

ASPECTOS ARQUEOMÉTRICOS EN RESTOS ÓSEOS ENSAYO METODOLÓGICO

Gianni Gallelo

ABSTRACT

The purpose of this work is the presentation of the main results of a methodological palaeodiet test through trace elements analysis in skeletal remains. The method used to analyze the bone samples is Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). This research takes into account diagenic factors applying a method of control for a better reading of the results. The data obtained show trace elements values indicators of a vegetable diet and trace elements values indicators of a meat diet related with contaminated factors which take part *post-mortem*.

KEY WORDS: *Archaeometry, palaeodiet, trace elements, diagenesis.*

INTRODUCCIÓN

En este artículo se presenta un ensayo metodológico para los análisis de los elementos traza en restos óseos, posibles indicadores de dieta teniendo en cuenta el proceso de diagénesis.

El estudio de los elementos traza presenta problemas teóricos y dificultades en el momento de interpretar los resultados. El problema más importante se debe a las contaminaciones diagénicas. La diagénesis es un fenómeno de consolidación y tal vez de transformación parcial que acarrea una compactación, cementación y puede que una recristalización parcial de los sedimentos presentes en el hueso enterrado causando así una alteración o contaminación de los resultados en las muestras analizadas (Lambert 1985). Los procesos diagénicos, se activan mediante varios fenómenos de cementación, regeneración cristalina, desmineralización y sustitución de minerales presentes, favorecidos por la presión de cargas de los mismos sedimentos, por variación de grado de humedad y temperatura y por algunas características conexas con la composición originaria de los sedimentos.

La modificación de la estructura física del hueso obedece a los cambios químicos en los componentes orgánicos e inorgánicos del hueso. Las alteraciones químicas son muy comunes y no es posible visualizarlas por completo. El comportamiento diagénico de cada elemento es único y depende del hueso y de las características del suelo por esto aún no existe una regla general aplicable a todos los yacimientos.

Partiendo de estas premisas planteamos, para una correcta interpretación de los resultados, el estudio del comportamiento diagénico a través de las determinaciones de elementos metálicos por espectrometría atómica de emisión en plasma (ICP OES). Las muestras analizadas han sido tomadas desde un fémur de una mujer de época medieval hallada en la excavación del Fossar (Gandia). Las muestras tomadas pertenecen a diferentes sectores de la diáfisis femoral (hueso compacto), con el objetivo de poder observar eventuales variabilidades y susceptibilidades de los elementos traza dis-

tribuidos entre las diferentes áreas del hueso largo de un mismo individuo (intra-individual), causados en vida por factores metabólicos, pero en periodo *post-mortem* son consecuencias de los factores diagénicos (Francalacci 1990). El protocolo comprende también la toma de muestras de tierra para relacionar los valores de los elementos traza en el hueso con los valores presentes en el terreno y averiguar si hay diferencias substanciales, que ayudarían a la correcta interpretación del grado de diagénesis presente en el hueso.

METODOLOGÍA

La instrumentación utilizada para la realización de estos análisis ha sido la espectrometría de emisión en plasma (ICP OES). Es una técnica de espectrometría óptica, porque se utilizan los espectros específicos de cada elemento para su identificación y determinación. Los espectros de emisión por cada elemento, están constituidos por líneas discretas a valores de longitud de onda muy definidas y se obtienen en fase gaseosa a elevada temperatura en un plasma de argón. La muestra se inyecta en fase líquida y se mide la intensidad de luz emitida a las diferentes longitudes de onda emitidos por cada elemento; es por tanto una técnica que permite analizar simultáneamente un conjunto elevado de elementos. Las muestras (M) han sido tomadas en diferentes partes del fémur: La M1 en la diáfisis proximal por debajo del trocánter menor, la M2 en la diáfisis medial, la M3 parte de la diáfisis medio distal, MF son los restos de la diáfisis que quedaba de los muestreos anteriores, M4 tierra recogida en la parte interna de la diáfisis durante el muestreo de las M1, M2, M3. La MT es una mezcla de tierra que quedaba durante el muestreo de la MF más las partículas acumuladas durante la toma y la limpieza con el bisturí de la misma. Todas las muestras han sido analizadas por duplicado, esto nos asegura una mayor exactitud de los resultados durante la lectura del ICP OES y también mayor seguridad en caso de pérdida accidental de las muestras durante el proceso de análisis en el laboratorio. Los pasos a

