isótopos estáveis

Isótopos são átomos de um mesmo elemento químico, portanto apresentam mesmo número de prótons no núcleo, mas que apresentam diferente número de nêutrons e em razão disso apresentam números de massa distintos. Praticamente todos

os átomos, com exceção de doze, apresentam-se na forma de dois ou mais isótopos (BENSON et al., 2006).

Os isótopos estáveis são aqueles que não apresentam decaimento radioativo e, portanto, não decaem formando outros elementos químicos. Dos 82 primeiros elementos da tabela periódica, 80 possuem isótopos considerados estáveis. Entretanto apenas as razões isotópicas de alguns deles apresentam atualmente maior interesse forense: hidrogênio ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ), carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ), oxigênio ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) e enxofre ( $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ). Isto se deve principalmente à sua presença em compostos orgânicos. Apesar disso, alguns elementos presentes em menor concentração em organismos vivos, como o chumbo (Pb) e o estrôncio (Sr) também possuem utilidade (CHESSON et al., 2013; FONT et al., 2015a, 2015b).

A Tabela 1 mostra as abundâncias relativas dos isótopos dos elementos com maior aplicação forense (BENSON et al., 2006) e (FAURE, 2003).

TABELA 1 - Abundância relativa dos isótopos com maior interesse forense.

<b>Elemento</b>	<b>Isótopo</b>	<b>Abundância relativa / %</b>
Hidrogênio (H)	$^1\text{H}$	99,984
	$^2\text{H}$	0,0156
Carbono (C)	$^{12}\text{C}$	98,892
	$^{13}\text{C}$	1,108
Nitrogênio (N)	$^{14}\text{N}$	99,635
	$^{15}\text{N}$	0,365
Oxigênio (O)	$^{16}\text{O}$	99,759
	$^{17}\text{O}$	0,037
	$^{18}\text{O}$	0,204
Enxofre (S)	$^{32}\text{S}$	95,02
	$^{33}\text{S}$	0,76
	$^{34}\text{S}$	4,22
	$^{36}\text{S}$	0,014
Estrôncio (Sr)	$^{88}\text{Sr}$	82,53
	$^{87}\text{Sr}$	7,04
	$^{86}\text{Sr}$	9,87
	$^{84}\text{Sr}$	0,56

As razões isotópicas são expressas como razões dos isótopos mais pesados pelos mais leves. Como pode ser visto na Tabela 1, a abundância do isótopo mais pesado na natureza é geralmente muito menor que a do isótopo mais leve. Em razão disso, a razão isotópica da amostra ( $R_{amostra}$ ) é comparada com a de um padrão pré-estabelecido ( $R_{padrão}$ ). Como os valores de R são, via de regra, muito pequenos, seu valor é multiplicado por mil. Obtém-se então a notação denominada  $\delta$  (letra grega minúscula delta) por mil (‰). Os valores de  $\delta$  são calculados a partir da seguinte fórmula:

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

e expressos indicando-se o isótopo mais pesado:  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ . Para o hidrogênio, utiliza-se comumente a notação  $\delta\text{D}$ , onde D representa o deutério, isótopo estável mais pesado do hidrogênio.

O estrôncio é uma exceção ao que foi dito anteriormente. Como a razão isotópica de maior relevância é a observada entre  $^{87}\text{Sr}$  (7,04%) e  $^{86}\text{Sr}$  (9,87%), os valores são expressos como a razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

No caso do carbono, o padrão utilizado é o carbonato do rostró de um cefalópode denominado *PeeDee Belemnite* (PDB). Para o nitrogênio, definiu-se como referência o nitrogênio atmosférico. Já para o oxigênio, existem dois padrões de referência. Para amostras de água, o valor de referência é o da razão isotópica medida para a média das águas dos oceanos (VSMOW – Vienna Standard Mean Ocean Water). Já para amostras de carbonato, a exemplo do carbono, utiliza-se igualmente o PDB.

Os isótopos mais pesados formam ligações químicas mais estáveis (COPLEN et al., 2002) tanto frente a reações químicas quanto a processos biológicos. A diferenciação também pode ocorrer durante processos físicos, como as mudanças de estado (BENSON et al., 2006). Essa seletividade leva a um fracionamento isotópico, que em realidade é o fenômeno que permite diferenciar amostras em função de sua origem.

### 1.3.2 O ciclo da água e o fracionamento isotópico do oxigênio

Diferentemente do fracionamento do carbono e do nitrogênio na natureza, que envolvem processos de fixação e fotossíntese realizados pelos vegetais e os níveis tróficos da cadeia alimentar (TYKOT, 2004; MUNIZ, 2017), o fracionamento do oxigênio

é mais fácil de ser explicado e está intimamente ligado à evaporação e precipitação da água. A razão isotópica do oxigênio nos oceanos é definida como valor de referência ( $\delta^{18}\text{O} = 0\text{‰}$ ). A medida que a água evapora, as moléculas contendo o isótopo mais leve do oxigênio ( $^{16}\text{O}$ ) tendem a passar mais para o estado gasoso do que as moléculas contendo o isótopo mais pesado ( $^{18}\text{O}$ ). As nuvens formadas ficam, portanto, empobrecidas no isótopo mais pesado e mais “negativas” (em relação à água dos oceanos). A medida que as nuvens deslocam-se em direção ao continente e vão ocorrendo as precipitações, as moléculas contendo o isótopo mais pesado vão se condensando primeiro (FERREIRA, 2008). Dessa forma, as nuvens vão ficando cada vez mais negativas a medida que avançam para o continente (efeito de continentalização). Embora o conceito geral seja simples, a evapotranspiração, as temperaturas diferenciadas ao longo das diferentes latitudes e ainda as diferentes altitudes dos pontos onde ocorrem as precipitações são capazes de gerar assinaturas isotópicas distintas o suficiente para diferenciar a proveniência de produtos e organismos vivos em função da água utilizada na sua produção ou ingerida. A Figura 1 ilustra o processo de fracionamento isotópico do oxigênio.

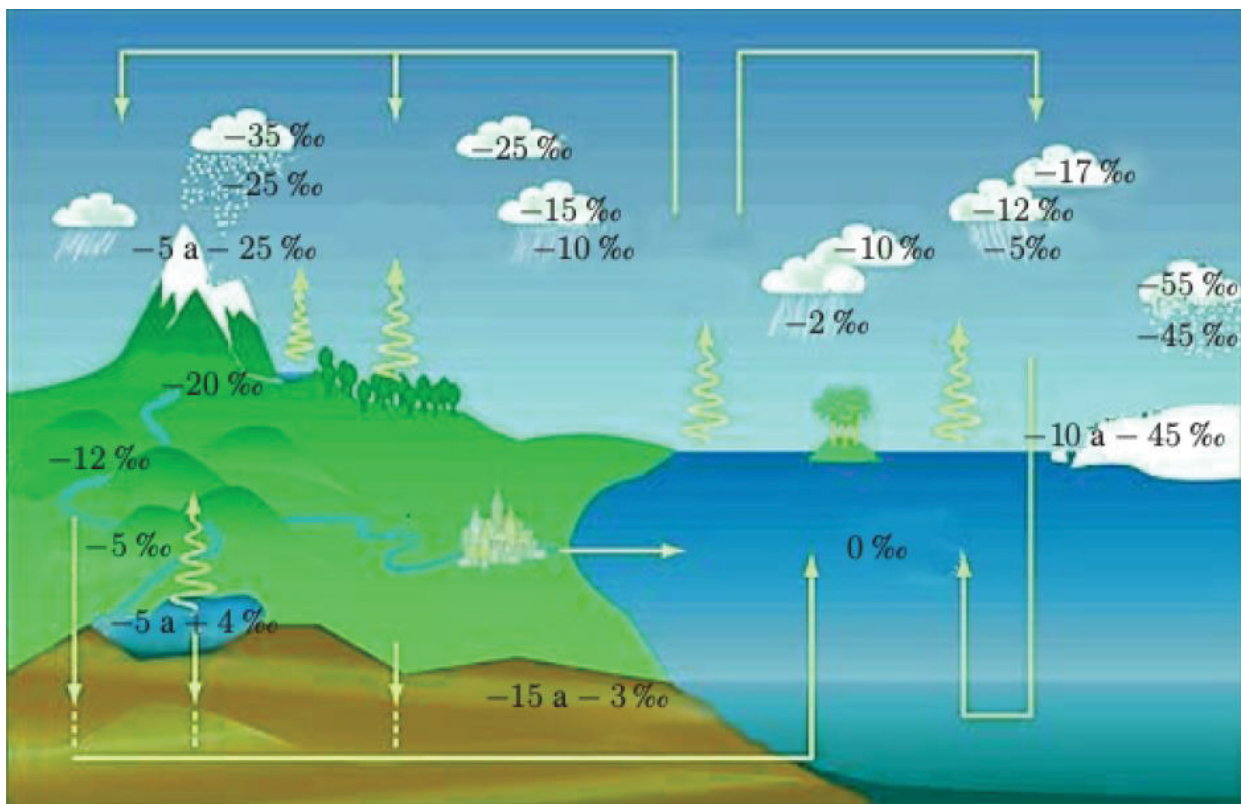
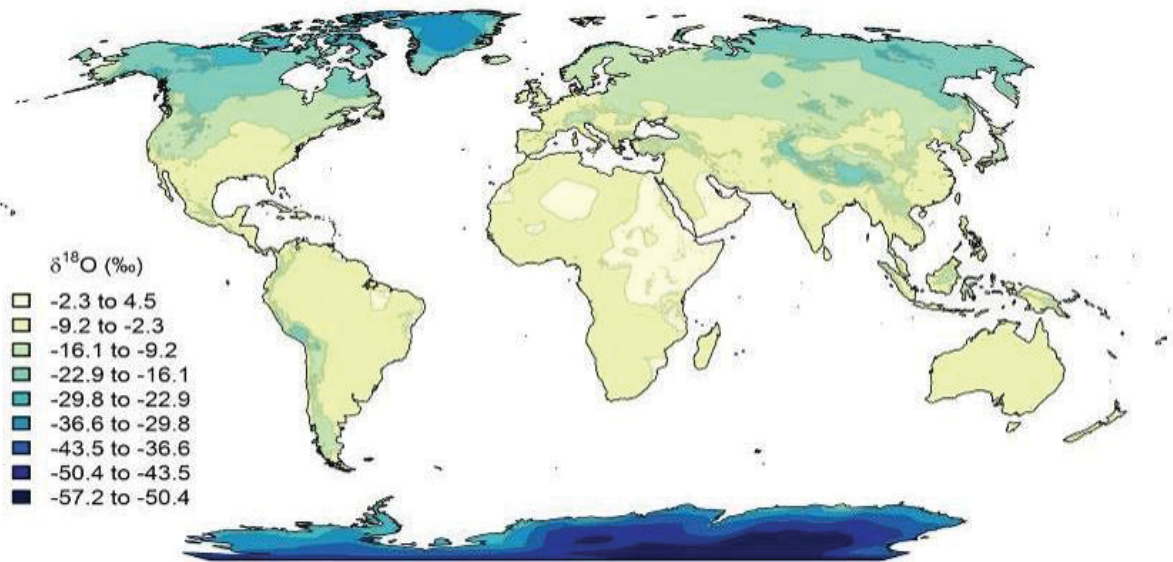


FIGURA 1 - Esquema representando o fracionamento isotópico do oxigênio. Valores substancialmente mais negativos são observados em regiões mais frias (calotas polares e neve) e de altitudes mais altas. Extraído de FERREIRA (2008).

Com base no monitoramento do  $\delta D$  e  $\delta^{18}O$  de algumas estações distribuídas ao redor do mundo, interpolações e modelagens matemáticas, são obtidas *isoscapas* ou paisagens isotópicas, como a mostrada para a média anual na Figura 2.



<http://waterisotopes.org>

FIGURA 2 – *Isoscape* de oxigênio em escala global. Observam-se  $\delta^{18}O$  mais negativos para as regiões mais frias (altas latitudes) e mais elevadas (BOWEN, 2003).

Como os valores de  $\delta D$  e  $\delta^{18}O$  estão associados à umidade relativa do ar, estão sujeitos a variações sazonais (inverno e verão) ou mesmo a variações de um ano para o outro, afetadas por eventos climáticos, como por exemplo o fenômeno El Niño (PANARELLO; DAPEÑA, 2009). Contudo, considerando períodos maiores, anos ou décadas, os padrões temporais e espaciais permanecem estáveis. A Figura 3 mostra a variação sazonal entre verão (janeiro) e inverno (julho), além da média anual, para a América do Sul.

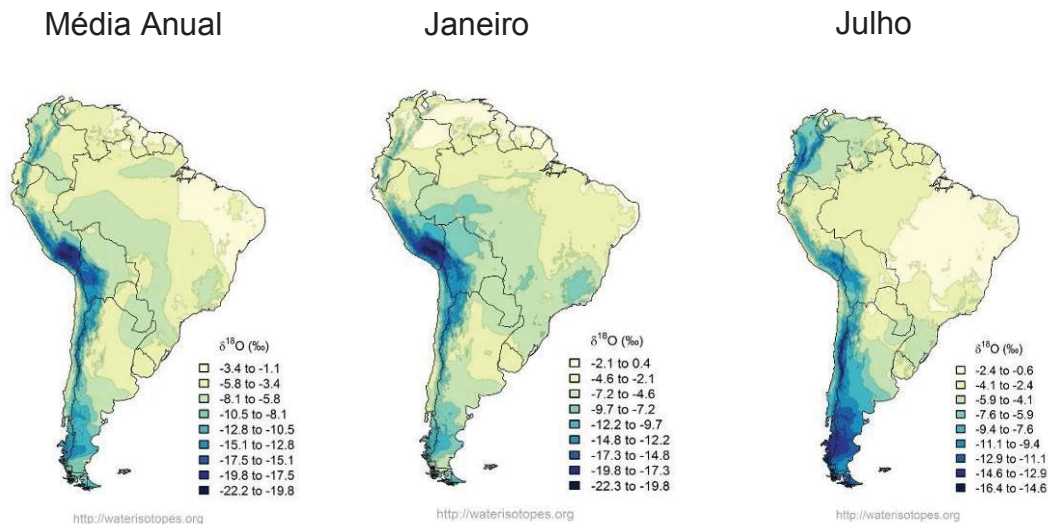


FIGURA 3 – *Isoscapes* de oxigênio para a América do Sul, considerando-se a média anual e a sazonalidade entre verão e inverno, meses de janeiro e julho, respectivamente (BOWEN, 2003).

### 1.3.3 Razão isotópica do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ )

O carbono presente nos tecidos humanos está diretamente vinculado à alimentação. No que se refere ao ciclo fotossintético, as plantas mais utilizadas na alimentação humana estão divididas basicamente em dois grupos: plantas que apresentam ciclo de carboxilação do tipo C<sub>3</sub> (ou de Calvin), como por exemplo o trigo ou a beterraba açucareira e plantas do tipo C<sub>4</sub> (como o milho e a cana-de-açúcar). Enquanto as primeiras tendem a discriminar o isótopo de carbono que retiram do ar durante a fotossíntese, preferindo o <sup>12</sup>C em detrimento do <sup>13</sup>C, as segundas não fazem distinção, apresentando sinais isotópicos mais enriquecidos e próximos do gás carbônico presente na atmosfera (West, 2009). Como consequência disso, é possível separar indivíduos em função de sua dieta. Pessoas do continente europeu, por exemplo, costumam apresentar sinais mais depletados que o de pessoas do continente americano (Nardoto, 2006).

### 1.3.4 Razão isotópica do estrôncio na biosfera ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ )

O sinal isotópico do estrôncio registrado no esmalte dentário é também resultado da ingestão de água e alimentos durante a infância e adolescência e reflete as razões biodisponíveis nos locais de procedência da água e alimentos ingeridos. É importante notar que apesar da razão isotópica encontrada nas rochas geradoras apresentarem certo papel no estrôncio biologicamente disponível, diferenças no processo de lixiviação, influências da água das chuvas e do spray marinho também possuem grande influência

(SKORYNA, 1981). Com efeito, o estrôncio que finalmente entra na cadeia alimentar e acaba por substituir o cálcio em tecidos biológicos, como os ossos, dentina e esmalte dentário, desviam consideravelmente das  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  esperadas baseadas exclusivamente nas condições geológicas (PRICE; BURTON; BENTLEY, 2002). Em razão disso, bancos de dados baseados em plantas e animais são mais adequados para avaliar a  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  efetivamente biodisponível. Um aspecto positivo da utilização da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  como proxy em estudos de proveniência reside no fato de, em função de sua elevada massa atômica, o estrôncio não sofrer fracionamento ao longo da cadeia alimentar nem entre diferentes tecidos de um mesmo indivíduo (FLOCKHART et al., 2015), diferentemente do que ocorre para isótopos de elementos mais leves, como o carbono e o oxigênio, por exemplo.

### *1.3.5 Formação dos dentes e análise de isótopos estáveis*

Os tecidos mineralizados de vertebrados, como por exemplo, os ossos, o cemento, a dentina e o esmalte são constituídos basicamente por uma fase mineral de hidroxiapatita de cálcio e por uma fase orgânica proteica. Apesar disso, variando-se a estrutura, o tamanho e forma dos cristais, o nível e distribuição de minerais traços, além da natureza e das proporções dos componentes proteicos, é possível obter tecidos com diferentes propriedades físicas e mecânicas, capazes de atender às diversas funções biológicas a que se destinam (CURREY, 1999; MARGOLIS; KWAK; YAMAZAKI, 2014).

Com relação aos dentes, externamente podem ser divididos em coroa (parte superior) e raiz (parte inferior). Examinando-se a seção transversal de um dente, observa-se, na coroa, uma parte externa (o esmalte), que é o tecido humano mais rígido, e, na raiz, o cemento (responsável pela fixação ao tecido conjuntivo circundante). Internamente, observa-se a dentina e a polpa, sendo esta última a região vascularizada e enervada do dente (FIGURA 4). Tanto o esmalte quanto a dentina são tecidos bastante mineralizados. O esmalte contém 96% de fosfato de cálcio (em massa), 3% de água e 1% de matéria orgânica. Já a dentina apresenta de 70% a 75% de fosfato de cálcio, 20% de matéria orgânica e 5% a 10% de água. Estruturalmente, o esmalte é bem mais compacto, apresentando baixa porosidade e grandes cristalitos de fosfato. A dentina, por outro lado, apresenta uma estrutura bem mais porosa, com túbulos de 1 mm de diâmetro e 100 nm de comprimento (KOHN; SCHOENINGER; BARKER, 1999).

A fração mineralizada do esmalte é composta por hidroxiapatita de cálcio:  $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Como as bioapatitas em geral são deficientes em cálcio, ocorre a

substituição de parte dos íons fosfato por carbonato, a fim de manter o equilíbrio de cargas elétricas (substituição do tipo B). Adicionalmente, parte das hidroxilas também podem ser substituídas por íons carbonato, na proporção de 2:1 (substituição do tipo A), resultando na seguinte composição aproximada:  $\text{Ca}_{4,5}[(\text{PO}_4)_{2,7}(\text{HPO}_4)_{0,2}(\text{CO}_3)_{0,3}](\text{OH})_{0,5}$  (KUBOTA, 2014). O mineral encontrado na dentina, por outro lado, apresenta menos fosfato e cálcio e mais carbonato e magnésio (KOHN; SCHOENINGER; BARKER, 1999). Sabe-se ainda que a composição química do esmalte não é homogênea, variando de acordo com a localização. Em bovinos, por exemplo, a concentração de carbonato varia de aproximadamente 5% próximo à junção amelodentinária (esmalte-dentina) a aproximadamente 3% próximo à superfície externa (ZAZZO; BALASSE; PATTERSON, 2005). Uma vez que o processo de mineralização ocorre em equilíbrio com os fluidos corporais, que por sua vez adquirem seu sinal isotópico a partir da água e alimentos ingeridos (READE et al., 2015), é possível fazer inferências sobre a proveniência e hábitos alimentares estudando suas razões isotópicas. Em particular, sabe-se que o  $\delta^{18}\text{O}$  apresenta correlação com a água ingerida (DAUX et al., 2008).

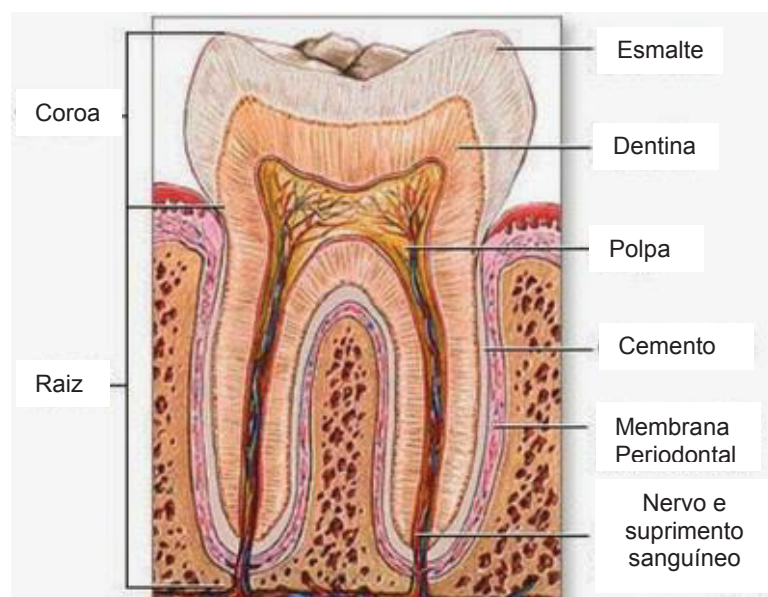


FIGURA 4 – Anatomia de um dente. Adaptado de MOLLI; CHAITANYA, 2016.

Ao se falar no processo de mineralização dos dentes, tanto no esmalte quanto na dentina, o uso do termo biomineralização é mais adequado, já que sua formação ocorre sob estrito controle biológico, gerando estruturas funcionais com forma definida (PERRY et al., 2007; DUPRAZ et al., 2009). As fases de formação do esmalte e da

dentina na odontogênese são respectivamente denominadas de amelogênese e dentinogênese, sendo que esta última é a primeira a ocorrer (CARUSO et al., 2016). Embora os mecanismos de mineralização dos tecidos não sejam completamente entendidos, sabe-se que são fortemente governados por processos intracelulares e extracelulares (WEINER; LOWENSTAM, 1986). As células formadoras destes tecidos secretam uma matriz proteica constituída por uma proteína hidrofóbica e pequenas quantidades de moléculas hidrofílicas. Na dentina, assim como nos ossos, essa matriz hidrofóbica é composta principalmente por colágeno, enquanto no esmalte o principal componente é a amelogenina (MARGOLIS; KWAK; YAMAZAKI, 2014). Acredita-se que as proteínas hidrofóbicas atuam como esqueleto, ao passo que as moléculas hidrofílicas regulam a nucleação e o crescimento da fração mineral.

Na dentina, os cristais de hidroxiapatina formam-se com o eixo c paralelo às fibras de colágeno, em um processo estereoespecífico. Isso ocorre em razão de um processo de nucleação heterogênea. Ou seja, as macromoléculas possuem centros com cargas elétricas, ou outras propriedades, que reduzem a barreira de energia para a formação dos cristais a partir de uma solução que, caso contrário, seria estável. Acredita-se que as macromoléculas responsáveis pela nucleação possuam geometria e distribuição de cargas que mimetizam certos planos de cristalização do cristal a ser nucleado. No caso da dentina, as fosfoproteínas, como a fosforina (PP-H) e as proteoglicanas (PGs), com suas cargas negativas, são apontadas como agentes de nucleação, atraindo os cátions  $\text{Ca}^{2+}$  (CARUSO et al., 2016).

Diferentemente da dentina, no esmalte a mineralização ocorre quase que imediatamente depois que os ameloblastos secretam a matriz proteica, constituída principalmente por amelogenina, como componente hidrofóbico, e de enamelinina e ameloblastica como componentes hidrofílicos, sem que haja tempo para a formação de uma estrutura bem definida que sirva de molde. Como resultado, tem-se inicialmente a formação de finas faixas de material mineralizado. Posteriormente, durante a maturação do esmalte, proteases degradam a matriz orgânica e as faixas de mineral aumentam em largura e espessura, formando um tecido altamente mineralizado, com menos de 5% de matéria orgânica e água (TORRES, 2008; MARGOLIS; KWAK; YAMAZAKI, 2014). O processo de maturação do esmalte prossegue após a irrupção dos dentes (maturação pós-eruptiva), na qual ocorre principalmente a substituição de algumas hidroxilas ( $\text{OH}^-$ ) da hidroxiapatita por íons fluoreto ( $\text{F}^-$ ), deixando o mineral menos solúvel e mais resistente a cáries (LYNCH, 2013).

Além do processo de mineralização de cada dente ser gradativo, ressalta-se que a própria formação dos dentes não ocorre de forma simultânea, com a calcificação sendo iniciada ainda nos primeiros meses de vida e a formação da raiz completada ao final da adolescência/início da vida adulta. A Tabela 2 mostra os períodos de formação para cada tipo de dente em seres humanos.

Percebe-se, portanto, que o conhecimento da odontogênese tem fundamental importância tanto para a correta amostragem quanto para a interpretação adequada dos sinais isotópicos obtidos (definição da janela temporal estudada). De fato, nas análises de dentes, são observadas variações tanto intra como interdentárias nas proporções de isótopos estáveis (FRICKE; O'NEIL, 1996; ZAZZO et al., 2012).

TABELA 2 - Idades de formação dos dentes em seres humanos (ASH; NELSON, 2003).

Dentição superior (maxilar)								
Dentição permanente	Incisivos centrais	Incisivos laterais	Caninos	Primeiro pré-molar	Segundo pré-molar	Primeiro molar	Segundo molar	Terceiro molar
Calcificação inicial	3–4 m.	10–12 m.	4–5 m.	1,5–1,75 a.	2–2,25 a.	no nascimento	2,5–3 a.	7–9 a.
Coroa finalizada	4–5 a.	4–5 a.	6–7 a.	5–6 a.	6–7 a.	2,5–3 a.	7–8 a.	12–16 a.
Raiz finalizada	10 a.	11 a.	13–15 a.	12–13 a.	12–14 a.	9–10 a.	14–16 a.	18–25 a.
Dentição inferior (mandibular)								
Calcificação inicial	3–4 m.	3–4 m.	4–5 m.	1,5–2 a.	2,25–2,5 a.	no nascimento	2,5–3 a.	8–10 a.
Coroa finalizada	4–5 a.	4–5 a.	6–7 a.	5–6 a.	6–7 a.	2,5–3 a.	7–8 a.	12–16 a.
Raiz finalizada	9 a.	10 a.	12–14 a.	12–13 a.	13–14 a.	9–10 a.	14–15 a.	18–25 a.

