

FÓSFORO INORGÂNICO, FÓSFORO ORGÂNICO E FÓSFORO TOTAL COMO INDICADORES DE OCUPAÇÃO HUMANA PRÉ-HISTÓRICA: OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA EM PALEOSSEDIMENTOS

Luis Carlos Duarte Cavalcante
Maria Conceição Soares Meneses Lage

RESUMO

Este trabalho apresenta a determinação de fósforo inorgânico, fósforo orgânico e fósforo total como indicadores de ocupação humana pré-histórica em paleossedimentos. Um método eficiente usando espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis foi validado, otimizado e aplicado para determinar os teores de fósforo em amostras de sedimentos (tamanho médio de partícula, $\phi < 75 \mu\text{m}$) de quatro sítios arqueológicos, nomeadamente Toca do Barrigudo (coordenadas geográficas, $08^\circ 48' 18,3'' \text{ S } 42^\circ 25' 01,6'' \text{ W}$), Toca da Pedra Solta da Serra Branca ($08^\circ 34' 18,9'' \text{ S } 42^\circ 41' 49,9'' \text{ W}$), Lagoa da Jurubeba ($08^\circ 52' 08,8'' \text{ S } 42^\circ 35' 58,8'' \text{ W}$) e Toca do Pau Dóia ($08^\circ 34' 29,4'' \text{ S } 42^\circ 41' 35,2'' \text{ W}$), do Parque Nacional Serra da Capivara, Estado do Piauí, Brasil. Os limites de detecção e quantificação foram $4,64 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$ e $1,54 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A recuperação (exatidão) do método variou de 97,33% a 105,61%. As concentrações de fósforo nos paleossedimentos variaram grandemente, mostrando seu potencial como indicador de atividade humana pré-histórica.

PALAVRAS-CHAVE: Fósforo, Espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis, Arqueometria.

ABSTRACT

This work presents the determination of inorganic phosphorus, organic phosphorus and total phosphorus as indicators of prehistoric human occupation in palaeosediments. An efficient method using molecular UV-Vis absorption spectrophotometry was validated, optimized and applied to determine the phosphorus contents in sediment samples (mean particle sizes, $\phi < 75 \mu\text{m}$) from four archaeological sites, namely Toca do Barrigudo (geographical coordinates, $08^\circ 48' 18.3'' \text{ S } 42^\circ 25' 01.6'' \text{ W}$), Toca da Pedra Solta da Serra Branca ($08^\circ 34' 18.9'' \text{ S } 42^\circ 41' 49.9'' \text{ W}$), Lagoa da Jurubeba ($08^\circ 52' 08.8'' \text{ S } 42^\circ 35' 58.8'' \text{ W}$) and Toca do Pau Dóia ($08^\circ 34' 29.4'' \text{ S } 42^\circ 41' 35.2'' \text{ W}$), of the National Park Serra da Capivara, Piauí State, Brazil. The detection and quantification limits were $4.64 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$ and $1.54 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$, respectively. The recovery (accuracy) of the method varied from 97.33% to 105.61%. Phosphorus concentrations in the paleosediments varied greatly, showing its potential as an indicator of prehistoric human activity.



42° 35' 58.8" W) and Toca do Pau Dóia (08° 34' 29.4" S and 42° 41' 35.2" W), of the Serra da Capivara National Park, Piauí state, Brazil. The detection and quantification limits were $4.64 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$ and $1.54 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$, respectively. The recovery (accuracy) of the method varied from 97.33% to 105.61%. The phosphorus concentrations in the palaeosediments ranged greatly, showing its potential as indicator of prehistoric human activity.

KEYWORDS: Phosphorus, Molecular UV-Vis absorption spectrophotometry, Archaeometry.



INTRODUÇÃO

O estudo de paleossedimentos pode explicar a ausência de vestígios orgânicos e pode fornecer, dentre outros dados, importantes marcadores de ocupação humana pré-histórica. O uso de níveis de fósforo no solo, como indicador de atividade humana antiga, origina-se da premissa básica de que a deposição superficial de matéria orgânica, que contém fósforo orgânico, aumenta durante a ocupação humana.

Diversos trabalhos de geoarqueologia e geoquímica têm abordado o uso do fósforo como marcador de atividade humana (BEACH *et al.*, 2006; MARWICK, 2005; TERRY *et al.*, 2004; SHAHACK-GROSS *et al.*, 2004; SARRIS *et al.*, 2004; MACPHAIL *et al.*, 2004; PARNELL *et al.*, 2002; SCHLEZINGER e HOWES, 2000; COSTA e KERN, 1999), levando sempre em consideração o aumento da concentração das formas de fósforo, geralmente associado com análises de concentrações de nitrogênio, carbono orgânico e matéria orgânica. Holliday e Gartner (2007) reportaram recentemente que a ampla variedade de métodos desenvolvidos, tanto em ciência do solo quanto em arqueologia, para extrair e medir fósforo no solo, resulta em uma grande quantidade de dados e uma ampla forma de interpretações, mas também em confusão considerável sobre a não apropriação de métodos e terminologia. Portanto, a validação de metodologia analítica para determinação das formas de fósforo em sedimentos arqueológicos faz-se necessária, para maior segurança e confiabilidades dos resultados obtidos.

Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho foi otimizar alguns parâmetros experimentais e validar uma metodologia analítica para determinar as concentrações de fósforo inorgânico total, fósforo orgânico e fósforo total em paleossedimentos, através de espectrofotometria de absorção molecular UV-visível, bem como aplicar a metodologia otimizada em sedimentos do Parque Nacional Serra da Capivara, Piauí, Brasil.

SÍTIOS ESTUDADOS

Toca do Barrigudo

A Toca do Barrigudo, situada no Município de Coronel José Dias, nas coordenadas geográficas 08°48'18,3" de latitude Sul e 42°25'01,6" de longitude Oeste, a aproximadamente 270 m de altitude em relação ao nível do mar, localiza-se no Serrote da Bastiana, região do Parque Nacional Serra da Capivara. Esta toca foi descoberta em 1998 e escavada em 2002, 2005 e 2006, evidenciando carvões, ossos de um *Scelidodon* e 4 sepulta-



mentos humanos. A falta de colágeno não permitiu a datação dos esqueletos humanos (L.A SALVIA, 2006).

O crânio, a mandíbula e os ossos dos membros do *Scelidodon* foram estudados por Guérin e Faure (2004a), os quais demonstraram tratar-se de uma nova espécie, *Scelidodon piauiense* nov. sp., de sorte que esta descoberta aumenta muito a área de distribuição do gênero *Scelidodon* durante o Pleistoceno. Os vestígios de megafauna são relativamente numerosos e já foram bem descritos (GUÉRIN e FAURE, 2004b; GUÉRIN e FAURE, 2008).

Os locais em que foram encontrados os esqueletos humanos e as profundidades respectivas estão sumarizados na Tabela 1.

Esqueleto	Local	Profundidade/m
1	Trincheira 1	2,51
2	Trincheira 1	2,57
3	Extensão 2	2,66
4	Toca	2,20

Tabela 1: Esqueletos humanos encontrados na Toca do Barrigudo

14



Além disso, uma amostra de sedimento com carvão, coletada a ~1,50 m de profundidade (trincheira 2), forneceu uma datação ^{14}C de 5320 ± 60 anos BP (Beta Analytic 167193) e outra amostra de carvão, coletada na 12ª decapagem do setor 1, forneceu uma datação ^{14}C de 7060 ± 50 anos BP (Ua – 20282).

