

Análise de processos alternativos na preparação de esqueletos para uso didático

Márcio José da Silveira^{1,2*}, Gustavo Monteiro Teixeira³ e Edson Fontes de Oliveira^{1,2}

¹Faculdade de Apucarana, Apucarana, Paraná, Brasil. ²Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ³Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: s.marcojs@gmail.com

RESUMO. Laboratórios de Zoologia em Instituições de Pesquisa e Ensino têm demonstrado grande demanda por peças anatômicas para utilização em aulas práticas. No entanto, embora a bibliografia voltada para este tema não seja escassa, são raras as análises das relações custo/benefício de tais processos levando em consideração aspectos técnicos, como tempo de preparo, qualidade das peças e recursos materiais e humanos. Além de técnicas usualmente utilizadas, novos produtos de baixo custo, não-citados na literatura e encontrados facilmente no mercado, também foram testados. O principal objetivo deste trabalho foi a elaboração e organização de informações sobre técnicas alternativas de maceração de peças ósseas para coleções didáticas, realizando análises comparativas sobre as relações custo/benefício de cada técnica. Foram testados 12 produtos, dos quais foram avaliados os resultados a diferentes condições experimentais, tais como: concentração e combinação dos reagentes, temperatura, pH e tempo de exposição das peças aos reagentes. Os resultados indicaram que os produtos mais recomendados para a utilização nos processos de maceração foram: a água, o peróxido de hidrogênio e o suco de mamão (*Carica papaya*).

Palavras-chave: maceração, clarificação de esqueletos, peróxido de hidrogênio, suco de mamão.

ABSTRACT. Analysis of alternative processes of skeleton preparation for educational uses. Zoology laboratories at institutions of research and education have shown great demand for anatomical parts for practical lessons. However, although the bibliography is not necessarily scarce, analyses of the cost/benefit relations of such processes are rare, considering aspects such as preparation time, quality of the anatomical parts, and material and human resources. In addition to the common techniques already used, new low-cost products, not cited in literature and easily found in the market, were also tested. The main objective of this work was to elaborate and organize information on techniques of bone parts maceration for study collections, making comparative analyses on the cost/benefit relations of each technique. Twelve products were tested, evaluating experimental conditions such as: concentration and combination of reagents, temperature, pH and time of exposure of the parts to the reagents. The results indicated that the products recommended for the use in the maceration processes were: water, hydrogen peroxide and papaya juice (*Carica papaya*).

Key words: maceration, skeleton clarification, hydrogen peroxide, papaya juice.

Introdução

Laboratórios de Zoologia de Instituições de Pesquisa e Ensino têm demonstrado grande demanda por peças anatômicas para utilização em aulas práticas. O uso de esqueletos auxilia nas atividades científicas e didáticas, pois fornece informações seguras sobre as adaptações específicas dos vertebrados como, por exemplo, sustentação, postura e modo de locomoção (Hildebrand e Goslow, 2006).

O preparo adequado de esqueletos tem grande importância, pois por meio dele pode-se adquirir peças ósseas de qualidade, mais propícias para

estudos anatômicos e uso didático. Este preparo deve seguir algumas etapas. Inicialmente, deve-se evitar o uso de ossos de animais que tenham tido como causa da morte enfermidades ósseas, pois as mesmas podem descaracterizar as estruturas morfológicas originais. O próximo passo seria o descarnamento, o qual consiste na retirada da tela subcutânea e músculos, evitando danificar as superfícies ósseas. Esta etapa é realizada com o auxílio de instrumentos cirúrgicos de dissecação (Auricchio e Salomão, 2002). A última etapa refere-se à maceração propriamente dita, ou seja, manter as estruturas anatômicas em substâncias

específicas com capacidade para dissolver elementos não-ósseos. Nesta técnica, podem ser utilizados diferentes processos químicos, biológicos ou mecânicos, aplicados isoladamente ou combinados. Os processos químicos são, geralmente, os mais agressivos, porém possibilitam a obtenção mais rápida de resultados.

Diversos produtos químicos são utilizados para a maceração de esqueletos, por isso é preciso escolher o produto que melhor se adapte às condições de cada laboratório, ao custo, ao tempo de preparo e à facilidade de clareamento. Kawamoto *et al.* (2006), por exemplo, utilizaram, em seus experimentos, peróxido de hidrogênio em diversas concentrações, pois necessitavam de esqueletos desarticulados e livres de todo tecido para estudos em zooarqueologia.

Muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidades suficientes para serem utilizadas na maceração, como, por exemplo, o suco do mamão (Balandrin *et al.*, 1985; Baker *et al.*, 2003; Davis e Payne, 2003). Outros processos biológicos bem conhecidos são a maceração por Dermestes (Hildebrand, 1968; Maiorana e Valen, 1985; Alvarenga, 1992; Ladeira e Höfling, 2007; Mendéz e Höfling, 2007) e por Cirolana (Packard, 1959). Os Dermestes, coleópteros com ampla distribuição geográfica que se alimentam da carne seca residual da carcaça de animais mortos, são indicados para a limpeza de esqueletos delicados ou quando a estrutura óssea está relativamente intacta. O tempo de permanência das peças anatômicas sob a ação dos Dermestes depende da abundância de larvas na colônia (Franco *et al.*, 2001).

Os Cirolana são isópodes carnívoros marinhos com hábitos noturnos, também utilizados na preparação de esqueletos. Os peixes aprisionados em redes de espera são, frequentemente, atacados por esses crustáceos, os quais entram pela boca e brânquias e se alimentam do tecido abaixo da pele, da região anterior em direção à base da nadadeira caudal, reduzindo-os a pele e esqueleto (Packard, 1959). Nesses processos biológicos, os organismos promovem a retirada de tecidos com eficiência e sem risco de danificação das peças, no entanto, são processos relativamente demorados.

Os processos mecânicos são aqueles que eliminam gordura, músculos e cartilagens manualmente, com auxílio de instrumentos como pinças e bisturis. Trata-se do primeiro tratamento a que as peças anatômicas são submetidas, constituindo na retirada da maioria dos tecidos presentes nos esqueletos; em muitos casos, no entanto, ainda é necessário passar por um processo de maceração com a utilização de algum produto

químico.

Há vários fatores referentes às peças ósseas que devem ser levados em consideração na preparação de esqueletos, como, por exemplo, a necessidade de desarticulação completa ou de manutenção de cartilagens e articulações. Dessa forma, o objetivo didático do uso das peças deve ser definido antes da escolha da técnica a ser utilizada. Alguns métodos de preparação tornam as peças inúteis para estudos paleontológicos, ecomorfológicos e de morfologia funcional que necessitem de comparação de determinadas características entre indivíduos ou espécies.

Embora tenha grande importância para o Ensino e a Pesquisa, a manutenção de coleções zoológicas é negligenciada em muitas Instituições, e mesmo as mais criteriosas possuem acervos consideravelmente incompletos. Por exemplo, é alarmante que quase um terço dos espécimes de aves não esteja representado em nenhuma coleção do mundo (Matthiesen, 1993), e é possível que isso ocorra em relação a outros grupos zoológicos.

Ainda que a literatura relacionada aos processos de maceração não seja escassa, são raras as análises das relações custo/benefício da aplicação desses processos levando em consideração aspectos como tempo de preparo, qualidade das peças e a necessidade de recursos materiais e humanos. Com o intuito de analisar processos alternativos de preparação de esqueletos para uso didático, neste trabalho foram realizados testes com diferentes técnicas de maceração, variando as condições experimentais, como qualidade e concentração dos reagentes, temperatura, pH e tempo de exposição das peças aos reagentes.

Material e métodos

Antes da realização dos testes com as diferentes técnicas de maceração, todas as peças anatômicas utilizadas foram submetidas a processos manuais de descarte para retirada do excesso de músculos, gordura, nervos e ligamentos (Figura 1), utilizando-se pinças, bisturis e tesouras no laboratório de Zoologia da Faculdade de Apucarana – FAP. Essas peças foram obtidas de diversos cadáveres de vertebrados silvestres de classes diferentes, bem como de diversos animais domésticos (um exemplar de cada espécie) (Tabela 1). Os cadáveres de animais silvestres foram doados por uma empresa privada produtora de papel (Inpapel), enquanto os domésticos foram doados pela comunidade do entorno da FAP.

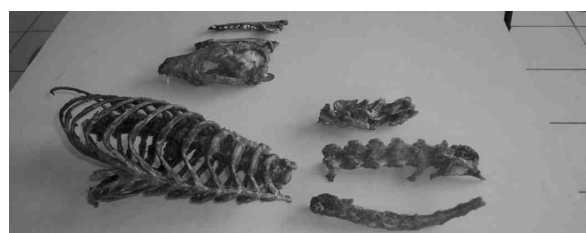


Figura 1. Peças ósseas de Cachorro-do-mato (*Cerdoyon thous*) após processo de descarnar.

Tabela 1. Substâncias utilizadas nas macerações, suas concentrações, intervalo de tempo de preparo, animais e estruturas anatômicas utilizadas.