#### 1.4 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA ESTUDO (AMOSTRAS DE ÁGUA)

Os estados do Paraná e Santa Catarina encontram-se situados na porção sul do Sistema Orogênico da Ribeira, o qual se insere no contexto do *Gondwana* Oeste e é composto por faixas de unidades metassedimentares, metavulcanossedimentares e intrusões graníticas proterozoicas (SANTOS, 2017). Foram coletadas amostras de água destinadas ao abastecimento público dos municípios paranaenses de Paranaguá, Curitiba, Colombo e Ponta Grossa. Os três primeiros municípios encontram-se localizados no embasamento Escudo, que abrange o Primeiro Planalto e o Litoral. Separando o Primeiro Planalto do Litoral encontra-se a Serra do Mar, com cumes elevados de até 1.800 m de altitude, sustentada por rochas ígneas e metamórficas como granitos, granulitos, migmatitos, gnaisses e xistos e mais raramente quartzitos, frequentemente associados com rochas intrusivas mais jovens. Rochas resistentes sustentam diversas unidades morfoestruturais dentro desta unidade morfológica, enquanto falhas, zonas de cisalhamento, fraturas e grandes domínios de rochas supracrustais condicionam lineamentos maiores e segmentos locais da rede de drenagem. Esta unidade consiste em uma faixa de encostas com vertentes abruptas que margeiam o Planalto Atlântico, desde a divisa do Estado de Santa Catarina e o Estado do Paraná até a divisa com o Estado de São Paulo, na região do Vale do Ribeira de Iguape. Predominam nesta unidade as formas de relevo denudacionais, constituídas basicamente por escarpas e cristas com topos aguçados e topos convexos. O relevo é bastante dissecado e a drenagem tem um padrão dendrítico, adaptado às direções das estruturas que estão relacionadas com falhas, fraturas e contatos litológicos, que condicionam com frequência o padrão de drenagem em treliça com trechos com traçado retilíneo e incisões em ângulos agudos, mostrando a forte influência de direções estruturais importantes. Os topos das cristas são aplainados e nivelados (MMA, 2015). O Primeiro Planalto Paranaense, por sua vez, é uma unidade de relevo de altitudes até 1200m, sustentado por rochas metamórficas do Grupo Açungui, Grupo Setuva e metavulcânicas do Grupo Castro. Estende-se desde a região de Jaguariaíva, Tibagi e Purunã, nos sopés da escarpa da Serra de São Luiz do Purunã, constituída de estratos horizontais devonianos, até a vertente leste da Serra do Mar. Por fim, o município de Ponta Grossa encontra-se na Bacia do Paraná, que engloba o Segundo e o Terceiro Planaltos Paranaenses (SILVA; VAINE, 2001). O embasamento da Bacia do Paraná é constituído principalmente de rochas cristalinas pré-Cambrianas e, subordinadamente,

por rochas neo-paleozóicas. Na época de sua implantação, o sítio apresentava instabilidades tectônicas do final do ciclo Orogênico Brasileiro, associadas a zonas de fraqueza das mais variadas direções, mas concentradas, principalmente, em duas direções preferenciais N45-60W e N50-70E, que passariam a ter forte influência no desenvolvimento da própria bacia. A bacia encontra-se preenchida por depósitos marinhos e continentais com idades desde o Siluriano Superior (Formação Furnas) até o Cretáceo (Grupo Bauru). Na base da coluna estratigráfica da bacia encontra-se, no Estado do Paraná, o Grupo Paraná, constituído pelas formações Furnas e Ponta Grossa. A FIGURA 5 mostra a localização dos pontos de coleta.

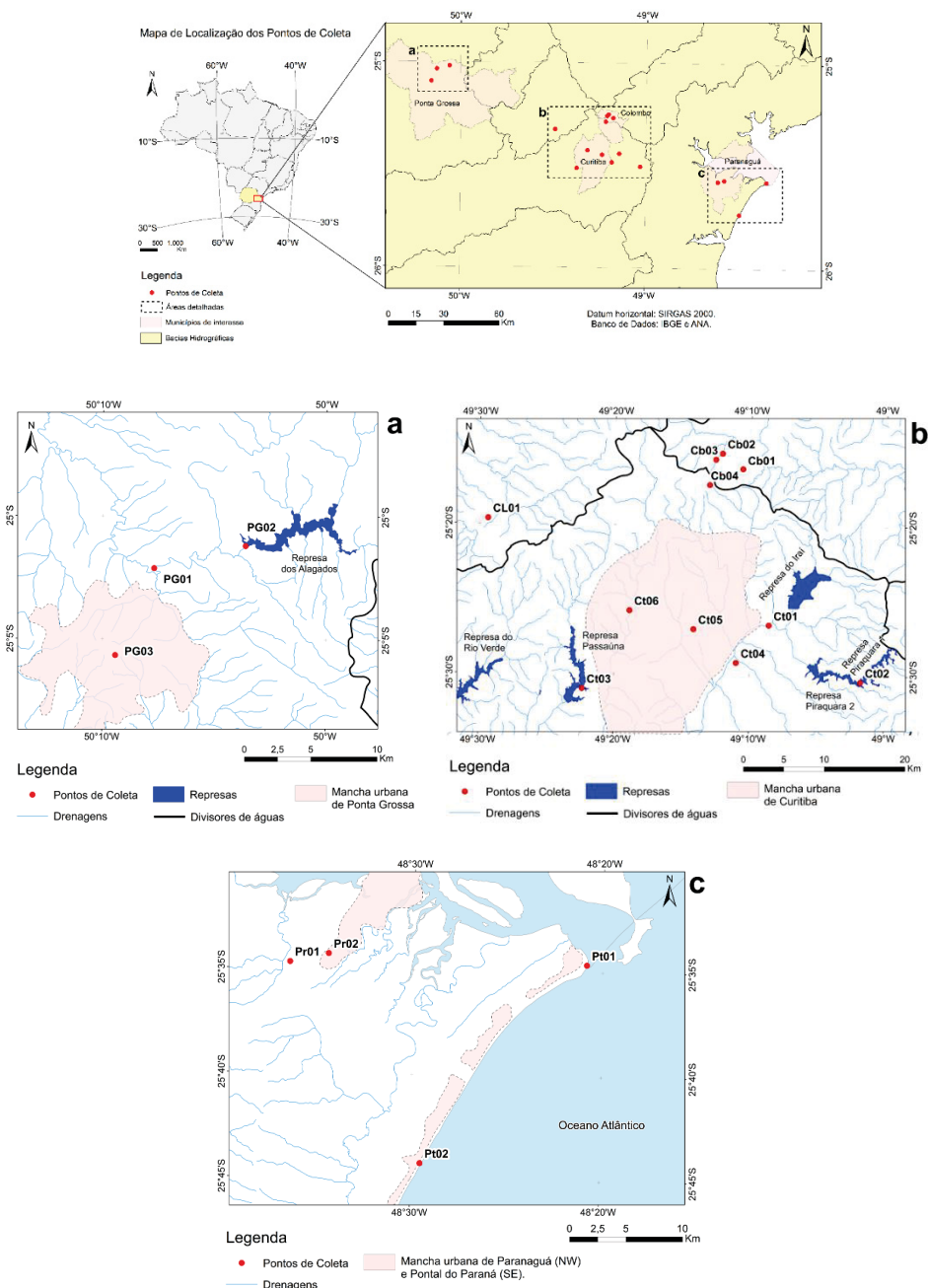


FIGURA 5 – Localização dos pontos de coleta de amostras de água.

O município de Paranaguá encontra-se em uma unidade de depósitos litorâneos indiferenciados, constituídos principalmente por sedimentos arenosos e argilosos cenozoicos inconsolidados ou pouco consolidados. Contudo, a água que abastece 98% do município, excetuando-se apenas o distrito de Alexandra e a Ilha do Mel, provém de mananciais localizados no Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange, que drenam o Granito Morro Inglês de Idade Ediacarana, biotita-hornblenda granito e leucogranito, com séries graníticas subalcalinas: calcialcalinas de baixo, médio e alto-K e toleíticas.

As Figuras 6 e 7 ilustram respectivamente os pontos de coleta de água do mar em Pontal do Sul (Pt01) e no ponto de captação de água para a ETA Colônia, na Estação Elevatória de Água Bruta Ribeirão (Pr01).

A cidade de Curitiba encontra-se na formação Guabirota, nome dado aos sedimentos depositados em um intervalo de 23 a 1,8 milhões de anos, compreendendo os períodos do Paleógeno ao Quaternário (Mioceno-Holoceno, respectivamente), em um abatimento de rocha gerado por falhas na forma de uma bacia, tendo início no Cretáceo (99 Ma). Grande parte dos sedimentos que constituem a Formação Guabirota foram originados a partir da decomposição química das rochas Pré-Cambrianas. Seus sedimentos chegam a atingir espessuras da ordem de 60-80 metros e compreendem sequências litológicas nas quais predominam argilas e areias arcólicas (20-40% de feldspato), depositados sobre as rochas gnáissicas-migmatíticas do Complexo Atuba, metassedimentares do Grupo Açungui. A parte basal é composta, por vezes, de cascalhos e arcósios de granulometria grosseira. É normal a presença de cimento carbonático impregnando os sedimentos. Junto a estas impregnações carbonáticas ocorrem elementos de terras raras (lantânio, neodímio, etc.). Estruturalmente os sedimentos são afetados por bandas e/ou zonas de cisalhamento rúpteis com direções variáveis, mas com tendência de planos orientados para NE-SW e NW-SE. A Formação Tinguis, sobreposta à Formação Guabirota, é constituída por sedimentos retrabalhados da mesma, sendo sua idade Pleistocênica-Holocênica (MMA, 2015). As represas de Iraí, Piraquara 1 e 2 e Passaúna, de onde provém a água que abastece a região, estão inseridas nesse contexto.



FIGURA 6 – Ponto de coleta de água do mar em Pontal do Sul (Pt01).



FIGURA 7 – Ponto de coleta de água na captação da ETA Colônia (Pr01).

É importante ressaltar que a represa de Piraquara 1 verte suas águas para a represa de Piraquara 2 e que suas águas são mescladas com as da represa de Iraí antes de serem tratadas pelas ETAs Iraí e Iguaçu. Sendo assim, as amostras coletadas em Ct1 e Ct4 são representativas do sistema que abastece a zona leste de Curitiba. A zona oeste do município é abastecida principalmente pelas águas da represa de Passaúna. As FIGURAS 8 a11 ilustram os pontos de coleta e as suas localizações em relação aos pontos de captação das ETAs.



FIGURA 8 – Ponto de coleta Ct1 (seta) e ponto de captação da ETA Iraí (círculo tracejado).



FIGURA 9 – Ponto de Coleta Ct2, localizado entre as represas de Piraquara 1 e 2.

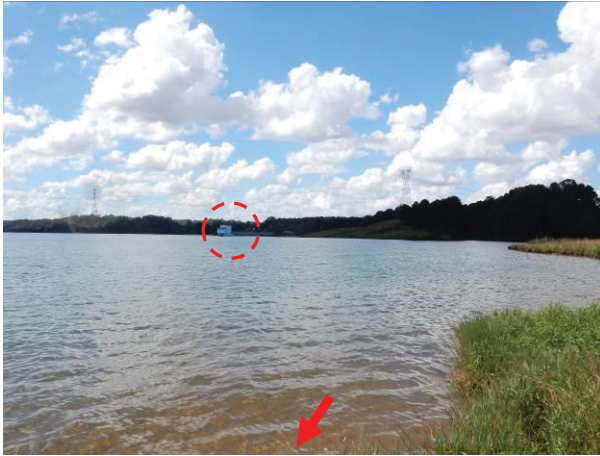


FIGURA 10 – Ponto de coleta Ct3 (seta), localizado na represa de Passaúna e ponto de captação da ETA Passaúna (círculo tracejado).



FIGURA 11 – Ponto de coleta Ct4 (seta) e ponto de captação da ETA Iguaçu (círculo tracejado).

Diferentemente dos demais municípios de onde foram coletadas amostras de água, a cidade de Colombo utiliza água subterrânea para o abastecimento público. Para monitorar o sinal isotópico do aquífero Karst, optou-se por coletar amostras a partir de fontes e surgências de água mineral, além de amostra de água mineral da marca Ouro Fino, situada em Campo Largo. As fontes e surgências de água mineral amostradas (Cb01, Cb02 e Cb03) encontram-se sobre a formação Capiru, que é composta por rochas metassedimentares de baixo grau, que afloram segundo uma faixa alongada de direção NE-SW (SANTOS, 2017). Essa faixa composta principalmente por rochas metacalcárias, intercaladas por finas camadas de metassedimentos siltico-argilosos. A água mineral Ouro Fino é extraída da Formação Betara, na fronteira entre a unidade de xistos, composta por quartzo-mica xisto e quartzito ferruginoso. As FIGURAS 12 a 15 ilustram os pontos de coleta no município.



FIGURA 12 - Fonte de água mineral localizada na propriedade de Plínio Toniolo (Cb01).



FIGURA 13 - Fonte de água mineral localizada na propriedade de Laudener Lazarotto (Cb02).



FIGURA 14 - Surgência de água mineral localizada na propriedade de João Milane (Cb03).

FIGURA 15 - Surgência de água mineral localizada na propriedade de João Milane (Cb03).

O município de Ponta Grossa é abastecido principalmente pela água da represa de Alagados, que se encontra envolta pelo complexo granítico Cunhaporanga, formado Neoproterozoico ediacarano, pertencente ao grupo Castro e composto por monzogranito. Trata-se de séries graníticas subalcalinas: calcialcalinas (com baixo, médio e alto-K) e toleíticas. Da represa até o ponto de captação, as águas percorrem a formação de Furnas, que é composta por arenitos quartzosos, esbranquiçados a arroxeados, médios a grosseiros, localmente conglomeráticos, finos ou argilosos, com estratificação cruzada de canal. A sua espessura atinge 200 m na faixa aflorante. A Formação Furnas assenta-se em discordância erosiva e angular sobre as rochas do Embasamento Cristalino. Com base nas suas relações estratigráficas, sua idade é atribuída ao Devoniano (MMA, 2015).

As FIGURAS 16 e 17 ilustram os pontos de coleta na represa Alagados e nas proximidades da captação para tratamento pela ETA Alagados, respectivamente. Por questões de acesso, a amostra foi coletada a jusante do ponto de captação, localizado no rio Pitangui.



FIGURA 16 – Ponto de coleta na represa Alagados (PG1).



FIGURA 17 – Ponto de coleta localizado imediatamente a jusante da captação de água para tratamento na ETA Alagados.

---

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS DE ÁGUA

Considerando a captação de água para abastecimento público nas áreas de interesse, foram coletadas amostras nos seguintes pontos (Tabela 3). As coordenadas geodésicas aproximadas indicadas no presente trabalho foram obtidas utilizando um aparelho eTrex® 10 da Garmin com precisão aproximada de 5 m. Todas as coordenadas estão indicadas no *datum* SIRGAS 2000.

As amostras foram coletadas a partir de pontos o mais próximo possível da captação para tratamento nas ETAs (Estações de Tratamento de Água). A fim de avaliar eventuais fracionamentos até o consumidor final, foram coletadas amostras de água de torneira em locais de acesso público. As amostras foram coletadas a cada 3 meses entre março de 2018 e janeiro de 2019.

O município de Colombo foi um caso particular, já que é abastecido principalmente pela água proveniente do aquífero Karst, sendo que a SANEPAR utiliza diversos poços com pontos de distribuição variados. A razão isotópica do aquífero foi então estudada por meio de amostras coletadas a partir de fontes de água mineral situadas em propriedades privadas, sejam de acesso público ou com autorização de seus proprietários. Estas fontes foram descritas no Guia de Geoturismo no Karst (PIEKARZ, 2011). Adicionalmente foram adquiridas, no mercado de varejo, amostras de água mineral da marca Ouro Fino (extraída no município de Campo Largo) e também proveniente do mesmo aquífero. Observou-se que a data de envase fosse o mais próxima possível da data de coleta das demais amostras.

Com exceção das amostras de água tratada, coletadas a partir de torneiras, as amostras de água bruta foram filtradas imediatamente após a coleta utilizando-se filtros para seringa com membrana de nylon (25 mm de diâmetro x 0,45 µm de tamanho de poro) e refrigeradas até o momento das análises. Essas medidas têm por objetivo minimizar eventuais influências resultantes de metabolismo bacteriano ou fracionamento isotópico.

TABELA 3 – Identificação e localização dos pontos de coleta de amostras de água.

Identificação	Descrição	Latitude	Longitude
Pt01	(Pontal do Paraná) Amostra de água do mar coletada em Pontal do Sul, nas proximidades do Centro de Estudos do Mar da UFPR, próximo à entrada da Baía de Paranaguá.	25° 34' 39,1" S	48° 20' 51,0" W
Pt02	(Pontal do Paraná) Amostra de água do mar coletada no Balneário Albatroz, em frente ao Posto Salva-vidas.	25° 44' 14,8" S	48° 29' 30,3" W
Pr01	(Paranaguá) Ponto na captação de água da ETA Colônia.	25° 34' 41,6" S	48° 36' 32,6" W
Pr02	(Paranaguá) Água de torneira coletada no Posto de Combustíveis Jardim Paranaguá.	25° 34' 16,8" S	48° 34' 30,1" W
Ct01	(Divisa Pinhais/Piraquara) Ponto próximo à captação de água da ETA Iraí.	25° 26' 40,3" S	49° 08' 34,4" W
Ct02	(Piraquara) Ponto entre as represas Piraquara 1 e 2.	25° 30' 25,0" S	49° 01' 46,0" W
Ct03	(Araucária) Ponto na represa de Passaúna, próximo à captação de água da ETA Passaúna.	25° 31' 00,4" S	49° 22' 20,1" W
Ct04	(Divisa São José dos Pinhais/Curitiba) Ponto próximo à captação da ETA Iguaçú.	25° 29' 11,8" S	49° 10' 58,4" W
Ct05	(Curitiba) Água de torneira coletada em ponto externo do Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas (LPH) da UFPR, zona leste de Curitiba.	25° 26' 58,5" S	49° 14' 08,3" W
Ct06	(Curitiba) Água de torneira coletada no Parque Barigui, zona oeste de Curitiba.	25° 25' 45,2" S	49° 18' 52,9" W
Cb01	(Colombo) Fonte de água mineral localizada na propriedade de Plínio Toniolo.	25° 16' 13,5" S	49° 10' 36,7" W
Cb02	(Colombo) Fonte de água mineral localizada na propriedade de Laudenir Lazarotto.	25° 15' 12,3" S	49° 12' 07,6" W
Cb03	(Colombo) Insurgência de água mineral localizada na propriedade de João Milane.	25° 15' 36,9" S	49° 12' 36,9" W
Cb04	(Colombo) Torneira de água localizada próximo à entrada do Parque Municipal da Uva.	25° 17' 18,9" S	49° 13' 03,1" W
CL01	(Campo Largo) Garrafa de água mineral de 500 mL da marca Ouro Fino (L:05/04/18 L5 V: 05/04/19 H: 09:17). A amostra foi obtida na rede de varejo de Curitiba. As coordenadas ao lado indicam a localização da empresa.	25° 19' 38,7" S	49° 29' 23,1" W
PG01	(Ponta Grossa) Ponto a jusante da captação de água da ETA Alagados.	25° 02' 07,6" S	50° 07' 41,7" W
PG02	(Ponta Grossa) Represa de Alagados.	25° 01' 12,5" S	50° 03' 36,4" W
PG03	(Ponta Grossa) Água de torneira coletada no interior do Supermercado Condor (Av. Dr. Vicente Machado, 98 - Centro)	25° 05' 39,9" S	50° 09' 25,2" W

Amostras de água do mar foram coletadas em Pontal do Paraná para se ter uma ideia do fracionamento isotópico que ocorre a medida que se passa do litoral para o interior e do nível do mar para altitudes mais elevadas.

Por questões de acesso, e tendo em vista os resultados obtidos na primeira campanha de coleta, os pontos Ct02 (entre as represas de Piraquara 1 e 2) e PG02 (na represa de Alagados) não foram amostrados nas três campanhas subsequentes.

## 2.2 AMOSTRAS DE DENTES

As amostras de dentes foram obtidas junto ao banco de dentes da Faculdade de Odontologia da UFPR e com a Dentista Naiana Mello Cançado, que atua na região de Ponta Grossa-PR. Todos os dentes utilizados são provenientes de doações de pacientes, mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este estudo está vinculado ao projeto “Análise mineralógica e isotópica de apatita em dentes humanos: Investigação da origem geográfica e inferências sobre idades de indivíduos aplicada a fins forenses” (CAAE: 48595215.0.0000.0020), ao qual a orientadora está vinculada.

Foram utilizados preferencialmente dentes sem sinais aparentes de cárie ou restauração e de doadores que, segundo as informações disponíveis, tenham vivido na mesma localidade durante a infância até o final da adolescência/início da vida adulta, tendo consumido durante esse período preferencialmente água fornecida pela empresa de saneamento local.

Em razão de sua maior disponibilidade nos bancos de dentes, foram utilizados preferencialmente os dentes<sup>1</sup> 18 (terceiro molar superior direito), 28 (terceiro molar superior esquerdo), 38 (terceiro molar inferior esquerdo) e 48 (terceiro molar inferior direito). Estes dentes têm sua calcificação iniciada dos 7 aos 10 anos, atingem a fase de coroa dos 12 aos 16 anos e têm suas raízes completamente formadas dos 18 aos 25 anos (ASH; NELSON, 2003). Os dados disponíveis para as amostras obtidas estão indicados no Anexo I.

Após a exodontia, os dentes foram tratados com detergente enzimático por 20 min e com solução de ácido peracético a 0,5% por 15 minutos, antes de serem

---

<sup>1</sup> Seguindo-se a numeração desenvolvida pela “Fédération Dentaire Internationale” (FDI).

armazenados em uma solução de cloramina a 0,5% e mantidos sob refrigeração até o momento da secagem. Os dentes foram então lavados com água milli-Q e secos em estufa a 25-30 °C por 36 h.

As amostras foram coletadas com o auxílio de microrretífica da marca Dremel, adaptada a uma ponta diamantada. Inicialmente a camada externa do esmalte foi removida a fim de eliminar possíveis interferências. Na sequência, as amostras de esmalte foram sendo coletadas na forma de pó, obtido por abrasão. Entre as amostras, a ponta diamantada era limpa por imersão seguindo a sequência: água ultrapura; HCl 10%; água ultrapura; etanol.

No total, foram analisados dentes de 124 indivíduos para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  e de 14 indivíduos para  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

## 2.3 ANÁLISES DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS

### 2.3.1 Análise de isótopos de hidrogênio e oxigênio na água

O uso de técnicas de Razão Isotópica por Espectroscopia no Infravermelho (IRIS) para análise de amostras de água cresceu nos últimos anos (WEST, 2010). Isto deve-se em parte à relativa portabilidade e robustez dos equipamentos, permitindo inclusive análises em campo, e a um menor custo, em comparação com a Espectrometria de Massa de Razão Isotópica (IRMS). Contudo é necessário ter em mente que essa técnica é sensível à contaminação por compostos orgânicos (WEST, 2010).

Em uma configuração comumente utilizada, a amostra de água é vaporizada e introduzida em uma pequena cavidade de aproximadamente 35 mL contendo três espelhos (FIGURA 18). O laser é então ora introduzido na cavidade e ora bloqueado, além de ser escaneado em distintos comprimentos de onda. A presença dos espelhos garante um comprimento de onda efetivo superior a 10 km. O decaimento da intensidade é então monitorado em função do tempo. Equipamentos de CRDS (*Cavity Ring-down Spectroscopy*) podem ser utilizados tanto para medir a concentração de gases quanto para determinar razões isotópicas não somente em amostras de água, como também em outros gases simples ( $\delta^{13}\text{C}$  em gás carbônico, metano e suas misturas, ou  $\delta^{18}\text{O}$  em oxigênio, por exemplo).

Outros aspectos que precisam ser levados em conta durante as análises são o efeito de memória, principalmente quando se trabalha com água, e o *drift*.

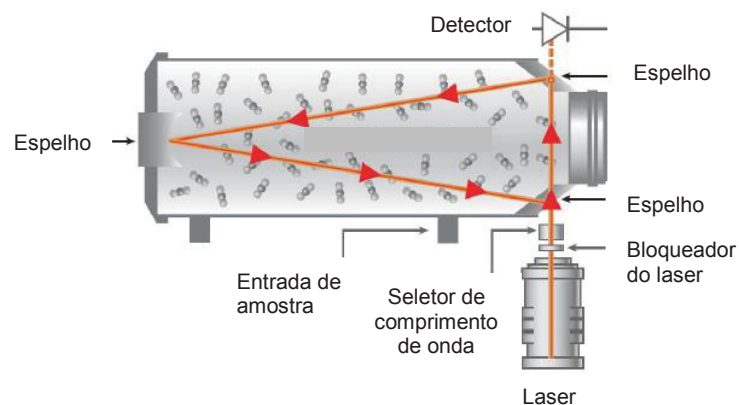


FIGURA 18 – Esquema ilustrando a cavidade de um equipamento de CRDS. O laser é ligado e diferentes comprimentos de onda podem ser obtidos utilizando o seletor de comprimento de onda. O laser entra então na cavidade, que contém a amostra de gás e é refletido nos três espelhos, enquanto vai sendo absorvido pelas moléculas presentes na cavidade. O decaimento da intensidade do laser é monitorado em função do tempo. Adaptado a partir de (DENNIS, 2015).

As amostras de água foram analisadas no Instituto de Geologia do ETH Zürich utilizando um Espectrômetro de Cavidade Ressonante Tipo Ring-Down (CRDS) da Picarro, modelo L2120-*i*, acoplado a um módulo de vaporização V1102-*i* e a um sistema de injeção automatizado da PAL System. Imediatamente antes das análises, todas as amostras foram novamente filtradas utilizando membranas de polipropileno hidrofílico GHP Acrodisc® da Pall Corporation (13 mm de diâmetro x 0,45 µm de tamanho de poro). Alíquotas de aproximadamente 1 mL de cada amostra foram acondicionadas em vials de 2 mL. Em uma sequência típica de análise, inicialmente era analisada água ultrapura (mili-Q), em seguida eram analisados três padrões secundários, previamente padronizados utilizando os seguintes padrões primários da IAEA (International Atomic Energy Agency): VSMOW2, GISP e SLAP2. Os padrões secundários, denominados JFW (água proveniente do glaciar Jungfrau, previamente fracionada em laboratório), ZW (água do abastecimento de Zurique) e MEDW (água do mediterrâneo), apresentam as seguintes razões isotópicas (Tabela 4):

TABELA 4 – Razões isotópicas apresentadas pelos padrões secundários utilizados, padronizadas na escala VSMOW.