Toca da Pedra Solta da Serra Branca

A Toca da Pedra Solta da Serra Branca, descoberta em 1975, localiza-se no vale da Serra Branca, nas coordenadas geográficas $08^{\circ}34'18,9''$ de latitude Sul e $42^{\circ}41'49,9''$ de longitude Oeste, a aproximadamente 379 m de altitude em relação ao nível do mar. Este sítio foi escavado no ano de 2002, fornecendo vestígios líticos, cerâmicos e carvão, além de uma carapaça de tatu (em superfície). Guidon *et al.* (2009) reportam a escavação deste abrigo e citam os vestígios evidenciados, além das datações obtidas.

Toca do Pau Dóia

Descoberta em 2001, na Serra Branca, trata-se de um abrigo situado nas coordenadas geográficas $08^{\circ}34'29,4''$ de latitude Sul e $42^{\circ}41'35,2''$ de longitude Oeste, a aproximadamente 397 m de altitude em relação ao nível do mar, escavado em dois setores, onde

as pinturas encontravam-se quase soterradas. As escavações evidenciaram novas pinturas na parede e forneceram algumas datações radiocarbônicas próximas de 7500 anos BP, além de algumas datações por termoluminescência da ordem de 16000 a 19000 anos BP. Guidon *et al.* (2009) descrevem a escavação e os vestígios em detalhes, bem como as datações que foram obtidas. Tanto o abrigo quanto o seu estado de conservação são reportados por Silva (2008), que no seu doutoramento abordou as pinturas de contorno aberto, presentes no sítio.

Lagoa da Jurubeba

A Lagoa da Jurubeba, descoberta em 2002, está localizada na Fazenda Jurubeba, nas coordenadas geográficas 08°52'08,8" de latitude Sul e 42°35'58,8" de longitude Oeste. Uma trincheira foi aberta e amostras de sedimentos foram coletadas entre 50 cm e 2,0 metros. Há uma datação ¹⁴C de 4120 ± 60 anos BP (Beta Analytic 167024).

PARTE EXPERIMENTAL

Toda a vidraria utilizada foi lavada com detergente e água de torneira, enxaguada com água destilada e posteriormente submersa em solução de ácido nítrico a 15% (v/v) e mantida por no mínimo 24 h nessas condições. Em seguida, o material foi enxaguado com água destilada e seco ao ar ou em estufa, quando possível.

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico (utilizados como fornecidos pelo fabricante) e água destilada ou outro solvente, quando conveniente.

Amostras

As amostras de paleossedimentos (Tabela 2) foram coletadas, etiquetadas e armazenadas em sacos plásticos adequados.

Para as análises de fósforo, os sedimentos foram peneirados em malha de 75 µm, para eliminar o efeito de diluição das frações grosseiras. Os grãos menores que 75 µm são frequentemente considerados como a porção geoquimicamente ativa de sedimentos (BOSTAN *et al.*, 2000; BURRUS *et al.*, 1989; WILLIAMS *et al.*, 1978).

Todas as amostras analisadas e reagentes utilizados foram manipulados na balança analítica Kern, modelo 410.

Para auxiliar na abertura das amostras de sedimentos, utilizou-se um agitador mecânico Certomat, modelo MO e todas as determinações foram feitas no mínimo em triplicata.



Sítio	Amostra	Amostra
Toca do Barrigudo	77321	77323
	77322	77324
Toca da Pedra Solta da Serra Branca	77432	76379
	77447	76380
Lagoa da Jurubeba	77313	77315
	77314	77316
Toca do Pau Dóia	76464	76473
	76465	76474
	76906	76489
	76907	76490
	76908	76491
	76909	76492
	76942	76493

Tabela 2: Amostras de paleossedimentos

ANÁLISES DOS PALEOSSEDIMENTOS

Após extração com ácido mineral, os teores de fósforo inorgânico total, fósforo orgânico e fósforo total foram quantificados por interpolação contra uma curva de calibração, mediante o uso de espectrofotometria de absorção molecular na região UV-visível. Utilizou-se um espectrofotômetro Hitachi de feixe duplo no tempo, modelo U-3000, operando com lâmpadas de deutério e tungstênio, troca de lâmpadas em $\lambda = 350,00$ nm, abertura de fenda de 1,0 e 2,0 nm, voltagem de 200 V e cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico, como recipientes para leitura das amostras. A obtenção de espectros eletrônicos foi realizada em geral com varreduras no intervalo de 1.000 a 200 nm, com velocidade de 600 nm min^{-1} , obedecendo a intervalos de amostragem de 1 nm.

CURVA ANALÍTICA PARA FÓSFORO

Solução de ácido sulfúrico 4,5 mol L⁻¹

Transferiu-se 122,38 mL de ácido sulfúrico concentrado para um béquer contendo um pouco de água destilada e, após resfriamento, a solução resultante foi vertida em um balão volumétrico de 500,0 mL, o qual foi completado com água destilada até o traço de aferição.

Solução de ácido ascórbico

Dissolveu-se 5,0000 g de ácido ascórbico em 25,0 mL de ácido sulfúrico 4,5 mol L⁻¹ e 25,0 mL de água destilada.



Solução de molibdato de amônio

Adicionou-se 2,5000 g de molibdato de amônio em 70,0 mL de ácido sulfúrico 4,5 mol L⁻¹ e 25,0 mL de água destilada.

Solução de tartarato de antimônio e potássio

Dissolveu-se 0,1000 g de tartarato de antimônio e potássio em 4,0 mL de água destilada.

Solução mix

A solução mix é a mistura das soluções de molibdato de amônio e de tartarato de antimônio e potássio, como preparadas anteriormente.

Solução estoque de fósforo

Preparou-se inicialmente uma solução de dihidrogeno fosfato de potássio que continha 309,70 mg de fósforo por litro de solução. Tomou-se, então 10,0 mL da solução anterior e preparou-se uma solução estoque de fósforo na concentração de 3,0970 mg L⁻¹.

Construção da curva analítica para fósforo

A partir da solução estoque de fósforo de 3,0970 mg L⁻¹, foram preparadas soluções padrão com concentrações de 0,0929 a 0,6194 mg L⁻¹, conforme a Tabela 3. As alíquotas de solução estoque foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, os quais foram completados com água destilada até a marca de aferição.

Volume de solução estoque de P 3,0970 mg L ⁻¹ /mL	Concentração final de P/ mg L ⁻¹	Volume de solução estoque de P 3,0970 mg L ⁻¹ /mL	Concentração final de P/ mg L ⁻¹
3	0,0929	12	0,3716
4	0,1239	13	0,4026
5	0,1549	14	0,4336
6	0,1858	15	0,4646
7	0,2168	16	0,4955
8	0,2478	17	0,5265
9	0,2787	18	0,5575
10	0,3097	19	0,5884
11	0,3407	20	0,6194

Tabela 3: Concentrações finais de fósforo (P) utilizadas para a construção da curva analítica



Solução de molibdato de amônio

Adicionou-se 2,5000 g de molibdato de amônio em 70,0 mL de ácido sulfúrico 4.5 mol L⁻¹ e 25,0 mL de água destilada.

Solução de tartarato de antimônio e potássio

Dissolveu-se 0,1000 g de tartarato de antimônio e potássio em 4,0 mL de água destilada.

Solução mix

A solução mix é a mistura das soluções de molibdato de amônio e de tartarato de antimônio e potássio, como preparadas anteriormente.

Solução estoque de fósforo

Preparou-se inicialmente uma solução de dihidrogeno fosfato de potássio que continha 309,70 mg de fósforo por litro de solução. Tomou-se, então 10,0 mL da solução anterior e preparou-se uma solução estoque de fósforo na concentração de 3,0970 mg L⁻¹.

Construção da curva analítica para fósforo

A partir da solução estoque de fósforo de 3,0970 mg L⁻¹, foram preparadas soluções padrão com concentrações de 0,0929 a 0,6194 mg L⁻¹, conforme a Tabela 3. As alíquotas de solução estoque foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, os quais foram completados com água destilada até a marca de aferição.