Substâncias	Concentração	Condições e tempo de preparo	Animal utilizado	Estruturas anatômicas usadas
Água amoniacal	5%	Repouso por três dias e fervura por 25 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>) e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Tíbiatarso e fêmur
Água amoniacal	1%	Repouso por dois dias e fervura por 15 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>) e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Tíbiatarso e fêmur
Álcool	40%	Repouso por sete dias	Passeriforme	Esqueleto completo
Água	Potável	Repouso por 20 dias	Jabuti piranga (<i>Cerodolone carbonaria</i>)	Cintura pélvica
Suco de mamão (<i>Carica papaya</i>)	15%	Repouso e fervura por 30 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>) e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Vértebras e fêmur
Ácido muriático	50%	Repouso a 20 min., 40 min. e 60 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>)	Vértebras
Peróxido de hidrogênio	9%	Repouso por dois dias e fervura por 15 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>), Avestruz (<i>Struthio camelus</i>) e Tatu galinha (<i>Dasypus novemcinctus</i>)	Costelas, escápula e fêmur
Hipoclorito de sódio	23%	Repouso por seis dias e fervura por 25 min.	Veado mateiro (<i>Mazama americana</i>) e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Cintura pélvica e fêmur
Intercept	25%	Repouso por dois dias e fervura por 20 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>), e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Vértebras e fêmur
Solupan	25%	Repouso por dois dias e fervura por 20 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>) e avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	Vértebras, costelas e tíbiatarso
Suco de abacaxi (<i>Ananas comosus</i>)	Pedaços do fruto	Repouso por sete dias e um dia, e fervura por 30 min.	Avestruz (<i>Struthio camelus</i>) e Galinha (<i>Gallus domesticus</i>)	Tíbiatarso e úmero
Amaciante de carne	5%	Repouso por dois dias e fervura por 30 min.	Cachorro-do-mato (<i>Cerdoyon thous</i>) e galinha (<i>Gallus domesticus</i>)	Úmero e fêmur

As peças foram lavadas em água corrente por alguns minutos para que o excesso de sangue acumulado durante o descarnar fosse removido, minimizando a chance de ocorrência de manchas que pudessem comprometer os processos de clareamento.

Todas as soluções utilizadas para a maceração, testadas neste trabalho, foram preparadas em solução aquosa com três concentrações iniciais de pH: (i) ácida: 3,2-3,5; (ii) neutra: 7,0-7,3; (iii) básica: 9,7-10,0. Após o preparo das soluções, os valores finais de pH foram aferidos em Peagâmetro de bancada (Digimed APA 200), para comparações posteriores. As diferentes soluções utilizadas para maceração foram submetidas às três distintas concentrações de pH, permitindo testar a hipótese de que as peças expostas às soluções com valores mais baixos de pH (ácida) apresentariam maior facilidade na retirada dos tecidos.

Neste experimento, foram testadas 12 soluções para maceração: (i) água amoniacal 5 e 1% e álcool 40% (Estado de São Paulo, 1967); (ii) água corrente (Campos *et al.*, 2002; Hildebrand e Goslow, 2006; Cornélio, 2007); (iii) papaína, ácido muriático (Rodrigues, 1973); (iv) peróxido de hidrogênio (Rodrigues, 1973; Brandão *et al.*, 2002; Nunes e Perôncio, 2003; Bemvenuti, 2005; Pacheco *et al.*, 2005; Kawamoto *et al.*, 2006; Ladeira e Höfling, 2007); (v) hipoclorito de sódio (Rodrigues, 1973; Cornélio, 2007); e quatro soluções não citadas na literatura corrente: Solupan (mistura tensoativa aniônica com ácido fluorídrico, ácido muriático, ácido dodecil benzeno sulfônico e corante; pH = 1,0 ± 0,5) e Intercept (mistura tensoativa aniônica com hidróxido de sódio e corante; pH = 12,0 ± 0,5), marcas comerciais de produtos utilizados para limpeza de automóveis com grande eficácia na remoção de determinados resíduos e, às vezes, empregados para a limpeza de muros e calçadas, e suco de abacaxi e amaciante de carne à base da papaína. Esses produtos podem ser facilmente encontrados em lojas especializadas em produtos químicos, feiras de produtos agrícolas ou supermercados e, nos casos específicos do Solupan e Intercept, em postos de combustíveis.

Todos os produtos foram utilizados em diferentes concentrações, algumas recomendadas pelos autores acima citados. No entanto, as concentrações de alguns produtos foram modificadas, como nos casos do Hipoclorito de Sódio, que foi utilizado a 23% ao invés de 2%, como recomendado por Rodrigues (1973), concentração esta considerada muito baixa, e da Papaína, que, em razão do seu alto custo, foi substituída pelo Suco de

Mamão; este último foi utilizado por Baker *et al.* (2003) e Davis e Payne (2003).