Padrão Secundário	$\delta^{18}\text{O}/\text{‰}$	$1\sigma$	$\delta\text{D}/\text{‰}$	$1\sigma$
MEDW	0.95	0.05	8.1	0.3
ZW	-10.62	0.04	-75.6	0.2
JFW	-22.50	0.06	-160.3	0.2

Posteriormente era analisado um bloco de seis amostras, e em seguida eram analisados novamente os três padrões secundários para a correção de *drift* durante as análises. Após o último bloco, uma nova amostra de água ultrapura era analisada. Cada amostra foi analisada sete vezes e os três primeiros resultados foram descartados para contornar o efeito de memória apresentado pela técnica. Os resultados apresentados correspondem às médias dos valores obtidos para as quatro últimas análises, normalizadas pelos valores dos padrões secundários e convertidos para a escala VSMOW. Os dados foram tratados utilizando o programa ChemCorrect™, também da Picarro.

Durante as análises, o módulo de vaporização foi mantido a 110 °C. A seringa de 10 µL era previamente lavada duas vezes com 1 µL da amostra e em seguida 1 µL de amostra era injetada no módulo vaporização. A amostra era então diluída com nitrogênio e em cada medida a concentração de água no interior da cavidade ficava em torno de 20.500 ppm. Após cada injeção, a seringa era lavada duas vezes com 8 µL de água ultrapura.

### 2.3.2 *Análise de isótopos de carbono e oxigênio nos dentes*

Espectrômetros de Massas de Razão Isotópica (IRMS) são equipamentos especializados capazes de medir de forma precisa as variações nas abundâncias naturais de isótopos estáveis. Estes equipamentos diferem dos espectrômetros de massas tradicionais, utilizados em química orgânica, já que não proporcionam informações estruturais sobre as moléculas (MEIER-AUGENSTEIN, 1999). Ao contrário destes, que varrem uma faixa de algumas centenas de unidades de massa atômica (uma) utilizando-se de quadrupolos, aqueles analisam apenas massas específicas, com detectores consistindo de três a oito copos de Faraday (BENSON et al., 2006).

Os equipamentos são normalmente divididos em três seções: uma fonte de íons, que são geralmente formados a partir do impacto de elétrons gerados por um filamento de tungstênio aquecido, um analisador de massas e um sistema capaz de coletar esses íons, amplificar a corrente elétrica gerada (sinal) e enviar os dados para um sistema de registro, em geral um computador. No analisador de massas, os íons positivamente carregados descrevem uma trajetória circular, cujos raios são diretamente proporcionais às suas massas. No caso das análises de CO<sub>2</sub>, por exemplo, os íons analisados correspondem aos diferentes isotopólogos: <sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sub>2</sub>, <sup>13</sup>C<sup>16</sup>O<sub>2</sub> e <sup>12</sup>C<sup>18</sup>O<sup>16</sup>O, <sup>13</sup>C<sup>18</sup>O<sup>16</sup>O e

$^{12}\text{C}^{18}\text{O}_2$ , que correspondem aos íons com razão massa carga ( $m/z$ ) de 44, 45, 46, 47 e 48, respectivamente. Em razão das baixas abundâncias relativas dos isótopos  $^{13}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}$ , previamente indicadas na TABELA 1, os isotopólogos com massa 47 e 48 têm menor probabilidade de ocorrência.

A Figura 19 mostra o esquema simplificado de um IRMS configurado para análise de  $\text{CO}_2$ . A ilustração mostra um sistema de injeção de dupla entrada (*dual-inlet*), que permite injeções de um gás de referência.

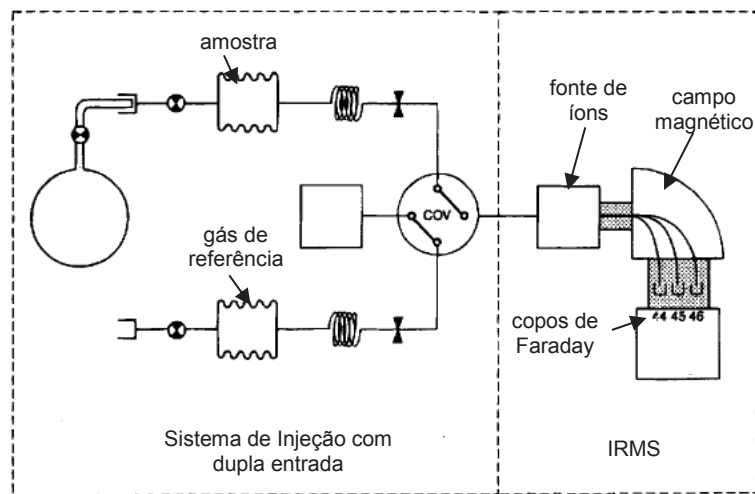


FIGURA 19 – Esquema simplificado de um IRMS com dupla entrada (*dual-inlet*) configurado para análise de  $\text{CO}_2$  (copos de Faraday para  $m/z$  de 44, 45, 46). Modificado de BRAND (1996).

As análises dos dentes foram realizadas em um Espectrômetro de Massas Thermo Scientific, modelo Delta Advantage, dotado de sistema Gas Bench para extração “on line”. A conversão do carbonato presente nos dentes a  $\text{CO}_2$  foi obtida mediante reação com ácido fosfórico 100% a  $72.0 \pm 0.2$  °C por 69 min.

### 2.3.3 Análise de isótopos de estrôncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ )

Foram determinadas as razões isotópicas de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para 14 amostras de esmalte dentário e 5 amostras de água da região leste do Paraná. As extrações de estrôncio a partir de aproximadamente 3 mg de amostra de esmalte dentário e de 15 g de água foram conduzidas utilizando uma resina para estrôncio fornecida pela EICrom<sup>®</sup> seguindo o procedimento descrito por Grumbkow et al. (2013). As amostras foram então colocadas sobre filamentos de rênio (Re), utilizando fluoreto de tálio ( $\text{TaF}_5$ ) como ativador

para promover a ionização. As razões  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  foram analisadas seguindo uma rotina estática em um Espectrômetro de Massas de Ionização Térmica (TIMS) Triton-plus da Thermo Finnigan na Vrije Universiteit Amsterdam e os resultados foram corrigidos durante as análises para o fracionamento de massa. Os resultados foram referenciados em relação a um padrão NBS987, o qual resultou em um valor médio para  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de  $0,710263 \pm 0,000007$  ( $2\sigma$ ,  $n = 4$ ) durante as análises. Os valores obtidos foram então normalizados utilizando o valor de 0,710240 para o padrão NBS987. O branco analisado durante o procedimento resultou em 58.31 pg de estrôncio, um valor desprezível comparado com a concentração típica de 231 ng Sr/mg observada em esmalte dentário (SKORYNA, 1981).

## 2.4 ANÁLISES POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

Espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria. A radiação infravermelha compreende toda a faixa do espectro entre as regiões do visível e microondas. A espectroscopia no infravermelho está relacionada com transições rotovibracionais que ocorrem com absorções de energia da ordem de 1,2 a 60  $\text{kJ mol}^{-1}$  (LUCATO, 2005), sendo dividido em infravermelho próximo (14.290 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ ), médio (4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) e longínquo (700 a 200  $\text{cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1991). A região do infravermelho médio é útil para estudar a presença de carbonato na hidroxiapatita. Acoplado-se ao equipamento um acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) é possível obter estimativas semiquantitativas sem preparo adicional de amostra (LEVENTOURI et al., 2009). Os acessórios de ATR empregam cristais com alto índice de refração, como por exemplo seleneto de zinco, germânio, diamante ou silício e a radiação infravermelha é incidida no cristal a um ângulo em que ocorre sua reflexão total. Mesmo assim, uma pequena parcela da radiação, denominada radiação ou onda evanescente, atravessa o cristal e interage com a amostra. Essa interação é suficiente para gerar um espectro que pode ser analisado (BRANCO et al., 2006).

Os espectros no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) dos dentes foram obtidos em um espectrofotômetro Nicolet modelo 380 da Thermo Fisher Scientific, equipado com acessório de ATR (refletância total atenuada) com cristal de diamante (1 reflexão). As análises foram realizadas no laboratório de química da Polícia Federal em Curitiba/PR. Os espectros foram coletados no intervalo de 4000-525  $\text{cm}^{-1}$ , com uma

resolução espectral de  $2\text{ cm}^{-1}$ . Para redução do ruído, foram avaliados os espectros médios obtidos após 32 leituras. Os dados foram analisados no software Omnic (versão 7.2a da Thermo Fisher Scientific).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 MANUSCRITOS

## Building an isotopic database based on tooth enamel for human provenance determination in Brazil<sup>2</sup>

Ricardo de Oliveira Mascarenhas<sup>1,3\*</sup>, Stefano Bernasconi<sup>2</sup>, Taís Ribeiro Muniz<sup>3</sup>, Matheus Pereira Nogueira e Silva<sup>4</sup>, Fábio Augusto da Silva Salvador<sup>1</sup>, Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Brazilian Federal Police, Technical-Scientific Section, Curitiba, Brazil*

<sup>2</sup>*Department of Earth Sciences, ETH Zürich*

<sup>3</sup>*Laboratory of Mineral and Rocks (LAMIR), Department of Geology, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil*

<sup>4</sup>*Department of Geology, Federal University of Paraná*

\*Corresponding author (email: [mascarenhas.rom@dpf.gov.br](mailto:mascarenhas.rom@dpf.gov.br))

#### Abstract

Many forensic applications using oxygen isotopic ratios ( $\delta^{18}\text{O}$ ) for determining human provenance are based on comparing the values found for tooth enamel with the ones measured for meteoric water. This approach is however known to introduce errors that may lead to a wrong interpretation. In spite of that, this is still done due to the lack of data based on tooth enamel. In the present work, we started building an isotopic database for Brazil, based on the  $\delta^{18}\text{O}$  of the carbonate present in tooth enamel. Teeth from individuals from different Brazilian states, covering the five regions of the country, were analyzed. The results were compared to the ones obtained for people who stated that they were born in Japan, Spain, and Chile during the interview previous to dental extraction. In total, samples from 124 different individuals were analyzed for carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and oxygen ( $\delta^{18}\text{O}$ ) isotopic compositions. Values ranging from  $-2.00\text{‰}$  to  $-6.96\text{‰}$  ( $1\sigma < 0.06\text{‰}$ ) were obtained for  $\delta^{18}\text{O}$ . For  $\delta^{13}\text{C}$ , Brazilians showed an average signal of  $-9.72 \pm 0.20\text{‰}$  ( $n = 119$ , 95% confidence interval,  $1\sigma < 0.04\text{‰}$ ). These results were compared with the ones obtained for individuals born in Spain, Chile and Japan, but who were nowadays living in Curitiba, south of Brazil. It was possible to identify individuals who immigrated to Brazil during early childhood and the ones who moved at the end of their adolescence. An isoscape for  $\delta^{18}\text{O}$  was also built and compared with the one obtained for meteoric water registered by the GNIP network.

**Keywords:** Tooth enamel, provenance, stable isotopes, forensic geology, missing person identification.

---

<sup>2</sup> Este manuscrito foi preparado para submissão à revista *Applied Geochemistry* (B1).

## 1. Introduction

Matching missing people with unidentified victims at the Forensic Medical Institutes is a worldwide challenge. This is especially true in cases in which the bodies are highly decomposed and fingerprint identification is no longer possible. Some countries also do not employ fingerprints for civil identification, restricting its use. In the same way, dental records are not easily accessible and DNA databases in many countries still lack information regarding missing people. According to INTERPOL (2018), these three mentioned methods are the only ones actually able to identify an individual and for this reason are called primary methods. All other methods (e.g. examination of tattoos, clothing used by the victim or personal belongings) are considered secondary methods and may be applied in order to guide the usage of a primary one. In this sense, the isotopic approach would be considered a secondary method and has been successfully used to help in human identification (MEIER-AUGENSTEIN; FRASER, 2008; FONT et al., 2015a, 2015b; LEHN; ROSSMANN; GRAW, 2015).

Because each tissue has a different turnover rate, isotopic analysis may be used to monitor different periods of an individual's timeline (KATZENBERG; KROUSE, 1989). For instance, hair and nails may be used to investigate recent dietary history (FRASER; MEIER-AUGENSTEIN; KALIN, 2006), while trabecular (spongy) bones, like rib bones have a turnover of approximately 4-6 years and cortical (compact) bones, like the femur, have a much slower turnover of approximately 25-30 years (PRICE; MANZANILLA; MIDDLETON, 2000; FONT et al., 2015b). Unlike other tissues, tooth enamel keeps its isotopic signal after mineralization. This happens because the ameloblasts, cells responsible for enamel formation, die during the process, leaving a cell-free tissue (SMITH, 1998; CARUSO et al., 2016). Nevertheless, one should bear in mind that some later mineralization may occur in regions experiencing demineralization by abrasion or caries (SELWITZ; ISMAIL; PITTS, 2007; LI et al., 2014). Therefore, tooth enamel isotopic signals can be used in provenance studies, helping to predict the place of birth or, to be more accurate, the place where an individual lived during the childhood or adolescent years (DAUX et al., 2008).

Tooth enamel has a very low organic content. During the maturation phase, resident proteases remove almost completely the extracellular matrix, leaving only 1–2 weight % of the remaining protein and a small amount of water. The result is a dense mineralized tissue with more than 95% (by weight) of mineral content (MARGOLIS;

KWAK; YAMAZAKI, 2014). This makes enamel very resistant to diagenesis and, for this reason, it is often the preferred tissue in paleodietary and paleoclimate studies (DANIEL BRYANT; LUZ; FROELICH, 1994; FRICKE; O'NEIL, 1996; WRIGHT; SCHWARCZ, 1998; ZAZZO et al., 2002). The mineral fraction of tooth enamel is composed of calcium hydroxyapatite:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Since bioapatites are in general calcium-deficient, some of the phosphate ions are replaced by carbonate in order to maintain electrical balance (B-type substitution). Additionally, part of the hydroxyls may be also replaced by carbonate ions in a proportion of 2:1 (A-type substitution), resulting in the following approximate composition:  $\text{Ca}_{4.5}[(\text{PO}_4)_{2.7}(\text{HPO}_4)_{0.2}(\text{CO}_3)_{0.3}](\text{OH})_{0.5}$  (KOHN; SCHOENINGER; BARKER, 1999; KUBOTA et al., 2014). Because most of the oxygen in hydroxyapatite is incorporated in the phosphate ions and because the P-O bonds are stronger and thought to be more resistant to diagenesis, many studies using the oxygen isotopic ratio as a proxy were based on the phosphate ions (LUZ; KOLODNY; HOROWITZ, 1984; FRICKE; O'NEIL, 1996; STUART-WILLIAMS; SCHWARCZ, 1997; DAUX et al., 2008). However, the analytical procedure is time-consuming and therefore analyzing structural carbonate is more cost effective. Besides, the C-O bonds are more resistant to diagenesis than previously thought (CHENERY et al., 2012). Moreover, when analyzing carbonate instead of phosphate, one also obtains information about dietary habits, as explained below.

Due to the differences in the relative abundances between the heavier and lighter isotopes present in the carbonate ion ( $^{12}\text{C}$ : 98.892%;  $^{13}\text{C}$ : 1.108% and  $^{16}\text{O}$ : 99.759%;  $^{18}\text{O}$ : 0.204%), the results are reported as delta values ( $\delta$ ) in per mil units (‰) using Equation 1 (BENSON et al., 2006), as follows:

$$\delta(\text{‰}) = \frac{(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}})1000}{R_{\text{standard}}} \text{ [Eq. 1]}$$

Where  $R_{\text{sample}}$  is the ratio of the heavy to the light isotope measured for the sample and  $R_{\text{standard}}$  is the ratio for the standard. For carbonate, the agreed standard is the VPDB (Vienna PDB), considered equivalent to the PDB (for Pee Dee Belemnite) (CRAIG, 1957; COPLEN, 1996).

The isotopic ratio of the oxygen atoms ( $\delta^{18}\text{O}$ ) for the phosphate ions is related to ratio of the oxygen of the ingested water (drinking water and water ingested with food) during the time the tooth is mineralizing. Despite the influence of the water present in food, drinking water represents from 0.60 to 0.75% of the total water ingested by a human

and, therefore, has a larger influence on  $\delta^{18}\text{O}_\text{P}$  and similarly on  $\delta^{18}\text{O}_\text{C}$  (LEVINSON; LUZ; KOLODNY, 1987; DAUX et al., 2008). The oxygen isotopic ratio on the phosphate ( $\delta^{18}\text{O}_\text{P}$ ) shows a linear relationship with the one found for the carbonate ( $\delta^{18}\text{O}_\text{C}$ ), as expressed in Equation 2:

$$\delta^{18}\text{O}_\text{P} = 1.0322 \times \delta^{18}\text{O}_\text{C} - 9.6849 \text{ [Eq. 2] (CHENERY et al., 2012).}$$

Also, drinking water ( $\delta^{18}\text{O}_\text{DW}$ ) undergoes fractionation inside the body according to the following relationship with  $\delta^{18}\text{O}_\text{P}$  (Equation 3a or 3b):

$$\delta^{18}\text{O}_\text{DW} = 1.54 \times \delta^{18}\text{O}_\text{P} - 33.72 \text{ [Eq. 3a] (DAUX et al., 2008)}$$

$$\delta^{18}\text{O}_\text{DW} = 1.56 \times \delta^{18}\text{O}_\text{P} - 34.95 \text{ [Eq. 3b] (LONGINELLI, 1984)}$$

Combining Equation 2 with Equation 3a yields a direct relationship between drinking water and the structural carbonate in tooth enamel (Equation 4):

$$\delta^{18}\text{O}_\text{DW} = 1.590 \times \delta^{18}\text{O}_\text{C} - 48.634 \text{ [Eq. 4] (CHENERY et al., 2012)}$$

Bearing in mind that  $\delta^{18}\text{O}_\text{C}$  is on the VPBD scale, while  $\delta^{18}\text{O}_\text{DW}$  is on the VSMOW scale (Vienna Standard Mean Ocean Water), it is necessary to use the Equation 5 in order to convert the isotopic values between the two scales:

$$\delta^{18}\text{O}_\text{VSMOW} = 1.0309 \times \delta^{18}\text{O}_\text{VPBD} + 30.91 \text{ [Eq. 5] (COPLEN, 1988)}$$

Unfortunately, the intensive usage of equations is known to introduce errors. For that reason, Pollard et al. (2011) proposed that geographical attributions should be based on the direct comparison of measured values of  $\delta^{18}\text{O}_\text{P}$  rather than on predicted values of  $\delta^{18}\text{O}_\text{DW}$ . MEIER-AUGENSTEIN (2018) also suggested comparing the results from different equations, such as Equation 3a and 3b during data interpretation. For accuracy, we also suggest that a database should be built directly based on  $\delta^{18}\text{O}_\text{C}$  (on a VPBD scale), at least for forensic purposes with respect to human identification. Despite this problem, since traceable teeth samples are normally challenging to obtain, many forensic studies still rely on comparing the results obtained for tooth enamel with the mapped  $\delta^{18}\text{O}$  values for meteoric water, such as the data produced by the GNIP (Global Network of

Isotopes in Precipitation) project run by IEAE (International Atomic Energy Agency) (MEIER-AUGENSTEIN; FRASER, 2008; EHLERINGER et al., 2010; FONT et al., 2015a, 2015b; LEHN; ROSSMANN; GRAW, 2015).

As previously mentioned, another advantage of analyzing carbonate, instead of phosphate, is the simultaneous attainment of the isotopic ratio for carbon ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , expressed as  $\delta^{13}\text{C}$ ), which is related to dietary habits. Due to differences in their photosynthetic cycle, the C3 plants (e.g. wheat and sugar beet) are more depleted compared to C4 plants (e.g. corn and sugar cane). Therefore, individuals with a C3-dominant diet (e.g. in Europe) tend to have a more negative  $\delta^{13}\text{C}$  in comparison with individuals who have a C4-dominant diet (e.g. in the American continent). These differences can be still noticed, despite globalization and the so-called “global supermarket diet” (NARDOTO et al., 2006), because of dietary habits and local production of the ingredients to produce global food products (VALENZUELA et al., 2012).

## **2. Materials and methods**

### *2.1 - Teeth Samples*

All the samples used were obtained from tooth bank of the Faculty of Odontology of the Federal University of Paraná or from dentists and were voluntary donated by the patients, who gave an informed consent. The teeth were removed because of periodontal disease, or they were occluded, badly positioned or for any other professional decision not related to this work. In total, teeth from 119 different individuals were analyzed. Based on the patients or dentists statement, 95 teeth came from people raised in Paraná (PR). Additionally, samples coming from different Brazilian States were analyzed: 2 from Amazonas (AM) and 2 from Pará (PA) - North region; 1 from Bahia (BA), 1 from Paraíba (PB) and 2 from Ceará (CE) - Northeast region; 1 from Brasília (DF), 1 from Mato Grosso (MT) and 1 from Mato Grosso do Sul (MS) - Middle-West region; 8 from São Paulo (SP) and 1 from Minas Gerais (MG) - Southeast region; 5 samples from Santa Catarina (SC) - South region. Moreover, samples from individuals that stated they were born in Japan (2), Spain (2) and Chile (1) were also examined (Figure 1). Regarding biological sex, 30 samples came from male individuals, 59 samples from female individuals. The gender of 30 samples (2 from Amazonas and 28 from Ponta Grossa is unknown). Third-molars corresponded to 80 samples, 11 were divided into central incisor, lateral incisor, first pre-

molar or second pre-molars. The dental elements of the 28 samples from Ponta Grossa were not identified. Regarding age, 64% of the individuals were between 16 to 39 years old.

The teeth were first cleaned with a 0.5% peracetic acid solution for 15 min in order to remove organic impurities, then rinsed with mili-Q water and dried at 25 °C - 30 °C for 36 h before sampling. Enamel samples were taken using a diamond coated drill bit attached to a Dremel® 3000 multitool. To avoid contamination, the enamel's external surface was discarded. The drill bit was cleaned with 10 % hydrochloric acid between samples. Enamel was sampled in regions where it was thicker, since previous work by CHENERY et al. (2012) showed no significant intra-tooth variation when sampling distal, mesial, central, upper or lower crown.

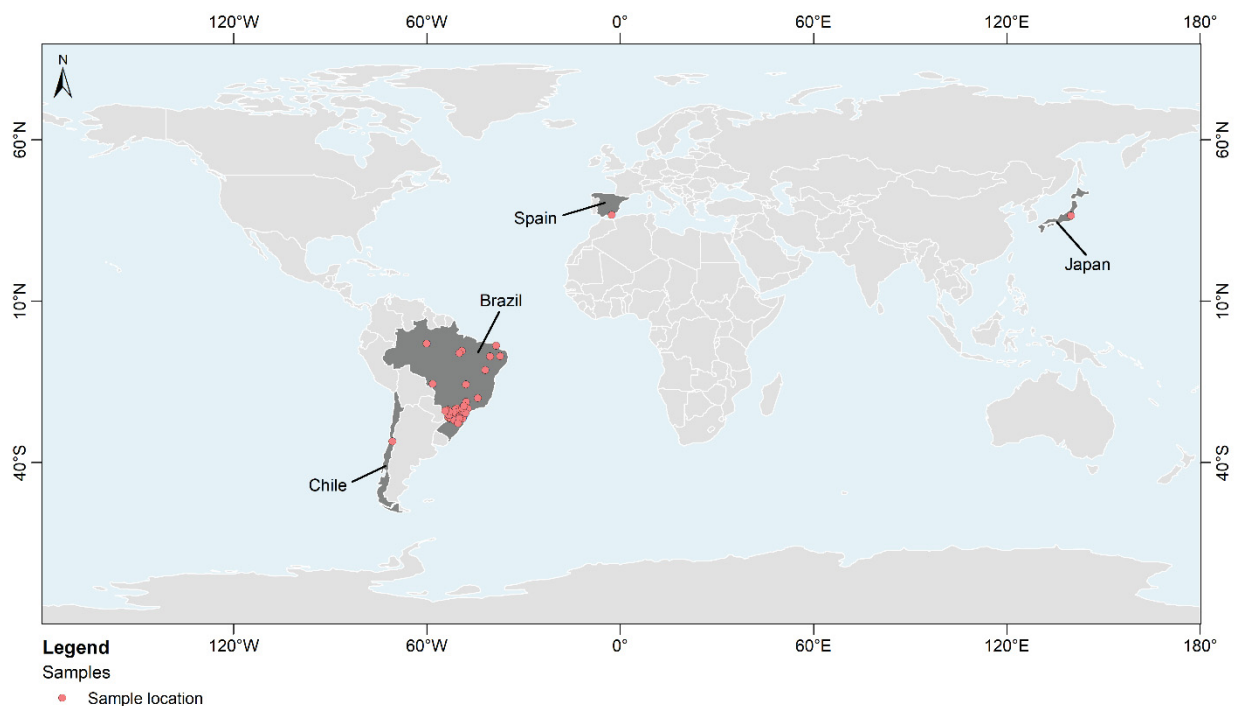


Figure 1 – Place of birth of the individuals who donated the teeth used in the present work.

## 2.2 - $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ isotope analyses

Oxygen and carbon isotope analyses were carried out on tooth enamel structural carbonate. Tooth enamel powder (about 500  $\mu\text{g}$ ), was weighed into 4.5 mL glass vials sealed with a septum following the procedure described by Breitenbach and Bernasconi (2011). Isotopic analyses were carried out using a ThermoFinnigan (now Thermo Fisher Scientific) GasBench II, equipped with a CTC autosampler (CTC Analytics AG), and coupled to a ConFlow IV interface and a Delta V Plus mass spectrometer (both Thermo

Fisher Scientific) at the Stable Isotope Laboratory of the Department of Earth Sciences at the ETH Zürich. The samples were placed in a hot block at  $72.0 \pm 0.2$  °C for 69 min after adding 100%  $H_3PO_4$ . The measured isotope values are reported as a  $\delta$  (delta) values in units of per mil (‰) normalized to the VPDB scale using two secondary carbonate reference material calibrated against NBS 19 ( $\delta^{13}C = 1.95\text{‰}$  and  $\delta^{18}O = -2.20\text{‰}$ ) and NBS 18 ( $\delta^{13}C = -5.05\text{‰}$ ,  $\delta^{18}O = -23.1\text{‰}$ ) certified reference standards supplied by IAEA. The standard deviation for the secondary standards was below  $\pm 0.04\text{‰}$  ( $1\sigma$ ) for  $\delta^{13}C$  and below  $\pm 0.06\text{‰}$  ( $1\sigma$ ) for  $\delta^{18}O$ .