Volume de solução estoque de P 3,0970 mg L ⁻¹ /mL	Concentração final de P/ mg L ⁻¹	Volume de solução estoque de P 3,0970 mg L ⁻¹ /mL	Concentração final de P/ mg L ⁻¹
3	0,0929	12	0,3716
4	0,1239	13	0,4026
5	0,1549	14	0,4336
6	0,1858	15	0,4646
7	0,2168	16	0,4955
8	0,2478	17	0,5265
9	0,2787	18	0,5575
10	0,3097	19	0,5884
11	0,3407	20	0,6194

Tabela 3: Concentrações finais de fósforo (P) utilizadas para a construção da curva analítica



Em seguida, pipetou-se 10,0 mL de cada solução padrão, aos quais foram acrescentados 0,20 mL de solução de ácido ascórbico e 0,20 mL de solução mix, homogeneizou-se e, após 30 minutos, as absorvâncias foram medidas por espectrofotometria de absorção molecular na região UV-visível em 880 nm.

O branco foi semelhantemente preparado, exceto quanto à presença do padrão, que foi substituído por água destilada.

O máximo de absorção em 880 nm foi confirmado previamente mediante obtenção de um espectro eletrônico na região UV-visível, coletado de uma das soluções-padrão de concentração intermediária.

As leituras de absorvância foram realizadas no espectrofotômetro Hitachi, modelo U-3000, com cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico, como recipientes para leitura dos padrões.

O método utilizado é uma adaptação do método de Murphy e Rilley (1962), para determinação de fósforo em águas naturais, o qual consiste de uma solução acidificada de molibdato de amônio contendo ácido ascórbico e uma pequena quantidade de antimônio, que ocasiona a formação e redução do ácido fosfomolibdico. O máximo de absorção do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio ocorre em ~880 nm.



EXTRAÇÃO DO FÓSFORO DOS SEDIMENTOS

A extração direta de fósforo da amostra com ácido mineral fornece o fósforo inorgânico total. Se o extrato for separado e o resíduo sólido for calcinado e novamente submetido à extração com ácido mineral, fornecerá o fósforo orgânico. O fósforo total (soma do fósforo inorgânico total com o fósforo orgânico) é obtido quando a amostra é previamente calcinada e em seguida submetida ao processo de extração com ácido mineral (MARINS *et al.*, 2007; OGRINC e FAGANELI, 2006; NORA *et al.*, 2006; BOSTAN *et al.*, 2000; SCHLEZINGER e HOWES, 2000; WILLIAMS *et al.*, 1976).

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA E OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS EXPERIMENTAIS PARA DETERMINAR FÓSFORO EM SEDIMENTOS ARQUEOLÓGICOS

Linearidade da curva analítica

Para avaliação da linearidade, a faixa de concentração de fósforo, como dihidrogeno fosfato de potássio, utilizada para a construção da curva analítica foi de 0,0929

a 0,6194 mg L⁻¹. A linearidade foi estimada através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e os parâmetros foram calculados com o auxílio do software Microcal Origin®.

Limite de detecção (LD)

Para obtenção deste parâmetro foram realizadas 42 leituras do branco, coletadas em 7 datas diferentes, num intervalo de 11 dias entre a primeira e a última análise. O limite de detecção foi calculado matematicamente através da equação $D = 3 \frac{s}{S}$, onde “s” é a estimativa do desvio padrão do sinal do branco e “S” é a inclinação da curva analítica.

Essa forma de obtenção do LD foi escolhida, pois verificou-se na literatura que ela é usada frequentemente (SILVA *et al.*, 2007; RAPOSO JUNIOR *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2007; ESTEVES *et al.*, 2007; FAUL *et al.*, 2005; AMORNTHAMMARONG *et al.*, 2005; LANÇAS, 2004), porém observou-se também que alguns autores recomendam um fator de multiplicação de 3,3 (RIBANI *et al.*, 2004, por exemplo) ou de 3,33 (RAFFIN *et al.*, 2007, por exemplo) ao invés de 3.

Limite de quantificação (LQ)

A obtenção do LQ está atrelada às medidas experimentais realizadas para a determinação do LD e foi calculado matematicamente pela equação $LQ = 10 \frac{s}{S}$

Tempo de formação e estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio

Os ensaios de avaliação do tempo de formação e da estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio foram realizados com leituras espectrofotométricas imediatamente após o acréscimo dos reagentes e aferição dos balões, nos tempos 1; 3; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 45 e 60 minutos.

Quantidade de massa da amostra

Para verificar o efeito da quantidade de massa da amostra, foram realizados testes com 0,1000; 0,2500; 0,5000; 0,7500 e 1,0000 g de sedimento. Cada alíquota de sedimento recebeu o acréscimo de 25,00 mL de HCl 1,00 mol L⁻¹ (padronizado com hidróxido de sódio, o qual por sua vez foi previamente padronizado com ftalato ácido de potássio) e em seguida foi submetida a 16 h de agitação a 170 rpm. O extrato obtido, contendo fósforo inorgânico total, passou por filtração em papel de filtro quantitativo, sendo destinado para análise espectrofotométrica.



O resíduo da filtração foi calcinado a 550 °C durante 1 h e, após resfriado, foi submetido ao mesmo processo experimental de extração, descrito acima, com a diferença de que o extrato, nesse caso, contém o fósforo orgânico. O filtrado também foi reservado para análise espectrofotométrica.

Para a leitura espectrofotométrica, uma alíquota de cada extrato foi transferida para balão de 50,0 mL, em seguida acrescentou-se 1,00 mL de ácido ascórbico e homogeneizou-se, finalmente acrescentando-se 1,00 mL de solução mix e completando-se o volume com água destilada. A alíquota do extrato foi tomada de acordo com a riqueza da amostra em fósforo, mas mesmo assim, em alguns casos, ainda foi necessário realizar diluição (nos casos em que a amostra era muito rica em fósforo). Decorridos 30 minutos, a determinação das concentrações das formas de fósforo foi feita por interpolação das absorvâncias contra a curva de calibração de fósforo.

Tempo de obtenção do extrato

20  O tempo de obtenção do extrato foi avaliado a cada duas horas de agitação a 170 rpm (isto é, em 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14 e 16 h) e todos os ensaios foram realizados com 0,1000 g de amostra de sedimento. O processo experimental para determinação do fósforo inorgânico total e fósforo orgânico foi semelhante ao descrito para a avaliação da quantidade de massa de amostra, exceto quanto ao tempo de agitação, que nesse caso foi variado, e quanto à massa da amostra, que nesse caso foi mantida fixa. Ambos os extratos foram destinados para leitura espectrofotométrica, logo após a filtração.

Escolha do melhor extrator

Os ensaios para a escolha do extrator foram realizados com os ácidos HCl, HNO₃ e H₂SO₄, todos na concentração de 1,0 mol L⁻¹. Utilizou-se 0,1000 g de massa de amostra e agitação de 170 rpm por 16 h.

Após a filtração o extrato foi enviado para leitura espectrofotométrica.

Ensaio de recuperação

Os testes de recuperação foram realizados acrescentando-se alíquotas exatamente conhecidas do padrão dihidrogeno fosfato de potássio a 0,1000 g de amostra de sedimento, adicionando-se 25,00 mL de HCl 1,0 mol L⁻¹ e submetendo-se a 16 h de agitação a 170 rpm. Após filtração, a porcentagem de recuperação do padrão foi então verificada através de análise espectrofotométrica.