As peças anatômicas foram colocadas nas diferentes soluções, acondicionadas em recipientes específicos e, posteriormente, submetidas a diferentes processos: repouso e fervura em distintos períodos de tempo apresentados na Tabela 1. Os processos de repouso e fervura foram sugeridos por Rodrigues (1973) e Cornélio (2007), entretanto, o tempo de permanência em fervura foi baseado nos trabalhos de Baker *et al.* (2003) e Davis e Payne (2003).

A Tabela 1 apresenta informações sobre as substâncias utilizadas nas macerações, suas respectivas concentrações e intervalo de tempo do preparo, assim como as espécies de animais e estruturas anatômicas utilizadas.

Após a exposição das peças anatômicas aos produtos especificados, elas foram lavadas cuidadosamente em água corrente e limpas com auxílio de bisturi e tesoura. Esta limpeza consiste na retirada das sobras de músculos e ligamentos que ainda estavam aderidas à estrutura óssea. Cabe ressaltar que as peças que passaram pelo processo de fervura foram deixadas em repouso para redução da temperatura, a fim de evitar o risco da ocorrência de trincas durante a lavagem pelas oscilações bruscas de temperatura. Após todas essas etapas, as peças foram analisadas e os resultados da utilização das diferentes substâncias foram classificados como satisfatório ou insatisfatório para utilização no preparo de esqueletos para uso didático.

Resultados e discussão

Devido ao problema de escassez de recursos enfrentado por muitas Instituições de Ensino e Pesquisa, há a busca constante pelo uso de produtos com baixo custo e que consigam manter boa qualidade final na preparação de esqueletos. Com este intuito, foi realizada uma pesquisa de campo em duas cidades do norte do Paraná (Apucarana e Maringá), e constatou-se que dentre os produtos químicos industrializados mais caros estavam o ácido muriático e o peróxido de hidrogênio; por outro lado, a água amoniacal, Intercapt, Solupan e o amaciante de carne apresentaram os menores valores. Quanto aos produtos naturais, os sucos de mamão e abacaxi apresentaram valores relativamente similares, com preço mais acessível em relação a todas as soluções.

A Figura 2 revela que houve modificação do pH inicial dos produtos após o preparo de cada solução; para todas as soluções, os valores de pH foram os mesmos tanto para repouso quanto para fervura. Alguns produtos apresentaram valores de pH final

muito baixo após o preparo da solução, como é o caso do ácido muriático e do Solopan, com valores de 1,0 e 2,21, respectivamente. Por outro lado, alguns produtos apresentaram altos valores de pH no final, como é o caso do Hipoclorito de Sódio e do Intercapt, com valores de 11,50 e 11,73, respectivamente (Figura 2). Cabe ressaltar que as peças tratadas em solução com pH mais ácido apresentaram maior facilidade para a retirada dos tecidos.

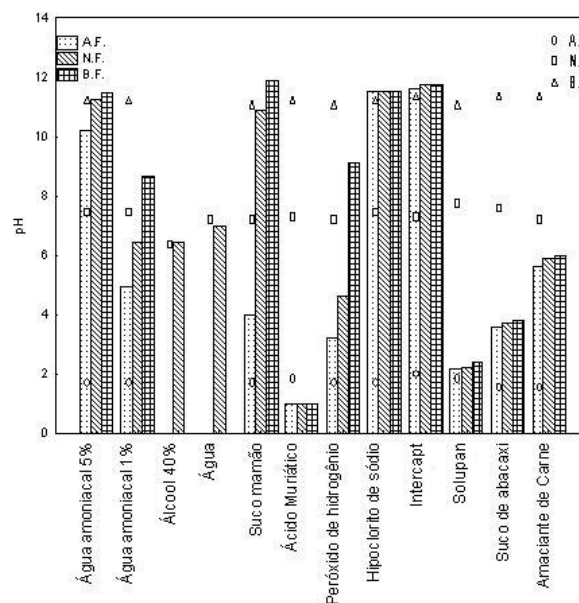


Figura 2. Valores do pH inicial da água para a elaboração das soluções (A.I.: solução ácida; N.I.: solução neutra; B.I.: solução básica) e valores do pH final das soluções utilizadas para a maceração (A.F. = pH final da solução ácida; N.F. = pH final da solução neutra; B.F. = pH final da solução básica).