### 3. Results and discussion

The results for  $\delta^{18}O$  and  $\delta^{13}C$  are shown respectively on Table 1 and 2. Most of the samples are from the state of Paraná (n = 95). When a state had only one sample, such as Minas Gerais (MG), Mato Grosso (MT), Mato Grosso do Sul (MS), the Federal District (Brasília) or Paraíba (PB), this sample was placed with ones from a neighboring state, based on the similarities of its isotopic signal. The  $\delta^{18}O$  results for the mean and median are very similar, differing by less than  $0.20\text{‰}$  (lower than the standard deviation within samples), with the highest differences found for the states of Santa Catarina and the combination of São Paulo/Minas Gerais/Bahia (Table 1). This observation, together with the figures found for the kurtosis data, show that the results group close to the average, with a minor presence of outliers. In fact, only one sample from Paraná ( $\delta^{18}O = -6.94 \pm 0.02\text{‰}$ ) was considered to be an outlier. Figure 2 shows a Tukey's boxplot for the  $\delta^{18}O$  data. Based on this plot, the oxygen isotopic signature for Paraná (PR), Santa Catarina (SC), São Paulo/Minas Gerais/Bahia (SP/MG/BA), Mato Grosso/Mato Grosso do Sul/Brasília (MT/MS/DF) and Amazonas (AM) all fall in the same range within error. In contrast, the results for Pará (PA) and Ceará/Paraíba (CE/PB) show more isotopically enriched signals that deviate from the others.

Table 1 - Descriptive statistics for  $\delta^{18}\text{O}$  (results in ‰, on the VPBD scale) for different Brazilian States: Paraná (PR), Santa Catarina (SC), São Paulo/Minas Gerais/Bahia (SP/MG/BA), Mato Grosso/Mato Grosso do Sul/Brasília (MT/MS/DF), Amazonas (AM), Pará (PA), Ceará/Paraíba (CE/PB).

Statistics	PR	SC	SP/MG/BA	MT/MS/DF	AM	PA	CE/PB
Count (n)	95	5	9	3	2	2	3
Mean	-5.58	-5.34	-5.87	-5.84	-6.25	-4.06	-2.42
Median	-5.53	-5.51	-5.73	-5.92	-6.25	-4.06	-2.40
Standard Deviation	0.42	0.35	0.57	0.69	0.45	0.59	0.43
Sample Variance	0.17	0.12	0.32	0.48	0.21	0.35	0.19
Kurtosis	0.61	3.75	0.44	-	-	-	-
Skewness	-0.52	1.93	-0.77	0.49	-	-	-0.17
Range	2.40	0.84	1.88	1.38	0.64	0.83	0.86
Minimum	-6.94	-5.57	-6.96	-6.50	-6.57	-4.47	-2.86
Maximum	-4.55	-4.73	-5.08	-5.12	-5.93	-3.64	-2.00

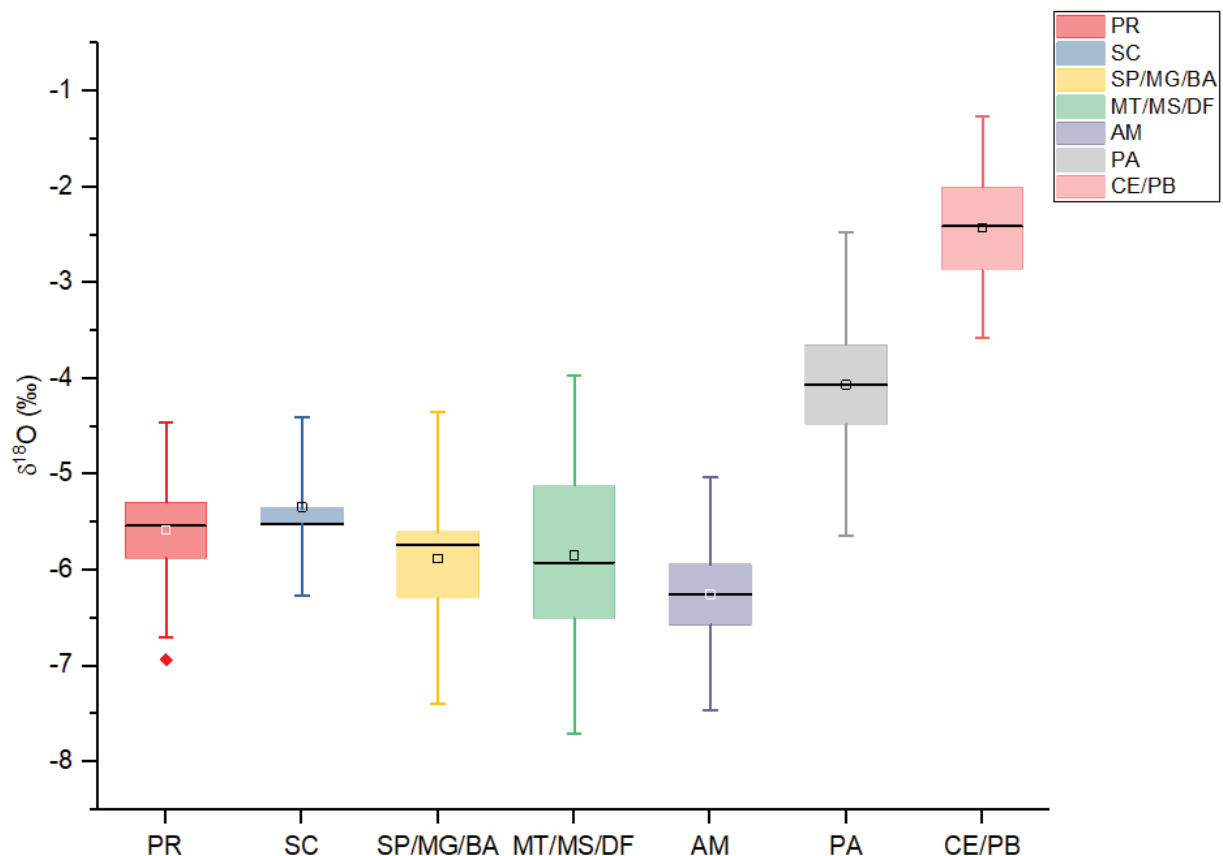


Figure 2 – Tukey's schematic boxplots showing  $\delta^{18}\text{O}$  variations for different Brazilian states. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamond represents an outlier.

With regard to the  $\delta^{13}\text{C}$  values, the differences observed among samples from various locations are much smaller, reflecting similarities in the diet throughout Brazil

(Table 2). Figure 3 graphs the Tukey's boxplot for the measured  $\delta^{13}\text{C}$  results, with values for teeth from Paraná containing 3 outliers. A boxplot for the total data set ( $n = 119$ ) is also shown. In this latter case, 4 outliers were observed. These 4 outliers correspond to teeth from people with higher age (i.e. 43, 61, 69 and 70 years old). These outliers might be related to the progressive replacement of phosphate (B-type substitution) and hydroxyl (A-type) in the enamel by carbonate ions that occurs with age (LEVENTOURI et al., 2009). Also, this anomaly could be influenced by teeth demineralization that might fractionate the carbonate in teeth enamel. Since there were no extreme outliers, we decided not to exclude these data because they represent the isotopic signal of the older population in our sample collection.

Table 2 - Descriptive statistics for  $\delta^{13}\text{C}$  (results in ‰, on the VPBD scale) for different Brazilian States: Paraná (PR), Santa Catarina (SC), São Paulo/Minas Gerais/Bahia (SP/MG/BA), Mato Grosso/Mato Grosso do Sul/Brasília (MT/MS/DF), Amazonas (AM), Pará (PA), Ceará/Paraíba (CE/PB).

	<b>PR</b>	<b>SC</b>	<b>SP/MG/BA</b>	<b>MT/MS/DF</b>	<b>AM</b>	<b>PA</b>	<b>CE/PB</b>
Count	95	5	9	3	2	2	3
Mean	-9.68	-9.28	-10.18	-9.55	-11.06	-8.51	-10.23
Median	-9.77	-9.01	-10.41	-9.98	-11.06	-8.51	-10.20
Standard Deviation	1.13	0.82	0.97	1.41	1.68	0.74	0.58
Sample Variance	1.28	0.67	0.94	1.98	2.81	0.55	0.34
Kurtosis	2.54	-0.45	-0.26	-	-	-	-
Skewness	1.09	-0.54	0.29	1.25	-	-	-0.26
Range	6.09	2.12	3.15	2.72	2.37	1.05	1.16
Minimum	-12.03	-10.44	-11.72	-10.69	-12.25	-9.04	-10.83
Maximum	-5.94	-8.33	-8.58	-7.98	-9.88	-7.99	-9.67

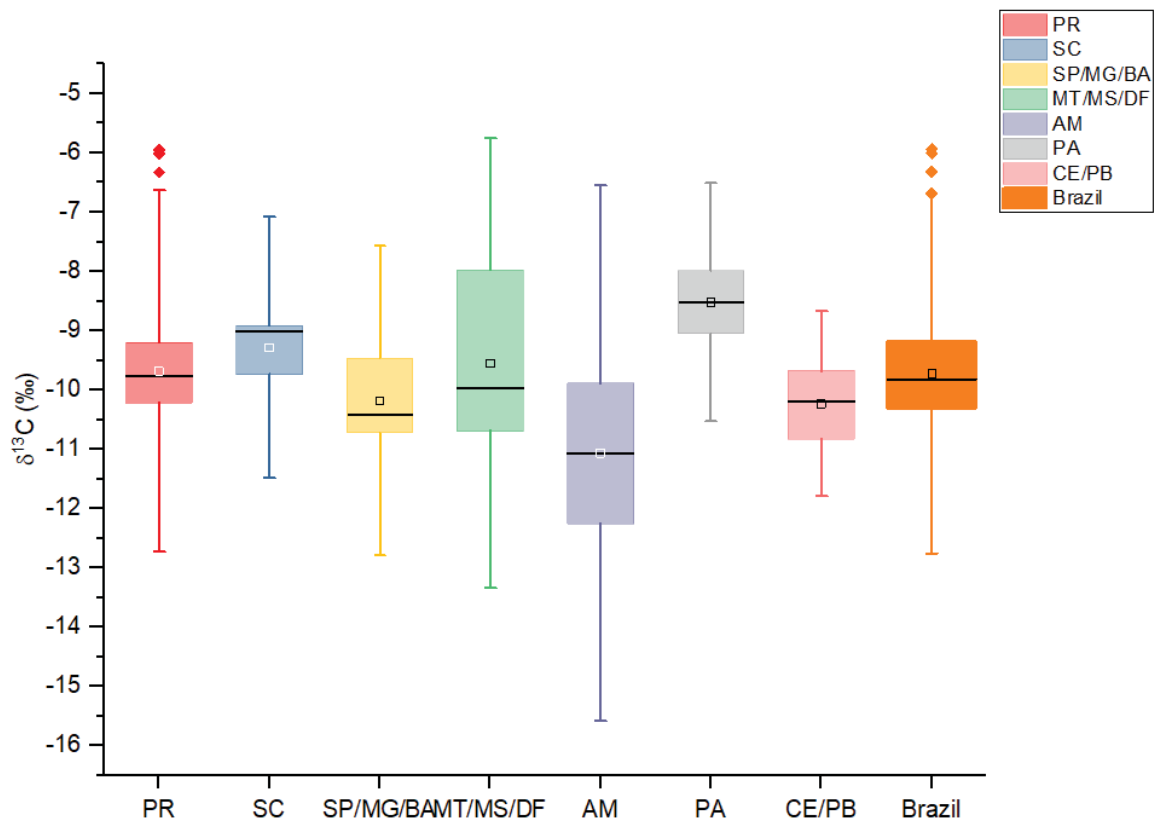


Figure 3 – Tukey’s schematic boxplots showing  $\delta^{13}\text{C}$  variations for different Brazilian states. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamonds represent the outliers.

The results obtained for the samples from Paraná (n=95) were then used to identify people who had grown up in different regions but were now living in the state of Paraná. Figure 4 shows a graphic cross-plot of the  $\delta^{18}\text{O}$  vs.  $\delta^{13}\text{C}$  data. The error bars ( $1\sigma$ ) are smaller than the symbols used. The dashed lines marked the limits assumed (maximum/minimum limits  $\pm 1\sigma$ ). It was observed that the teeth of three individuals from Ceará/Paraíba have a  $\delta^{13}\text{C}$  value, which falls in the overall range found for the Brazilian samples, but exhibited a less negative  $\delta^{18}\text{O}$  value. The same was observed for one of the individuals raised in Pará. The individual from Chile (raised in the city of Santiago) exhibited the most negative  $\delta^{18}\text{O}$  value ( $-9.36\pm 0.04\text{‰}$ ) and, together with one of the Spaniards, raised in Almeria, south of Spain ( $\delta^{18}\text{O} = -7.79\pm 0.07\text{‰}$ ) showed a more depleted signal than the individuals raised in Paraná. This Spaniard additionally showed a more depleted the  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-14.18\pm 0.07\text{‰}$ ). According to MEIER-AUGENSTEIN (2018), a shift of approximately  $+10\text{‰}$  to  $+12\text{‰}$  is normally expected for  $\delta^{13}\text{C}$  between the diet and the bioapatite carbonate. Therefore, the  $\delta^{13}\text{C}$  value found for this individual would correspond to a diet with a  $\delta^{13}\text{C}$  value of about  $-25\text{‰}$ , which in turn is compatible with a

C3 diet (- 20‰ to -37‰ – VPBD), as expected for Europeans (KOHN, 2010), who have a diet based on for instance wheat and sugar beet (for sugar supply). Regarding the teeth from native Brazilians, our  $\delta^{13}\text{C}$  results ranged from -12.25‰ to -5.94‰, with an average of  $-9.72 \pm 0.20$ ‰ (n = 119, 95% confidence interval). This range corresponds to an expected isotopic signal of the average diet of about -18 ‰ to -24 ‰ for  $\delta^{13}\text{C}$ , which might be interpreted as a mixed diet composed by C4 plants ( $\delta^{13}\text{C} = -11.2 \pm 0.6$ ‰, such as corn and sugar cane), mixed with C3 plants ( $\delta^{13}\text{C} = -26.1 \pm 1.9$ ‰, such as rice, fruits and vegetables) as a primary source of carbohydrates in Brazil (NARDOTO et al., 2006).

Using only  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  it was not possible to distinguish individuals from the south-east of Brazil (São Paulo and Minas Gerais), Bahia (North-east), South (Santa Catarina), Middle-west (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul) and even from the Amazonas (North). The two individuals who claimed they were born in Japan and one of the Spaniards had the characteristic isotopic signal of people from Paraná. Further investigation revealed that they moved to Paraná/São Paulo at early ages. Particularly, this Spaniard moved to Brazil when she was 5 years old, therefore prior to her third molar mineralization.

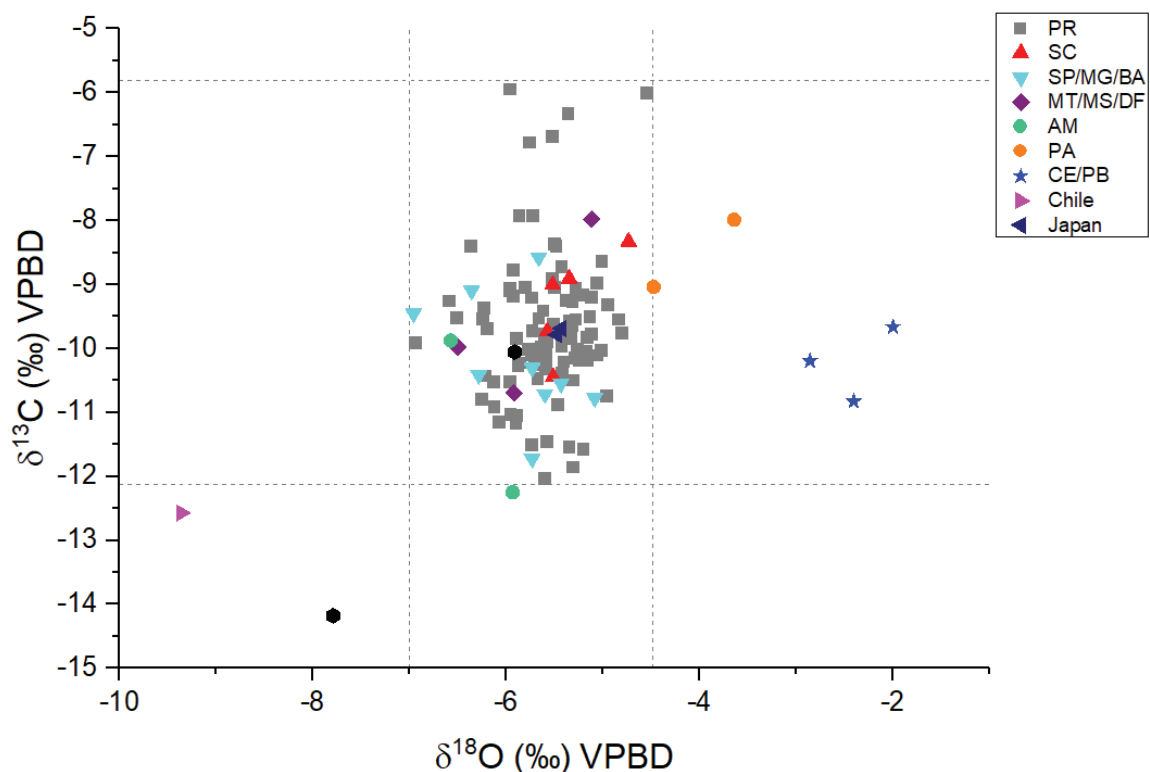


Figure 4 – Cross-plot of the measured  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values of teeth from different Brazilian states, combined with data for samples from some foreigners. The dashed lines mark the limits assumed as a range for the population of Paraná (maximum/minimum limits  $\pm 1\sigma$ ). The error bars ( $1\sigma$ ) are smaller than the symbols used.

Finally, the isotopic results obtained Brazilian teeth were used to build an  $\delta^{18}\text{O}$  isoscape for the country (Figure 5). The isoscape helps to visually identify the isotopic distribution  $\delta^{18}\text{O}$  values within Brazil. Despite the errors introduced by the successive usage of linear regressions, a good correlation between the isoscapes built using the results obtained for tooth enamel and for water exists. For the water isoscape, we used the average of the data available from GNIP (Global Network of Isotopes in Precipitation). The lack of GNIP data in the western part of Bahia state was supplemented by ground water results from the literature (GONÇALVES, 2014). Additionally, we included our own data on drinking water for the eastern part of Paraná state in order to expand our data coverage.

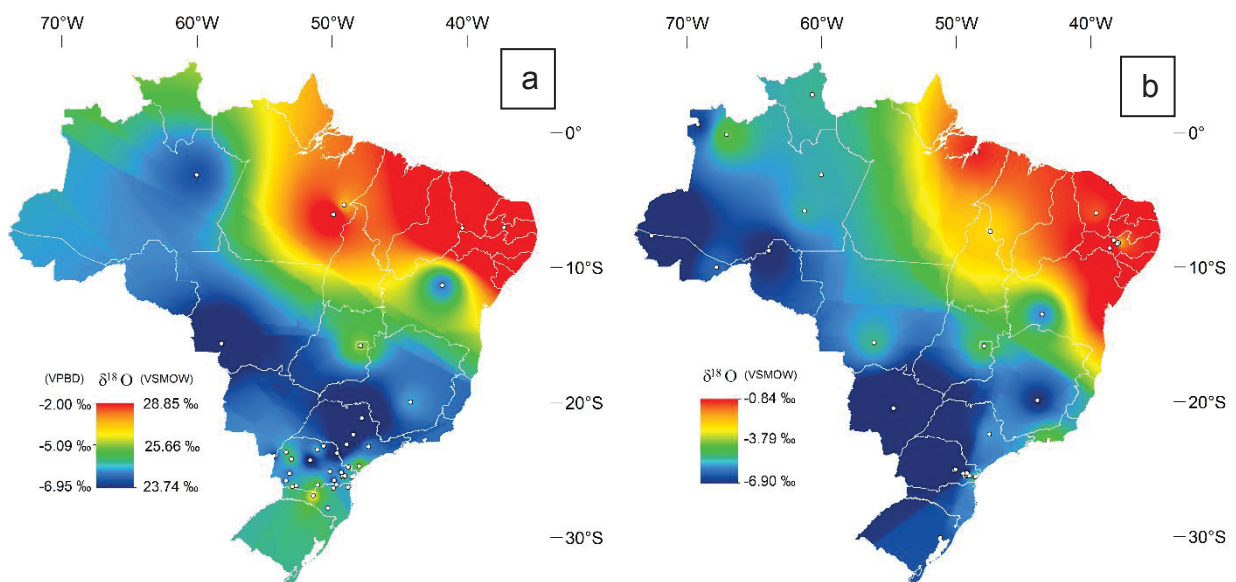


Figure 5 –  $\delta^{18}\text{O}$  isoscapes built using teeth (a) and water (b) data. To allow a comparison with the water isoscape, the results for tooth enamel (on a VPBD scale) are also presented on VSMOW. Circles pinpoint sample locations for tooth enamel (this study) and meteoric water (GNIP data, available at: [http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS\\_resources\\_gnip.html](http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS_resources_gnip.html); GONÇALVES, 2014).

#### 4. Conclusions

To the best of our knowledge, this is the first attempt to construct an isotopic database built on the isotopic composition of tooth enamel for the modern population in Brazil. The data here provided can be used for forensic purposes related to human identification. The results were applied to distinguish two foreigners (one from Chile and one from Spain) from those of the studied Brazilian individuals. It was also possible to note that foreigners who moved to Brazil at an early age acquired the same isotopic signal for both carbon and oxygen values as those of the the Brazilian population from the region

where they grew up. Our  $\delta^{18}\text{O}$  data derived from tooth enamel are in good agreement with an expected isotopic signal based on the isotopic composition of the regional meteoric and drinking waters. This agreement offers further validation for this identification approach, based on the isotopic composition of tooth enamel data whenever available. Despite this positive correlation, a direct comparison between the isotopic value of tooth enamel should always provide better results and should be pursued. The  $\delta^{13}\text{C}$  data obtained for the tooth enamel of the Brazilian population is compatible with a mixed diet composed of both C3 and C4 plants.

In Brazil, as illustrated in Figure 5, there are clearly two regions that can be easily distinguished using  $\delta^{18}\text{O}$  data: 1) the most easterly part of northeast region, which is characterized by a warm and dry climate and 2) the remainder of the country, stretching from the Amazon rain forest to the more southernly regions. The region covered by this extensive range reinforces the importance of the moisture provided by the forests to the meteoric water cycle from the northwest to the southeast of Brazil, a vast area which crosses the major recharge zones for the dams and aquifers used for public water supply.

### **Acknowledgments**

The authors would like to thank the financial support from the Microbial Project (UFPR/PETROBRAS/ANP n° 2016/00141-1). We are also indebted to Idalina Marly da Luz and Ricardo Luiz Vieira, from the tooth bank of the Faculty of Odontology of the Federal University of Paraná and to the dentist Naiana Mello Cançado for the teeth samples. Finally, we would like to thank Madalina Jaggi, from ETHZ, for her support in the laboratory.

# Isotopic profiling of drinking water in the eastern part of Paraná, South of Brazil<sup>3</sup>

Ricardo de Oliveira Mascarenhas<sup>1,5</sup>, Daniel Montluçon<sup>2</sup>, Matheus Pereira Nogueira e Silva<sup>3</sup>, Gustavo Barbosa Athayde<sup>4</sup>, Taís Ribeiro Muniz<sup>5</sup>, Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Brazilian Federal Police, Technical-Scientific Section, Curitiba, Brazil*

<sup>2</sup>*Department of Earth Sciences, ETH Zürich*

<sup>3</sup>*Department of Geology, Federal University of Paraná*

<sup>4</sup>*Laboratory of Hydrological Research, Department of Geology, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil*

<sup>5</sup>*Laboratory of Mineral and Rocks (LAMIR), Department of Geology, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil*

\*Corresponding author (email: [mascarenhas.rom@dpf.gov.br](mailto:mascarenhas.rom@dpf.gov.br))

## Abstract

The isotopic ratio of hydrogen and oxygen has been widely used as a natural marker to track the source of waters. The Paraná State, Southern Brazil, has a complex meteoric water source that is derived from both the Atlantic Ocean and the northern part of South America. The eastern part of the State, where the capital is located, is one of the most populated regions and has the largest water demand. To understand the influence of the landscape, continentalization and moisture source on the water supplying the dams and an aquifers used for public supply, the isotopic composition was monitored during one year along a 180 km from the coast towards the northwest. Surface and groundwater were sampled every three months from March 2018 to January 2019. In order to evaluate if the water treatment and storage might result in isotopic fractionation, samples were collected at the different withdrawals and the results compared to those obtained for tapwater. No significant change in the isotopic signal was observed, which should simplify the sampling strategy for future studies. Differences in the measured water isotopic signals indicate that the water reservoirs surrounding the city of Curitiba are supplied by water reservoirs with different isotopic compositions from different origins, which is important information impacting water management in this region.

Keywords: Stable isotope hydrology, deuterium excess, isotopic tracer, water resources.

---

<sup>3</sup> Este manuscrito foi preparado para submissão à revista *Hydrological Sciences Journal* (B1)

## 1. Introduction

The isotopic correlation between hydrogen and oxygen in water has been largely used as a marker to study its origin and flowpaths (DINÇER, 1968; DINÇER; PAYNE; FLORKOWSKI, 1970; SKLASH; FARVOLDEN, 1979; PANARELLO; DAPEÑA, 2009; KIRCHNER; TETZLAFF; SOULSBY, 2010). Although this seems a trivial subject, it is very important to understand water availability, biogeochemical cycling, microbial production and other ecological processes that depend on the water cycle (MCGUIRE; JEFF, 2007). Compared to other tracer methods, the water isotopologues (*e.g.*  $^1\text{H}^2\text{H}^{16}\text{O}$ ,  $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$ ), added naturally by meteoric events, have obvious ecological advantages introducing a “fingerprint” related to the water origin and subsequent evaporative events.