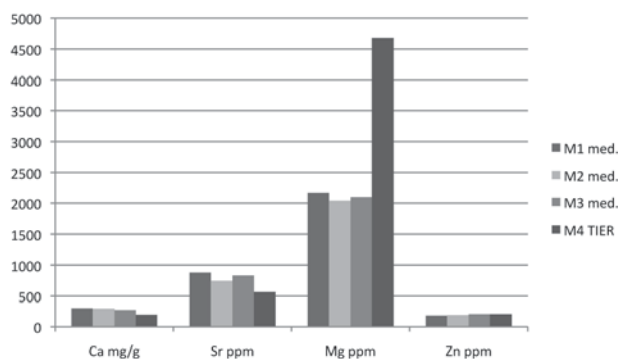


Fig. 1. Histograma, relación medias valores elementos de las muestras M1 med. (M1/M1b), M2 med. (M2/M2b), M3 med. (M3/M3b) y M4 TIER (tierra).

través de los cuales se ha llegado a la lectura de los elementos traza son comunes para todos los métodos de investigación de Paleodieta, de todos modos ha habido algunos cambios en comparación con los trabajos anteriores (Gallelo 2003; 2008) en el proceso de preparación de las muestras y elaboración del calibrado con cuidado particular en los factores contaminantes en el sentido de higiene de laboratorio, control de lectura y corrección de datos.

La metodología aplicada para la preparación de las muestras sigue las presentes pautas, comenzando por la limpieza mecánica de la capa superficial del hueso por medio de un bisturí. Después de la primera pesada de las muestras se hace un lavado con agua pura en baño en ultrasonido durante 45 min. Siguiendo el proceso de desecación e incineración en mufla. Con el siguiente programa de rampas: I 30 min a 150°C; II subir 1°/min hasta alcanzar 450°C; III 8 horas a 450°C; IV bajada a 30°C. Sigue una segunda pesada de las muestras y pulverización de las mismas con mortero de cristal. Tercera pesada posterior a la pulverización.

El proceso de digestión empieza tomando aproximadamente "0,5" g en balanza analítica de las muestras: M1-M1b; M2-M2b; M3-M3b; M4; MF-MFb; MT-MTb.

El ataque con ácidos se ha efectuado con 1,5 ml HNO₃ y 1,5 ml HCl en "tubos largos y estrechos de cristal" calentados en placa calefactora con los dos blancos, a 100°C durante 40 min.

Posteriormente la disolución digerida de cada muestra se vierte cuidadosamente en tubos de plástico de 15 ml, y se lleva a 15 ml con agua purificada. Esta dilución (A), más concentrada, nos ha servido para medir elementos traza como Zn, Cu, Pb, Cd, V, Mn. Para medir Mg y Sr se toman 2 ml de la muestra (A) añadiendo 1,5 ml HNO₃ y 1,5 ml HCl llevando otra vez a volumen con agua purificada a 15 ml obteniendo así una nueva dilución (B). Cogiendo 0,2 ml de la (B) y añadiendo 5 ml HNO₃ y 5 ml HCl y llevando a volumen a 50 ml se obtiene la concentración (C) para leer el Ca.

Para la preparación del patrón se ha utilizado un aforado de 100 ml, tomando 10 ml de cada patrón estándar de metal (Ca; Mg; Sr; Cu; Zn; Pb; Mn; Cd; V) y llevando a volumen hasta a 100 ml con agua purificada. Por la preparación del calibra-

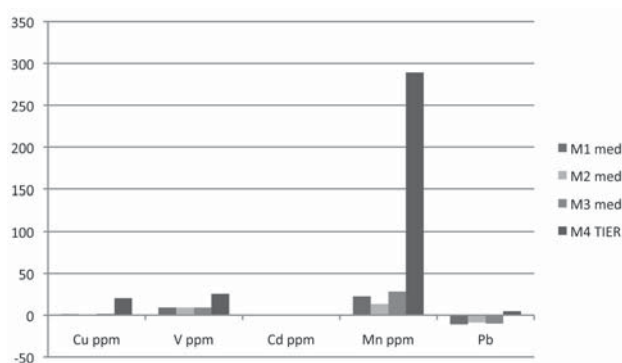


Fig. 2. Histograma, relación medias valores elementos de las muestras M1 med. (M1/M1b), M2 med. (M2/M2b), M3 med. (M3/M3b) y M4 TIER (tierra).

do se han empleado aforados de 50 ml a los que se han añadido 5 ml HNO₃, 5 ml HCl y las ml correspondientes del patrón concentrado, llevándolo a un volumen de 50 ml con agua pura. Se ha empleado el siguiente rango de concentración: 0 blanco; 0,05; 0,1; 0,25; 0,50; 1; 2,5; 5; 10; 15 ml. Ajustado en ppm se ha obtenido el siguiente calibrado: blanco; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 30.

