

GIANNI GALLELLO, SILVIA SCOPA, JULIA KULIGOWSKI, FULVIO BARTOLI,
FRANCESCO MALLEGGNI, AGUSTÍN PASTOR

VARIACIÓN QUÍMICA INTRAESQUELÉTICA RELACIONADA CON LA DIAGÉNESIS EN LOS RESTOS ÓSEOS DE c/ EN GIL (VALENCIA)

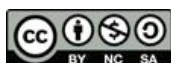
El objetivo de este estudio ha sido definir una estrategia metodológica para una correcta selección de muestras de huesos inhumados (fémures y costillas) menos afectados por los procesos diagenéticos, determinando los contenidos de elementos mayoritarios, traza y tierras raras (Rear Earth Elements “REEs”) a través del análisis de espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Por primera vez se han empleado las REEs como barómetro de evaluación de impacto de los procesos diagenéticos en huesos arqueológicos. Una atenta selección de las muestras es determinante para que los análisis químicos puedan contribuir correctamente a una reconstrucción de la alimentación, las dinámicas de desplazamiento y las enfermedades de las poblaciones antiguas. Las muestras analizadas pertenecen a 8 individuos hallados en la necrópolis tardo-antigua de c/En Gil situada en la zona céntrica de la ciudad de Valencia. Es necesaria una toma de muestras que tenga en cuenta los diferentes grupos esqueléticos, junto con el control del ambiente tafonómico. El Análisis de los Componentes Principales (PCA) se ha empleado para facilitar la interpretación de los resultados. Las relaciones Zn/Ca y Sr/Ca ponen en evidencia que la interpretación de la dieta puede cambiar dependiendo de la clase de hueso que se toma en consideración.

Palabras clave: tierras raras (REEs), diagénesis, paleodieta, intraesqueleto.

INTRASKELETAL CHEMICAL VARIATION RELATED TO DIAGENETIC PROCESSES: A LATE ROMAN NECROPOLIS CASE

The aim of the present study was to define a methodological strategy for understanding how post-mortem degradation in bones caused by the environment affects different skeletal parts and for selecting better preserved bone samples employing rare earth elements (REEs) analysis and multivariate statistics. It is the first time that REEs are used to evaluate diagenesis impact in archaeological bones. To test our methodological proposal the samples selected belong to adult and young individuals and were obtained from the late-ancient roman necropolis of the c/En Gil (35 samples), located in the downtown area of Valencia City. Therefore, a method for the determination of major elements, trace elements and REEs in bone remains has been developed employing Inductively-Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). Bone samples, mainly rib and femur, from 8 individuals have been studied. Principal Component Analysis (PCA) was employed to facilitate the interpretation of the results. Zn/Ca and Sr/Ca parameters show that diet profiles of a population could change depending on the class of bones analyzed.

Key words: Rare earth elements, diagenesis, paleodiet, intraskeleton.



En las últimas décadas ha habido un consistente esfuerzo por parte de los investigadores en conocer y determinar el intercambio de los elementos químicos entre los huesos enterrados y el ambiente que les rodea desencadenado por los procesos diagenéticos. La estructura y composición química de los huesos puede ser modificada *post-mortem* durante el periodo de enterramiento por muchos factores naturales. Las alteraciones en los huesos ocurren a causa de los procesos naturales (erosión, disolución, precipitación, ataque microbiano, sustitución mineral y iónica, recristalización e intercambio isotópico), cuando uno o más de estos factores naturales intervienen, comúnmente se habla de procesos diagenéticos. Diferentes autores han tratado de averiguar el alcance de estos procesos (Collins *et al.* 2002; Hedges 2002; Hinz y Kohn 2010; Lambert *et al.* 1985, 1991; Nielsen-Marsh y Hedges 1999; Pate *et al.* 1991; Person *et al.* 1995, 1996; Reiche *et al.* 1999, 2003; Schmidt y Schultz 1999; Surovell y Stiner 2001; Trueman *et al.* 2004; Tuross *et al.* 1989; Tütken y Vennemann 2011; Zapata *et al.* 2006). En los últimos años el desarrollo de las metodologías de control de los procesos diagenéticos ha llevado al empleo del análisis de tierras raras (REEs). Algunos autores (Domingo *et al.* 2009; Kohn 2008; Trueman *et al.* 2008) han experimentado que las tierras raras son indicadores sensibles del ambiente tafonómico. No estando presentes en los tejidos vivos, se incorporan rápidamente *post-mortem* y no están sujetos a un importante fraccionamiento

después de la inicial incorporación en el hueso (Trueman 2004). A pesar de la gran cantidad de trabajos que se han publicado acerca del impacto de los procesos diagenéticos en los huesos y las posibles propuestas metodológicas para controlar estos procesos, todavía no se han encontrado soluciones definitivas. El factor Ca/P ha sido empleado por muchos años como parámetro de control de la diagénesis en huesos, sin embargo en los últimos años algunos autores han puesto en duda su validez (Trueman *et al.* 2008).

Teniendo en cuenta los procesos mencionados que intervienen en los restos óseos durante el periodo *post-mortem*, el objetivo de este estudio ha sido definir una estrategia metodológica para una correcta selección de muestras de huesos inhumados menos afectados por los procesos diagenéticos, determinando los contenidos de elementos mayoritarios, trazas y tierras raras y por primera vez se ha empleado las REEs como barómetro de evaluación del impacto de los procesos diagenéticos en huesos arqueológicos. Una atenta selección de las muestras es determinante para que los análisis químicos puedan contribuir correctamente a una reconstrucción de la alimentación, las dinámicas de desplazamiento y las enfermedades de las poblaciones antiguas.