Fósforo total

Para obtenção do fósforo total, 0,1000 g de cada amostra de sedimento foi calcinado a 550 °C durante 1 h e, após resfriamento, o resíduo recebeu o acréscimo de 25,00 mL de HCl 1,00 mol L⁻¹ e em seguida foi submetido a 16 h de agitação a 170 rpm. Após a filtração, o extrato foi analisado por espectrofotometria, em relação à curva padrão de fósforo.

APLICAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO VALIDADO

Após a otimização e validação, o método foi utilizado para determinar as concentrações de fósforo inorgânico total, fósforo orgânico e fósforo total em 26 amostras de paleossedimentos de sítios arqueológicos da região do Parque Nacional Serra da Capivara.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação da metodologia analítica para determinar as concentrações das formas de fósforo nos paleossedimentos

A validação da metodologia analítica englobou os parâmetros linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, tempo de formação e estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio, quantidade de massa da amostra, tempo de obtenção do extrato, escolha do melhor extrator e ensaios de recuperação.

Antes da construção da curva analítica para determinar as concentrações das formas de fósforo, obteve-se o espectro eletrônico do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio, com o objetivo de confirmar o comprimento de onda de máxima absorção de energia.



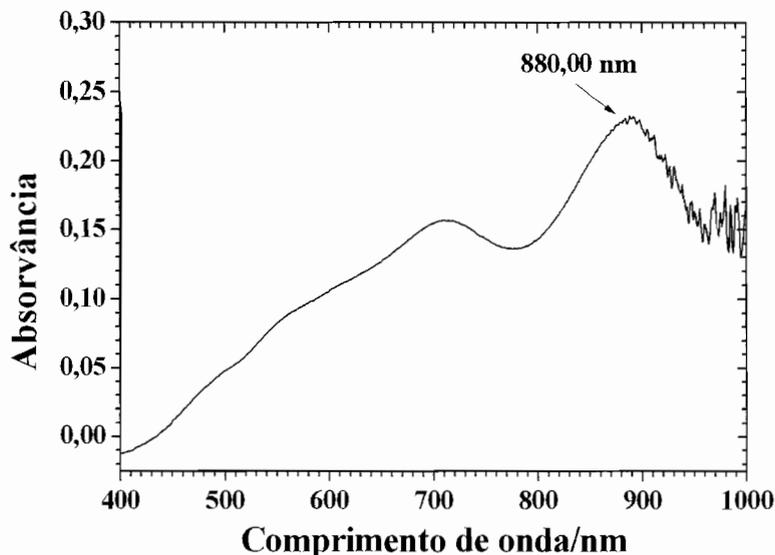


Figura 1: Espectro eletrônico do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio, correspondente a solução padrão de fósforo com $0,3097 \text{ mg L}^{-1}$

22



O espectro eletrônico (Figura 1) apresenta uma banda principal centrada em 880 nm. À esquerda desta, há outra banda relativamente suave em 713 nm. O comprimento de onda de 880 nm foi selecionado para a construção da curva analítica por apresentar maior sensibilidade.

Linearidade, Limite de detecção (LD) e Limite de quantificação (LQ)

A leitura espectrofotométrica das soluções padrão e a aplicação de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados aos resultados obtidos forneceram um excelente gráfico de calibração linear (Figura 2) descrito pela equação $y = 0,70509x + 0,00511$, com um coeficiente de correlação linear (r) de 0,99984, indicando boa linearidade, na faixa de concentração de 0,0929 a 0,6194 mg L^{-1} , e revelando que a equação de regressão estimada se ajusta eficientemente aos dados experimentais, ~99,98%. O coeficiente de determinação (r^2) de 0,99968 indica que o modelo de regressão explica cerca de 99,97% do modelo linear proposto, demonstrando que as variações de absorvância podem ser seguramente explicadas por variações da concentração de fósforo.

A estimativa do desvio padrão obtida a partir de leituras espectrofotométricas do branco e a inclinação da curva analítica forneceram um limite de detecção (LD) de $4,64 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$ e um limite de quantificação (LQ) de $1,54 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$.

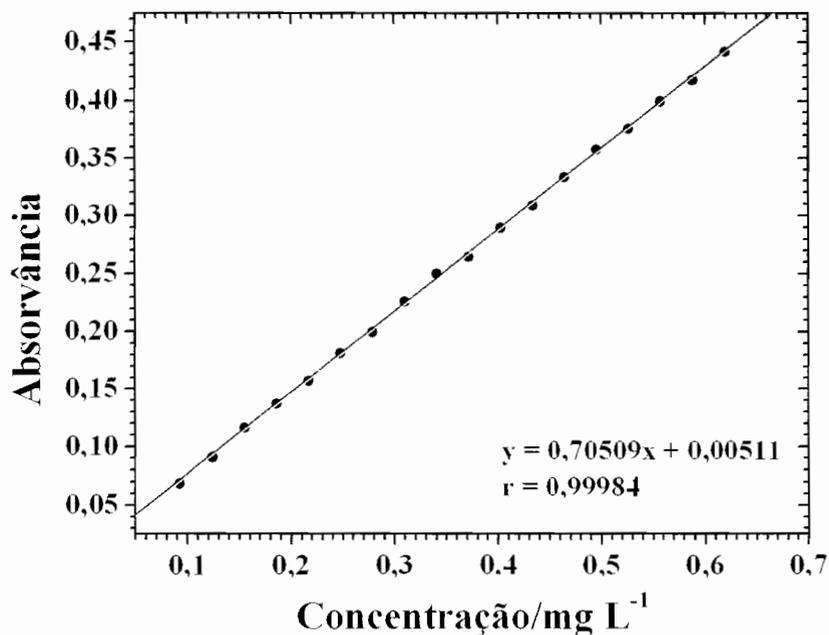
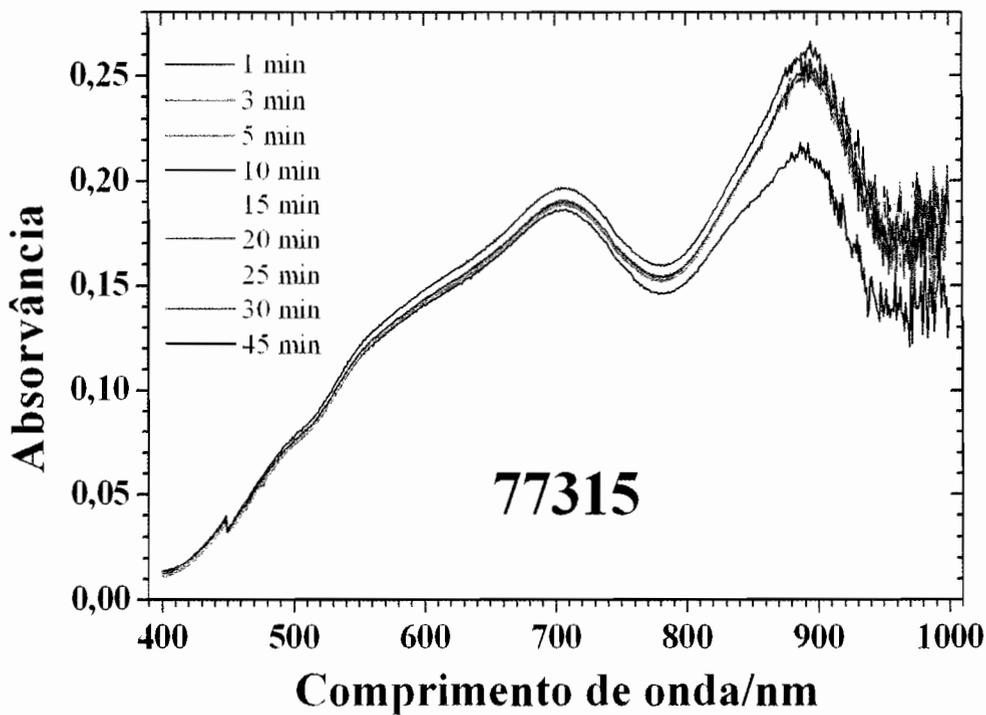


Figura 2: Curva analítica para P, construída a 880 nm



Tempo de formação e estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio

A avaliação do tempo de formação e da estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio permitiu verificar que a reação apresenta uma cinética razoavelmente rápida e que o produto formado apresenta-se estável por pelo menos 60 minutos (Figura 3). Os resultados indicam que as medidas analíticas podem ser realizadas 10 minutos após o acréscimo dos reagentes, aferição dos balões e homogeneização das soluções finais.