A Tabela 2 apresenta os resultados da avaliação de cada produto investigado quanto ao custo/benefício de sua utilização na preparação de esqueletos para uso didático e indica quais as melhores e piores opções. Ressalta-se que os dados dessa tabela foram analisados de acordo com os resultados obtidos nas soluções testadas em fervura, em razão da maioria das soluções testadas em repouso não ter apresentado resultados significativamente expressivos. Depois de avaliado cada produto, a partir dos resultados apresentados na Tabela 2, constatou-se que alguns são mais vantajosos em relação aos demais. O *ranking* de classificação quanto aos produtos mais recomendados, em ordem decrescente, revelou: 1º) água; 2º) peróxido de hidrogênio, suco de mamão e abacaxi; 3º) Solupan, hipoclorito de sódio e água amoniacal 1%; 4º) amaciante de carne e álcool 40%; 5º) ácido muriático, água amoniacal 5% e Intercapt.

Tabela 2. Critério de avaliação e resultado final de cada solução.

Produto utilizado	Critérios de avaliação das peças						
	RT	DO	FB	TP	CP	DC	RF
Água	1	1	1	-1	1	1	4
Peróxido de hidrogênio	1	1	1	1	-1	0	3
Suco de mamão (<i>Carica papaya</i>)	0	1	0	0	1	1	3
Suco de abacaxi (<i>Ananas comosus</i>)	0	1	0	0	1	1	3
Solupan	1	1	0	0	0	0	2
Hipoclorito de sódio	1	0	0	0	1	0	2
Água amoniacal 1%	0	1	0	1	-1	1	2
Amaciante de carne	0	1	0	0	0	-1	0
Álcool 40%	0	1	0	0	0	-1	0
Ácido muriático	1	-1	-1	-1	-1	1	-2
Água amoniacal 5%	0	-1	0	-1	-1	1	-2
Intercept	-1	1	-1	-1	0	0	-2

Critérios de avaliação: RT: remoção dos tecidos; DO: desgaste ósseo; FB: facilidade de clareamento; TP: tempo de preparo; CP: custo do produto; DC: desarticulação completa; RF: resultado final (soma das pontuações das avaliações de todos os critérios). Pontuação de avaliação para cada critério: ruim (-1); bom (0); e excelente (1).

A utilização da água para a maceração de peças ósseas apresentou um resultado satisfatório, sendo a melhor entre todas as soluções aqui testadas. Após o tempo determinado, as peças foram retiradas e pode-se observar que as mesmas não apresentaram mais tecidos, músculos e gordura, porém esse tratamento apresenta um inconveniente: a demora e o mau cheiro pela decomposição dos tecidos.

Mesmo aparecendo como segundo melhor produto na utilização nos processos de maceração, o uso de peróxido de hidrogênio no tratamento das peças em repouso mostrou-se insatisfatório, em todas as condições de pH testadas. No entanto, como apresentado na Tabela 2, os resultados foram obtidos a partir do tratamento em fervura; dessa forma, é de suma importância a observação e o uso da Tabela 2 para a utilização desse e dos demais produtos aqui apresentados. Após a maceração, ainda persistiu grande quantidade de tecidos, porém as peças que passaram pelo processo de fervura apresentaram a retirada total de nervos, músculos, ligamentos e gordura, com resultado satisfatório na qualidade das peças, inclusive no que se refere à facilitação em relação aos posteriores processos de clareamento. Embora esse produto tenha custo elevado em relação aos demais, as peças apresentaram resultado excelente para quase todos os critérios avaliados. Com isso, pode-se recomendar esse produto para uso em laboratórios que demandem rapidez e para os quais recursos financeiros não sejam fator limitante.

Outra vantagem considerável do uso de peróxido de hidrogênio é a possibilidade de realizar a fervura assistida, permitindo a retirada da peça em diferentes estágios de remoção de tecidos. Um bom exemplo da aplicação dessa técnica foi a obtenção de uma coluna vertebral de Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) completamente articulada e livre de músculos

e gordura. Neste procedimento, peças menores, como costelas, sofreram desarticulação indicando a necessidade de manipulação dos esqueletos durante a fervura, mantendo submersas apenas as partes que ainda não atingiram o estágio de remoção de tecidos desejado. Com esses resultados, o uso dessa solução foi classificado, de acordo com a Tabela 2, como a segunda melhor solução a ser utilizada para maceração.

Muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidades suficientes para serem utilizadas para as mais variadas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais (Balandrin *et al.*, 1985), como, por exemplo, o uso dos sucos de abacaxi ou de casca de mamão para maceração. Além da aplicabilidade, estes produtos naturais apresentam a vantagem de serem completamente atóxicos e de não produzirem resíduos que ofereçam riscos ao meio ambiente.