Due to the differences in relative abundance between the heavier and lighter isotopes ( $^1\text{H}$ : 99.984 %;  $^2\text{H}$  or D: 0.0156 % and  $^{16}\text{O}$ : 99.759 %;  $^{18}\text{O}$ : 0.204 %), the results are reported as delta values ( $\delta$ ) in per mil units (‰) using the following equation 1 (BENSON et al., 2006):

$$\delta(\text{‰}) = \frac{(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}})1000}{R_{\text{standard}}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Where  $R_{\text{sample}}$  is the ratio of the heavy to the light isotope measured for the sample and  $R_{\text{standard}}$  is the ratio for the standard. For water, the agreed standard is the Vienna-Standard Mean Ocean Water (VSMOW) (COPLEN, 1996). Since during physical phase changes, such as evaporation, condensation and melting, water suffers isotopic fractionation (GAT, 1996), whereby slight changes in the natural relative abundances can occur. In general, the more condensed phase is enriched on the heavier isotopologues, which can be used to distinguish among different water sources.

For natural waters which have not undergone excessive evaporation, the  $\delta^{18}\text{O}$  vs.  $\delta\text{D}$  relationship fits a linear correlation according to equation 2 (CRAIG, 1961) known as the Global Meteoric Water Line (GMWL).

$$\delta\text{D} = 8\delta^{18}\text{O} + 10 \quad (\text{Eq. 2})$$

This linear fit was built using approximately 400 samples from different countries. However, some deviations are expected depending on humidity and temperature differences. Therefore, for local water resource applications, it is useful to obtain a Local

Meteoric Water Line (LMWL), based on measurements taken over a period of at least one year (MCGUIRE; JEFF, 2007).

When the slope of equation 2 is fixed at 8, the linear coefficient is called the deuterium-excess or *d*-excess (DANSGAARD, 1964; PFAHL; SODEMANN, 2014), a parameter which is very sensitive to the evaporative conditions, such as moisture (PFAHL; WERNLI, 2008).

In the present work, an isotopic study was applied to observe differences in the origin of the moisture influencing the meteoric water responsible for recharging the dams and aquifers used for supplying water for the most important cities in the eastern part of the State of Paraná, in the south of Brazil.

## 2. Materials and methods

### *Study area*

The water used for public supply in the main cities of the eastern part of the State of Paraná was monitored every three months from March 2018 to January 2019. Seawater samples were also collected at two different points for comparison. The sampling sites may be observed in Figure 1.

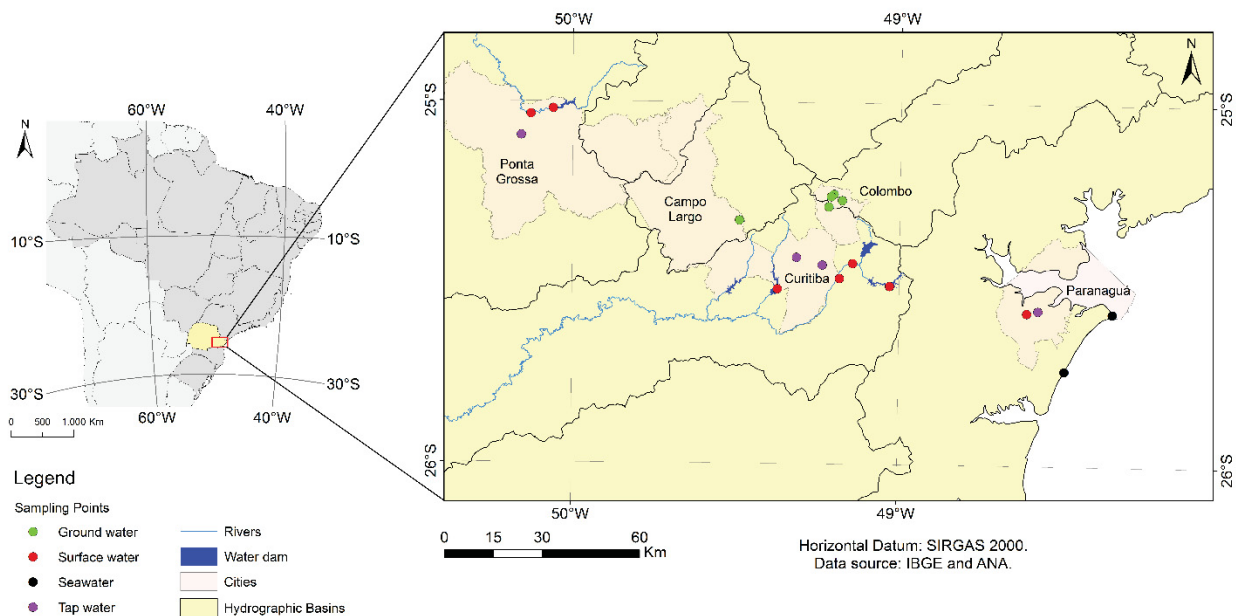


Figure 1 – Location of the sampling points.

The samples from Curitiba, capital of the State, were collected at approximately 70 km and 90 km from the coast line, while Ponta Grossa is located to the northwest

about 180 km from the sea. Between Paranaguá, a harbor city, and Curitiba, the Serra do Mar (a mountain chain oriented along the coast), which reaches heights above 1,000 m, serves as a watershed. Further in land from the coast, the Serra de São Luiz do Purunã acts as a second natural barrier between Curitiba and Ponta Grossa. The rainfall regime in the area is complicated by the influence of the Intertropical Convergence Zone (ITCZ), especially during summer, which brings moisture from the Amazon's basin to the region (PANARELLO; DAPEÑA, 2009). Curitiba uses water stored in the dams of Piraquara I and II and Iraí, located on its eastern side, and Passaúna, on its western side. Ponta Grossa uses water from the Alagados' dam and Paranaguá supplies the city with water coming from natural springs in the Inglês hill. In contrast to the other cities in this study, Colombo uses groundwater from the aquifer, named Karst, for public water supply.

According to the Köppen classification, the coast has a humid subtropical climate (Cfa). Moving inland, starting from the Serra do Mar, it changes to a temperate oceanic climate (Cfb) that dominates the rest of the State (ALVARES et al., 2013).

### ***Water samples and isotopic analyses***

The samples were collected at locations as close as possible to the withdrawal of the Water Treatment Plants (WTP) supplying the cities of Paranaguá, at the coast, Curitiba, the capital and most populated city of Paraná State, and Ponta Grossa. For the city of Colombo, samples were collected from three different water fountains because the city is supplied by groundwater coming from a karstic aquifer. A commercially bottled water from the brand "Ouro Fino" was also analyzed to provide extra data from the aquifer. The samples were collected in April 2018, July 2018, October 2018 and January 2019. Single samples were also collected between the Piraquara I and II dams and at the Alagados' dam in April 2018. In each city, one sample of tap water was also collected. Except for tap water, all samples were filtered using a 0.45 µm pore size membrane prior to storage in glass vials at 4 °C until the moment of the analyses.

Samples were analyzed at the Department of Earth Sciences of the ETH Zürich on a Cavity Ring-Down Spectrometer (CRDS) from Picarro, model L2120-*I*, coupled with a vaporizer V1102-*I*, kept at 100 °C, and an automated injection system from PAL System, used to inject 1 µL sample. The samples were then diluted with nitrogen, giving a concentration of about 20,500 ppm of water inside the cavity. Between samples, the 10 µL syringe was rinsed twice with 8 µL of milli-Q water. Before analyses, all the samples were filtered once again using 0.45 µm pore size membranes. On every run, three

in-house standards, calibrated to IAEA (International Atomic Energy Agency) standards VSMOW2, GISP e SLAP2, were analyzed for each block of six samples. All samples and standards were analyzed seven times with the three first results not being considered. The results here reported correspond to the average of the last four measurements, converted to the VSMOW scale. The data were treated using the ChemCorrect™ software, also from Picarro. Maximum standard deviations of 0.11 ‰ and 0.5 ‰ were obtained in the measurements for  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta\text{D}$ , respectively.

### **3. Results and discussion**

The isotopic data for the water samples collected during this study are listed in Table 1. Results ranging from -2.90‰ to -5.58‰ for  $\delta^{18}\text{O}$  and from -11.9‰ to -29.7‰ for  $\delta\text{D}$  were obtained for the first set of analysis. The samples from the three additional sets are still under analysis. The results will be added to this paper and discussed prior to publication. However, results for surface and groundwater, as collected here, are expected to show less seasonal variations when compared to rainwater values, (BATISTA et al., 2018).

Table 1 – Sample description and isotopic data.

Sample Description	April 2018		July 2018		October 2018		January 2019	
	$\delta^{18}\text{O} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta\text{D} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta\text{D} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta\text{D} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O} \pm 1\sigma / \text{‰}$	$\delta\text{D} \pm 1\sigma / \text{‰}$
Sea water	0.91±0.05	9.2±0.5	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Sea water	1.01±0.06	10.2±0.3	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Colônia WTP	-3.76±0.08	-12.1±0.1	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Tap water (Paranaguá)	-3.91±0.09	-12.3±0.3	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Iraí WTP	-3.85±0.05	-18.7±0.5	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Piraquara I and II dams	-2.90±0.05	-11.9±0.3	-	-	-	-	-	-
Passaúna WTP	-4.71±0.05	-25.0±0.5	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Iguaçu WTP	-4.20±0.03	-19.8±0.4	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Tap water (eastern Curitiba)	-4.24±0.06	-18.5±0.3	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Tap water (western Curitiba)	-4.83±0.06	-26.0±0.1	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Ground water Colombo	-5.22±0.06	-25.7±0.4	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Ground water Colombo	-5.32±0.05	-25.9±0.3	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Ground water Colombo	-5.58±0.09	-28.6±0.4	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Tap water (Colombo)	-5.39±0.05	-27.2±0.4	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Comercial Mineral Water	-5.49±0.11	-29.3±0.5	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Alagados WTP	-5.41±0.04	-29.4±0.1	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.
Alagados dam	-5.51±0.02	-29.7±0.5	-	-	-	-	-	-
Tap water (Ponta Grossa)	-5.57±0.03	-29.6±0.3	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.	u.a.

u.a.: under analysis.

The precipitation index for the cities from where the water samples were collected are indicated on Figure 2. These data will be used for discussing the isotopic data, once the final isotopic measurements have been completed.

The Local Drinking Water Line (LDWL), which is generally related to the Local Meteoric Water Line (LMWL) (FONT et al., 2015a) shows a *d*-excess higher than 10, which could be related to evaporative processes occurring at the water reservoirs (MARTINELLI et al., 1996). The results for the samples collected in April 2018, with a *d*-excess of 14.7‰, can be seen in Figure 3. The data are shown with error bars ( $1\sigma$ ).

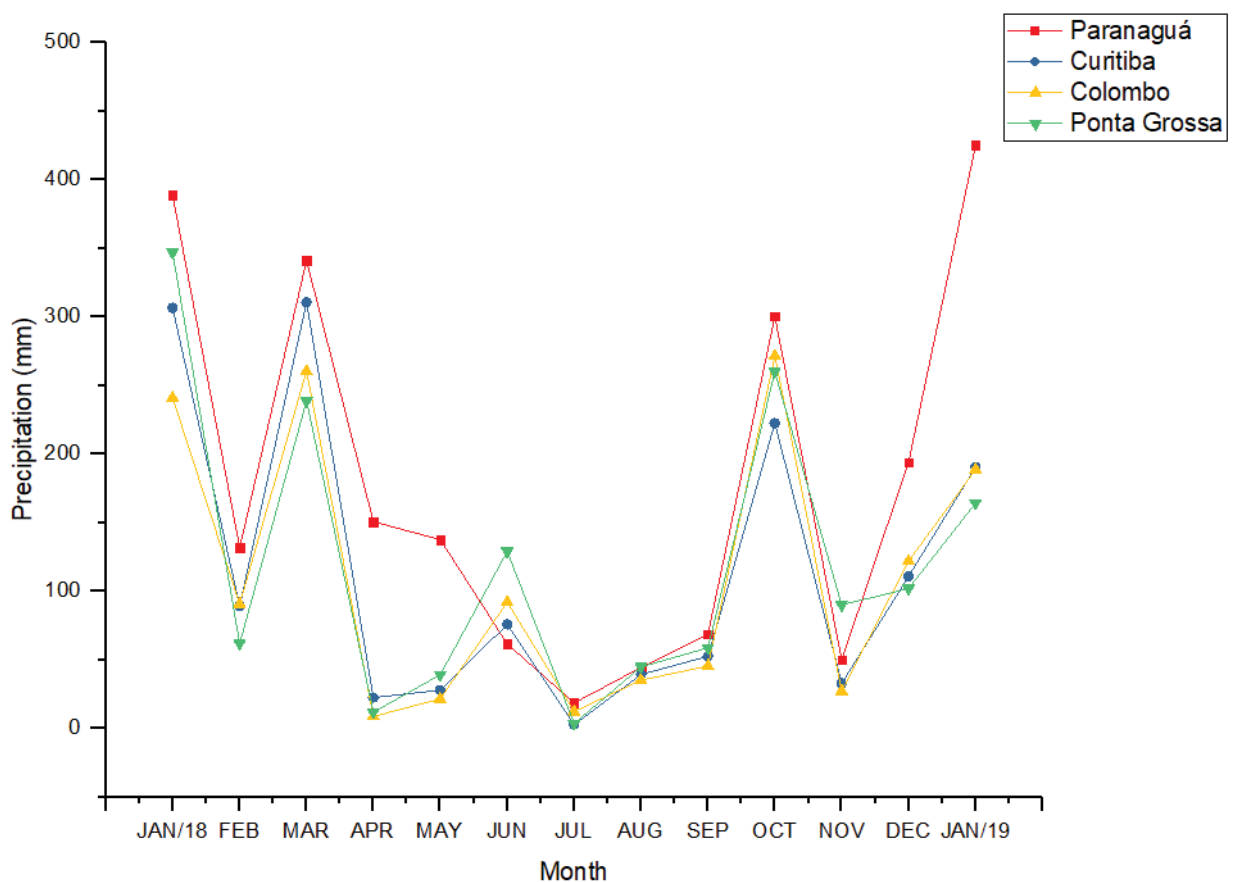


Figure 2 – Precipitation indexes from January 2018 to January 2019 (Data source: ÁGUAS PARANÁ).

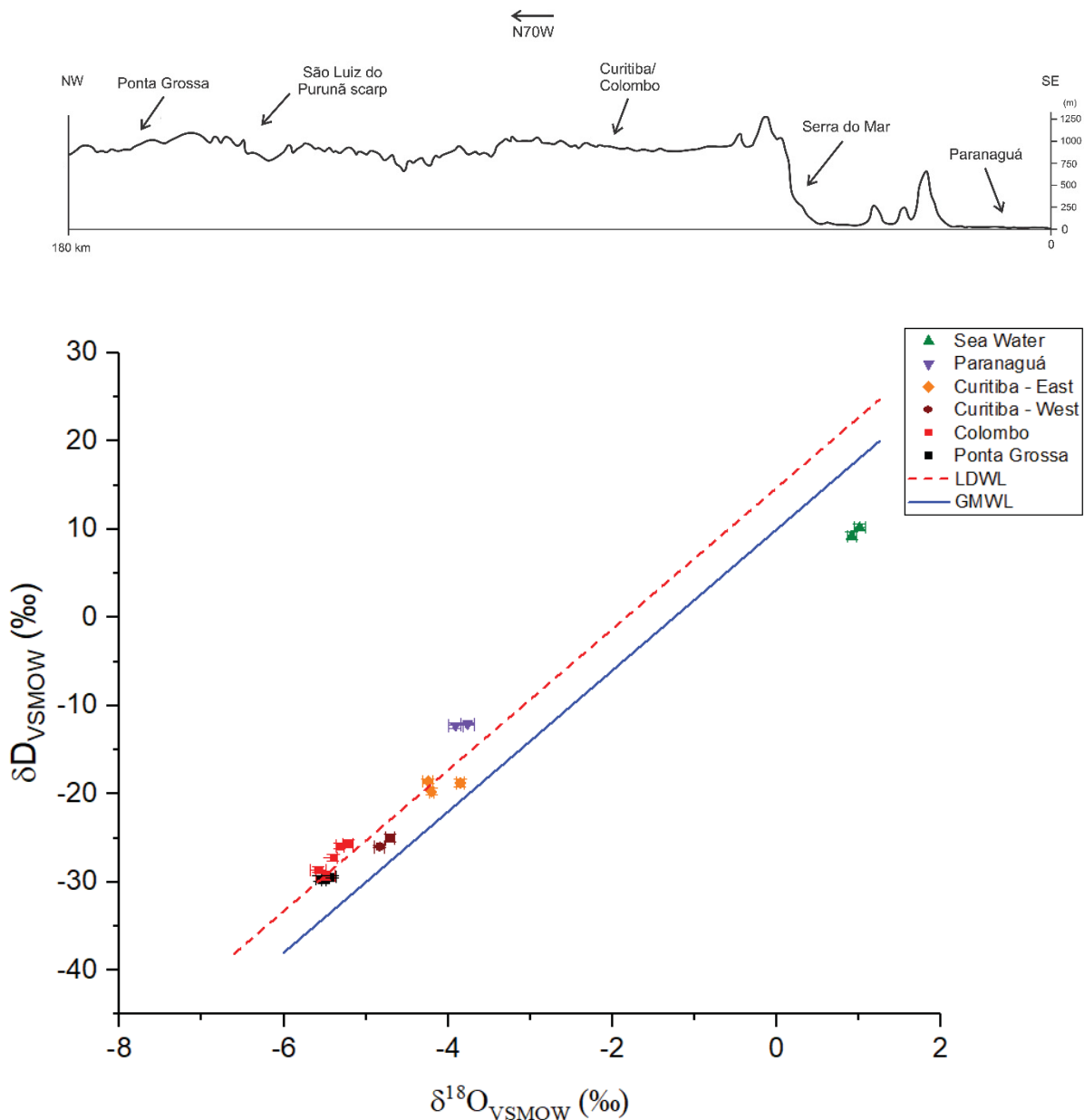


Figure 3 – Data for samples collected in April 2018. The dashed line represents the LDWL for the fresh water samples (excluding the sea water samples). The slope was fixed in 8 and a d-excess of 14.7 ‰ was obtained. Analytical uncertainties reported by the lab for the secondary standards are 0.04‰ for  $\delta^{18}\text{O}$  and 0.6‰ for  $\delta\text{D}$  ( $1\sigma$ ). On the top, the landscape profile is shown. The vertical scale (in meters above sealevel) was purposely exaggerated in relation to the horizontal scale (in kilometers). Watersheds and cities are indicated.

The continental effect may be observed by plotting the approximate distance of the sampling points to the coast against the average  $\delta^{18}\text{O}$  for fresh water in each area (Figure 4). More depleted signals are found as one moves away from the coast. This effect can also be visualized in the isoscape shown in Figure 5. However, the continental effect alone is not able to explain the isotopic variations observed. The significant

difference among the samples coming from the dams located on the eastern side of Curitiba (-4.10‰) and the samples from Passaúna dam (-4.77‰) on the western part, only about 20 km away from each other and located at the same hydrographic basin, may indicate a disproportional isotopic depletion in the water vapor just after it passes over the Serra do Mar, which may be caused by the common orographic precipitation observed especially at the region of the Piraquara I and II dams. Surprisingly, the isotopic data obtained for the water from the karstic aquifer, located north of Curitiba (in Colombo), show no significant differences compared to the data from Ponta Grossa, located 180 km from the coast. This implies that the same water vapor supplying the Alagados' dam is also responsible for recharging the Karst aquifer.

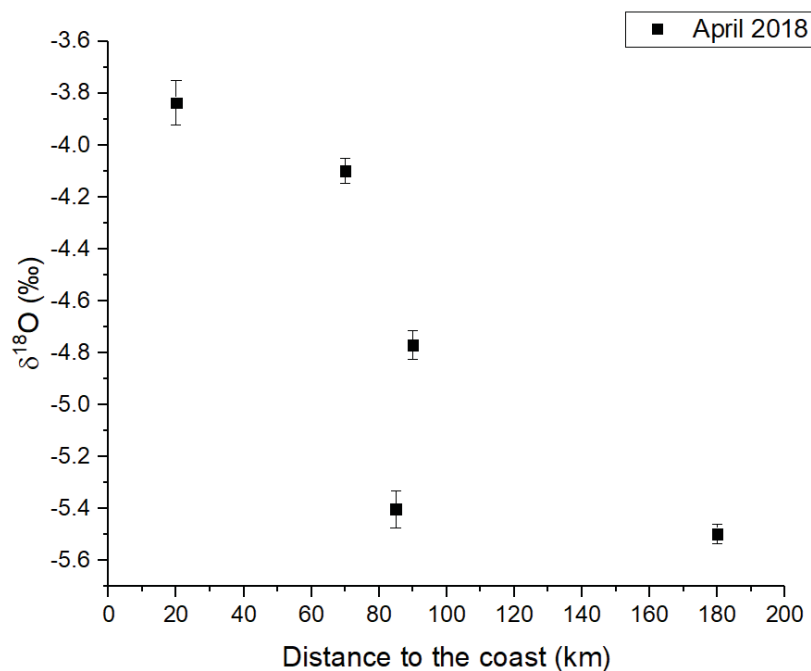


Figure 4 – Variations in  $\delta^{18}\text{O}$  related to the approximate distance to the coast. The results plotted correspond to the average of the data obtained for each area. Analytical uncertainties reported by the lab for the secondary standards are 0.04‰ for  $\delta^{18}\text{O}$  ( $1\sigma$ ).

A continental effect can also be seen in the isoscape shown in Figure 5. However, some results such as the ones found for Colombo and Piraquara I/II can not be explained using only this effect.

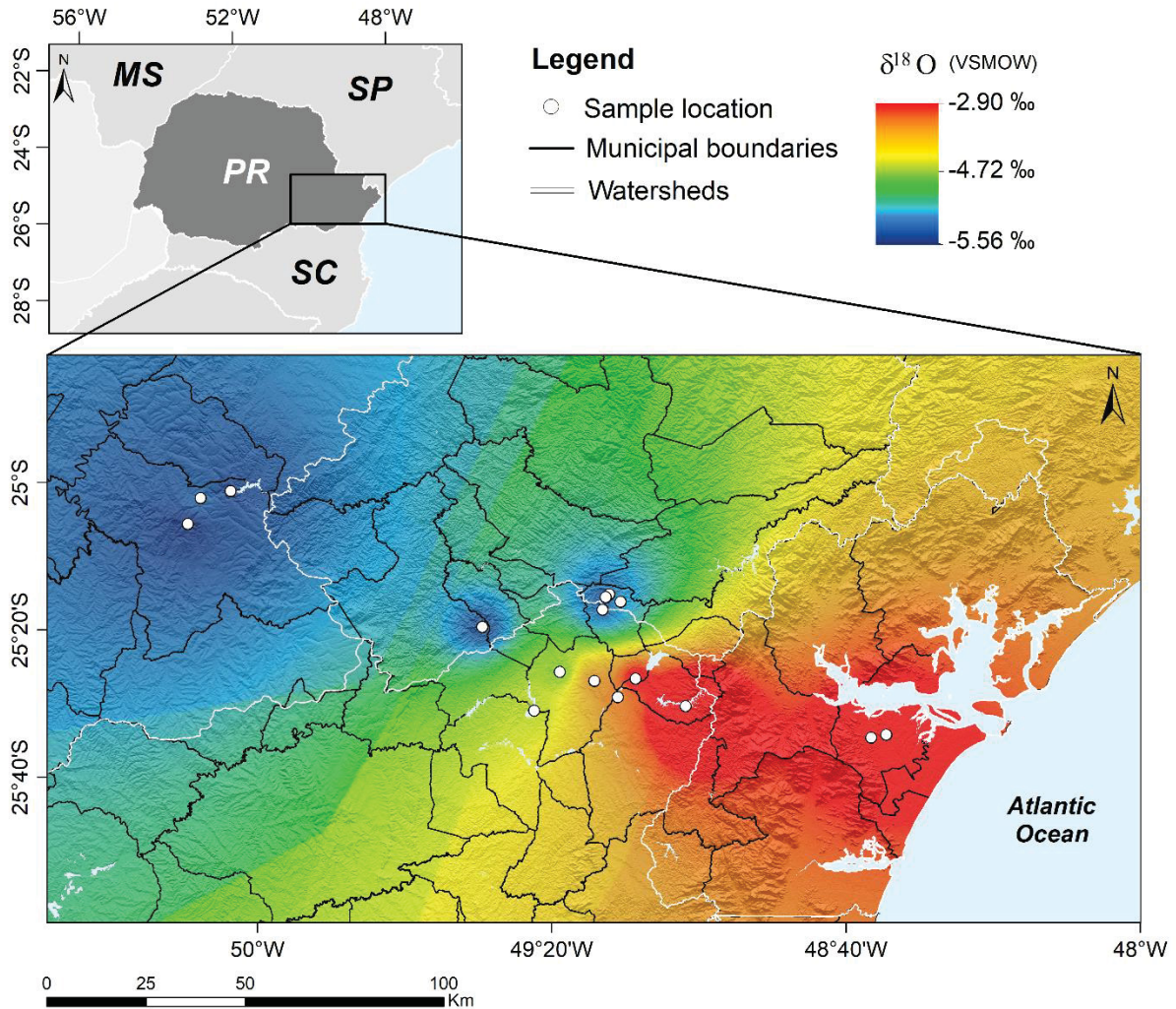


Figure 5 – Drinking water isoscape for  $\delta^{18}\text{O}$  values for the eastern region Paraná. The water becomes more depleted in the heavier isotope moving from the coast to the inland, illustrating the continental effect.

#### 4. Conclusions

The data obtained showed a variation on the isotopic signal which cannot be explained only by the continental effect. The water recharging the Karst aquifer clearly has an origin other than the one that fills the dams around Curitiba, and it appears to be more related to the water that supplies the city of Ponta Grossa, about 100 km further west. This fact suggests that the aquifer receives water strongly influenced by the Intertropical Convergence Zone (ITCZ), that brings water vapor from the Amazon's basin to the area.