24

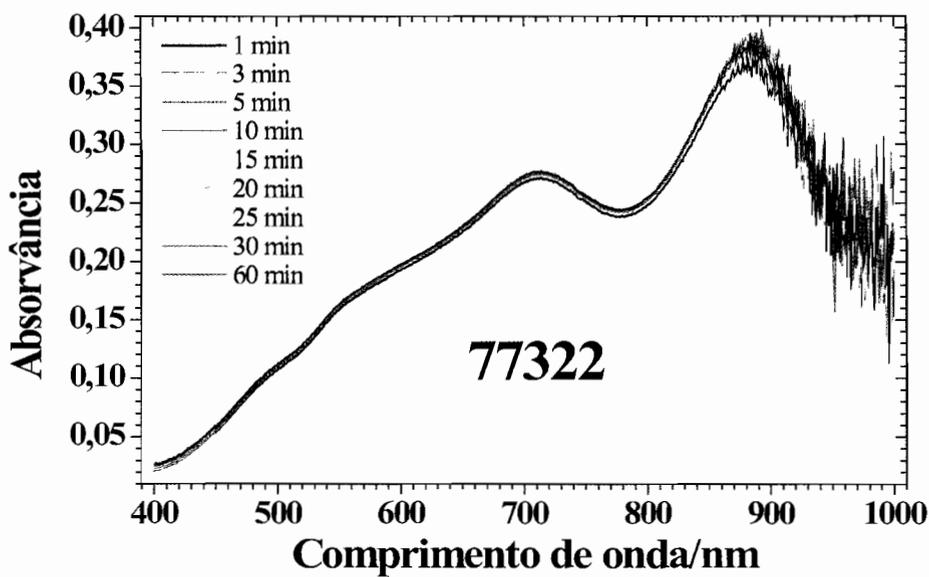
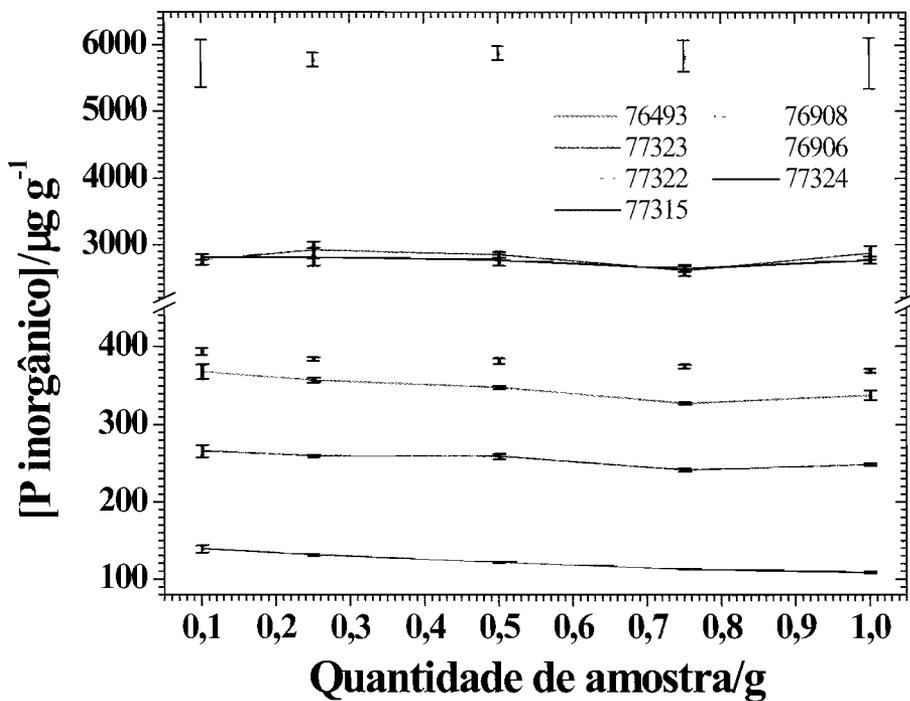


Figura 3. Tempo de formação e estabilidade do azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio

Efeito da quantidade de massa da amostra

O efeito da quantidade de massa da amostra foi estudado no intervalo de 0,1000 a 1,0000 g (Figura 4), verificando-se que 0,1000 g é suficiente para fornecer o resultado desejado. O fósforo inorgânico foi determinado no extrato obtido com HCl 1,00 mol L⁻¹, após 16 h de agitação a 170 rpm e as medidas de fósforo orgânico foram realizadas no resíduo da filtração do extrato contendo fósforo inorgânico, após calcinação e agitação com HCl 1,00 mol L⁻¹ por 16 h a 170 rpm.



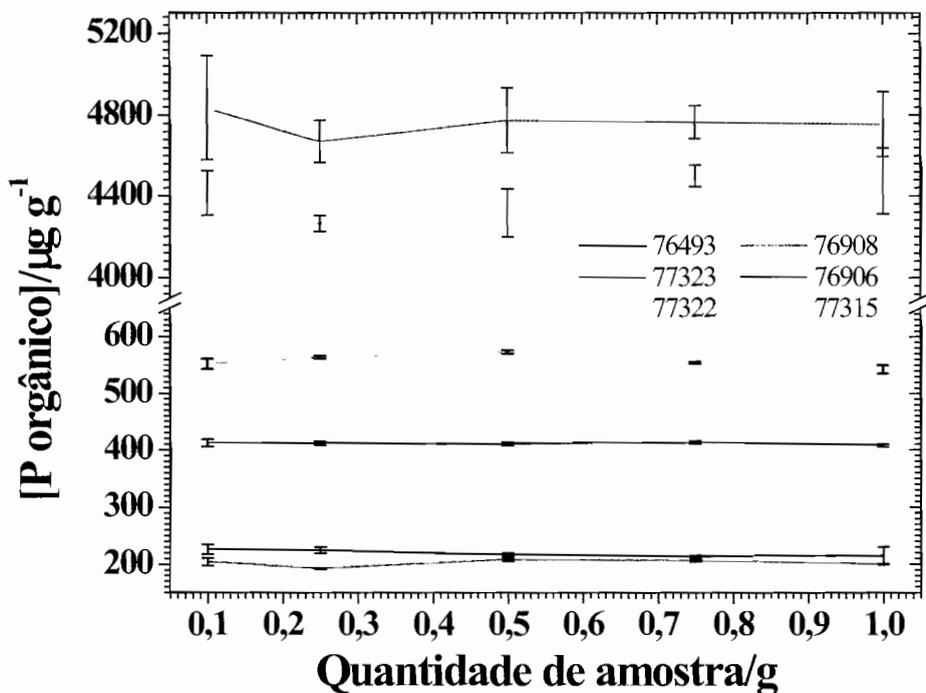


Figura 4: Efeito da quantidade de massa da amostra



Efeito do tempo de agitação para obtenção do extrato

O efeito do tempo de obtenção do extrato foi avaliado a cada duas horas de agitação a 170 rpm (no intervalo de 2 a 16 h) (Figura 5) e todos os ensaios foram realizados com 0,1000 g de amostra de sedimento. O procedimento para extração do fósforo inorgânico total e fósforo orgânico foi semelhante ao descrito para a avaliação da quantidade de massa de amostra, exceto quanto ao tempo de agitação, que nesse caso foi variado, e quanto à massa da amostra, que nesse caso foi mantida fixa. O tempo de agitação para obtenção do extrato foi mais crítico para as amostras que possuem elevados teores de fósforo, não havendo muita alteração para as amostras mais pobres no analito em questão. Em geral, os resultados experimentais indicaram que o melhor tempo, dentro do intervalo investigado, é de 16 h.