RESULTADOS OBTENIDOS

Después de haber preparado las muestras como se ha descrito en la metodología, se ha realizado la lectura en ICP óptico y ha generado los datos reportados en las figuras 3 y 4. Para poder realizar la comparación entre patrones y muestras, las unidades de medida han sido µg/g (partes por millón) excepto para el Calcio que se expresa en mg/g.

El cálculo para la transformación de las concentraciones determinadas en µg/g de muestras varía dependiendo de cada elemento, ya que la dilución no ha sido la misma para cada uno de los elementos. Las figuras 3 y 4 expresan los valores absolutos obtenidos en las muestras analizadas, apreciada en mg/g en el caso del Calcio y µg/g para el Estroncio, Magnesio, Zinc, Cobre, Vanadio, Cadmio, Manganeso y Plomo.

ELABORACIÓN DE LOS DATOS

EL CALCIO

Para este elemento se ha operado restando a la señal de la muestra la ordenada en el origen de la recta de calibrado, el resultado se ha dividido por la pendiente de la misma recta determinando la concentración de la disolución diluida, este valor se ha multiplicando por 15/0,2 como corresponde a la dilución de 0,2 ml llevado a 15 ml, y se vuelve a multiplicar por 50/0,5, por la dilución de 0,5 de muestra disuelta en 50 ml. Los resultados obtenidos han sido ulteriormente divididos por 1000, ya que este es el único elemento que se expresa en mg/g y no en µg/g.

EL ESTRONCIO

El procedimiento matemático da seguir para el Estroncio es el mismo descrito para el Calcio, se modifica solamente el

Muestras	Ca mg/g	Sr ppm	Mg ppm	Zn ppm	Cu ppm
M1	302,22	910,88	2164,7	184,1	1,22
M1b	300,95	847,79	2170,32	179,21	1,42
M2	305,69	782,43	2161,07	179,09	0,52
M2b	277,35	710,04	1920,22	202,22	0,43
M3	267,94	800,26	2133,9	197,61	1,79
M3b	268,01	860,89	2056,93	208,77	1,44
M4	191,9	564,91	4682,92	207,66	20,14
MF	292,67	803,34	2171,37	-	-
MFb	277,4	763,7	2065,32	192,59	1,61
MT	287,56	787,77	2393,09	278,85	7,77
MTb	265,42	697,44	2139,93	303,83	8,86

Fig. 3. Valores de los elementos en las muestras analizadas.

valor de la dilución, que en este caso es 15/2 multiplicado por 15/0,5.

EL MAGNESIO

Se aplica el mismo procedimiento que el utilizado para el Estroncio.

ZINC, COBRE, VANADIO, CADMIO, MANGANESO, PLOMO

El procedimiento es el mismo que el descrito por los elementos anteriores, con la diferencia de que tratándose de elementos metálicos traza, no se ha efectuado ninguna dilución: el valor en concentración diluida obtenido ha sido solamente multiplicado por 15, el volumen de la probeta está dividido por 0,5, el peso en gramos de la muestra recogida.

Las figuras 3 y 4 evidencian como los valores absolutos del Calcio (Ca mg/g), Estroncio (Sr ppm), Magnesio (Mg ppm), Zinc (Zn ppm), Cobre (Cu ppm), Vanadio (V ppm), Cadmio (Cd ppm), Manganeso (Mn ppm), Plomo (Pb ppm) permanecen constantes entre las muestras M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MFb y MF de esta última solamente el Ca, Sr y Mg han sido analizados, no tenemos los resultados de los demás elementos por algunos problemas surgidos durante la preparación de las muestras. Las diferencias de valores destacan relacionando la M4 (tierra en el hueso), donde los valores de Ca y Sr son inferiores mientras Mg, Cu, V, Mn, Pb son superiores, a las muestras citadas anteriormente (M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MF, MFb). En los resultados del Zn y el Cd no se aprecian diferencias entre la M4 y las muestras M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MFb, MF y MT, MTb, esto podría ser consecuencia de factores diagénicos. En el caso del Zn la MT y MTb (mezcla de tierra y hueso) mantienen los valores más elevados de este elemento, se desconoce por el momento la posible causa de este comportamiento. Los valores de Cu, V, Mn de las muestras MT, MTb se quedan en una posición intermedia entre las M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MFb (hueso) y la M4 (tierra), siguiendo así una coherencia en los resultados inesperada.