En este estudio se han analizado 35 muestras de huesos a nivel intrasqueletico, es decir en fémures y costillas de los mismos individuos, junto con las correspondientes capas superficiales y las tierras cercanas a los dos tipos de hueso. Con anterioridad se han realizado estudios

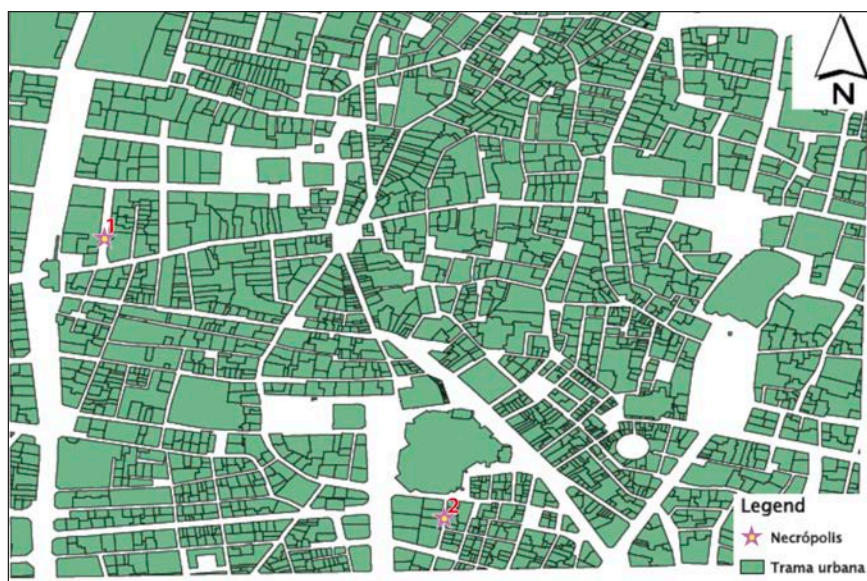


Fig. 1. Trama Urbana parcial de la Ciudad de Valencia. Estrella (1): Necrópolis; Estrella (2): Necrópolis de la c/En Gil.

(Lambert *et al.* 1982) de determinación de elementos mayoritarios, trazas, en fémures y costillas, con el objetivo de valorar la variabilidad y la influencia de la diagénesis. En nuestro caso la determinación de los elementos mayoritarios, trazas y tierras raras (REEs), en los restos esqueléticos se ha llevado a cabo empleando la técnica analítica de espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Determinados los contenidos de los elementos químicos mencionados y en especial modo empleando las REEs para evaluar como el impacto de los procesos diagenéticos afecta a los restos óseos. Las muestras analizadas pertenecen a individuos hallados en las necrópolis tardo-antiguas de c/En Gil situada en la zona céntrica de la ciudad de Valencia (fig. 1). Los resultados obtenidos se han tratado estadísticamente mediante el Análisis de Componentes Principales (Principal Component Analysis: PCA) para poder interpretar correctamente el comportamiento de los elementos y así seleccionar los huesos, que mantienen una composición de elementos químicos menos afectada por la acción de los agentes naturales *post-mortem*, que son los más apropiados para estudios bio-arqueológicos (paleodieta, paleopatología, etc.). Finalmente se han empleado las ratios Zn/Ca y Sr/Ca para reconstruir la dieta y evaluar los errores interpretativos que intervienen en el caso de no considerar los factores diagenéticos utilizando los diferentes grupos de muestras (fémur, costilla, superficie de fémur y costillas).

MATERIAL Y MÉTODO

Los enterramientos de la calle En Gil fueron descubiertos en el 1997 (fig. 2). Los huesos analizados están datados entre los ss. II y V d.C., y pertenecen a ocho individuos que han sido sepultados por inhumación. La mayoría de las tumbas halladas son de cubierta de *tegulae*, en un caso con cubierta de *tegulae* de doble vertiente, una tumba de cista con cubierta mixta, un sepulcro con cubierta de piedra y una tumba con una estructura construida en *opus signium* y *opus cementicium*. Las sepulturas estudiadas son individuales excepto una donde están sepultados dos individuos. La orientación predominante de las tumbas es hacia el O. Según los estudios tafonómicos el proceso de descomposición de los individuos se ha producido dentro de un sudario o algún tipo de tejido que ataba fuertemente el cuerpo. A raíz de esto, los individuos se encontraron en posición *decúbito supino* con las piernas extendidas y juntas. Solamente dos tumbas tenían ajuar, constituidos por piezas de cerámicas de diferente tipología que han permitido situar el intervalo cronológico de la necrópolis (García Prósper *et al.* 1998). Se han muestreado los ocho individuos obteniendo así un total de 35 muestras de hueso cortical. El esqueleto de un adulto está compuesto aproximadamente de un 80% de hueso cortical o compacto y el 20% de hueso trabecular o esponjoso. Huesos diferentes contienen diferentes proporciones de hueso cortical y trabecular. En general el

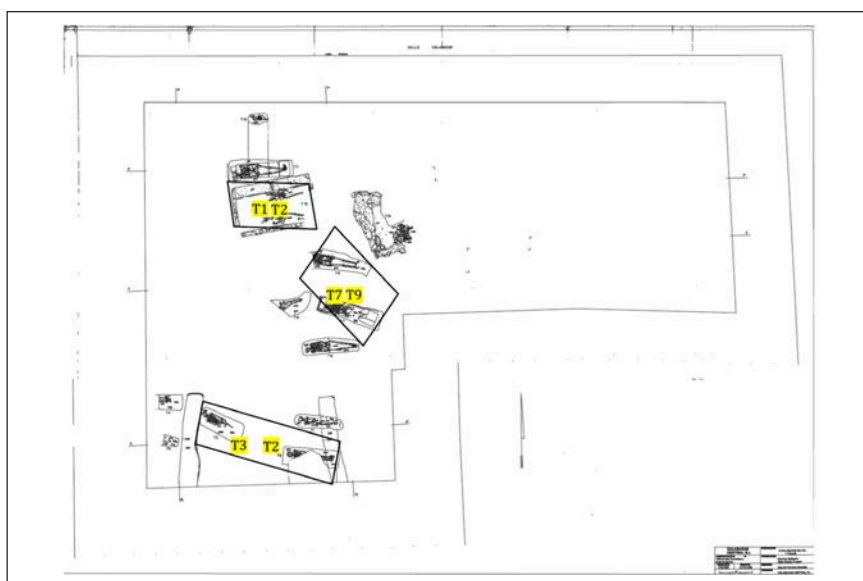


Fig. 2. Plano de la excavación de c/En Gil (García Prósper *et al.* 1998).