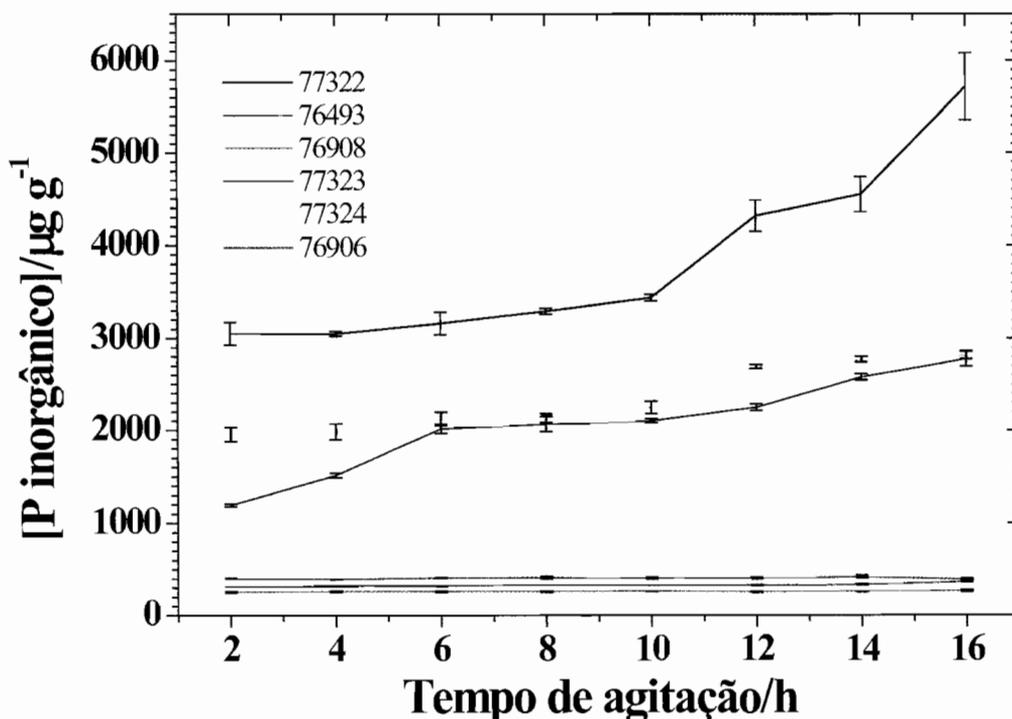


Figura 5: Efeito do tempo de agitação para obtenção do extrato

Escolha do melhor extrator

Os ensaios para a escolha do melhor extrator foram realizados com os ácidos HCl, HNO₃ e H₂SO₄, todos na concentração de 1,0 mol L⁻¹ (Tabela 4). Utilizou-se 0,1000 g de amostra, com 170 rpm de agitação durante 16 horas.

O HCl foi escolhido como o melhor extrator, apesar de apresentar os valores de estimativa de desvio padrão (s) em geral mais elevados. Os valores de s verificados para o HNO₃ e H₂SO₄, em geral menores, são na verdade enganosos, uma vez que são oriundos de três determinações em uma mesma replicata, ao passo que os dados de HCl são resultantes de três determinações em no mínimo três replicatas, totalizando pelo menos nove determinações. Nessa escolha também foram consideradas a maior disponibilidade e facilidade de acesso, além das vantagens de se trabalhar experimentalmente com esse reagente.



Amostra	Extrator	[PI]/ $\mu\text{g g}^{-1}$	s/ $\mu\text{g g}^{-1}$
77321	HCl	2.937	236
	HNO ₃	2.156	161
	H ₂ SO ₄	3.032	12
76493	HCl	368	9
	HNO ₃	331	7
	H ₂ SO ₄	271	14
76908	HCl	265	8
	HNO ₃	249	6
77323	HCl	2.780	82
	HNO ₃	2.250	28
	H ₂ SO ₄	2.791	27
76906	HCl	394	4
	HNO ₃	384	4
	H ₂ SO ₄	320	7
77322	HCl	5.720	362
	HNO ₃	4.466	18
	H ₂ SO ₄	4.439	25
77324	HCl	2.818	42
	HNO ₃	1.839	15
	H ₂ SO ₄	2.782	18
76464	HCl	455	3
	HNO ₃	414	4
	H ₂ SO ₄	153	5

PI: fósforo inorgânico total; s: estimativa do desvio padrão.

Tabela 4: Resultados de fósforo inorgânico para escolha do melhor extrator

Ensaio de recuperação

Os ensaios de recuperação foram realizados acrescentando-se alíquotas exatamente conhecidas do padrão dihidrogeno fosfato de potássio às amostras, considerando-se as condições previamente otimizadas: 0,1000 g de amostra de sedimento, HCl 1,00 mol L⁻¹ como extrator e 16 h de agitação a 170 rpm.

A taxa de recuperação foi considerada excelente, ficando na faixa de 97,33% a 105,61%, conferindo assim uma boa exatidão ao método (Tabela 5).



Amostra	Teor médio de P/mg	Acrescentado/mg	Encontrado/mg	s/mg	Recuperação/%
77322	0,5720	0,7965	1,3346	0,0234	97,52
		1,0834	1,6112	0,0545	97,33
		1,6158	2,1628	0,0654	98,86
		0,8534	0,9025	0,0215	102,56
76908	0,0266	1,0838	1,1237	0,0197	101,20
		1,5588	1,6743	0,0138	105,61
		0,8534	0,9336	0,0317	104,58
76906	0,0393	1,0838	1,1319	0,0209	100,78
		1,5588	1,6596	0,0108	103,85
77321	0,3146	1,8661	2,2632	0,0307	103,78
		2,2302	2,6312	0,0229	103,40

Tabela 5: Resultados dos ensaios de recuperação do fósforo. s: estimativa do desvio padrão

Aplicação analítica do método validado

O método validado foi utilizado para determinar as concentrações de fósforo inorgânico total, fósforo orgânico e fósforo total em paleossedimentos de sítios arqueológicos da região do Parque Nacional Serra da Capivara (Tabela 6).