A utilização da solução de papaína comercial, indicada por Rodrigues (1973), apresenta custo relativamente alto; neste, no entanto, foi utilizado um produto extraído dos próprios frutos de mamoeiro (*Carica papaya*). Foram observados resultados distintos nas condições aqui testadas. As peças que estavam em repouso apresentaram resultado insatisfatório e, após terem ficado expostas ao produto por dois dias, ainda apresentaram grande quantidade de nervos, músculos, ligamento e gordura, para todas as condições de pH testadas. As peças tratadas com a solução em fervura revelaram resultados satisfatórios, apresentando remoção total dos nervos, ligamentos, músculos e gordura. O tempo de preparo foi considerado bom, em relação à maioria dos outros produtos testados.

Outro produto testado extraído de plantas foi o suco de abacaxi (*Ananas comosus*). As peças que foram colocadas em suco puro e ficaram em repouso por sete dias apresentaram excessiva descalcificação, perderam rigidez e adquiriram aspecto cartilaginoso. No segundo teste, as peças ósseas ficaram expostas ao produto por apenas um dia; após a retirada, pode-se constatar que a peça ainda apresentava grande quantidade de nervos, músculos, ligamentos e gordura. Com isso, para esses dois testes, o resultado foi insatisfatório para utilização desse produto na maceração de esqueletos. No teste realizado com o produto diluído em água, nas três condições de pH, e levado para fervura, pode-se observar resultado satisfatório, apresentando remoção total de tecidos moles sem ocorrência de desgaste ósseo. O produto apresentou bom tempo de preparo, pois alguns minutos de fervura foram suficientes para que as peças ficassem prontas para o clareamento. Com

esses resultados, os produtos naturais aqui testados foram classificados como segundo melhor produto para maceração, e pode-se constatar a eficiência de produtos naturais com baixo custo para maceração de esqueletos, porém é recomendado observar as formas de utilização dos mesmos para melhor aplicá-los.

Os produtos Intercapt e Solupan apresentam grande poder de reação química pelas suas composições, por isso foram preparadas diluições maiores em relação ao ácido muriático para minimizar o risco de danos às peças, como ocorreu com este último (ver resultados). Para as peças deixadas em repouso por dois dias, constatou-se que ainda apresentavam grande quantidade de tecidos, portanto, nessas condições de preparo, os produtos mostraram-se insatisfatórios para o uso em maceração. No entanto, também foram testados em fervura e, nesta condição, houve intensa destruição de proteínas, mostrando-se eficientes para a remoção da musculatura; apenas o Solupan, porém, apresentou a retirada total dos nervos, ligamentos e gordura, enquanto o Intercapt revelou resultado insatisfatório mesmo em fervura. Com esses resultados, pela Tabela 2, observa-se que os dois produtos se encontram em posições distintas de classificação: o Intercapt apareceu como um dos menos recomendados para a utilização na maceração, juntamente com o ácido muriático e a água amoniacal, enquanto o Solopan aparece na terceira posição e é considerado produto eficaz para maceração.

O hipoclorito de sódio foi utilizado em peças de aves e de mamíferos, as quais foram fervidas por um curto período de tempo e/ou expostas por um tempo em repouso. Resultados distintos para ambas as classes de vertebrados foram observados, com avaliação satisfatória para as peças de mamíferos que passaram tanto pelo processo de fervura quanto pelo de repouso. Em contrapartida, as peças de aves tratadas nas mesmas condições apresentaram excelente retirada de tecidos moles, mas também grande desgaste ósseo. Isso pode estar relacionado ao fato de que ossos de aves apresentam um tecido ósseo esponjoso, mais sensível que o compacto (Didio, 1974). Pode-se constatar que a utilização desta técnica não é recomendada para essa classe de vertebrados, sendo classificado como insatisfatório o uso do produto nestas condições para o preparo de ossos de aves. No entanto, recomenda-se o uso do produto na diluição proposta por Rodrigues (1973), a 2%, evitando-se, assim, a danificação das peças, principalmente de aves. Nestas condições, essa solução aparece como terceira melhor na

classificação dos resultados; porém, se for utilizada a solução na concentração recomendada pelo autor, a mesma pode obter melhor classificação entre os produtos testados.

Na solução de água amoniacal na concentração de 1%, nas condições tanto de fervura como de repouso, pode-se observar resultado satisfatório, com boa remoção de tecidos moles e sem marcas de desgaste ósseo. O tempo de preparo foi considerado excelente e, com isso, a solução apresentou resultado final satisfatório quando comparada aos outros produtos. Dessa forma, aparece no *ranking* de classificação como terceira melhor solução a ser utilizada na maceração de esqueletos. A observação dos resultados indicou que esta técnica é recomendada especialmente para esqueletos de médio porte.