GIL	UE	TUMBA	MATERIAL	TIPO
N.2	1309	T.9	HUESO	FEMUR
N.3	1309	T.9	SUELO	FEMUR
N.4	1309	T.9	SUPERF.	FEMUR
N.5	1309	T.9	HUESO	COSTILLA
N.6	1309	T.9	SUELO	COSTILLA
N.7	1309	T.9	SUPERF.	COSTILLA
N.8	1305	T.3	HUESO	FEMUR
N.9	1305	T.3	HUESO	COSTILLA
N.10	1305	T.3	SUPERF.	FEMUR
N.11	1305	T.3	SUELO	FEMUR
N.12	1305	T.3	SUELO	COSTILLA
N.13	1305	T.3	SUELO	COSTILLA
N.14	1305	T.3	SUPERF.	COSTILLA
N.15	1377	T.12	HUESO	FEMUR
N.17	1377	T.12	SUELO	FEMUR
N.18	1377	T.12	SUPERF.	FEMUR
N.16	1377	T.12	HUESO	COSTILLA
N.19	1377	T.12	SUELO	COSTILLA
N.20	1377	T.12	SUPERF.	COSTILLA
N.25	1324	T.7	HUESO	COSTILLA
N.26	1290	T.2	HUESO	COSTILLA
N.27	1388	T.12	HUESO	COSTILLA
N.28	1388	T.12	HUESO	FEMUR
N.29	1324	T.7	HUESO	FEMUR
N.30	1324	T.7	SUELO	COSTILLA
N.32	1324	T.7	SUELO	FEMUR
N.33	1324	T.7	SUPERF.	COSTILLA
N.34	1290	T.2	SUELO	COSTILLA
N.35	1290	T.2	SUPERF.	COSTILLA
N.36	1290	T.2	SUELO	COSTILLA
N.31	1324	T.7	SUPERF.	FEMUR
N.37	1388	T.12	SUPERF.	COSTILLA
N.38	1388	T.12	SUELO	FEMUR
N.39	1388	T.12	SUPERF.	FEMUR
N.40	1388	T.12	SUELO	COSTILLA

Fig. 3. Descripción de las muestras. Número de muestra de la c/ En Gil (GIL), unidad estratigráfica (UE). Número de tumba (TUMBA). Material; parte superficial del hueso (SUPERF.). Tipo de hueso (TIPO).

método de muestreo se ha efectuado, siempre que ha sido posible, tomando varias muestras para cada individuo divididas en: muestras de hueso cortical de fémur y costilla, así como muestras de las capas superficiales, internas y externas, de los huesos (fémur y costilla). Además han

sido analizadas, muestras de tierra directamente en contacto con los huesos. Las muestras de la capa superficial del hueso y los diferentes suelos se analizaron con el fin de detectar diferencias elementales entre el hueso y la superficie de los mismos, inducidas por factores diagénicos.

ANÁLISIS QUÍMICO

Las muestras se tomaron de diferentes huesos de ocho individuos de la necrópolis de la c/En Gil (García Prósper *et al.* 1998). De las 35 muestras analizadas se han obtenido seis de fémur, cinco de costilla, cinco de la parte superficial del fémur, seis de la parte superficial de la costilla, cinco de suelo directamente a contacto con el fémur y ocho del suelo directamente en contacto con la costilla. Las partes superficiales de los huesos han sido obtenidas rascando con un bisturí las partes internas y externas del primer milímetro de hueso cortical. La figura 3 muestra los distintos tipos de muestras con números de unidad estratigráfica (cada unidad estratigráfica corresponde a un individuo) y número de tumba.

Para poder ser medido en el ICP-OES las muestras de hueso y tierra han sido preparadas siguiendo el protocolo empleado por Gallello *et al.* (2013) que consta de varias etapas. Primero, las muestras han sido mineralizadas en una mufla con el siguiente programa de rampas: I) 30 min a 150 °C; II) 10 min subiendo hasta 450 °C; III) 24h a 450 °C; IV) volviendo a 30 °C en 20 min. Sucesivamente, las muestras han sido pulverizadas y homogenizadas con un mortero de ágata. El método de digestión y la dilución desde la digestión principal ha sido desarrollado para obtener reproducibilidad y permitir la comparación de los resultados (compatiblemente con la sensibilidad del método analítico). El método de digestión ha consistido en añadir 1.5 ml de HCl y 1.5 ml de HNO₃ con 0.5 g de muestra (huesos y sedimentos) y dos blancos (muestras sin matriz) que contienen el mismo volumen de ácidos que las otras muestras y se preparan de la misma manera. Los blancos se emplean para determinar posibles contaminaciones de las muestras que se pueden experimentar durante el proceso analítico. Se han empleado tubos de vidrio calentados en baño maría a 100 °C durante 40 minutos para el proceso de digestión. Sucesivamente las soluciones digeridas han sido cuidadosamente trasladadas a tubos de plástico de 15 ml, llevando las disoluciones a un volumen final de 15 ml con agua ultra purificada. Esta solución concentrada (A), ha sido utilizada para medir Zn, Cu,

Ba, V, Mn, Pb, Cd, tierras raras (REEs), Sc y Y. Para la medición de Mg y Sr, la solución (A) ha sido diluida 1:250 obteniendo una solución (B). Otra solución (C) para la medición del Ca se ha obtenido diluyendo la solución (A) 1:2000. La concentración de HCl y HNO₃ se ha mantenido constante en todas las soluciones. Se ha preparado una solución multielemental de 100 µg/mL de Ca, Mg, Sr, Ba, Cu, Zn, Pb, Mn, Cd, V, Sc Y y REEs. A partir de esta disolución de 100 µg/mL utilizando los correspondientes volúmenes, se prepararon los patrones de la curva de calibrado en tubos de plásticos de 50 mL añadiendo 5 ml de HNO₃ y 5 ml de HCl, y llevándolo a volumen final de 50 mL con agua ultra purificada. Para los elementos mayoritarios y elementos trazas ha sido empleado un rango de concentraciones entre 0 a 20 µg/g (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 µg/g). En el caso de los REEs la curva de calibración ha sido entre 0 y 2 µg/ml (0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2) para La, Ce, Pr y Nd, y entre 0 a 0.4 µg/ml (0, 0.002, 0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2, 0.4) para Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Sc y Y. Para evaluar la robustez del método analítico las muestras BONE ASH NIST 1400 (hueso) y GBW07408 (suelo), han sido utilizadas como material certificado. Para el control de la estabilidad del equipo durante las mediciones el renio (Re) se ha empleado como patrón interno. Todos los patrones empleados han sido adquiridos en Sharlab S.L. (Barcelona, Spain). Una vez preparadas las muestras y patrones han sido analizados utilizando un sistema ICP-OES de Perkin Elmer 5300 DV (Norwalk, CT, USA). Se han analizado un total de 28 elementos que incluyen elementos mayoritarios, elementos traza y REEs. Para poder comparar los patrones y las muestras, las unidades de medida son expresadas en µg/g, excepto para el Ca que se expresa en mg/g. El cálculo para la transformación de las concentraciones de las muestras medidas en µg/g y mg/g cambian en función de cada elemento, por lo tanto, la dilución no ha sido la misma para todos los elementos. Las longitudes de onda utilizadas y los límites de cuantificación y R² se pueden observar en la figura 4.