Observando los resultados de las muestras (figs. 3 y 4) M1-M1b (diáfisis proximal por debajo del trocánter menor), las M2-M2b (diáfisis medial), las M3-M3b (diáfisis medio distal) en la relación de los valores medios de los elementos entre

Muestras	V	Cd	Mn	Pb
M1	9,22	0,43	22,68	-12,55
M1b	9,19	0,15	22,02	-9,15
M2	8,4	0,26	12,46	-7,53
M2b	9,77	0,05	13,88	-10,35
M3	8,93	0,14	27,4	-11,29
M3b	8,99	0,48	28,77	-8,48
M4	25,66	0,51	289,12	4,8
MF	-	-	-	-
MFb	8,77	0,21	34,14	-9,85
MT	12,03	0,44	196,34	-6,68
MTb	11,87	0,72	216,76	-4,06

Fig. 4. Valores de los elementos en las muestras analizadas.

las tres muestras (M1 med., M2 med., M3 med.) no se aprecian cambios significativos (figs. 1 y 2), esto hace pensar que no haya habido diagénesis intra-sectorial o sea variabilidades y susceptibilidades de los elementos traza analizados distribuidos entre las diferentes áreas del fémur objeto de estudio. Relacionando la muestra M4 TIER (figs. 1 y 2) con las otras es evidente la diferencias de los valores de algunos elementos como Ca, Sr, Mg, Cu, V, Mn, Pb, mientras en el caso de Zn y Cd no existe diferencia de valores, a causa probablemente de efectos diagénicos más marcados como dicho anteriormente.

CONCLUSIONES

Los resultados de los análisis efectuados en laboratorio con ICP óptico del Departamento de Química Analítica¹, de la Universidad de Valencia en el Campus de Burjassot han sido satisfactorios.

Como ya se ha explicado en el desarrollo de este trabajo, el estudio de los elementos traza plantea problemas teóricos y dificultades en el momento de interpretar los resultados. El problema más importante viene representado por las contaminaciones diagénicas. Las muestras tomadas pertenecen a diferentes sectores de la diáfisis femoral (hueso compacto), los resultados de las muestras (figs. 3 y 4) M1-M1b (diáfisis proximal por debajo del trocánter menor), las M2-M2b (diáfisis medial), las M3-M3b (diáfisis medio distal) en la relación de los valores medios de los elementos entre las tres muestras (M1 med., M2 med., M3 med.) no se aprecian cambios significativos (figs. 1 y 2), esto hace pensar que no haya habido diagénesis intra-sectorial, o sea variabilidades y susceptibilidades de los elementos traza analizados distribuidos entre las diferentes áreas del fémur objeto de estudio. Las diferencias de valores destacan relacionando la M4 (tierra en el hueso), donde los valores de Ca y Sr son inferiores a las muestras de hueso M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MF, MFb mientras Mg, Cu, V, Mn, Pb son superiores a las mismas. En los resultados del Zn y el Cd no se aprecian diferencias entre la M4 y las muestras M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MFb, MF y MT, MTb, esto podría ser consecuencia de factores diagénicos. En el caso del Zn la MT y MTb (mezcla de tierra y hueso) mantienen los valores más elevados de este elemento,

se desconoce por el momento la posible causa de este comportamiento, puede relacionado con el actividad microbiana (Hedges 2002). Los valores de Cu, V, Mn de las muestras MT, MTb se quedan en una posición intermedia entre las M1, M1b, M2, M2b, M3, M3b, MFb (hueso) y la M4 (tierra), siguiendo así una coherencia en lo resultados inesperada, suponemos que este comportamiento sea debido a las bajas concentraciones de estos elementos en el hueso.

En función de la dieta, los datos disponibles nos indican que el Estroncio, considerado por algunos autores estable con leves variaciones (Francalacci 1997), parece presentar un ligero grado de contaminación, teniendo en cuenta que para un mejor control de este elemento no se ha podido efectuar la asociación de los análisis de los huesos humanos a los de los animales especialmente herbívoros, cuya dieta es bien conocida, ya que no se han hallado sus restos en los estratos del yacimiento. El Zinc, que normalmente viene siendo considerado un elemento estable (Francalacci 1997), en este caso se considera altamente diagénico. El Magnesio se presenta elevado en sus valores en la tierra pero más bajo en el hueso posiblemente debido a una pérdida del elemento que desde el hueso se transfiere a la tierra. Los valores de Cobre, Vanadio, Cadmio, Manganeso se presentan muy bajos en el hueso así que no son discriminantes por la dieta, mientras el Plomo es inexistente. En general, los resultados no son fiables para la identificación de la dieta tomando en consideración que no se ha seguido por completo el protocolo metodológico (Gallelo 2008). Los datos tienen un interés a nivel de proceso de preparación de las muestras, lectura y verificación de las variabilidades y susceptibilidades de los elementos traza analizados distribuidos entre las diferentes áreas del fémur que como hemos dicho en este caso no se han apreciado.