O amaciante de carne, facilmente encontrado em mercados, apresenta a papaína em sua composição e pode ser comparado com o uso do suco de mamão. Resultados distintos foram observados para as peças que estavam em repouso e em fervura. Quanto às primeiras, grande quantidade de nervos e músculos foi mantida, tornando inviável a sua utilização. Neste processo, a solução preparada com o produto foi classificada como insatisfatória independentemente das condições de pH que foram testadas. As peças que passaram pelo processo de fervura apresentaram boa remoção de tecidos sem ocorrência de desgaste ósseo; para estas condições, o produto foi classificado como satisfatório e como o quarto melhor na classificação geral dos produtos. Assim, mais uma vez pode ser observado que novos produtos podem ser utilizados para maceração de peças ósseas, enfatizando uma atenção maior nos métodos de preparo para aquisições de boas peças.

Para pequenos animais, pela fragilidade dos ossos, muitas vezes é necessário uso de técnicas específicas de maceração, limpeza e clareamento, recomendando-se a utilização de álcool diluído a 40% (Estado de São Paulo, 1967). No experimento com este produto, utilizaram-se esqueletos de passeriformes e não foram avaliadas as variações de pH. Após o tratamento, pode-se observar que as peças apresentavam pequenas quantidades de nervos, músculos e ligamentos. Elas permaneceram um dia em água para a retirada do restante dos tecidos, embora tenha sido necessário, ainda, o tempo sobressalente de um dia para complementar o tratamento para que o resultado fosse considerado satisfatório. Entretanto, foi necessária maior atenção por se tratarem de peças de pequeno porte, pois algumas podem, ao final do tratamento, apresentar resultado de articulação completa, se isso for desejado.

Dentre os produtos químicos utilizados, a solução amoniacal a 5%, testada em fervura nas três condições de pH, apresentou boa retirada de músculos, nervos, ligamentos e gordura; em contrapartida, apresentou desgaste ósseo considerável, tanto em fervura como em repouso por três dias. Isso aconteceu tanto para ossos de aves como de mamíferos, sendo, assim, considerada insatisfatória. De acordo com os critérios de avaliação, apresenta-se como uma das piores soluções para maceração, ficando na sexta posição.

Embora tenha a desvantagem de destruir ossos pequenos, principalmente ossos de crânio, o uso de ácido muriático como alternativo de maceração química apresenta a vantagem da rapidez no preparo do esqueleto (Rodrigues, 1973). Este ácido não foi testado em fervura pelo seu grande poder de reação química. A solução resultante revelou resultado insatisfatório, independentemente do tempo que as peças ficaram em exposição à solução. As peças apresentaram intensa descalcificação óssea em suas extremidades, as quais se tornaram amolecidas, com aspecto de cartilagem, provavelmente pela perda excessiva de material mineral; com isso, foi umas das piores soluções, a sexta a ser utilizada nos processos de maceração, de acordo com o critério de avaliação e as condições aqui apresentados.

Conclusão

Em síntese, alguns produtos foram equivalentes no *ranking* de classificação, ficando a critério de cada laboratório qual das soluções deva ser utilizada. Com esses resultados, para laboratórios que mantêm atividade constante de maceração, para os quais os recursos financeiros sejam escassos e o tempo de preparado não seja problema, é recomendada utilização da água, que apresentou o melhor resultado entre todos os produtos testados. Entretanto, para laboratórios que necessitam da aquisição de peças com uma maior rapidez e apresentam melhor condição financeira, recomenda-se a utilização do peróxido de hidrogênio, que também apresentou excelente resultado para a maceração de peças ósseas. Por outro lado, os produtos menos viáveis foram o ácido muriático, água amoniacal 5% e o Intercapt, nas concentrações aqui utilizadas, pelo grande prejuízo que os mesmos trouxeram às estruturas das peças.

Agradecimentos

Agradecemos à Faculdade de Apucarana (FAP) pelo aporte logístico para o desenvolvimento do experimento, aos estagiários do laboratório de

Zoologia da FAP que ajudaram no descarte dos cadáveres, ao Prof. M.Sc. Edson Scolin pela avaliação das peças anatômicas, à Inpacel e aos moradores do entorno da FAP pela doação dos cadáveres utilizados, à mestrandia Solana M. Boschilia pela revisão do abstract, ao mestrando Roger P. Mormul pela ajuda na confecção e análise crítica da Figura 1 e à doutoranda Priscilla Carvalho pelas valiosas sugestões ao manuscrito, todos do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA/Nupélia) da Universidade Estadual de Maringá.