The Serra do Mar plays an important role in the isotopic fractionation of water in the region, depleting the signal of  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta\text{D}$  by 0.67‰ and 6.5‰, respectively. In fact, this difference was 1.81‰ for  $\delta^{18}\text{O}$  and 13.1‰ for  $\delta\text{D}$ , as observed when comparing a single sample from Piraquara I/II with a sample from Passaúna dam, both collected in

April 2018. This difference was probably reduced when the water from the Piraquara system was mixed with the water coming from the Iraí dam before the sampling points, which are located at the withdrawal sites at the Water Treatment Plants of Iraí and Iguaçu.

Our results succinctly demonstrate that stable isotopes are useful tracers to investigate the origin of water and, therefore, are a useful tool to study water resources and predict potential water shortages in this study area, which is influenced by multiple factors such as the ITCZ and changing altitude. Furthermore, no isotopic fractionation was observed during the water treatment, distribution and/or storage. This fact allows for a simple strategy to collect tap water samples for future studies, making the sampling procedure easier and more cost effective.

### **Acknowledgments**

The authors would like to thank the financial support from the Microbial Project (UFPR/PETROBRAS/ANP n° 2016/00141-1).

## 3.2 RESULTADOS ADICIONAIS

### 3.3.1 Espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

Um espectro de infravermelho típico do esmalte dentário é ilustrado na FIGURA 1. São observadas as bandas de absorção relativas aos modos vibracionais dos grupos fosfato da hidroxiapatita e também as bandas relativas aos grupos carbonato, presentes em razão da substituição de algumas hidroxilas (substituição do tipo A) e de grupos fosfato (substituição do tipo B), no retículo cristalino do mineral. Estas substituições ocorrem com o passar dos anos, elevando a concentração de íons carbonato na estrutura cristalina da hidroxiapatita de 3% para 5% (LEVENTOURI et al., 2009). A ocorrência dessas substituições pode alterar os sinais isotópicos tanto de carbono quanto de oxigênio e por esse motivo devem ser levadas em consideração na interpretação dos resultados de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$ .

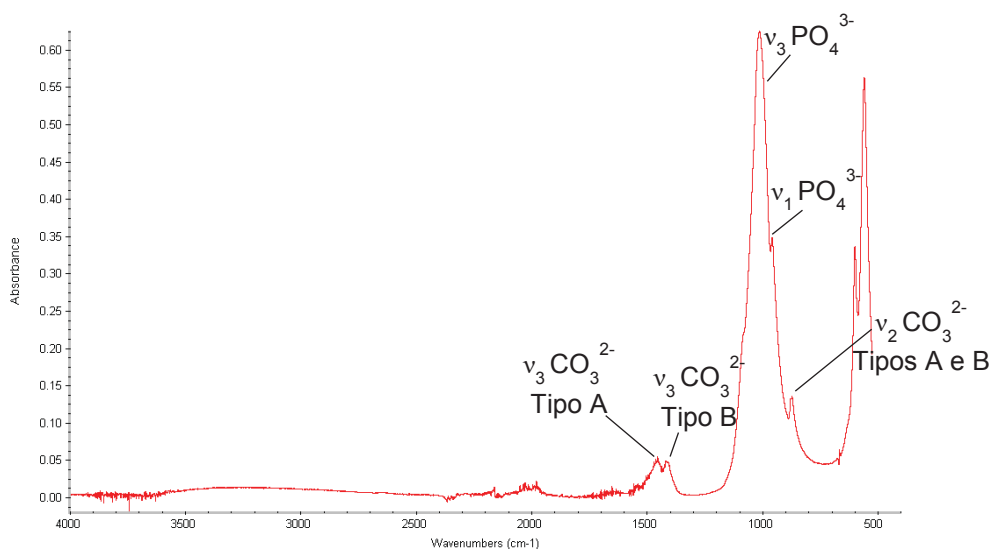


FIGURA 1 - Espectro de infravermelho típico observado para as amostras de esmalte dentário. São observadas as bandas de absorção referentes aos íons fosfato e carbonato, características da bioapatita com substituições dos tipos A e B.

### 3.3.2 Análise isotópica de estrôncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ )

A first attempt to determinate the isotopic signal for strontium ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) for drinking water (n = 5) and for the population living in the eastern part of Paraná (n = 14) was conducted (Table 1). Values ranging from 0.711926 to  $0.729613 \pm 0.000009$  for drinking water and 0.709641 to  $0.722267 \pm 0.000009$  for teeth were obtained.

The results are summarized on Table 2 and Figure 2. To the best of our knowledge, this is the first attempt to determine the bio-evaluable strontium for the region.

Table 1 – Isotopic values for  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa ( $2\sigma = -0.000023$ ).

Individual Id	Provenance	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Teeth	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Teeth Avg	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Water
583	Paranaguá	0.710831	0.710614	0.715656
588	Paranaguá	0.710397		
900	Curitiba (West side)	0.710313	0.710777	0.714283
714	Curitiba (West side)	0.711240		
830	Curitiba (East side)	0.709641	0.710706	0.711926
755	Curitiba (East side)	0.711218		
929	Curitiba (East side)	0.710363		
1002	Curitiba (East side)	0.711319		
767	Curitiba (East side)	0.710989		
816	Colombo	0.710574	0.712765	0.729613
1168	Colombo	0.710420		
894	Colombo	0.717300		
702	Ponta Grossa	0.710920	0.716594	0.716515
1101	Castro	0.722267		

Table 2 - Descriptive statistics for  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa.

Statistics	Teeth enamel	Drinking Water
Count (n)	14	5
Mean	0.711985	0.717599
Median	0.710876	0.715656
Standard Deviation	0.003474	0.006937
Sample Variance	0.000012	0.000048
Kurtosis	6.274728	3.882112
Skewness	2.567912	1.880809
Range	0.012626	0.017688
Minimum	0.709641	0.711926
Maximum	0.722267	0.729613

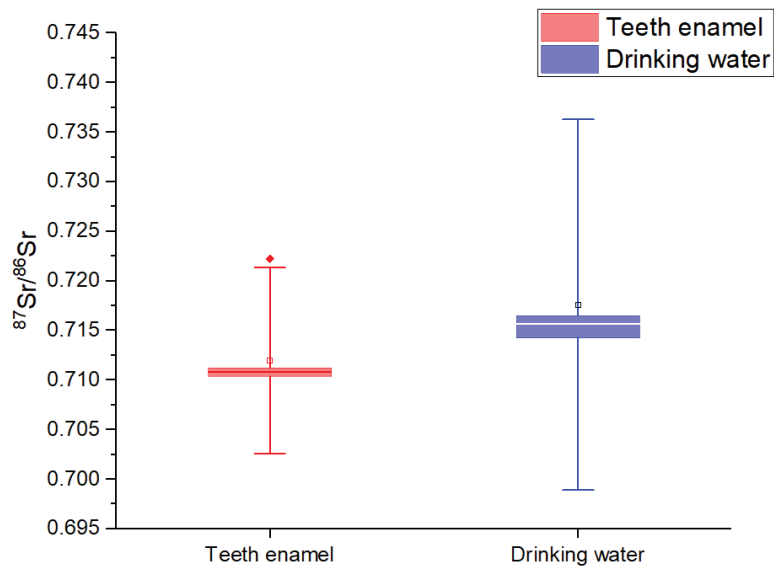


Figure 2 – Tukey’s schematic boxplots showing  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  for the teeth enamel samples and drinking water from Paranaguá, Curitiba, Colombo and Ponta Grossa. Key: the boxes represent the interquartile range (IQR: Q3-Q1), the central line indicates the median and the squares the mean. The whiskers represent Q1-1.5IQR and Q3 + 1.5IQR. The diamond represents an outlier.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível separar as águas utilizadas no abastecimento público das principais cidades da região leste do Paraná em três grupos com base no  $\delta^{18}\text{O}$ : Ponta Grossa e Colombo, com os valores mais negativos, região oeste de Curitiba com um sinal intermediário e região leste de Curitiba, juntamente com Paranaguá, com um sinal menos negativo. Contudo, o fracionamento observado para a água gerou uma variação no  $\delta^{18}\text{O}$  inferior a 2,00 ‰, portanto insuficiente para permitir a diferenciação de indivíduos com base no sinal isotópico registrado em seu esmalte dentário.

De fato, o sinal isotópico do esmalte dentário para indivíduos que tenham residido no Brasil durante o processo de mineralização dos seus dentes em princípio permite uma separação em dois grupos: indivíduos que tenham residido em uma grande faixa que vai da região amazônica até o sul do Brasil e indivíduos residentes do leste do Pará até o sul da Bahia. Estes resultados estão em consonância com os observados para a água meteórica da rede GNIP (acrescidas de amostras de água subterrânea no oeste da Bahia e na região de Colombo e de amostras de água superficial e subterrânea coletadas no leste do Paraná para o presente estudo). A inclusão destas amostras de água foi necessária para suprir a escassez de dados de água meteórica para o Brasil.

O presente trabalho pretende ser apenas um embrião de um banco isotópico para fins forenses no Brasil. Claramente são necessárias análises adicionais, particularmente de amostras de esmalte dentário de pessoas residentes nos extremos do país. Assim mesmo, os resultados obtidos até o momento podem ser diretamente aplicados a trabalhos em andamento no âmbito da Polícia Federal, como por exemplo na identificação de corpos na região do Araguaia ou para a obtenção resultados indicativos de proveniência para ossadas de estrangeiros ou de pessoas desaparecidas da Região Nordeste do país, que tenham sido encontradas no Paraná ou em estados vizinhos, por exemplo. Mais do que os dados levantados durante o projeto, os conhecimentos adquiridos por toda a equipe envolvida sem dúvida auxiliarão na interpretação futura de resultados isotópicos e abrem as portas para novas pesquisas e aplicações na área forense no Brasil.

## REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANGEROSA, F.; CAMERA, L.; CUMITINI, S.; GLEIXNER, G.; RENIERO, F. Carbon Stable Isotopes and Olive Oil Adulteration with Pomace Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3044–3048, 1997.
- ASH, M. M.; NELSON, S. J. **Wheeler's dental anatomy, physiology, and occlusion**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2003.
- BARONI, M. V.; PODIO, N. S.; BADINI, R. G.; INGA, M.; OSTERA, H. A.; CAGNONI, M.; GAUTIER, E. A.; GARCÍA, P. P.; HOOGEWERFF, J.; WUNDERLIN, D. A. Linking soil, water, and honey composition to assess the geographical origin of Argentinean honey by multielemental and isotopic analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 18, p. 4638–4645, 2015.
- BATISTA, L. V.; GASTMANS, D.; SÁNCHEZ-MURILLO, R.; FARINHA, B. S.; DOS SANTOS, S. M. R.; KIANG, C. H. Groundwater and surface water connectivity within the recharge area of Guarani aquifer system during El Niño 2014–2016. **Hydrological Processes**, v. 32, n. 16, p. 2483–2495, 2018.
- BENSON, S.; LENNARD, C.; MAYNARD, P.; ROUX, C. Forensic applications of isotope ratio mass spectrometry - A review. **Forensic Science International**, v. 157, n. 1, p. 1–22, 2006.
- BOWEN, G. J. **Global and regional maps of isotope ratios in precipitation**. Disponível em: <<http://waterisotopes.org>>. Acesso em: 13 abr. 2018.
- BRANCO, R. C. P. de O.; ALEXIOU, A. D. P.; FARIA, D. L. A.; TOMA, H. E.; SARKIS, J. E. S.; SOUZA, L. W. C.; BRANCO, M. O.; SALVADOR, V. L. R. **Química forense sob olhares eletrônicos**. Campinas: Millennium Editora Ltda., 2006.
- BRAND, W. A. High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. **Journal of mass spectrometry: JMS**, v. 31, n. 3, p. 225–235, 1996.
- BREITENBACH, S. F. M.; BERNASCONI, S. M. Carbon and oxygen isotope analysis of small carbonate samples (20 to 100 µg) with a GasBench II preparation device. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 25, n. 13, p. 1910–1914, 2011.
- CARUSO, S.; BERNARDI, S.; PASINI, M.; GIUCA, M. R.; DOCIMO, R.; CONTINENZA, M. A.; GATTO, R. The process of mineralisation in the development of human tooth. **European Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, n. 4, p. 322–326, 2016.
- CHENERY, C. A.; PASHLEY, V.; LAMB, A. L.; SLOANE, H. J.; EVANS, J. A. The oxygen isotope relationship between the phosphate and structural carbonate fractions of human bioapatite. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, n. 3, p. 309–319, 2012.
- CHESSON, L. A.; TIPPLE, B. J.; HOWA, J. D.; BOWEN, G. J.; BARNETTE, J. E.; CERLING, T. E.; EHLERINGER, J. R. **Treatise on Geochemistry**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2013. v. 14
- COPLIN, T. B. Normalization of oxygen and hydrogen isotope data. **Chemical Geology: Isotope Geoscience Section**, v. 72, n. 4, p. 293–297, 1988.

COPLIN, T. B. New guidelines for reporting stable hydrogen, carbon, and oxygen isotope-ratio data. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 60, n. 17, p. 3359–3360, 1996. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0016703796002633>>.

COPLIN, T. B.; BÖHLKE, J. K.; DE BIÈVRE, P.; DING, T.; HOLDEN, N. E.; HOPPLE, J. A.; KROUSE, H. R.; LAMBERTY, A.; PEISER, H. S.; REVESZ, K.; RIEDER, S. E.; ROSMAN, K. J. R.; ROTH, E.; TAYLOR, P. D. P.; VOCKE, R. D.; XIAO, Y. K. Isotope-abundance variations of selected elements (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 10, p. 1987–2017, 2002. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/view/j/pac.2002.74.issue-10/pac200274101987/pac200274101987.xml>>.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 12, n. 1–2, p. 133–149, 1957. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0016703757900248>>.

CRAIG, H. Isotopic variations in meteoric waters. **Science**, v. 133, n. 3465, p. 1702–1703, 1961.

CURREY, J. D. The design of mineralised hard tissues for their mechanical functions. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 3285–3294, 1999. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0033373388&partnerID=tZotx3y1>>.

DANIEL BRYANT, J.; LUZ, B.; FROELICH, P. N. Oxygen isotopic composition of fossil horse tooth phosphate as a record of continental paleoclimate. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 107, n. 3–4, p. 303–316, 1994.

DANSGAARD, W. Stable isotopes in precipitation. **Tellus**, v. 16, n. 4, p. 436–468, 1964. Disponível em: <<http://tellusa.net/index.php/tellusa/article/view/8993>>.

DAUX, V.; LÉCUYER, C.; HÉRAN, M. A.; AMIOT, R.; SIMON, L.; FOUREL, F.; MARTINEAU, F.; LYNNERUP, N.; REYCHLER, H.; ESCARGUEL, G. Oxygen isotope fractionation between human phosphate and water revisited. **Journal of Human Evolution**, 2008.

DENNIS, K. Using CRDS to measure stable isotopes of water: an overview of the technology, configurations and applications IAEA Isotope Hydrology Symposium Workshop 2: New Developments in Stable Isotopic Measurements by Laser Spectrographs and High Precision Water Is. 2015. Disponível em: <[http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/documents/2015\\_Symposium/Session4/Workshop\\_Picarro.pdf](http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/documents/2015_Symposium/Session4/Workshop_Picarro.pdf)>.

DINÇER, T. The Use of Oxygen 18 and Deuterium Concentrations in the Water Balance of Lakes. **Water Resources Research**, v. 4, n. 6, p. 1289–1306, 1968.

DINÇER, T.; PAYNE, B. R.; FLORKOWSKI, T. Snowmelt runoff from measurements of tritium and oxygen-18. **Water Resources Research**, v. 6, n. 1, p. 110–124, 1970.

DUPRAZ, C.; REID, R. P.; BRAISSANT, O.; DECHO, A. W.; NORMAN, R. S.; VISSCHER, P. T. Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. **Earth-Science Reviews**, v. 96, n. 3, p. 141–162, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.earscirev.2008.10.005>>.

EHLERINGER, J. R.; THOMPSON, A. H.; PODLESIAK, D. W.; BOWEN, G. J.; CHESSON, L. A.; CERLING, T. E.; PARK, T.; DOSTIE, P.; SCHWARCZ, H. A Framework for the Incorporation of Isotopes and Isoscapes in Geospatial Forensic Investigations. In: WEST J., BOWEN G., DAWSON T., T. K. (Ed.). **Isoscapes**. 1. ed. Dordrecht: Springer, 2010. p. 357–387.

FERREIRA, A. I. J. V. Espectrometria de massa de razões isotópicas. p. 1–348, 2008.

FLOCKHART, D. T. T.; KYSER, T. K.; CHIPLEY, D.; NATHAN, G.; NORRIS, D. R. Isotopes in Environmental and Health Studies Experimental evidence shows no fractionation of strontium

isotopes ( Sr / Sr ) among soil , plants , and herbivores : implications for tracking wildlife and forensic science. n. April, p. 37–41, 2015.

FONT, L.; JONKER, G.; VAN AALDEREN, P. A.; SCHILTMANS, E. F.; DAVIES, G. R. Provenancing of unidentified World War II casualties: Application of strontium and oxygen isotope analysis in tooth enamel. **Science and Justice**, v. 55, n. 1, p. 10–17, 2015a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2014.02.005>>.

FONT, L.; VAN DER PEIJL, G.; VAN LEUWEN, C.; VAN WETTEN, I.; DAVIES, G. R. Identification of the geographical place of origin of an unidentified individual by multi-isotope analysis. **Science and Justice**, v. 55, n. 1, p. 34–42, 2015b.

FRASER, I.; MEIER-AUGENSTEIN, W.; KALIN, R. M. The role of stable isotopes in human identification: A longitudinal study into the variability of isotopic signals in human hair and nails. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 7, p. 1109–1116, 2006.

FRICKE, H. C.; O'NEIL, J. R. Inter- and intra-tooth variation in the oxygen isotope composition of mammalian tooth enamel phosphate: Implications for palaeoclimatological and palaeobiological research. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, 1996.

GAT, J. R. Oxygen and Hydrogen Isotopes in the Hydrologic Cycle. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 24, n. 1, p. 225–262, 1996. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.earth.24.1.225>>.

GONÇALVES, M. V. P. **Flúor nas águas subterrâneas do aquífero Bambuí no sudoeste da Bahia (Brasil)**. 2014. 2014.

GRUMBKOW, P. v.; FROMMER, S.; KOOTKER, L. M.; DAVIES, G. R.; MAZANEC, J.; HUMMEL, S. Kinship and mobility in 11th-century A.D. Gammertingen, Germany: An interdisciplinary approach. **Journal of Archaeological Science**, v. 40, n. 10, p. 3768–3776, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.05.001>>.

INTERPOL. INTERPOL Disaster Victim Identification Guide. p. 127, 2014.

INTERPOL. **Disaster Victim Identification Guide**. [s.l: s.n.]

KATZENBERG, M. A.; KROUSE, H. R. Application of Stable Isotope Variation in Human Tissues to Problems in Identification. **Canadian Society of Forensic Science Journal**, 1989.

KHANDASAMMY, S. R.; FIKIET, M. A.; MISTEK, E.; AHMED, Y.; HALÁMKOVÁ, L.; BUENO, J.; LEDNEV, I. K. Bloodstains, Paintings, and Drugs: Raman Spectroscopy Applications in Forensic Science. **Forensic Chemistry**, 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468170917301133>>.

KIRCHNER, J. W.; TETZLAFF, D.; SOULSBY, C. Comparing chloride and water isotopes as hydrological tracers in two Scottish catchments. **Hydrological Processes**, v. 24, n. 12, p. 1631–1645, 2010.

KLEPINGER, L. L. **Fundamentals of forensic anthropology**. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2006. v. 28

KOHN, M. J. Carbon isotope compositions of terrestrial C3 plants as indicators of ( paleo ) ecology and ( paleo ) climate. v. 107, n. 46, p. 19691–19695, 2010.

KOHN, M. J.; SCHOENINGER, M. J.; BARKER, W. W. Altered states: Effects of diagenesis on fossil tooth chemistry. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 63, n. 18, p. 2737–2747, 1999.

KUBOTA, T.; NAKAMURA, A.; TOYOURA, K.; MATSUNAGA, K. The effect of chemical potential on the thermodynamic stability of carbonate ions in hydroxyapatite. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 8, p. 3716–3722, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.007>>.

LEHN, C.; ROSSMANN, A.; GRAW, M. Provenancing of unidentified corpses by stable isotope techniques - presentation of case studies. **Science and Justice**, v. 55, n. 1, p. 72–88, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2014.10.006>>.

LEVENTOURI, T.; ANTONAKOS, A.; KYRIACOU, A.; VENTURELLI, R.; LIAROKAPIS, E.; PERDIKATSI, V. Crystal Structure Studies of Human Dental Apatite as a Function of Age. **International Journal of Biomaterials**, v. 2009, p. 1–6, 2009. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijbm/2009/698547/>>.

LEVINSON, A. A.; LUZ, B.; KOLODNY, Y. Variations in oxygen isotopic compositions of human teeth and urinary stones. **Applied Geochemistry**, v. 2, p. 367–371, 1987.

LI, X.; WANG, J.; JOINER, A.; CHANG, J. The remineralisation of enamel: A review of the literature. **Journal of Dentistry**, v. 42, p. S12–S20, 2014. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0300-5712\(14\)50003-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50003-6)>.

LONGINELLI, A. Oxygen isotopes in mammal bone phosphate : A new tool for paleohydrological and paleoclimatological research ? v. 48, n. 1961, p. 385–390, 1984.

LONGOBARDI, F.; SACCO, D.; CASIELLO, G.; VENTRELLA, A.; SACCO, A.; LONGOBARDI, F. Characterization of the Geographical and Varietal Origin of Wheat and Bread by Means of Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) Methods and Chemometrics: A Review. **Agricultural Sciences**, v. 6, n. 6, p. 126–136, 2015. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/as%5Cnhttp://dx.doi.org/10.4236/as.2015.61010%5Cnhttp://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>>.

LUCATO, M. U. Análise quantitativa por técnicas de reflectância e fotoacústica no infravermelho médio com transformada de Fourier e utilização de calibração multivariada. **Instituto De Química**, 2005.

LUZ, B.; KOLODNY, Y.; HOROWITZ, M. **Fractionation of oxygen isotopes between mammalian bone-phosphate and environmental drinking water** *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1984. .

LYNCH, R. J. M. The primary and mixed dentition, post-eruptive enamel maturation and dental caries: a review. **International Dental Journal**, v. 63, p. 3–13, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/idj.12076>>.

MARGOLIS, H. C.; KWAK, S. Y.; YAMAZAKI, H. Role of mineralization inhibitors in the regulation of hard tissue biomineralization: Relevance to initial enamel formation and maturation. **Frontiers in Physiology**, v. 5, n. SEP, p. 1–10, 2014.

MARTINELLI, L. A.; VICTORIA, R. L.; STERNBERG, L. S. L.; RIBEIRO, A.; MOREIRA, M. Z. Using stable isotopes to determine sources of evaporated water to the atmosphere in the Amazon basin. **Journal of Hydrology**, v. 183, n. 3–4, p. 191–204, 1996.

MCGUIRE, K.; JEFF, M. Stable isotope tracers in watershed hydrology. In: MICHENER, R.; LAJTHA, K. (Ed.). **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. 2nd. ed. Malden, MA - USA: Blackwell Publishing Ltd, 2007. p. 334–374.

MEIER-AUGENSTEIN, W. Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 842, n. 1–2, p. 351–371, 1999.

MEIER-AUGENSTEIN, W. **Stable Isotope Forensics: Methods and Forensic Applications of Stable Isotope Analysis**. 2 nd. Ed. ed. [s.l.] John Wiley & Sons Ltd, 2018.

MEIER-AUGENSTEIN, W.; FRASER, I. Forensic isotope analysis leads to identification of a mutilated murder victim. **Science and Justice**, v. 48, n. 3, p. 153–159, 2008.

MMA, M. do M. A.-. **Carta das águas subterrâneas do Paraná**. [s.l.: s.n.]

MOLLI, K.; CHAITANYA, G. **Are Teeth Bones?** Disponível em: <<https://www.ihealthblogger.com/are-teeth-bones/>>. Acesso em: 13 abr. 2018.

MUNIZ, T. R. **ANÁLISE DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM TECIDOS HUMANOS ORGÂNICOS E BIOMINERAIS APLICADA À ANTROPOLOGIA FORENSE**. 2017. Universidade Federal do Paraná, 2017.

NARDOTO, G. B.; SILVA, S.; KENDALL, C.; EHLERINGER, J. R.; CHESSON, L. A.; FERRAZ, E. S. B.; MOREIRA, M. Z.; OMETTO, J. P. H. B.; MARTINELLI, L. A. Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 131, n. 1, p. 137–146, 2006.

PANARELLO, H. O.; DAPEÑA, C. Large scale meteorological phenomena, ENSO and ITCZ, define the Paraná River isotope composition. **Journal of Hydrology**, v. 365, n. 1–2, p. 105–112, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.11.026>>.

PARANÁ, Á. **No Title**. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/pagina-264.html>>.

PERRY, R. S.; MCLOUGHLIN, N.; LYNNE, B. Y.; SEPHTON, M. A.; OLIVER, J. D.; PERRY, C. C.; CAMPBELL, K.; ENGEL, M. H.; FARMER, J. D.; BRASIER, M. D.; STALEY, J. T. Defining biominerals and organominerals: Direct and indirect indicators of life. **Sedimentary Geology**, v. 201, n. 1–2, p. 157–179, 2007.

PFAHL, S.; SODEMANN, H. What controls deuterium excess in global precipitation? **Climate of the Past**, v. 10, n. 2, p. 771–781, 2014.

PFAHL, S.; WERNLI, H. Air parcel trajectory analysis of stable isotopes in water vapor in the eastern Mediterranean. **Journal of Geophysical Research Atmospheres**, v. 113, n. 20, p. 1–16, 2008.

PIEKARZ, G. F. **Geoturismo no karst**. Curitiba: Mineropar, 2011.

POLLARD, A. M.; PELLEGRINI, M.; LEE-THORP, J. A. Technical note: Some observations on the conversion of dental enamel  $\delta^{18}O_{p}$  values to  $\delta^{18}O_{w}$  to determine human mobility. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 145, n. 3, p. 499–504, 2011.

PRICE, T. D.; BURTON, J. H.; BENTLEY, R. A. THE CHARACTERIZATION OF BIOLOGICALLY AVAILABLE STRONTIUM ISOTOPE RATIOS FOR THE STUDY OF PREHISTORIC MIGRATION \*. v. 1, n. February 2001, p. 117–135, 2002.

PRICE, T. D.; MANZANILLA, L.; MIDDLETON, W. D. Immigration and the ancient city of Teotihuacan in Mexico: A study using strontium isotope ratios in human bone and teeth. **Journal of Archaeological Science**, v. 27, n. 10, p. 903–913, 2000.