Se puede solamente observar que los elementos indicados de la dieta a base vegetal como el Estroncio y Magnesio son elevados, el Zinc indicador de alimentos animales se presenta altamente diagénico y los valores del Cobre también indicador de dieta cárnica, son muy bajos. Esto podría indicar un importante consumo de alimentos de base vegetal y un consumo menor de alimentos animales por parte de esta mujer de época medieval hallada en la excavación del Fossar (Gandía).

Estamos convencidos que para mejorar el conocimiento en el campo de la Paleodieta, es necesario actuar con una aplicación metodológica sistemática para el control de los procesos diagénicos y con ensayos de control de este tipo. La posibilidad de actuar de manera sistemática, ayudaría a poner en relación más datos para profundizar sobre las causas y el comportamiento de la contaminación de los restos óseos, mejorando de este modo la fiabilidad de los resultados.

NOTA

1.- Estoy agradecido al Doctor Agustín Pastor García por haber colaborado y apoyado la realización de este trabajo.

AUTOR

Gianni Gallelo

Cursando Postgrado- Doctorado en la Universitat de València, título del proyecto de tesis doctoral: "La paleodieta en poblaciones prehistóricas del mediterráneo occidental". Tesis dirigida por los Doctores Joan Bernabéu Aubán, Agustín Pastor García, y Agustín Díez Castillo. gianga@postal.uv.es

BIBLIOGRAFÍA

- BARTOLI, F. (1995): *La Paleodieta: un'ulteriore informazione sulle abitudini dei gruppi umani antichi*, Miscellanea in Memoria di Giuliano Cremonesi, a cura del Dip. di Scienze Archeologiche dell'Università di Pisa, ETS, Pisa.
- COLLINS, M. J. et al. (2002): The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry* 44, 383-394.
- COMAR, C.L.; RUSSEL, R.S.; WASSERMAN, R.H. (1957): Strontium-calcium movement from soil to man, *Science* 126, 485-492.
- FRANCALACCI, P. (1997): L'analisi chimica dei reperti archeologici, *Quaderni del Civico Museo del finale* 3, 39-43.
- FRANCALACCI, P. (1990): Intra-individual variation of trace element content in different skeletons coming from archaeological sites, *Rivista di Antropologia*, Vol.LXVIII, Roma, 225-230.
- GALLELO, G. (2003): *Aspetti paleonutrizionisti ed economici degli abitanti di Fivizzano: un affresco di una comunità montana del XIV-XV secolo della nostra era*, Pisa, 69-73.
- GALLELO, G. (2008): *Aspectos de Paleodieta en Valencia*. Trabajo Fin de Máster en Patrimonio Cultural, Facultad de Geografía e Historia, Universitat de València, edición 2007-2008, Valencia.
- GILBERT, R. J. Jr. (1985): Stress, paleonutritional and trace elements, Gilbert and Mielke (eds.): *The Analysis of prehistoric diets*. Academic Press, Orlando.
- HANCOCK, R. G. V. (1989): The abuse of bone analyses for archaeological dietary studies, *Archaeometry* 31, 169-179.
- HEDGES, R. E. M. (2002): Bone diagenesis: an overview of processes, *Archaeometry* 44, 319-328.
- KLEPINGER, L.L. (1984): Nutritional assessment from bone, *Annual review of anthropology* 13.
- LAMBERT, J.B. (1985): Bone diagenesis and dietary analysis, *J. of the Human Evolution* 14.
- NOLASCO, M. (1994): Comida: ¿alimento o cultura?, En *Sociedad, Economía y Cultura Alimentaria*, Shoko Doode M. y Emma Paulina Pérez (comps.), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. y Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social, México, 399-407.
- PALACIOS, M.; ROMÁN, R. (1994): Algunas reflexiones sobre estudios de patrones alimentarios y su relación con la salud, En *Sociedad, Economía y Cultura Alimentaria*, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. y Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social, México, 329- 34.
- SILLEN, A. (1989): Diagenesis of the inorganic phase of cortical bone, *The Chemistry of Prehistoric Bone*, T.D. Price (ed.), Cambridge University Press, 211-229.
- SUBIRA, M.E.; FRANCALACCI, P.; MALGOSA, A.; BORGOGNINI, S. (1991): Reproducción y fiabilidad del análisis de elementos traza. Datos preliminares, *Nuevas Perspectivas en Antropología*, Granada, 995-1003.