Referências

- ALVARENGA, H. Coleções osteológicas: perspectivas para a ornitologia no Brasil. *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi, Zool.*, Belém, v. 8, n. 1, p. 247-257, 1992.
- AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M.D.G. *Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos*. São Paulo: Aruja: Instituto Pau-Brasil de História Natural, 2002.
- BALANDRIN, M.F. *et al.* Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*, Washington, D.C., v. 228, n. 4704, p. 1154-1160, 1985.
- BAKER, P. *et al.* On preparing animal skeletons: a simple and effective method. *International Council for Archaeozoology*, México, v. 4, n. 1, p. 4-15, 2003.
- BEMVENUTI, M.A. Comparative osteology among the species of silverside *Odontesthes Evermanni* & Kendall (*Osteichthyes, Atherinopsidae*) in the Patos-Mirim lagoons systems, in the Southern of Brazil. *Rev. Bras. Zool.*, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 293-305, 2005.
- BRANDÃO, C.V.S. *et al.* Substituição do ligamento da cabeça do fêmur com auto-enxerto de fásia lata na luxação coxofemoral em cães. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 275-280, 2002.
- CAMPOS, D.B. *et al.* Biometria do osso do pênis em correlação com a da coluna vertebral em cães (*Canis familiaris*) sem raça definida. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 18, n. 1, p. 85-92, 2002.
- CORNÉLIO, M.O.V. *Tratamento de ossos de boi para artesanato*. Minas Gerais: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, 2007.
- DAVIS, S.J.M.; PAYNE, S. 101 modos de tratar um erizo muerto: notas sobre la preparación de esqueletos desarticulados para uso zooarqueológico. *Archaeofauna*, México, v. 12, n. 618, p. 203-211, 2003.
- DIDIO, L.J.A. *Sinopse de anatomia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1974.
- ESTADO DE SÃO PAULO. Departamento de Zoologia. *Manual de coleta e preservação de animais terrestres e de água doce*. São Paulo: Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, 1967.
- FRANCO, T.C.B. *et al.* Utilização de larvas de coleópteros (Dermestídeos) na preparação de material osteológico. *Arqueologia em Conexão*, Rio de Janeiro,

n. 7, set., 2001.

HILDEBRAND, M. *Anatomical preparations*. Berkeley: University of California Press, 1968.

HILDEBRAND, M.; GOSLOW, J.R. *Análise da estrutura dos vertebrados*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

KAWAMOTO, H.S. et al. Confecção da coleção osteológica de referência (Mastofauna e Ictiofauna) para aplicação de zooarqueológicos em Mato Grosso de Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 58., 2006, Florianópolis. *Anais...* São Paulo: SBPC/UFSC, 2006. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/58ra>>.

LADEIRA, L.M.C.E.B.; HÖFLING, E. Osteologia craniana de Bucconidae. *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi Zool.*, Belém, v. 2, n. 1, p. 117-153, 2007.

MAIORANA, V.C.; VALEN, V.M.L. Terrestrial isotops for preparing delicate vertebrate skeletons. *Syst. Zool.*, Washington, D.C., v. 34, n. 2, p. 242-245, 1985.

MATTHIENSEN, D.G. La curación de las colecciones osteológicas de aves. In: ESCALANTE-PLIEGO, P. (Ed.) *Curación moderna de colecciones ornitológicas*. Washington, D.C.: American Ornithological Union, 1993. p. 41-68.

MENDÉZ, A.C.; HÖFLING, E. Osteologia craniana de

Cerylinae (Coraciiformes: Alcedinidae). *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi, Zool.*, Belém, v. 2, n. 1, p. 155-182, 2007.

NUNES, P.V.; PERÔNCIO, C. Implantação e proposta de informatização da coleção osteológica de referência do laboratório de zoologia e anatomia comparada do Unileste, MG. 2003. Disponível em: <http://www.unileste-mg.br/revistaonline/volumes/02/downloads/artigo_19.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2008.

PACHECO, M.L.A.F. et al. Confecção de coleção osteológica de referência e sua aplicação em análises de vestígios faunísticos resgatados no sítio arqueológico Maracaju-1, Maracaju, MS. *Canindé - Revista do Museu de Arqueologia de Xingó*, Xingó, v. 6, n. 6, p. 85-114, 2005.

PACKARD, A. Preparation of skeletons by marine animals. *Tuatara: Journal of the Biological Society*, Wellington, v. 7, n. 3, p. 120, 1959.

RODRIGUES, H. *Técnicas anatômicas*. Juiz de Fora: Unijui, 1973.

Received on October 02, 2007.

Accepted on July 04, 2008.