READE, H.; STEVENS, R. E.; BARKER, G.; O'CONNELL, T. C. Tooth enamel sampling strategies for stable isotope analysis: Potential problems in cross-method data comparisons. **Chemical Geology**, 2015.

SANTIAGO, T. **Ossadas de Perus são transferidas temporariamente para prédio do MPF**.

Disponível em: <<http://g1.globo.com/sao-paulo/noticia/2015/08/ossadas-de-perus-sao-transferidas-temporariamente-para-predio-do-mpf.html>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

SELWITZ, R. H.; ISMAIL, A. I.; PITTS, N. B. Dental Caries. **The Lancet**, v. 369, p. 51–59, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 5a. ed. [s.l: s.n.]

SKLASH, M. G.; FARVOLDEN, R. N. The role of groundwater in storm runoff. **Journal of Hydrology**, v. 43, p. 45–65, 1979.

SKORYNA, S. C. **Handbook of Stable Strontium**. 1st Ed. ed. New York: Plenum Press, 1981.

SMITH, C. E. CELLULAR AND CHEMICAL EVENTS DURING ENAMEL MATURATION. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 9, n. 2, p. 128–161, 1998.

STUART-WILLIAMS, H. L. Q.; SCHWARCZ, H. P. Oxygen isotopic determination of climatic variation using phosphate from beaver bone, tooth enamel, and dentine. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 61, n. 12, p. 2539–2550, 1997.

TORRES, S. R. M. Caracterização comparativa do esmalte de dentes decíduos e permanentes por Espectroscopia Raman. p. 53, 2008.

TYKOT, R. H. Stable isotopes and diet: You are what you eat. **Proceedings of the International School of Physics**, 2004.

VALENTE, R. **Ossada de Perus identificada é de militante da esquerda morto em 1971**. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/poder/2018/02/ossada-de-perus-identificada-e-de-militante-da-esquerda-morto-em-1971.shtml>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

VALENZUELA, L. O.; CHESSON, L. A.; BOWEN, G. J.; CERLING, T. E.; EHLERINGER, J. R. Dietary heterogeneity among western industrialized countries reflected in the stable isotope ratios of human hair. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, 2012.

WEINER, S.; LOWENSTAM, H. **Organization of extracellularly mineralized tissues: A comparative study of biological crystal growth**. [s.l: s.n.]v. 20

WRIGHT, L. E.; SCHWARCZ, H. P. Stable carbon and oxygen isotopes in human tooth enamel: Identifying breastfeeding and weaning in prehistory. **American Journal of Physical Anthropology**, 1998.

ZAZZO, A.; BALASSE, M.; PATTERSON, W. P. High-resolution  $\delta^{13}\text{C}$  intratooth profiles in bovine enamel: Implications for mineralization pattern and isotopic attenuation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 69, n. 14, p. 3631–3642, 2005.

ZAZZO, A.; BENDREY, R.; VELLA, D.; MOLONEY, A. P.; MONAHAN, F. J.; SCHMIDT, O. A refined sampling strategy for intra-tooth stable isotope analysis of mammalian enamel. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 84, p. 1–13, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gca.2012.01.012>>.

ZAZZO, A.; MARIOTTI, A.; LÉCUYER, C.; HEINTZ, E. Intra-tooth isotope variations in late Miocene bovid enamel from Afghanistan: Paleobiological, taphonomic, and climatic implications. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 186, n. 1–2, p. 145–161, 2002.

## ANEXO I

Dados disponíveis em relação aos dentes utilizados neste trabalho (proveniência, idade, sexo e tipo de dente), junto com os dados de razão isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  - VPBD). SD = desvio padrão das medidas realizadas.

Indivíduo	Proveniência	UF	Idade	Sexo	Tipo de Dente	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{18}\text{O}$	SD
105	Manaus	AM	-	-	-	-9.88	0.02	-6.57	0.04
106	Manaus	AM	-	-	-	-12.25	0.02	-5.93	0.05
1407	Irecê	BA	26	F	Terceiro Molar	-10.31	0.04	-5.73	0.04
739	Campos Sales	CE	49	F	Terceiro Molar	-10.83	0.03	-2.40	0.04
160	Fortaleza	CE	-	F	Terceiro Molar	-10.20	0.04	-2.86	0.09
876	Brasília	DF	46	M	Incisivo Central	-7.98	0.05	-5.12	0.05
1246	Betim	MG	25	F	Terceiro Molar	-10.72	0.03	-5.60	0.04
833	Mundo Novo	MS	31	F	Terceiro Molar	-10.69	0.03	-5.92	0.06
770	São José dos Quatro Marcos	MT	31	F	Segundo Pré-Molar	-9.98	0.02	-6.50	0.03
1408	Marabá	PA	28	F	Terceiro Molar	-9.04	0.03	-4.47	0.05
161	Parauapebas	PA	-	F	Terceiro Molar	-7.99	0.05	-3.64	0.01
1399	Patos	PB	20	F	Terceiro Molar	-9.67	0.02	-2.00	0.07
716	Araucária	PR	30	M	Terceiro Molar	-8.98	0.03	-5.07	0.04
901	Bocaiúva do Sul	PR	54	M	Terceiro Molar	-11.57	0.03	-5.21	0.04
1106	Cambé	PR	59	F	Incisivo Lateral	-8.36	0.03	-5.51	0.02
1101	Castro	PR	51	M	Terceiro Molar	-9.52	0.02	-6.52	0.02
1200	Catanduvas do Sul	PR	20	F	Terceiro Molar	-10.00	0.05	-5.78	0.04
642	Celinaque	PR	42	F	Terceiro Molar	-10.88	0.03	-5.47	0.03
816	Colombo	PR	19	F	Terceiro Molar	-8.76	0.05	-5.93	0.02
1168	Colombo	PR	16	M	Terceiro Molar	-9.53	0.02	-6.25	0.04
894	Colombo	PR	69	M	Incisivo Central	-5.94	0.04	-5.97	0.04
1414	Colombo	PR	37	M	Terceiro Molar	-9.57	0.05	-5.35	0.05
1406	Cornélio Procópio	PR	53	M	Terceiro Molar	-10.22	0.03	-5.86	0.04
900	Curitiba	PR	21	M	Terceiro Molar	-9.75	0.02	-5.38	0.02
830	Curitiba	PR	19	F	Terceiro Molar	-9.70	0.02	-5.35	0.04
755	Curitiba	PR	33	F	Terceiro Molar	-10.79	0.02	-6.26	0.03
929	Curitiba	PR	20	M	Terceiro Molar	-10.47	0.00	-5.68	0.01
1002	Curitiba	PR	20	F	Terceiro Molar	-10.08	0.06	-5.69	0.02
767	Curitiba	PR	23	F	Terceiro Molar	-10.12	0.02	-5.60	0.02
714	Curitiba	PR	23	F	Terceiro Molar	-10.26	0.03	-5.88	0.05
584	Curitiba	PR	31	F	Terceiro Molar	-9.24	0.06	-5.38	0.04
696	Curitiba	PR	31	F	Terceiro Molar	-9.32	0.04	-4.96	0.04
893	Curitiba	PR	54	F	Primeiro Pré-molar	-8.63	0.02	-5.01	0.05
918	Curitiba	PR	61	F	Primeiro Pré-molar	-6.00	0.05	-4.55	0.05
1056	Curitiba	PR	70	F	Incisivo Central	-6.68	0.04	-5.53	0.02
1102	Curitiba	PR	43	M	Terceiro Molar	-6.32	0.04	-5.36	0.04

Indivíduo	Proveniência	UF	Idade	Sexo	Tipo de Dente	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{18}\text{O}$	SD
1105	Curitiba	PR	40	M	Terceiro Molar	-9.82	0.04	-5.33	0.08
1195	Curitiba	PR	36	M	Terceiro Molar	-9.20	0.01	-5.13	0.01
1201	Curitiba	PR	33	F	Terceiro Molar	-9.09	0.03	-5.97	0.02
1212	Curitiba	PR	17	F	Terceiro Molar	-10.08	0.02	-5.60	0.06
1214	Curitiba	PR	41	F	Terceiro Molar	-9.62	0.02	-5.52	0.04
1223	Curitiba	PR	22	F	Terceiro Molar	-9.96	0.02	-5.61	0.05
1236	Curitiba	PR	21	F	Terceiro Molar	-9.26	0.03	-5.32	0.03
1237	Curitiba	PR	25	F	Terceiro Molar	-11.53	0.02	-5.35	0.05
1238	Curitiba	PR	22	F	Terceiro Molar	-9.82	0.02	-5.17	0.03
1241	Curitiba	PR	21	F	Terceiro Molar	-11.45	0.03	-5.58	0.02
1244	Curitiba	PR	23	F	Terceiro Molar	-10.18	0.03	-5.17	0.04
1247	Curitiba	PR	24	F	Terceiro Molar	-10.52	0.02	-5.96	0.04
1248	Curitiba	PR	22	F	Terceiro Molar	-9.77	0.02	-5.12	0.03
1320	Curitiba	PR	39	F	Terceiro Molar	-9.72	0.04	-5.44	0.06
1400	Curitiba	PR	30	M	Terceiro Molar	-10.38	0.02	-5.42	0.04
1413	Curitiba	PR	19	F	Terceiro Molar	-9.54	0.05	-4.84	0.07
162	Curitiba (nasceu na Espanha)	PR	20	F	Terceiro Molar	-10.06	0.05	-5.91	0.07
1097	Curitiba (nasceu no Japão)	PR	19	M	Terceiro Molar	-9.69	0.03	-5.43	0.02
1243	Curitiba (nasceu no Japão)	PR	17	F	Terceiro Molar	-9.78	0.05	-5.47	0.05
1217	Goiorê	PR	22	F	Terceiro Molar	-10.49	0.02	-5.31	0.04
1222	Itú	PR	27	F	Terceiro Molar	-11.72	0.02	-5.73	0.03
1228	Ivaiporã	PR	23	M	Terceiro Molar	-8.39	0.01	-6.37	0.02
1240	Lapa	PR	32	F	Terceiro Molar	-10.91	0.03	-6.13	0.08
1410	Lapa	PR	21	M	Terceiro Molar	-11.85	0.03	-5.31	0.00
1224	Londrina	PR	26	F	Terceiro Molar	-9.96	0.06	-5.43	0.03
583	Paranaguá	PR	18	M	Terceiro Molar	-10.14	0.02	-5.29	0.04
588	Paranaguá	PR	19	M	Terceiro Molar	-12.03	0.01	-5.61	0.01
1220	Pato Branco	PR	21	F	Terceiro Molar	-9.83	0.02	-5.37	0.01
1226	Pato Branco	PR	18	F	Terceiro Molar	-10.31	0.01	-5.59	0.04
1043	Pinhais	PR	52	F	Terceiro Molar	-9.97	0.01	-5.64	0.02
1198	Pinhais	PR	23	M	Terceiro Molar	-9.06	0.05	-5.29	0.02
1257	Pinhais	PR	19	F	Terceiro Molar	-8.72	0.02	-5.43	0.05
1405	Pinhais	PR	19	F	Terceiro Molar	-9.04	0.03	-5.51	0.03
1070	Piraquara	PR	40	M	Incisivo Central	-10.09	0.06	-5.74	0.03
702	Ponta Grossa	PR	26	F	Terceiro Molar	-10.04	0.02	-5.18	0.04
1	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.05	0.05	-5.96	0.06
2	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-11.14	0.04	-6.08	0.06
3	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.18	0.01	-5.93	0.06
4	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.10	0.02	-5.22	0.01
5	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.52	0.03	-5.67	0.05
6	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.69	0.03	-6.20	0.06
7	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.42	0.02	-6.23	0.06
8	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.50	0.01	-5.14	0.02
9	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.36	0.01	-6.24	0.05

Indivíduo	Proveniência	UF	Idade	Sexo	Tipo de Dente	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{18}\text{O}$	SD
10	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.20	0.04	-5.74	0.05
11	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.76	0.03	-5.60	0.03
12	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.10	0.02	-5.06	0.03
13	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.00	0.02	-5.27	0.05
14	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.75	0.05	-4.81	0.03
15	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-7.92	0.01	-5.73	0.02
16	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.77	0.01	-5.35	0.05
17	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.63	0.03	-5.33	0.01
18	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.54	0.02	-5.28	0.02
19	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-11.03	0.03	-5.96	0.07
20	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.04	0.04	-5.81	0.04
21	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.02	0.04	-5.03	0.06
22	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.71	0.02	-5.74	0.05
23	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-10.11	0.03	-5.26	0.01
24	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.83	0.02	-5.90	0.04
25	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-11.04	0.02	-5.89	0.04
26	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-8.91	0.03	-5.53	0.05
27	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-6.77	0.04	-5.77	0.03
28	Ponta Grossa	PR	-	-	-	-9.40	0.03	-5.62	0.07
1221	Renascença	PR	21	M	Terceiro Molar	-10.18	0.03	-5.25	0.03
1219	Rio Branco do Sul	PR	50	F	Terceiro Molar	-9.25	0.04	-6.59	0.05
1412	Rio Negro	PR	20	M	Terceiro Molar	-11.50	0.01	-5.74	0.06
1415	Santa Isabel do Oeste	PR	28	F	Terceiro Molar	-10.25	0.01	-5.71	0.04
1401	Santana do Itararé	PR	22	F	Terceiro Molar	-9.91	0.03	-6.94	0.02
627	São José dos Pinhais	PR	30	F	Terceiro Molar	-10.52	0.04	-6.14	0.05
916	São José dos Pinhais	PR	56	M	Primeiro Pré-molar	-8.39	0.03	-5.49	0.04
1318	São José dos Pinhais	PR	42	M	Terceiro Molar	-7.92	0.04	-5.87	0.08
1402	Umuarama	PR	28	F	Terceiro Molar	-10.20	0.04	-5.41	0.03
651	União da Vitória	PR	49	F	Terceiro Molar	-9.16	0.05	-5.21	0.05
1255	União da Vitória	PR	34	M	Terceiro Molar	-11.16	0.02	-5.90	0.05
879	Itaiópolis	SC	60	M	Incisivo Central	-8.91	0.01	-5.35	0.03
1227	Joinville	SC	27	F	Terceiro Molar	-9.01	0.04	-5.52	0.01
1267	Joinville	SC	27	F	Terceiro Molar	-9.73	0.05	-5.57	0.04
1403	Lages	SC	30	F	Terceiro Molar	-10.44	0.02	-5.51	0.05
721	Salto Veloso-SC	SC	35	F	Terceiro Molar	-8.33	0.03	-4.73	0.05
1269	Avaré	SP	26	M	Terceiro Molar	-10.41	0.03	-6.28	0.03
1252	Jotapiranga-SP	SP	27	F	Terceiro Molar	-10.78	0.02	-5.08	0.04
810	Ribeirão Preto	SP	30	M	Terceiro Molar	-9.46	0.04	-6.96	0.04
1073	São Paulo	SP	30	M	Terceiro Molar	-10.73	0.01	-4.97	0.04
1225	São Paulo	SP	24	F	Terceiro Molar	-8.58	0.01	-5.66	0.04
1234	São Paulo	SP	26	F	Terceiro Molar	-10.55	0.03	-5.43	0.03
1409	São Paulo	SP	21	M	Terceiro Molar	-9.10	0.03	-6.36	0.06
1216	Santiago-Chile	Chile	28	M	Terceiro Molar	-12.57	0.02	-9.36	0.04
898	Roquetas de Mar - Almeria	Espanha	21	M	Terceiro Molar	-14.18	0.03	-7.79	0.05

## ANEXO II

### **The Application of Forensic Geology to Investigate the Substitution of Zinc Ingots Between China and Brazil**

**Fábio Augusto da Silva Salvador<sup>1\*</sup>, Matheus Pereira Nogueira e Silva<sup>2</sup>, Ricardo de Oliveira Mascarenhas<sup>2,3</sup>, Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Brazilian Federal Police, Technical-Scientific Directory (DITEC), Brasília, Brazil*

<sup>2</sup> *Brazilian Federal Police, Technical-Scientific Sector (SETEC), Curitiba, Brazil*

<sup>3</sup> *Laboratory of Mineral and Rocks (LAMIR), Department of Geology, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil*

*\*Corresponding author (email: salvador.fass@dpf.gov.br)*

#### **Abstract:**

This paper presents the investigation of fraud and of the theft of metal acquired by a Brazilian company from a Chinese supplier. Zinc ingots were transported by ship from China to city of Londrina, in Paraná State, Brazil. However, were substituted at some point during their journey, and replaced with bags containing fine crushed rock. In this case a classic 'substitution' it was possible to use geological methods to investigate the crushed rock. As such, the mineralogical, petrological and isotope analysis showed the replaced rock did not originate from a Brazilian provenance. Therefore, the substitution possibly occurred before the cargo arrival in Brazil. An inadequate chain of custody of the cargo, during transportation from Asia to Brazil, including the onward journey from Paranaguá to Londrina, is likely to have provided the opportunity for the material exchange. Collaboration between the Brazilian Federal Police and geological experts based in academia enabled the crime to be investigated and resolved.

#### **Introduction**

Forensic Geology in Brazil contributes to the public security, helps to preserve public order and safety. The Brazilian Federal Police employs thirty-nine geologists that operate throughout the vast Brazilian territory. The Federal Police laboratories, conduct geological and soils investigations and has benefited greatly from the exchange of work with Universities. , This enables the provision of data used for operation case work, the implementation of research and improvements of scientific methodologies, communication and collaborative work.

Zinc ingots were transported in containers aboard a vessel leaving a port in China on 2 February 2015. The cargo comprised 25,000 kg of zinc ingots estimated to be worth USD \$55,000. These were loaded at Xingang Harbour, in China, for export to Londrina, in Brazil, where it would be used in the electrical industry.

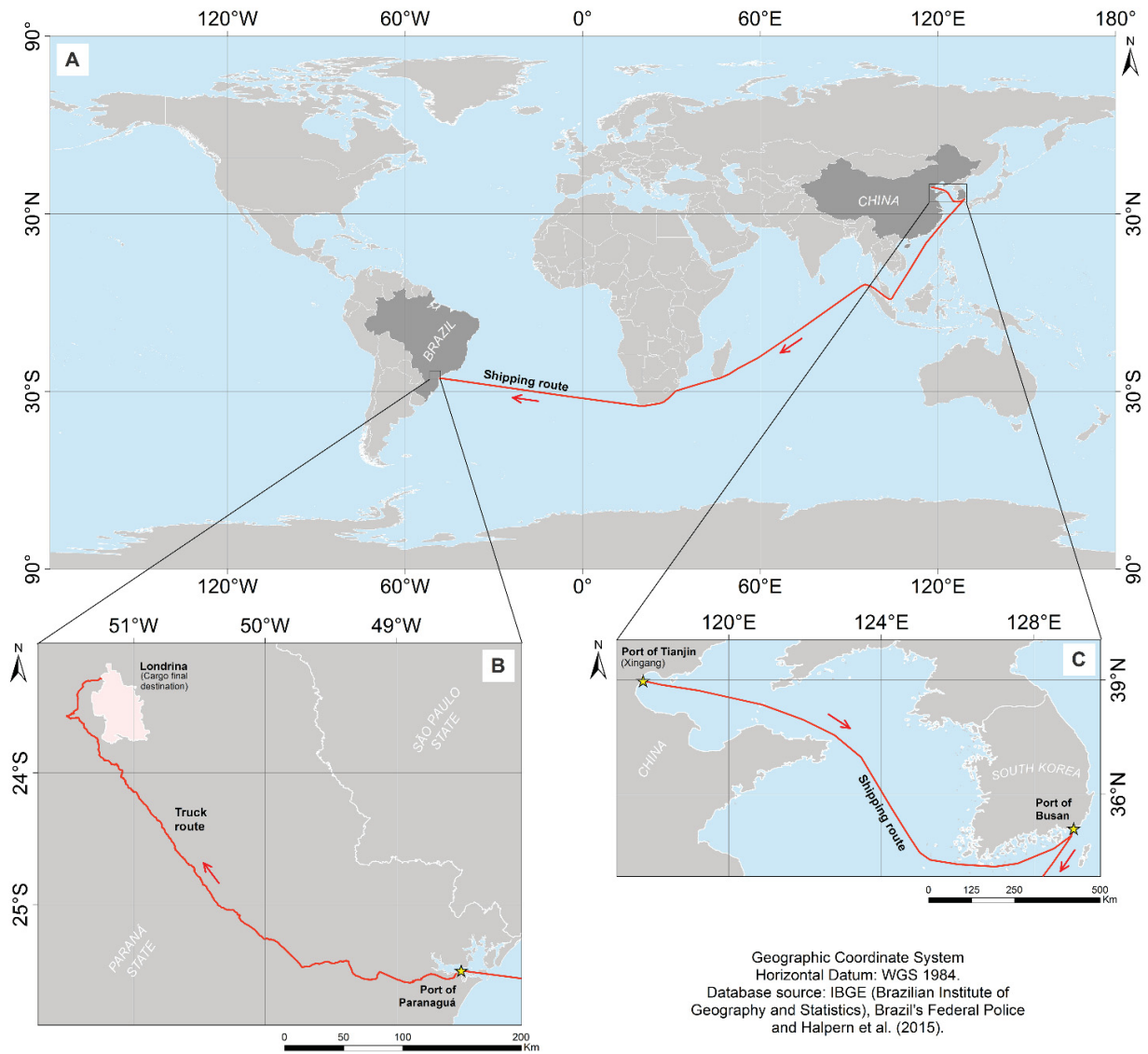
Upon arrival in Brazil on 7 April 2015 the inside of the containers was found to comprise 450 unmarked white woven plastic bags. The bags held a light brown, sediment and weighted 11,610 kg. A chain of custody should have ensured the zinc ingots safely arrived at their final destination in Brazil. It was subsequently suspected the zinc ingots had been stolen and replaced with the light brown sediments, as this substitution occurred between ships at Busan Harbour, in South Korea on 5 February 5 2015.

As the crime involved international theft, the Brazilian Federal Police was called to investigate and present a report to a Brazilian judge, who would decide whether the insurance company should reimburse the cargo owner. There was therefore a requirement for the Police (PF) and Federal University of Paraná (UFPR) to determine where the switch may have taken place.

The journey of the containers containing the zinc ingots, from China to Brazil, is summarized in Table 1 and Figure 1:

**Table. 1.** Itinerary for the cargo transportation from China to Brazil.

<b>Location</b>	<b>Transport Mode</b>	<b>Date</b>
Xingang, China	Ship	2 February 22015
Busan, South Korea	Ship	5-13 February 5 to February 13 2015 (Load Transfer)
Santos, Brazil	Ship	24 March 2015
Itaguaí, Brazi/	Ship	26 March 262015
Itapoá, Brazil	Ship	28 March 28 2015
Paranaguá, Brazil	Ship	31March 2015 (Load Transfer)
Londrina, Brazil	Truck	7 April 2015



**Fig.1.** Map showing the route of the cargo from China to Brazil. (A) Transportation by vessel from the East Asia (China and South Korea area) to the Brazilian East Coast; (B) Transportation by truck from Paranaguá to Londrina, located Parana State in Brazil; (C) Transportation from Xingang (China) to Busan (South Korea) Harbour, crossing the Bohai and Yellow Seas.

## Substitution

The external part of the container carrying the cargo showed evidence of the tampering of the locking system, using physical force and leverage (Figure 2). Forensic geologists from Brazilian Federal Police were contacted by the local police authority to assist with the investigation and to help identify its geographical provenance.

In Londrina, the forensic experts initially conducted a visual examination of the container and the content of the bags, using a basic magnifying glass and a flashlight (Figure 3A and 3B). It was verified that the bags contained a fine-grained and homogeneous

material (Figure 3C). These materials were randomly sampled from the bags, using a spade and five plastic bags were filled with the material. In addition, a small piece of metal that was found on the wooden floor of the container was also submitted for analysis (Figure 3D). All the samples were sent to the Laboratory of Minerals and Rocks (LAMIR), at the Department of Geology (DEGEOL), UFPR, in Curitiba, Brazil, for analyzes and to identify the material type and possible source.



**Fig.2.** Container showing evidence of tampering and physical damage to the lock as indicated by the yellow arrows.



**Fig.3.** Photographs A and B show the container and its content when the door was opened in Londrina, Paraná, Brazil. Photograph C shows the light brown sediment inside the bags. Photograph D shows a piece of metal found inside a container bag, indicated by the yellow arrow.

## Methodology

The analyses comprised conventional mineralogy, geochemistry and sedimentology. The objective of this analyses approach was to identify any evidence to indicate a geographic provenance that might indicate where the exchange of the zinc ingots occurred. As such, three representative samples of the sediment were taken from the container (C1, C2 and C3), one metallic fragment and one sample of the bags were collected. In for comparison purposes.

Mineralogical, chemical and granulometry studies were performed on sediments from the bags in the container and on samples of sand taken from the estuary at Paranaguá, close to the harbor, and from the coastline of Pontal, a neighbor city at the entrance of Paranaguá Bay. The mineralogy of the sediments was determined by X-ray diffraction (XRD) using a model PANalytical's EMPYREAN™ X-ray diffractometer fitted with the X'Celerator detector and a copper tube. Scans were run from 2θ angles of 3.5° to 70° at a scan rate of 10.16 s and a step size of 0.016°. The minerals were identified using the HighScore plus 3.0 software. The major elements were defined using X-ray fluorescence (XRF), using a model PANalytical Axios Max™ Spectrometer equipped with a 4 kV rhodium (Rh) tube. The granulometry was performed using a Laser Diffraction Granulometer, model CILAS 1064™, over the range from 0.004 to 500 μm.