ANÁLISIS DE DATOS

25 variables (Ca, Mg, Sr, Ba, Cu, Zn, V, Mn, Pb, Cd, Cr, Ni, La, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Er, Yb, Lu, Sc, Y y Ce) han sido utilizadas para el análisis estadísticos. Eu, Ho y Tm se situaron por debajo del LOQ en la mayoría de las muestras como se muestra en la figura 5, y por

ELEMENTOS	LONGITUD DE ONDAS [nm]	LOQ	R ²
Ca	317.933	0.07	0.9996
Sr	421.552	0.06	0.9995
Mg	285.213	0.006	0.9999
Zn	206.200	0.04	0.9998
Cu	327.393	0.012	0.9999
Ba	233.527	0.008	0.9999
V	290.880	0.008	0.9999
Mn	257.610	0.015	0.9997
Cd	228.802	0.006	0.9998
Pb	220.353	0.06	0.9996
Cr	267.716	0.007	0.9999
Ni	231.604	0.02	0.9998
La	408.672	0.003	0.9999
Ce	413.764	0.012	0.9995
Pr	390.844	0.005	0.9995
Nd	406.109	0.03	0.9998
Sm	359.260	0.003	0.9994
Eu	382.967	0.0003	0.9996
Gd	342.247	0.0005	0.9995
Tb	350.917	0.003	0.9997
Dy	353.170	0.002	0.9995
Ho	345.600	0.0008	0.9997
Er	337.271	0.002	0.9995
Tm	346.220	0.004	0.9997
Yb	328.937	0.0003	0.9999
Lu	261.542	0.0003	0.9996
Sc	361.383	0.0002	0.9999
Y	371.029	0.0006	0.9999
Re*	197.248		

Fig. 4. Análisis por ICP-OES. Longitudes de onda, Límite de detección (LOQ) y R² de los 28 elementos. LOQ expresado en µg/g en todos los elementos, excepto para Ca (mg/g). *Patrón Interno.

tanto, han sido excluidos del análisis estadístico. El conjunto de datos obtenido para el análisis estadístico contiene 35 muestras y 25 variables.

El análisis multivariante (PCA) suele utilizarse en el estudio de un amplio conjunto de datos, para reducir el número de variables ofreciendo una visión más detallada de la varianza en el conjunto de datos. Antes de crear el modelo los datos han sido autoescalados a través de la substracción del valor medio de cada columna y la división por su desviación estándar. El análisis estadístico multivariante se ha realizado utilizando el PLS Toolbox 6.5 (Eigenvector Research Inc., Wenatchee, WA, USA) ejecutado en Matlab R2010b (Mathworks Inc., Natick, MA, USA).

Elemento	F.	devs. st.	S.F.	devs. st.	C.	devs. st.	S.C.	devs. st.	T.F.	devs. st.	T.C.	devs. st.
Ca	385	23	282	101	349	10	168	46	194	155	123	16
Sr	1132	235	609	229	1176	133	325	45	126	21	114	12
Mg	1276	260	3309	1044	1792	462	5365	321	6049	388	5678	299
Zn	177	47	124	61	212	91	102	57	46	10	42	20
Cu	31	9,4	32	15	46	22	30	9	21	5	18	8
Ba	465	269	644	353	559	201	492	189	86	30	80	38
V	12	5	22	10	16	8	30	6	29	9	23	10
Mn	780	348	606	360	665	576	616	272	309	110	294	135
Cd	0,38	0,3	0,08	0,11	1	0,8	0,11	0,09	0,006	0,001	0,01	0,02
Pb	65	74	63	13	69	58	48	36	22	4	14	8
Cr	21	3	21	9	23	5	32	20	21	6	16	7
Ni	9	2	12	5	8	4	21	11	18	6	14	7
La	1,3	0,33	9	5	4	0,7	11	2	12	3	10	4
Ce	1,2	3	5	5	2,8	3	7	4	7	2	7	4
Pr	LOQ	-	0,9	1,2	LOQ	-	0,7	1	2	2	1	2
Nd	2	2	7	5	3	2	9	3	12	4	10	5
Sm	LOQ	-	0,7	0,6	LOQ	-	2,3	0,14	3	0,5	2,5	1
Eu	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-
Gd	0,9	0,4	3	2	2	0,98	6,4	2	5,5	0,78	5	2
Tb	0,4	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3
Dy	4	2	4	2	4	3	4	1,5	2	0,7	2,2	0,96
Ho	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-
Er	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-
Tm	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-	LOQ	-
Yb	0,2	0,11	0,5	0,3	0,3	0,04	0,6	0,13	0,6	0,2	0,5	0,2
Lu	0,011	0,02	0,19	0,1	0,06	0,02	0,3	0,08	0,37	0,13	0,29	0,15
Sc	0,13	0,1	2	0,8	0,6	0,3	3	0,5	3	0,9	3	1,12
Y	0,378	0,19	8	5	3	0,6	8	2	7	2	6	3

Fig. 5. Concentraciones de los elementos mayoritarios, elementos trazas y tierras raras (REEs) de las muestras y sus desviaciones estándares (dev.st) de los seis grupos. Valores expresados en $\mu\text{g/g}$, Ca en mg/g . Clase de la muestras analizadas; seis fémures (F.), cinco partes superficiales de los fémures (S.F.), cinco costillas (C.), seis partes superficiales de las costillas (S.C.), cinco muestras de tierra a contacto de los fémures (T.F.), ocho muestras de tierras a contacto con las costillas (T.C.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LAS MUESTRAS POR ICP- OES

Las 35 muestras analizadas han sido divididas en grupos (fig. 5): fémur (F.), costilla (C.), capa superficial del fémur (S.F.), capa superficial de la costilla (S.C.), tierra en contacto con el fémur (T.F.), tierra en contacto con la costilla (T.C.). Los promedios de la concentración de cada elemento con su desviación estándar se puede observar en la figura 5. Comparando los valores promedios del grupo C. con los del grupo F. se aprecia una elevada concentración de la mayoría de los elementos en el primer

grupo excepto en el caso de Ca, Mn, Cr, Ni y Tb donde los valores son más elevados en el segundo grupo. En la superficie del fémur (S.F.) las concentraciones de Mg, Cu, Ba, V, Ni, Yb, Lu, Sc e Y son más elevadas que en el grupo fémur (F.). Al contrario los niveles de Mg, Sr, Zn, Mn, Cd y Pb son más bajos en S. F que en F. El grupo S.C. contiene niveles de Mg, V, Cr, Ni, La, Ce, Pr, Nd, Sm y Gd más elevados que el grupo C. Viceversa Ca, Sr, Zn, Cu, Ba, Mn, Cd, Pb, Yb, Lu, Sc e Y se presentan en concentraciones más bajas en S.C. que en C. Observando los valores del grupo S.C. se aprecia que casi todos los elementos contienen niveles más elevados comparados con los del grupo S.F. excepto de Ca, Sr, Zn, Cu, Ba, Pb, Pr y Tb donde las concentraciones son más bajas. Los

niveles de concentración de la mayoría de los elementos en los suelos tienen una composición más cercana al grupo de la parte superficial de la costilla (S.C.) que a la parte superficial del fémur (S.F.). Por lo que concierne a los materiales de referencia estándar BONE ASH NIST 1400 (hueso) y GBW07408 (suelo), los valores obtenidos son estadísticamente similares a los valores certificados.