Sítio	Amostra	Profundi- dade	[PI] ₋₁ μg g ⁻¹	s/ -1 μg g ⁻¹	[PO] ₋₁ μg g ⁻¹	s/ -1 μg g ⁻¹	[PT] ₋₁ μg g ⁻¹	s/ -1 μg g ⁻¹
Toca do Barrigudo	77323	50 cm	2.780	82	4.836	255	7.688	494
	77322	100 cm	5.720	362	4.415	111	9.161	177
	77321	150 cm	2.937	236	5.672	143	8.629	100
	77324	200 cm	2.818	42	5.177	138	8.056	407
Toca da Pedra Solta da Serra Branca	77432	Decp 2	230	7	208	3	433	8
	77447	Decp 2	1.379	33	308	6	1.924	17
	76379	Decp 7	<LQ		120	4	148	6
	76380	Decp 7	<LQ		139	5	148	6
Toca do Pau Dóia	76464	Decp 1	455	3	407	1	875	6
	76465	Decp 1	226	9	210	7	388	7
	76906	Decp 2	394	4	412	7	762	7
	76907	Decp 2	815	23	189	11	919	8
	76908	Decp 2	265	8	204	7	438	9
	76909	Decp 2	296	6	171	7	416	8
	76942	Decp 2	478	6	207	5	645	8
	76473	Decp 3	479	3	425	6	848	8
	76474	Decp 3	293	1	181	6	395	28
	76489	Decp 4	651	8	220	6	761	1
	76490	Decp 4	700	11	191	16	870	7
	76491	Decp 4	517	6	237	5	708	2
	76492	Decp 4	361	4	298	7	634	7
76493	Decp 4	368	9	226	9	501	22	
Lagoa da Jurubeba	77316	50 cm	64	3	618	4	621	8
	77315	100 cm	138	5	552	9	624	9
	77314	150 cm	92	8	432	15	557	3
	77313	200 cm	148	6	470	15	642	11

PI: fósforo inorgânico total; PO: fósforo orgânico; PT: fósforo total; s: estimativa do desvio padrão; <LQ: menor que o limite de quantificação (LQ = $1,54 \times 10^{-2}$ mg L⁻¹); Decp: decapagem. Cada decapagem possui uma profundidade de ~10 cm

Tabela 6: Concentrações de fósforo inorgânico total, fósforo orgânico e fósforo total em paleossedimentos

As maiores concentrações de fósforo foram encontradas na Toca do Barrigudo, resultados coerentes com as provas irrefutáveis de ocupação humana pré-histórica. Como citado anteriormente, quatro sepultamentos humanos foram encontrados nos sedimentos arqueológicos, mas estão inviabilizados de datação pela técnica do ¹⁴C, em decorrência da

falta de colágeno. Embora os esqueletos não tenham sido datados, as idades radiocarbônicas obtidas para este abrigo: 5320 ± 60 anos BP (Beta Analytic 167193), de sedimento com carvão, coletado a $\sim 1,50$ m de profundidade (trincheira 2), e 7060 ± 50 anos BP (Ua – 20282), de carvão, coletado na 12ª decapagem do setor 1, sugerem uma ocupação humana pré-histórica relativamente antiga. La Salvia (2006) descreve de forma bastante didática parte das escavações empreendidas na Toca do Barrigudo e demonstra que os achados arqueológicos presentes no abrigo justificam seguramente as concentrações de fósforo substancialmente elevadas nas amostras coletadas ao longo de todo o perfil estratigráfico escavado neste sítio.

Os teores de fósforo comparativamente muito inferiores encontrados nas amostras da Toca do Pau Dóia, Lagoa da Jurubeba e Toca da Pedra Solta da Serra Branca virtualmente não parecem fornecer indícios de atividade humana antiga, mas análises de sedimentos extrassítios realizadas por Lage *et al.* (2007) permitem considerar os resultados encontrados neste trabalho como uma evidência razoável de atividade humana antiga. Os autores supracitados avaliaram as mesmas amostras aqui estudadas utilizando outra metodologia, mas chegaram às mesmas tendências no teor de fósforo inorgânico total. O fator de enriquecimento de fósforo nos sedimentos arqueológicos, em relação às amostras extrassítios, alcançou valores da ordem de até 570 vezes.

O valor de fósforo inorgânico total da amostra 77447 de $1.379 \pm 33 \mu\text{g g}^{-1}$, relativamente elevado, quando comparado ao da amostra 77432, coletada no mesmo nível, é explicado pela sua natureza peculiar, já que foi coletada em uma mancha escura, supostamente testemunho de atividade humana.

Da mesma forma, o valor díspare de fósforo inorgânico total verificado para a amostra 76490 e suas vizinhas 76491 e 76489, resgatadas da decapagem 4 na Toca do Pau Dóia, está associado à natureza intrínseca da amostra, neste caso também oriunda de uma mancha escura presente no nível arqueológico.

Os valores de desvio padrão relativo (ou coeficiente de variação) foram inferiores a 4,20% para o fósforo inorgânico total (com exceção das amostras 77322 (6,33%), 77321 (8,04%) e 77314 (8,70%)), menores que 4,06% para fósforo orgânico (exceto para as amostras 77323 (5,27%), 76907 (5,82%) e 76490 (8,38%)) e inferiores a 2,03% para fósforo total (com exceção das amostras 77474 (7,09%) e 76493 (4,39%)). Esse parâmetro estatístico de dispersão dos dados em relação ao teor médio de fósforo para uma mesma



amostra revela que o método apresenta boa precisão, uma vez que os valores de concentração obtidos para diferentes alíquotas são muito próximos entre si.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A otimização e validação da metodologia analítica para determinar as concentrações das formas de fósforo em paleossedimentos forneceu um gráfico de calibração que mostrou boa linearidade entre concentrações de fósforo de 0,0929 mg L⁻¹ e 0,6194 mg L⁻¹, com um coeficiente de correlação linear de 0,99984.

Os limites de detecção e quantificação foram 4,64x10⁻³ mg L⁻¹ e 1,54x10⁻² mg L⁻¹, respectivamente. Verificou-se que o azul de fosfomolibdênio formado na presença de antimônio possui uma cinética de formação razoavelmente rápida e que apresenta boa estabilidade pelo menos por 1 h, de sorte que a leitura espectrofotométrica do analito pode ser realizada seguramente a partir de 10 minutos do início da reação. Observou-se que a quantidade de 0,1000 g de massa de amostra é suficiente para fornecer um resultado satisfatório, mas que o tempo de obtenção do extrato não pode ser inferior a 16 h. A escolha do melhor extrator foi baseada tanto em resultados experimentais quanto na maior disponibilidade e facilidade de acesso ao reagente.

A taxa de recuperação entre 97,33% e 105,61% conferiu boa exatidão ao método e foi considerada excelente.

A aplicação do método validado em amostras de paleossedimentos da região do Parque Nacional Serra da Capivara apontou as maiores concentrações de fósforo na Toca do Barrigudo, sendo que estes resultados estão coerentes com os vestígios encontrados neste sítio, testemunhos incontestes de atividade humana pré-histórica.

Luis Carlos Duarte Cavalcante
Universidade Federal do Piauí
Curso de Arqueologia e Conservação de Arte Rupestre

Maria Conceição Soares Meneses Lage
Universidade Federal do Piauí
Curso de Arqueologia e Conservação de Arte Rupestre