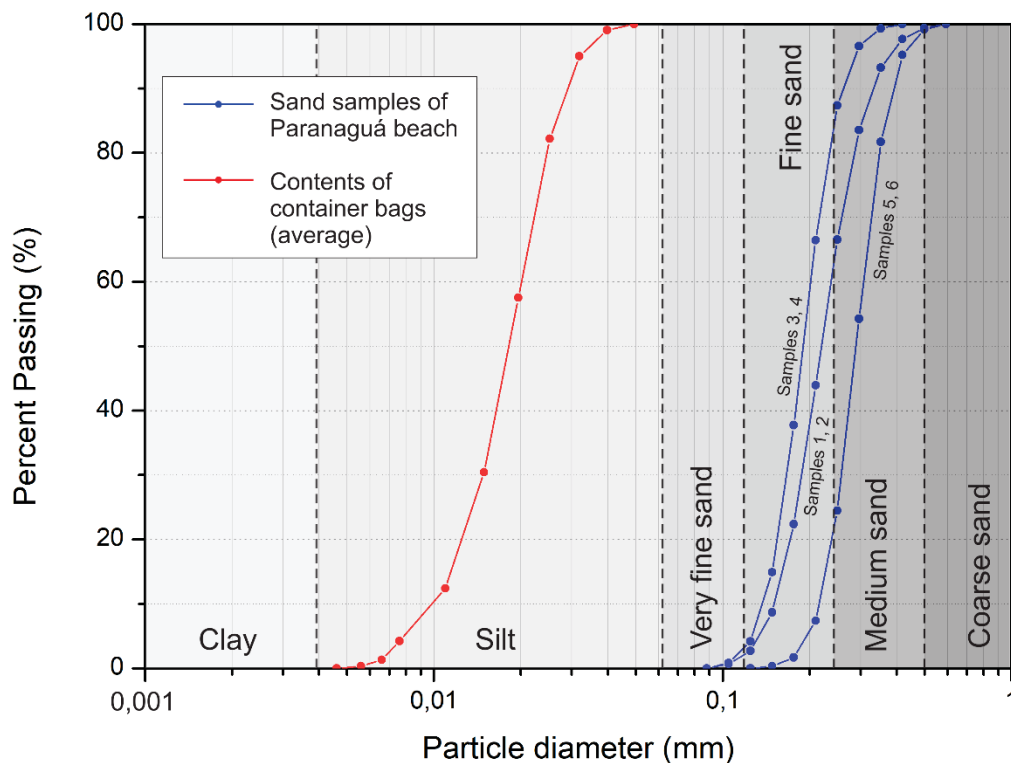
A Scanning Electron Microscopy (SEM) was used to provide information of the morphology and chemical composition of the metallic fragment found on the floor of the container. The SEM model was JEOL-JSM-6010LA InTouchScope coupled with Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDAX) detector for elemental analysis, model EX-94410T1L11. In addition, the bags were also observed using this SEM to investigate the possibility for geological trace evidence.

The substituted sediments and sand from Paranaguá were also analyzed for their light stable isotope values, including  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ . This was achieved through isotope ratio mass spectrometry (IRMS) analysis using a Thermo Scientific™ Delta V™ Advantage equipped with GasBench II housed at LAMIR. All of the samples were left to react with 100%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  in a hot block at 70 °C for 2 hours. The results were reported in per mil units ( $\delta[\text{‰}] = [(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}] \times 1000$ ), where R is the isotopic ratio of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  or  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ , normalized to the VPBD scale using NBS19, IAEA-C01, IAEA-C08 e IAEA-C09 standards. The standard deviation for the standards during the analytical section was smaller than  $\pm 0.04 \text{ ‰}$  for both  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ .

## Results and Discussion

### *Sedimentology*

The particle size distribution (for the substituted sediment found in the container bags is presented in Figure 4. This consists mostly of medium silt, with an average particle diameter of 0.022 mm, while the samples collected from a beach along the Paranaguá coastline were classified as a fine to medium sand, averages from 0.179 to 0.271 mm.



**Fig.4.** Particle size curves for the analyzed samples. (RED) Average curve of sediments from the container bags. (BLUE) Curves of sands from Paranaguá Harbour region. Grain size classification based on Wentworth (1922).

### *Geochemistry*

The geochemical studies provided an understanding about the composition of the material from both the container bags and the Paranaguá beach sand. (Figure. 5c and Table 2). The results showed two distinct groups of samples. The sediments found inside the container (C1, C2 and C3) revealed lower amount of  $\text{SiO}_2$ , similar contents of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{MnO}$  and higher concentrations of  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SrO}$ . On the other hand, the beach sand samples indicated composition mostly of  $\text{SiO}_2$  (95.7 to 98.3%).

**Table 2.** Major elements by X-ray Fluorescence, showing distinctive composition for container sediments and beach sand Paranaguá Harbour region.

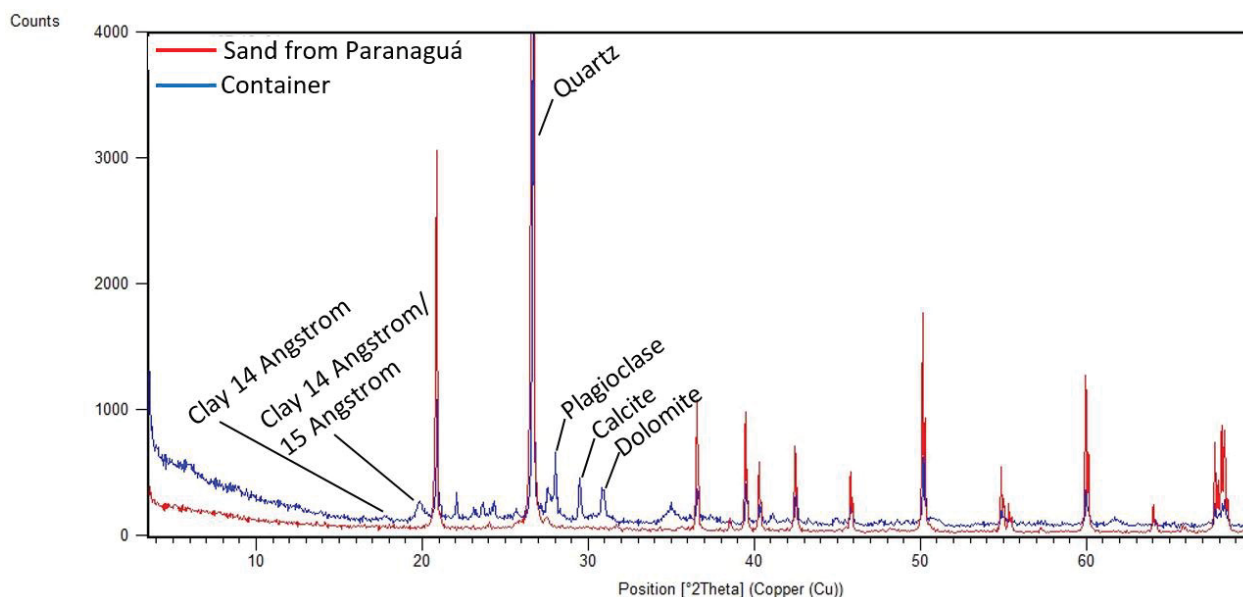
Sample	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	CaO	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	TiO <sub>2</sub>	SO <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	MnO	SrO
C1	55.9	14.9	10.4	7.6	4.9	3.6	1.0	1.0	0.4	0.2	n.d.	0.1
C2	52.2	15.4	12.4	7.8	5.6	3.9	1.0	0.8	0.5	0.1	0.2	0.1
C3	54.1	15.1	10.9	8.6	5.4	3.6	1.0	0.6	0.5	0.2	n.d.	0.1
S1	97.5	0.8	n.d.	0.2	n.d.	0.4	0.3	0.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S2	98.2	0.4	n.d.	0.3	n.d.	0.2	n.d.	0.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S3	95.7	0.8	0.1	0.9	0.1	0.2	0.4	0.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S4	96.6	1.1	0.1	0.5	0.1	0.4	0.1	0.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S5	96.2	0.5	0.1	0.8	0.1	0.1	0.3	1.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S6	98.3	0.5	0.1	0.2	n.d.	0.2	0.1	0.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: not detected.

## Mineralogy

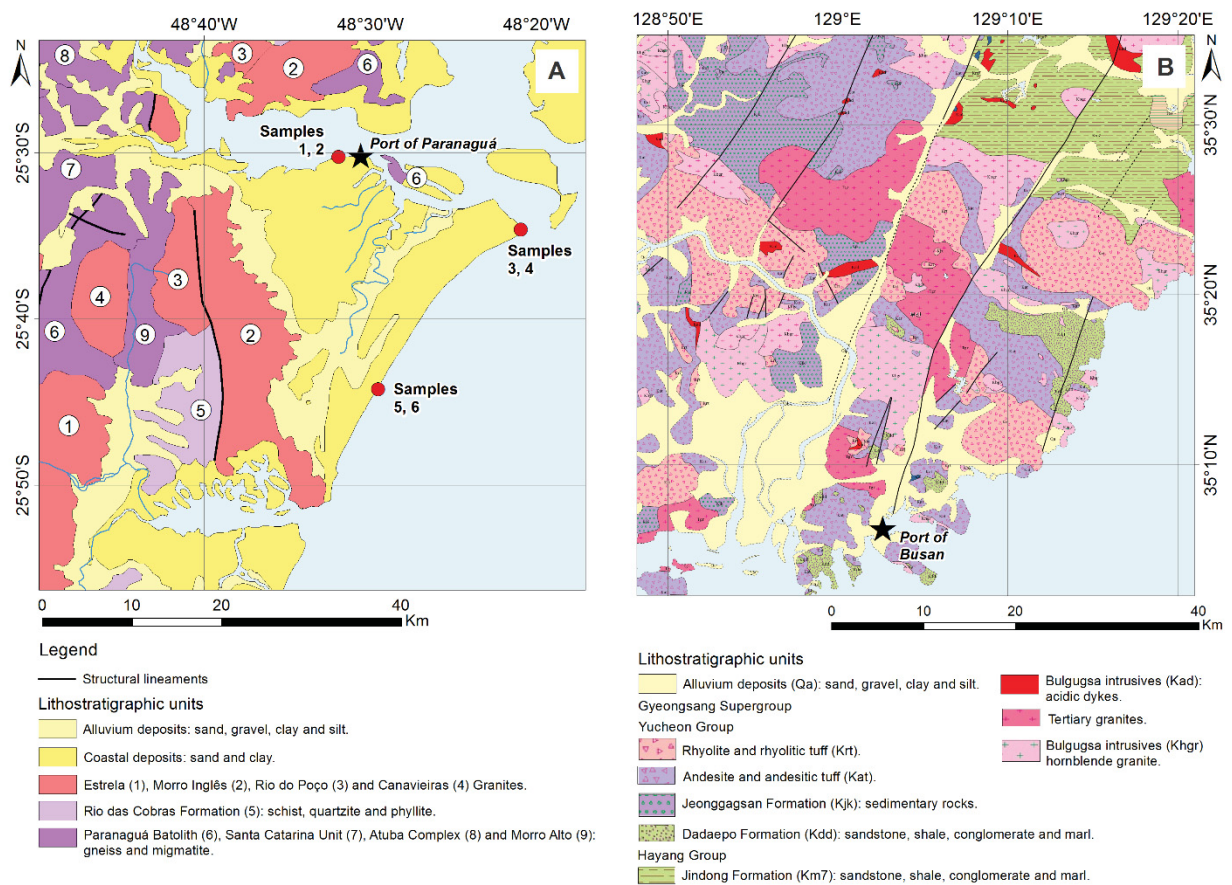
### 1. X-Ray Diffraction

The mineralogical studies showed that the sediment in the containers (C1, C2 and C3) were composed predominantly of quartz, calcite, dolomite, plagioclase, alkali-feldspar, mica (probably) and a clay mineral from the 14 Angstrom group. It is important to note XRD is a semi-quantitative analysis and the relative concentrations are therefore not absolute. By comparison, the beach sand collected in Paranaguá Harbour region was basically composed by quartz (Table 2).



**Fig.5.** X-Ray diffractograms of beachsand from Paranaguá (red peak) and suspected substituted sediment (blue peak) showing distinct variations in mineralogical composition. The beach sand from Paranaguá was dominated by quartz, and the mineral assemblage of container sediments predominantly comprised quartz, plagioclase feldspar, calcite, dolomite and clay minerals.

Since the container was transferred between ships at Busan Harbour, in South Korea, the investigators previously suspected that this could have possibly have provided the opportunity for the substitution of the zinc ingots. It was also necessary to check whether the replacement had occurred at the Paranaguá Harbor, when the container was transferred to a truck. For this reason, a comparison of the regional geology of Paranaguá Harbour and Busan Harbour was undertaken (Figures. 6A and 6B). According to Choi *et al.* (2011) the coastal sediments from South Korea harbours are composed mainly of alumino-silicate minerals and quartz derived from the erosion of the adjacent land mass and calcium carbonates derived from marine plants and animals (Figure. 6B). By comparison, the beach sand from Paranaguá Harbour in Brazil consist predominantly of quartz (see Figure. 5).

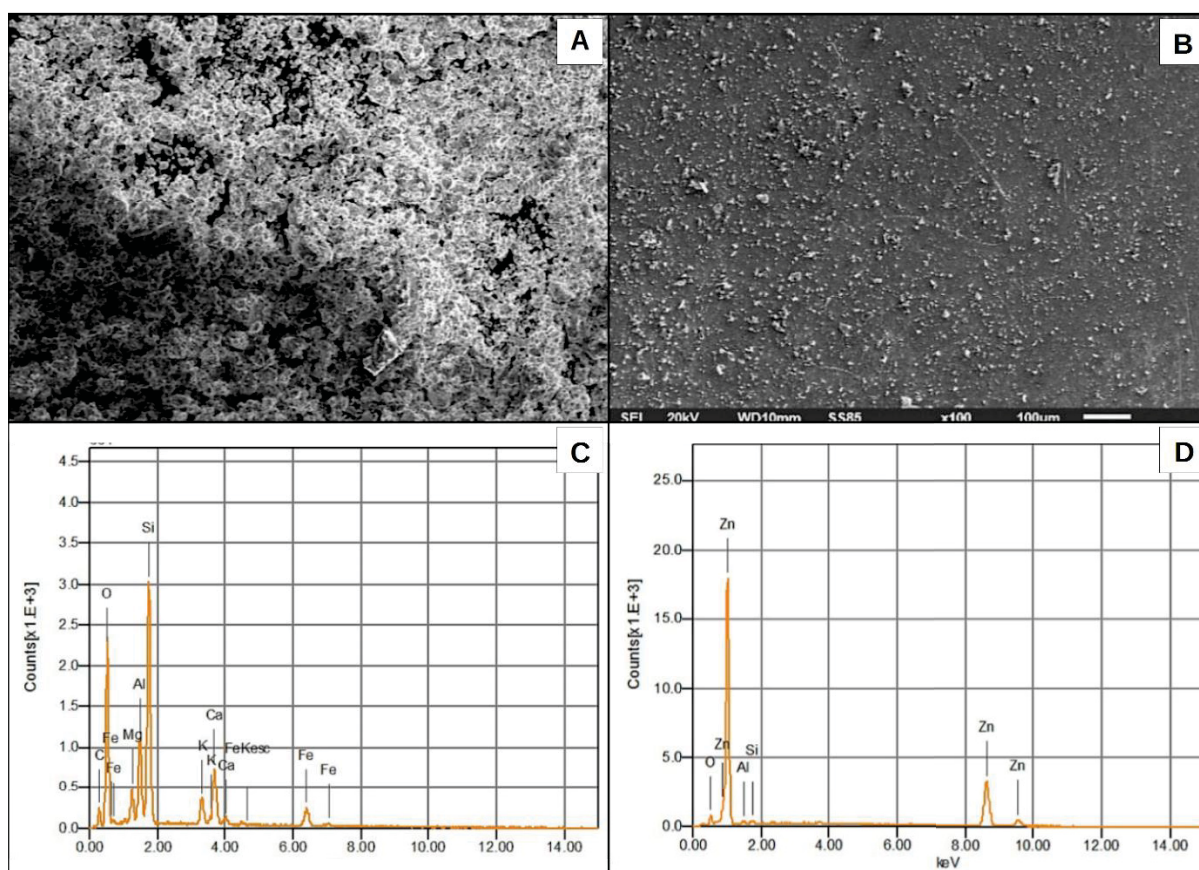


Geographic Coordinate System. Horizontal Datum: WGS 1984. Database source: Geological Survey of Brazil (CPRM) and Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources (KIGAM).

**Fig.6**, Regional geological maps of Paranaguá Harbour in Brazil (A), and Busan Harbour in South Korea (B). (Modified from Perrota et al. 2004 and Kim et al. 1998).

## 2. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDAX)

The results of SEM and EDAX investigations of the metal fragment found on the floor of the container confirmed that it was high purity zinc metal (Figure 7D). This was interpreted as possibly a broken fragment from one of the stolen ingots.



**Fig.7.** Mineral and metallic content found inside the container. (A) SEM image of the container sediment. (B) SEM images of the metallic fragment. (C) EDAX results for the container sediment indicate the presence of silicate and aluminosilicate composition. (D) EDAX results revealing a high purity zinc metal, most probably been broken off an ingot.

### 3. Stable Isotopes

Stable isotope studies were performed to evaluate the geographical provenance of the material. Samples from Paranaguá Harbour, Busan Harbour and the sediments found in the container were analyzed for the carbon and oxygen inorganic stable isotopes. The results of the analysis show that only the samples from container sediments (C1, C2 and C3) showed isotopic signatures, which is in accordance with their composition, as provided as a carbonate mineral (from XRD) (Table 3). These results also are in agreement with Woo & Khim (2006), which classified different carbonate materials in the Busan Harbour region (Table 3). Using the isotopic data, it was possible to compare the  $\delta^{18}\text{O}$  with the global distribution of the oxygen-18 ratio on seawater surface (Schmidt *et al.*, 1999), considering the rock/fluid equilibrium, it shows that the material is consistent with a location in the northern hemisphere, including Busan and Xingang harbours bay area and, most importantly, excluding Paranaguá Harbour region.

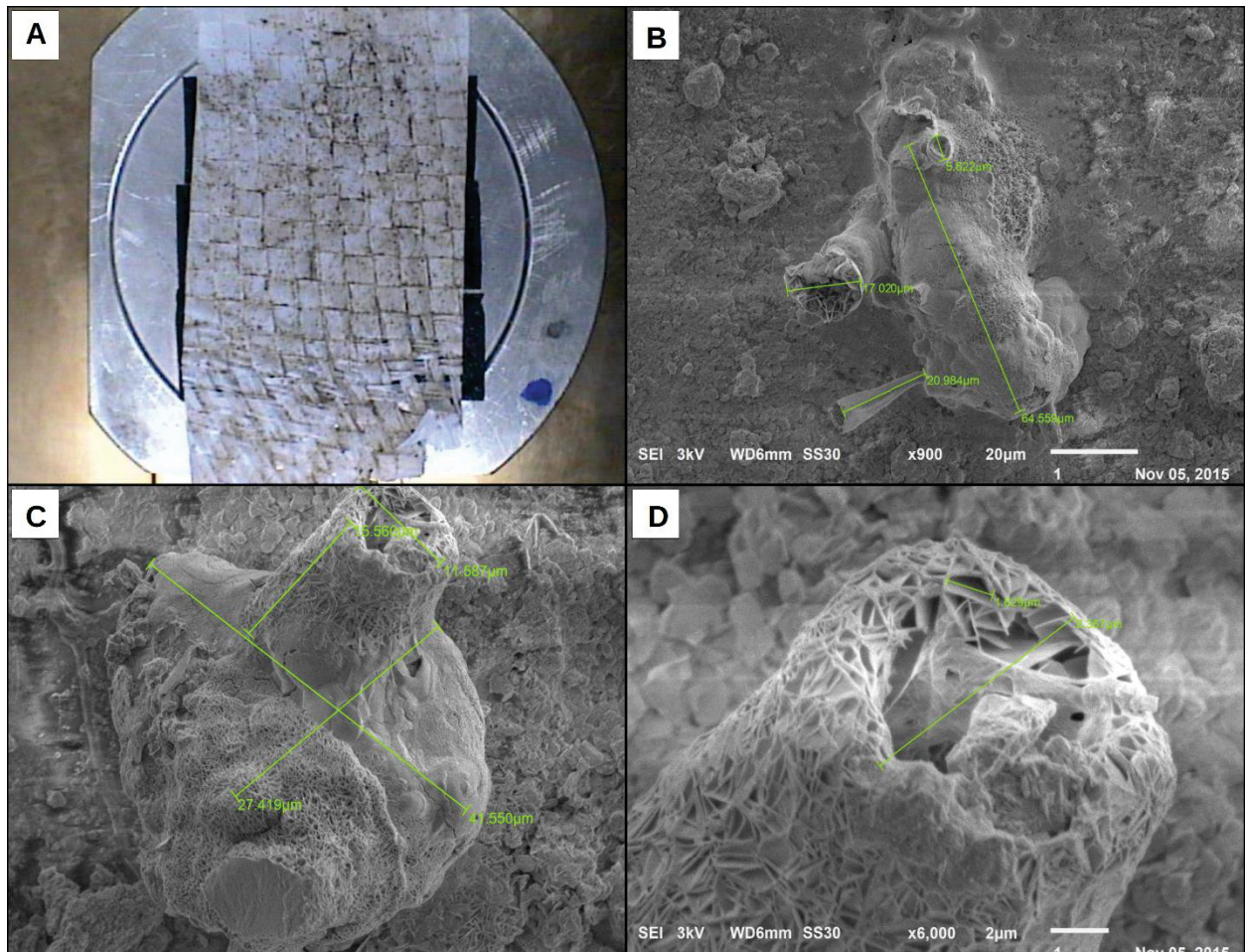
**Table 3.** Summary table giving descriptions of the stable isotope data obtained the nine samples of Paranaguá and container sediments.

<i>Samples</i>	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) VPDB	$\delta^{18}\text{O}$ (‰) VPDB	$\delta^{13}\text{C}$ Std. Dev.	$\delta^{18}\text{O}$ Std. Dev.
<i>C1</i>	0.07	-5.71	0.04	0.03
<i>C2</i>	-0.17	-5.82	0.01	0.03
<i>C3</i>	0.15	-6.02	0.05	0.06
<i>Calcite (Shd*)</i> <i>(Woo &amp; Khim, 2006)</i>	-1.3 to - 0.7	-4.6 to -4.2		
<i>S1</i>	No signal.	No signal.	-	-
<i>S2</i>	No signal.	No signal.	-	-
<i>S3</i>	No signal.	No signal.	-	-
<i>S4</i>	No signal.	No signal.	-	-
<i>S5</i>	No signal.	No signal.	-	-
<i>S6</i>	No signal.	No signal.	-	-

\*Shd=Songhakdong

#### *Micropaleontology (Cnidarian microtraces)*

SEM images from a fragment of one of the sample bags (Figure 8A) showed the presence of microscopic traces of a cnidarian (Figures. 8B, 8C and 8D). The Cnidaria phylum comprise predominantly of the Anthozoa class, which includes marine invertebrates like corals that, when living in colony, may build coral reefs (Won *et al.*, 2001). When observing the distribution of coral reefs around the world, it is possible to note that a high number of coral species lives between the Pacific and Indian Oceans (Veron, 2000), and a significant amount adjacent to South Korea and China. On the contrary, the region close to the Paranaguá Harbour shows no coral reefs. Indo-Pacific reefs have a greater diversity when compare to Brazil (Paulay, 1997). However, the Brazilian coast does not contain such quantity and their distribution is restricted mainly to the northeastern part of Brazil.



**Fig.8.** SEM photomicrographs of the cnidarian microscopic traces showing Cnidarians found in one of the sample bags. (A) Fragment of one of the bags analyzed by SEM / EDAX. (8B, 8C and 8D).

## Conclusions

Collaboration between the Brazilian Federal Police and universities provided the opportunity to develop a forensic approach to investigate substituted zinc ingots samples being transported by ship from China to Brazil.

By combining the results from different analytical techniques, including; sedimentological studies (particle size distribution), mineralogy (XRD, SEM, EDAX and carbon and oxygen isotopes) and micropaleontology (Cnidarian microtraces) it was possible to demonstrate the substituted material was most likely to originate from Asia and not South America, therefore excluding the Paranaguá region as the source of the substituted material. Moreover, the isotopic signals were compatible with other investigations showing these to align with South Korea. It is therefore, possible the containers of zin ingots were transferred from one ship to another in the South Korea region indicating Busan Harbour as the most suspicious place for the cargo exchange.

## Acknowledgments

The authors thank the Brazilian Federal Police Department in Paraná for the permission to use the information related to the case, the UFPR for the integrated studies and the LAMIR for conducting the analyses on the samples. We also thank the reviewers (Drs Duncan Pirrie, Roger Dixon, Laurance Donnelly and Rob Fitzpatrick) for assistance.

## References

- Choi, K.Y., Kim, S. H., Hong, G.H., & Chon, H. T. 2011. Distributions of heavy metals in the sediments of South Korean harbours. *Environmental Geochemistry and Health*, 34(S1), 71-82.
- Kim, D.H., Hwang, J.H., Park, K.H., Song, K.Y. 1998. Geological Map of Pusan sheet (1:250,000). Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources, Daejeon.
- Paulay, G. 1997. Diversity and distribution of reef organisms. In: Birkeland, C. (Ed.) *Life and death of coral reefs*. Chapman and Hall, New York, 298-353.
- Perrotta, M.M., Salvador, E.D., Lopes, R.C., D'Agostino, L.Z., Wildner, W., Ramgrab, E., Peruffo, N., Freitas, M.A., Gomes, S.D., Chierigati, L.A., Silva, L.C., Sachs, L.L.B., Silva, V.A., Batista, I.H. & Marcondes, P.E.P., 2004. *Folha SG.22-Curitiba*. In: Schobbenhaus, C., Gonçalves, J.H., Santos, J.O.S., Abram, M.B., Leão Neto, R., Matos, G.M.M., Vidotti, R.M., Ramos, M.A.B. & de Jesus, J.D.A. (Eds.). *Carta Geológica do Brasil ao Milionésimo*, Sistema de Informações Geográficas. Programa Geologia do Brasil. CPRM, Brasília. CD-ROM.
- Schmidt, G.A., Bigg, G.R. & Rohling, E.J., 1999. Global Seawater Oxygen-18 Database - v1.22. Available at: <https://data.giss.nasa.gov/o18data/>.
- Veron J. E. N. 2000. Corals of the world, Vols. 1-3. Stafford-Smith M. (ed), Australian Institute of Marine Science, Townsville, Australia, 1382 pp.
- Wentworth, C.K. 1922. A scale of grade and class terms for clastic sediments. *The Journal of Geology* Vol. 30, No. 5377-392.
- Won, J., Rho, B. & Song, J. 2001. A phylogenetic study of the Anthozoa (phylum Cnidaria) based on morphological and molecular characters. *Coral Reefs*, 20(1), 39-50.
- Woo, K.S., & Khim, B.K. 2006. Stable oxygen and carbon isotopes of carbonate concretions of the Miocene Yeonil Group in the Pohang Basin, Korea: Types of concretions and formation condition. *Sedimentary Geology*, 183(1-2), 15-30.