PCA PARA LA AGRUPACIÓN DE LAS TUMBAS

Se han agrupado las tumbas más cercanas de diferentes áreas de la necrópolis para poder observar posibles discriminaciones geoquímicas en diferentes zonas a través de los resultados estadísticos obtenidos con el PCA. Los resultados del modelo se representan en el gráfico de puntuaciones (*scores plot*) es decir, las muestras proyectadas en el espacio calculado del PCA. Estos modelos se usan frecuentemente para interpretar los datos, tomando la distancia entre muestras como indicador de una semejanza entre las mismas. Las figuras 6 y 7 muestran los resultados obtenidos a partir del PCA. 24 muestras compostas por suelos y partes superficiales de hueso han sido divididas en tres grupos, teniendo en cuenta las tumbas más cercanas en diferentes zonas de la excavación (fig. 2): T12 (cuatro suelos y cuatro partes superficiales de huesos), T2+3 (cinco suelos y tres partes superficiales de huesos) y T7+9 (cuatro suelos y cuatro partes superficiales de huesos). Los dos primeros componentes principales contienen la mayor parte de la varianza de los datos, siendo respectivamente 49,08 y 19,68% para PC1 y PC2. Si se observan los resultados en el modelo (fig. 6), no se pueden apreciar diferencias entre los tres grupos pertenecientes a tres áreas distintas de la excavación (T12, T2+3, T7+9). Sin embargo, cuando se visualizan los grupos de suelos (T.F. + T.C.), parte superficial del hueso (S.F. + S.C.) y hueso (F. + C.) se observa una clara diferencia entre las tres clases (fig. 7). Esto indica que la separación de los grupos no está condicionada por la posición de las tumbas en las diferentes zonas de la excavación y que el perfil geoquímico en la excavación es homogéneo. Las concentraciones de los elementos respetan los valores estándares de los suelos en el área urbana de Valencia. Los valores de suelos cerca de los huesos y suelos lejanos analizados en áreas muy próximas a la excavación de c/En Gil dan valores homogéneos (Gallelo 2014). Además se observa que la separación es debida al origen de las muestras (hueso, superficies de hueso y tierra). En adición, en la figura 7, está representada la

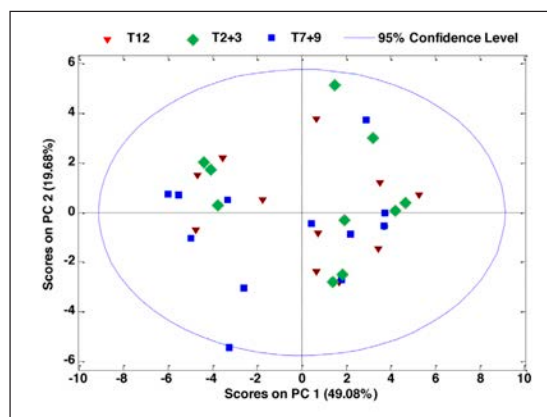


Fig. 6. Resultados PCA de las muestras de suelo, superficie de los huesos y huesos. Scores PC1 frente PC2 representando las distintas zonas de muestreo.

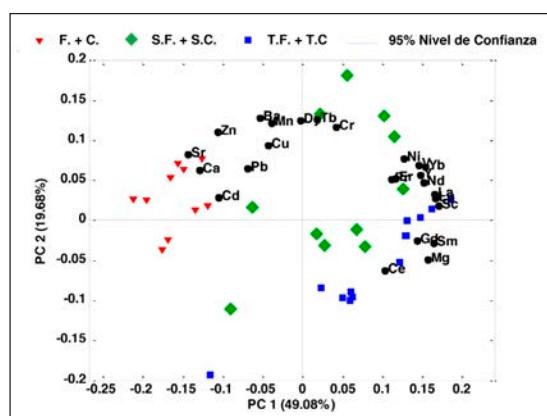


Fig. 7. Resultados PCA de las muestras de suelo, superficie de los huesos y huesos. Biplot PC1 frente PC2 representando los distintos tipos de muestra y la carga de las variables.

contribución de cada variable (elementos) para el cálculo de PC 1 y PC2, estando la intensidad absoluta de la carga de cada variable directamente correlacionada con su magnitud de contribución al modelo. Como se ha explicado anteriormente, los primeros dos PCs contienen información para diferenciar entre los huesos, la capa superficial de los huesos y las muestras de suelos. A partir del gráfico se puede observar que Sr, Ca, Zn, Cd y Pb (y en menor grado también Cu, Ba, Mn, Dy, Tb y Er) se encuentran en mayor concentración en las muestras de huesos que en las muestras de tierras. Al contrario, Mg, Sm, Gd, Ce, Sc, La y Lu (y en menor grado también V, Nd,

Yb, Y, Ni, Pr y Er) se encuentran a concentraciones elevadas en muestras de tierra en comparación con las muestras de hueso. Finalmente el proceso de descomposición de los individuos se ha producido dentro de un sudario o algún tipo de tejido pero la presencia o no de tejidos no influye sobre el perfil mineral o los procesos diagenéticos siendo este tipo de matriz muy pobre en minerales comparado con las concentraciones en huesos o tierras.

PCA PARA LA AGRUPACIÓN DE MUESTRAS DE FÉMURES Y COSTILLAS

La figura 8 muestra los resultados obtenidos a partir del análisis estadístico utilizando cinco muestras de fémur y cinco de costillas. PC1 y PC3 explican el 41,10 y 19,06% de la varianza de los datos, respectivamente. PC1 y 3 capturan la varianza que explica las diferencias entre huesos del fémur y de la costilla (todos de la parte interna del hueso). A partir de las intensidades y los signos de las cargas en PC1 y 3, se pueden observar que Mg, V, Cu, Cr y las REEs (La, Ce, Gd, Er, Yb, Lu, Sc y Y) tienen mayores concentraciones en muestras de costilla que en muestras de fémur. Por el contrario, la concentración relativa de Ca y Tb es más baja en las muestras de costilla y mayor en las muestras de fémur. Las REEs marcan la mayor interacción entre los sedimentos y la costilla que se reflejan en el incrementos de la mayoría de elementos traza (Mg, V, Cu, Cr) en este hueso. La elevada concentración de Ca en fémur se explicaría por el elevado contenido biológico de este elemento presente en

este tipo de huesos y una pérdida de Ca en la costilla. El mayor nivel de Tb, que es una tierra rara, en fémur es de origen diagenético.