REFERÊNCIAS

- AMORNTHAMMARONG, N.; ANUJARAVAT, P.; SEREENONCHAI, K.; CHAISUWAN, P.; SASTRANURAK, P.; WILAIRAT, P.; NACAPRICHA, D. 2005. "Method development based on all injection analysis for the determination of phosphorus in soil and sediment extracts". *Talanta*, v. 68, p. 480-487.
- BEACH, T.; DUNNING, N.; LUZZADDER-BEACH, S.; COOK, D. E.; LOHSE, J. 2006. "Impacts of the ancient Maya on soils and soil erosion in the central Maya Lowlands". *Catena*, v. 65, p. 166-178.
- BOSTAN, V.; DOMINIK, J.; BOSTINA, M.; PARDOS, M. 2000. "Forms of particulate phosphorus in suspension and in bottom sediment in the Danube Delta". *Lakes and Reservoirs: Res. Man.*, v. 5, p. 105-110.
- BURRUS, D.; THOMAS, R. L.; DOMINIK, J.; VERNET, J.-P. 1989. "Recovery and concentration of suspended solids in the upper Rhone river by continuous flow centrifugation". *Hydrol. Processes*, v. 3, p. 65-74.
- COSTA, M. L. da; KERN, D. C. 1999. "Geochemical signatures of tropical soils with archaeological black earth in the Amazon, Brazil". *J. Geochem. Explor.*, v. 66, p. 369-385.
- ESTEVEES, A. A.; BORGES, S. V.; ABRANTES, S.; SILVEIRA, M. G. SOUZA, C. M. O. C. C. 2007. "Validação em laboratório de método analítico para determinação do teor de adipato e ftalato de di-(2-etil-hexila) utilizados como plastificantes em filmes flexíveis de PVC". *Quím. Nova*, v. 30, n. 1, p. 219-223.
- FAUL, K. L.; PAYTAN, A.; DELANEY, M. L. 2005. "Phosphorus distribution in sinking oceanic particulate matter". *Mar. Chem.*, v. 97, p. 307-333.
- GUÉRIN, C.; FAURE, M. 2008. "La Biodiversité mammalienne au Pléistocène supérieur - Holocène ancien dans la Région du Parc National Serra da Capivara (SE du Piauí, Brésil)". *FUMDHAMentos*, n. 7, p. 79-93.
- GUÉRIN, C.; FAURE, M. 2004a. "*Scelidodon piauiense* nov. sp., nouveau Mylodontidae Scelidotheriinae (Mammalia, Xenarthra) du Quaternaire de la région du parc national Serra da Capivara (Piauí, Brésil)". *C. R. Palevol*, v. 3, p. 35-42.
- GUÉRIN, C.; FAURE, M. 2004b. "*Macrauchenia patachonica* Owen (Mammalia,



Litopterna) de la région de São Raimundo Nonato (Piauí, Nordeste brésilien) et la diversité des Macraucheniiidae pléistocènes”. *Geobios*, v. 37, p. 516-535.

GUIDON *et al.* Relatório CNPq 2002 – PRONEX/FUMDHAM, 2002. p. 11-12.

GUIDON, N.; PESSIS, A.-M.; MARTIN, G. 2009. “Pesquisas arqueológicas na região do Parque Nacional Serra da Capivara e seu entorno (Piauí – 1998–2008)”. *FUMDHAMentos*, n. 8, p. 1-61.

HOLLIDAY, V. T.; GARTNER, W. G. 2007. “Methods of soil P analysis in archaeology”. *J. Archaeological Sci.*, v. 34, p. 301-333.

LAGE, M. C. S. M.; CAVALCANTE, L. C. D.; SANTOS, J. S. 2007. “Estudo químico de sedimentos arqueológicos do Parque Nacional Serra da Capivara, Piauí – Brasil”. *FUMDHAMentos*, v. 1, n. 6, p. 106-114.

LANÇAS, F. M. 2004. *Validação de métodos cromatográficos de análise*. São Carlos: RiMa. 62 p.

34



LA SALVIA, E. S. 2006. *A reconstituição da paisagem da paleo-micro Bacia do Antonião e a sua ocupação pelo homem no pleistoceno*. 257 f. Tese de doutorado em História – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2006.

MACPHAIL, R. I.; CRUISE, G. M.; ALLEN, M. J.; LINDERHOLM, J.; REYNOLDS, P. 2004. “Archaeological soil and pollen analysis of experimental floor deposits; with special reference to Butser Ancient Farm, Hampshire, UK”. *J. Archaeological Sci.*, v. 31, p. 175-191.

MARINS, R. V.; PAULA FILHO, F. J.; ROCHA, C. A. S. 2007. “Geoquímica de fósforo como indicadora da qualidade ambiental e dos processos estuarinos do Rio Jaguaribe – costa nordeste oriental brasileira”. *Quím. Nova*, v. 30, n. 5, p. 1208-1214.

MARWICK, B. 2005. “Element concentrations and magnetic susceptibility of anthrosols: Indicators of prehistoric human occupation in the inland Pilbara, Western Australia”. *J. Archaeological Sci.*, v. 32, p. 1357-1368.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. 1962. “A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters”. *Anal. Chim. Acta*, v. 27, p. 31-36.

- NORA, P. S.; OHE, T. H. K.; SPACINO, I. S.; BARRETO, W. J.; BARRETO, S. R. G.; ISHIKAWA, D. N. 2006. "Determinação da concentração das formas de fósforo nos sedimentos de ribeirões e lagos de Londrina, PR". In: *REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA*, 29. Águas de Lindóia. Livro de resumos. São Paulo: Editora da SBQ, 2006. p. AB-134.
- OGRINC, N.; FAGANELI, J. 2006. "Phosphorus regeneration and burial in near-shore marine sediments (the Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea)". *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 67, p. 579-588.
- PARNELL, J. J.; TERRY, R. E.; NELSON, Z. 2002. "Soil Chemical Analysis Applied as an Interpretive Tool for Ancient Human Activities in Piedras Negras, Guatemala". *J. Archaeological Sci.*, v. 29, p. 379-404.
- RAFFIN, R. P.; COLOMÉ, L. M.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. 2007. "Validação de metodologia analítica por cromatografia líquida para doseamento e estudo da estabilidade de pantoprazol sódico". *Quím. Nova*, v. 30, n. 4, p. 1001-1005.
- RAPOSO JUNIOR, J. L.; RÉ-POPPI, N.; HONDA, N. K. 2007. "Avaliação da concentração de alguns íons metálicos em diferentes espécies de líquens do cerrado Sul-Mato-Grossense". *Quím. Nova*, v. 30, n. 3, p. 582-587.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. 2004. "Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos". *Quím. Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780.
- SARRIS, A.; GALATY, M. L.; YERKES, R. W.; PARKINSON, W. A.; GYUCHA, A.; BILLINGSLEY, D. M.; TATE, R. 2004. "Geophysical prospection and soil chemistry at the Early Copper Age settlement of Vésztó-Bikeri, Southeastern Hungary". *J. Archaeological Sci.*, v. 31, p. 927-939.
- SCHLEZINGER, D. R.; HOWES, B. L. 2000. "Organic phosphorus and elemental ratios as indicators of prehistoric human occupation". *J. Archaeological Sci.*, v. 27, p. 479-492.
- SHAHACK-GROSS, R.; BERNA, F.; KARLANAS, P.; WEINER, S. 2004. "Bat guano and preservation of archaeological remains in cave sites". *J. Archaeological Sci.*, v. 31, p. 1259-1272.



SILVA, A. L. M. da; SOARES SOBRINHO, J. L.; ROLIM NETO, P. J.; SILVA, R. M. F. da; MEDEIROS, F. P. M. de; LIMA, L. G. de. 2007. “Desenvolvimento de método analítico por CLAE em comprimidos de benznidazol para a doença de Chagas”. *Quím. Nova*, v. 30, n. 5, p. 1163-1166.

SILVA, D. C. 2008. *Similaridades e diferenças nas pinturas rupestres pré-históricas de contorno aberto no Parque Nacional Serra da Capivara - PI*. 323 f. Tese de doutorado em Arqueologia – Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

TERRY, R. E.; FERNÁNDEZ, F. G.; PARNELL, J. J.; INOMATA, T. 2004. “The story in the floors: chemical signatures of ancient and modern Maya activities at Aguateca, Guatemala”. *J. Archaeological Sci.*, v. 31, p. 1237-1250.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. 2007. “Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise pó CG”. *Quím. Nova*, v. 30, n. 3, p. 535-540.



WILLIAMS, J. D. H.; JAQUET, J.-M.; THOMAS, R. L. 1976. “Forms of phosphorus in the surficial sediments of Lake Erie”. *J. Fish. Res. Board Can.*, v. 33, p. 413-429.

WILLIAMS, J. D. H.; JAQUET, J.-M.; VERNET, J.-P. 1978. “Influence des rejets de deux stations d’épuration sur la teneur en phosphore des sédiments côtiers du Léman”. *Schweiz. Z. Hydrol.*, v. 40, n. 2, p. 361-373.