Los resultados estadísticos muestran como los procesos diagenéticos afectan de forma diferente a huesos arqueológicos de fémur y huesos de costilla. La separación entre fémures y costillas se puede explicar con las diferencias de densidad mineralógica entre los dos huesos; las costillas están compuestas mayoritariamente por tejido esponjoso y por esto son más susceptibles a los procesos diagenéticos, por el otro lado los fémures debido a sus mayor densidad mineralógica, están menos influenciados por los procesos *post-mortem* (Zapata 2006).

FÉMURES O COSTILLAS PARA LA PALEODIETA?

Para evaluar los errores interpretativos que intervienen en el caso de no considerar los factores diagenéticos y tomar correctamente la muestras como se propone en nuestro trabajo, se ha intentado reconstruir la dieta utilizando los diferentes grupos de muestras (fémur, parte superficial del fémur, costilla y parte superficial de la costilla) de la necrópolis estudiada. En la bibliografía tradicional de los estudios de paleodieta, para la evaluación de una dieta que se relacione con economías pastorales o agrícolas y rica o pobre en proteínas, se utilizan respectivamente los valores promedios de Sr/Ca y Zn/Ca. En nuestro caso se han utilizado los valores de referencia propuestos por Burton *et al.* (1999) que tiene en cuenta del factor logarítmico Sr/Ca, donde -4 es el valor de referencia de los animales carnívoros y -3 de animales herbívoros. Dependiendo de la semejanza de una población a un valor u otro se asocia la dieta basada a un mayor consumo de carne indicando un tipo de economía pastoral o a un mayor consumo de productos vegetales indicando un tipo de economía agrícola. Por otro lado algunos autores (Fornaciari *et al.* 2001; Mallegni y Rubini 1994) han empleado el factor Zn/Ca donde el valor de referencia >0.5 equivale a una dieta rica en proteínas y <0.35 una dieta pobre en proteínas.

En la figura 9 se puede observar donde se sitúan nuestros valores medios de log(Sr/Ca) para cada grupo de muestras. Si consideramos los valores del grupo de fémures (F.), los individuos analizados pertenecerán a un tipo de economía de tipo vegetales ya que los valores se sitúan por encima de los valores del herbívoro -3. Lo mismo sucede para el grupo de la costilla (C.) y las partes superficiales de fémur (S.F) y costilla (S.C). En este caso

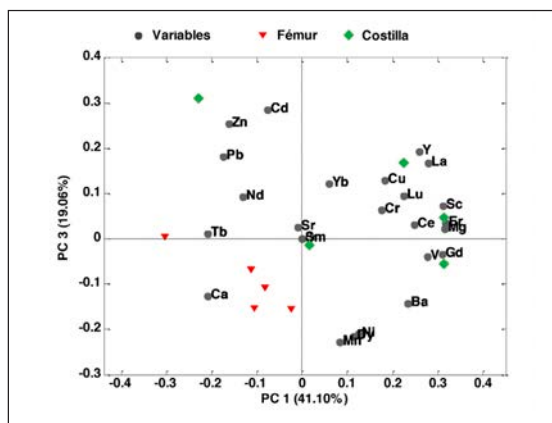


Fig. 8. Resultados PCA de las muestras de hueso. Biplot PC1 frente PC3 representando los distintos tipos de muestra y la carga de las variables.

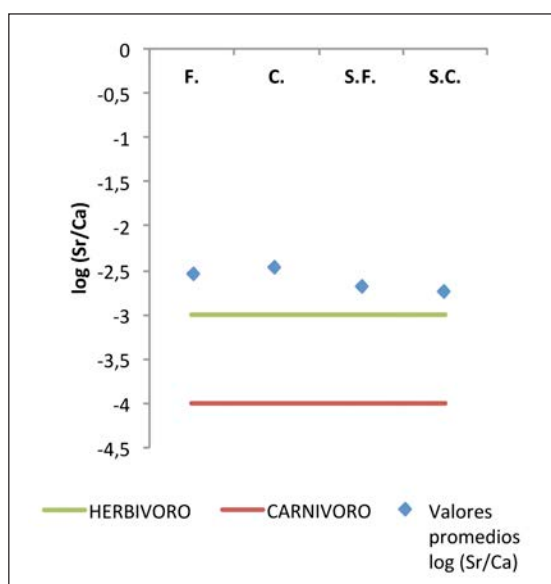


Fig. 9. Relación de los valores medios de log (Sr/Ca) de las muestras de c/En Gil. Grupo de muestras analizadas; fémur (F.), costilla (C.), partes superficiales de fémur (S.F) y costilla (S.C). Tipo de economía agrícola (HERBIVORO), tipo de economía pastoral (CARNIVORO).

los índices sugieren que la toma de muestra de costilla o fémur no cambiaría la interpretación del tipo de economía por parte de esta población. Otro factor logarítmico Ba/Ca también empleado por Burton *et al.* (1999) ha sido calculado por el grupo estudiado (datos no presentados) resultando los valores y su interpretación similares a log(Sr/Ca).

En la figura 10 se puede observar el intervalo de 0.5 (RICA) y 0.35 (POBRE) donde se sitúan los valores medios de Zn/Ca por cada grupo de muestras. Según estos valores el grupo de fémures (F.) indicaría que los individuos analizados tenían una dieta no muy rica en proteínas. Si consideramos los valores medios Zn/Ca de las costillas en la misma población se obtendría un perfil de dieta con un aporte muy rico en proteínas. En el caso de las partes superficiales los valores se alinean con sus correspondientes partes de fémur y costilla. Estos índices sugieren que la toma de muestra de costilla o fémur sería muy significativa porque dependiendo de las muestras tomadas la interpretación del tipo de dieta cambia.

En este último párrafo se han mostrado unos ejemplos que nos hace entender cómo pueden cambiar las interpretaciones dependiendo de las muestras que se deciden analizar. Los valores medios poblacionales de la

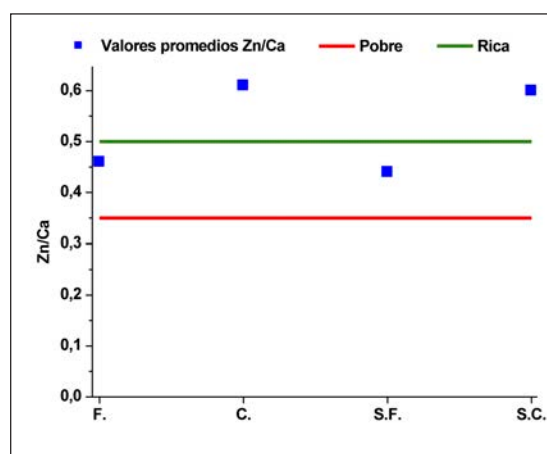


Fig. 10. Relación de los valores medios de Zn/Ca de las muestras de c/En Gil. Grupo de muestras analizadas; fémur (F.), costilla (C.), partes superficiales de fémur (S.F) y costilla (S.C). Dieta con un elevado aporte proteico (RICA). Dieta con un aporte proteico pobre (POBRE).

relaciones Zn/Ca, log(Sr/Ca) muestran que en las muestras de costillas los resultados no son coherentes. Al contrario las muestras de fémur muestran resultados que relacionan Zn/Ca y log(Sr/Ca) al mismo tipo de dieta. Si tomamos en consideración las muestras que según nuestra propuesta metodológica resultan menos diagenéticas como son los fémures, el tipo de alimentación de estos individuos sería propia de una economía de tipo agrícola con una dieta basada en alimentos de origen vegetal y con un consumo de proteínas de origen animal no muy elevado. Reconstruyendo el perfil de la dieta empleando el grupo de costillas obtendríamos una dieta basada en el consumo de alimentos vegetales típica de una economía agrícola con un muy elevado consumo proteico. Este último perfil dietético resultaría contradictorio ya que un elevado consumo de proteína normalmente se relaciona con una economía de tipo pastoral.

CONCLUSIONES

Los análisis en ICP-OES se han revelado adecuados para la determinación de la composición elemental de las muestras. Las conclusiones obtenidas a partir del análisis estadístico multivariante han facilitado la interpretación del complejo conjunto de datos y por lo tanto, ha permitido la identificación de diferencias objetivas a través de las concentraciones elementales de las clases de muestras.

El análisis de componentes principales ha mostrado que la separación entre los grupos no está condicionada por la posición de las tumbas en las diferentes zonas de la excavación de c/En Gil, siendo el perfil geoquímico en la excavación homogéneo y estando la separación relacionada al tipo de muestra analizada (hueso, capas superficiales del hueso y suelo). Los resultados estadísticos del PCA manifiestan también que los procesos diagenéticos relacionados con los sedimentos afectan mayoritariamente las costillas. Una de las razones del mayor impacto de los sedimentos en la costilla reflejado con un mayor enriquecimiento en REEs, podría relacionarse con las características de este tipo de hueso, que está compuesto mayoritariamente por tejido esponjoso y por tanto es más susceptible a los procesos diagenéticos. El empleo de las REEs como barómetro de evaluación de impacto de los procesos diagenéticos en huesos arqueológicos ha ofrecido resultados muy relevantes e innovadores. Este planteamiento nos permitiría crear una estrategia de clasificación empleando otros tipos de huesos que pueden estar influenciados por los procesos diagenéticos, igual que el fémur o la costilla, y así poder evaluar si más tipos de huesos son adecuados para estudios bio-arqueológicos.

Consecuentemente, para estudios bioquímicos-arqueológicos, se sugiere el análisis (elementos mayoritarios, elementos trazas y análisis de REEs) y el estudio estadístico de huesos expuestos a diferentes grados de impacto diagenético, así como de huesos pertenecientes a diferentes sectores esqueléticos. Futuras investigaciones deberían incluir en nuestra propuesta el análisis de dientes arqueológicos junto con estudios experimentales sobre huesos y dientes modernos.

La reconstrucción de la dieta empleando los elementos químicos se ha utilizado exclusivamente para poner en evidencia que un control exhaustivo de los factores diagenéticos es determinante para decidir si emplear o no una muestra en estudios biológicos o de paleodieta. Al mismo tiempo, los ejemplos mostrados no tienen ninguna pretensión de reconstruir la dieta del grupo estudiado ya que esto implicaría un estudio más extenso no abordado en este trabajo. Aunque las relaciones Sr/Ca y Zn/Ca de por sí solas no son suficientes para poder reconstruir los patrones económicos o alimenticios de una población, cabe resaltar que es necesario una toma de muestras que tenga en cuenta los diferentes grupos esqueléticos, junto con el control del ambiente tafonómico a través del análisis de la superficie

del hueso y de los sedimentos. Esta afirmación se confirmó ya que los ejemplos demostraron que puede llevar a diferentes reconstrucciones de dieta en la misma población.

GIANNI GALLELLO
AGUSTÍN PASTOR
Dpt. de Química Analítica
Universitat de València
gianga@postal.uv.es
agustin.pastor@uv.es

SILVIA SCOPA
FULVIO BARTOLI
FRANCESCO MALLEGGI
Dipartimento di Biologia
Università di Pisa
silviolaina@hotmail.it
fbartoli@biologia.unipi.it
mallegni_francesco@libero.it

JULIA KULIGOWSKI
Grupo de Investigación de Perinatología
IIS La Fe
julia.kuligowski@uv.es

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda de Domingo Carlos Salazar (Department of Human Evolution of Max-Planck Institute for Evolutionary Anthropology), Albert Ribera, Pepa Pascual y Josep Vicent Lerma del Servicio de Investigación Municipal de Arqueología (Ayuntamiento de Valencia) por haber proporcionado la documentación arqueológica y las muestras empleadas en este estudio. JK agradece el apoyo financiero del Instituto Carlos III del Ministerio de Economía y Competitividad por su beca "Sara Borrell".

BIBLIOGRAFÍA

- BURTON, J.; PRICE, T. D.; MIDDLETON, W. D. (1999): Correlation of bone Ba/Ca and Sr/Ca due to biological purification of calcium, *Journal of Archaeological Science* 26, 609-616. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jasc.1998.0378>
- COLLINS, M. J.; NIELSEN-MARSH, C. M.; HILLER, J.; SMITH, C. I.; ROBERTS, J. P.; PRIGODICH, R. V.; WESS, T. J.; CSAPÒ, J.; MILLARD, A. R.; TURNER-WALKER, G. (2002): The survival of organic matter in bone: a review, *Archaeometry* 44, 3, 383-394. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1475-4754.t01-1-00071>
- DOMINGO, L.; CUEVAS-GONZÁLES, J.; GRIMES, S. T.; HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, M.; LÓPEZ-MARTÍNEZ N. (2009): Multiproxy reconstruction of the palaeoclimate

- and palaeoenvironment of the Middle Miocene Somosaguas site (Madrid, Spain) using herbivore dental enamel, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 272, 53-68.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2008.11.006>
- FORNACIARI, G.; CIRANNI, R.; BUSONI, C. A.; GAMBA, S.; BENEDETTI, E.; MALLEGGNI, F.; NELLI, S.; ROLLO, F. (2001): *Santa Zita di Lucca: malattie, ambiente e società dallo studio di una mummia naturale del XIII sec.* Ed. "All'insegna del Giglio", 1.
- GALLELLO, G. (2014): *Western Mediterranean Archaeology: chemical element levels in archaeological materials as a methodological tool*, Tesis Doctoral, Universitat de València, ProQuest editor (USA), 245.
- GALLELLO, G.; KULIGOWSKI, J.; PASTOR, A.; DIEZ, A.; BERNABEU, J. (2013): Biological mineral content in Iberian skeletal remains for control of diagenetic factors employing multivariate statistics, *Journal of Archaeological Science* 40, 2477-2484.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.01.022>
- GARCIA PROSPER, E.; SAEZ LANDETE, M.; RAMIREZ MORALES, R. (1998): *Informe de la excavación I Cal Gil necrópolis Boatella*, Valencia.
- HEDGES, R. E. M. (2002): Bone diagenesis: an overview of processes, *Archaeometry*, 44, 319-328.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1475-4754.00064>
- HINZ E. A.; KOHN M. J. (2010): The effect of tissue structure and soil chemistry on trace element uptake in fossil, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74, 3213-3231.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gca.2010.03.011>
- KOHN, M. J., (2008): Models of diffusion-limited up-take of trace elements in fossils and rates of fossilization, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 72, 3758-3770.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gca.2008.05.045>
- LAMBERT, J. B.; VLASAK, S. M.; THOMETZ, A. C.; BUIKSTRA, J. E. (1982): A comparative study of the chemical analysis of ribs and femurs in Woodland population, *American Journal of Physical Anthropology* 59, 289-294.
- LAMBERT, J. B.; SIMPSON, S. V.; SZPUNAR, C. B.; BUIKSTRA, J. E. (1985): Bone diagenesis and dietary analysis, *Journal of the Human Evolution* 14, 477-482.
- LAMBERT, J. B.; XUE, L.; BUIKSTRA, J. E. (1991): Inorganic analysis of excavated human bone after surface removal, *Journal of Archaeological Science* 18, 363-383.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0305-4403\(91\)90072-W](http://dx.doi.org/10.1016/0305-4403(91)90072-W)
- MALLEGGNI, F.; RUBINI, M. (1994): *Recupero dei materiali scheletrici umani in archeologia*, Roma.
- NIELSEN-MARSH, C. M.; HEDGES, R. E. M. (1999): Bone porosity and the use of mercury intrusion porosimetry in bone diagenesis studies, *Archaeometry* 41, 165-174.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1475-4754.1999.tb00858.x>
- PATE, D.; HUTTON, J. T.; GOULD, R. A.; PRETTY, G. L. (1991): Alteration of in vivo elemental dietary signatures in archaeological bone: evidence from the Roonka Flat Dune, South Australia, *Archaeology of Oceania* 26, 58-69.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/j.1834-4453.1991.tb00264.x>
- PERSON, A.; BOCHERENS, H.; SALIÈGE, J. F.; PARIS, F.; ZEITOUN, V.; GÉRARD, M. (1995): Early Diagenetic Evolution of Bone Phosphate: An X-ray Diffractometry Analysis, *Journal of Archaeological Science* 22 (2), 211-221.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jasc.1995.0023>
- PERSON, A.; BOCHERENS, H.; MARIOTTI, A.; RENARD, M. (1996): Diagenetic evolution and experimental heating of bone phosphate, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 78, 37-54.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-0182\(97\)88906-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-0182(97)88906-7)
- REICHE, I.; FAVRE-QUATTROPANI, L.; CALLIGARO, T. J. S.; BOCHERENS, H.; CHARLET, L.; MENU, M. (1999): Trace element composition of Archaeological Bones and postmortem alteration in the burial environment, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 150, 656-662.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-583X\(98\)00949-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-583X(98)00949-5)
- REICHE, I.; FAVRE-QUATTROPANI, L.; VIGNAUD, C.; BOCHERENS, H.; CHARLET, L.; MENU, M. (2003): A multi-analytical study of bone diagenesis: the Neolithic site of Bercy (Paris, France), *Meas. Sci. Technol.* 14, 1608-1619.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1088/0957-0233/14/9/312>
- SCHMIDT-SCHULTZ, T. H.; SCHULTZ, M. (1999): Intact protein molecules in archaeological bones – Bone matrix as a treasure chest of ancient diseases and living conditions, *American Journal of Physical Anthropology, Annual Meeting Issue 1999*, Wiley-Liss, 230.
- SUROVELL, T. A.; STINER, M. C. (2001): Standardizing Infra-red measures of bone mineral crystallinity: an experimental approach, *Journal of Archaeological Science* 28, 633-642.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jasc.2000.0633>
- TRUEMAN, C. N. G.; BEHRENSMEYER, A. K.; TUROSS N.; WEINER, S. (2004): Mineralogical and compositional changes in bones exposed on soil surfaces in Amboseli National Park, Kenya: diagenetic mechanisms and role of sediment pore fluids, *Journal of Archaeological Science* 31, 721-739.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2003.11.003>
- TRUEMAN, C. N.; PRIVAT, K.; FIELD, J. (2008): Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266, 160-167.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2008.03.038>

TUROSS, N.; BEHRENSMEYER, A. K.; EANES, E. D.; FISHER, L. W.; HARE, P. E. (1989): Molecular preservation and crystallographic alterations in a weathering sequence of wildbeest bones, *Applied Geochemistry* 3, 261-270.

DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0883-2927\(89\)90027-9](http://dx.doi.org/10.1016/0883-2927(89)90027-9)

TÜTKEN, T.; VENNEMANN, T. (2011): Fossil bones and teeth: Preservation or alteration of biogenic compositions?

Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 310, 1-8.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.06.020>

ZAPATA, J.; PÉREZ-SIRVENT, C.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, M. J.; TOVAR, P. (2006): Diagenesis, not biogénesis: two late Roman skeletal examples, *Science of the Total Environment* 369, 357-368.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.05.021>