

## **VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO COMO ELEMENTO DIAGNOSTICO DE DIAGÉNESIS ÓSEA.**

*Roberto Rodríguez Suárez*

*Laboratorio de Arqueología, Museo Antropológico Montané  
Facultad de Biología, Universidad de la Habana-Cuba.*

Durante las excavaciones arqueológicas, ante la aparición de restos esqueléticos, la primera observación a realizar se relaciona con el estado de preservación de los mismos. Así, a simple vista, puede tenerse una idea de los estadios en que se encuentran los huesos aún entre esqueletos procedentes de un mismo sitio.

De esta manera, algunos caracteres organolépticos permiten hacer una clasificación en una gama que parte desde los huesos pobremente conservados hasta los que están muy bien conservados. Sin embargo, teniendo en cuenta el volumen de información que almacenan durante la vida y posterior a su entierro, resulta necesario dar explicación a este fenómeno a nivel microscópico.

Existe un número de factores incidentes en la preservación relativa de los huesos, y es importante destacar que ninguno es determinante por sí sólo, pues un complejo de interacciones tienen lugar entre un amplio rango de variables. Adicionalmente, cada entierro existe dentro de su propio nicho; por lo tanto, aún para un mismo sitio, es necesario abordar el fenómeno de la preservación ósea en una vertiente específica, acorde con la información que requieren los especialistas de cada campo de estudio, ya sean arqueólogos, paleopatólogos, paleodemógrafos o arqueozoólogos, por citar algunos.

Los factores que determinan el estado de conservación ósea son de tres tipos: físicos, químicos y biológicos. Estos pueden tener carácter intrínseco y extrínseco al individuo, actuando dependiente o independientemente unos de otros.

Si bien está demostrado que el estado de conservación de un hueso es el resultado de la acción combinada de las variables que lo determinan, también es posible hacer el estudio por separado de cada una de ellas

con el fin de determinar su papel en la estabilidad del volumen de información que recaba cada especialista.

En el presente trabajo, se realiza la valoración de una técnica rápida para la determinación de Calcio (Ca) como elemento diagnóstico del estado de conservación, dada su importancia en la estabilidad de la estructura ósea.

### *ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ÓSEO.*

El tejido esquelético comprende tres fases: una fase orgánica, una inorgánica y agua, en una proporción en peso de 24, 70 y 6% respectivamente (*Waldron, 1987*). La fase orgánica está constituida fundamentalmente por colágeno, mientras que la inorgánica se encuentra en forma de hidroxiapatita; una combinación de calcio y fósforo en una tasa de 2:1 en huesos modernos (*Price, 1989*). El fósforo representa el 15,5-16,4% de la ceniza ósea (*Easthoe, 1961*); el calcio es como promedio del orden de 37,3%.

De acuerdo con los datos anteriores, cualquier desviación en los valores obtenidos para huesos arqueológicos de los reportados para huesos actuales, aportaría criterios que indiquen procesos de diagénesis por enriquecimiento o disminución.

### *COMPORTAMIENTO DEL CALCIO ANTE LA DIAGENESIS.*

Análisis de más de 400 muestras de restos óseos de diferentes antigüedades y disímiles localidades, muestran una notable constancia en el contenido de Ca referido a la materia inorgánica total, aunque la existencia de procesos de disminución no pueden descartarse (*Cook, 1951a,b*).

Los niveles de Ca en el hueso pueden incrementarse en condiciones postmortem particulares por adición de carbonatos (*Cook y Heizer, 1947; Krueger y Sullivan, 1984*). Tanto el Ca como el carbonato precipitan como calcita en espacios vacíos y fracturas o forman parte de cristales mayores de hidroxiapatita por sustitución del fósforo inorgánico por carbonato en su estructura. Así por ejemplo, niveles muy altos de Ca en algunos entierros son el resultado de altas concentraciones en el suelo, las cuales dejan depósitos en y sobre el material esquelético (*Basset, 1982*).

*Katzenberg* (1984) sugiere que la tasa Ca/P en huesos arqueológicos es un buen índice de contaminación por  $\text{CaCO}_3$  (Carbonato de Calcio). El valor de la misma en cenizas de huesos modernos es 2,15, por lo que tales valores se verían incrementados por esta vía (*Sillen*,1989).

Un hueso degradado, en que los iones Ca han sido sustituidos por protones de hidrógeno aprovechables, inicialmente como resultado de la hidrólisis del colágeno y posteriormente aportados por el suelo, puede incrementar su tasa Ca/P para estabilizar su estructura. El valor obtenido puede alcanzar el esperado para la hidroxiapatita o ser superado (*White y Hannus*,1983).

*Parker y Toots* (1970,1980) observaron que el Ca puede ser lixiviado de la matriz ósea.

Estudios más exhaustivos de los mecanismos de contaminación, demuestran que el Ca y otros elementos se encuentran homogéneamente distribuidos en la matriz ósea (*Lambert et al.*,1983;*Lambert et al.*,1984).

*Badone y Farquhar* (1982) han aplicado el análisis de activación neutrónica en el muestreo secuencial y llegaron a los mismos resultados. La no existencia de gradiente en la distribución del Ca no es inconsistente con la pérdida del elemento por lixiviación; téngase en cuenta que este elemento es mayoritario en el hueso. Tal fenómeno fue comprobado por *Lambert et al.*(1984a,1984b) sobre suelos arqueológicos.

Los estudios arrojaron que el Ca estaba distribuido no homogéneamente alrededor del hueso y la concentración varía con la distancia a este, disminuyendo. Este patrón es característico de un proceso de lixiviación.

El análisis en fragmentos de costillas de 136 individuos con interés arqueológico demostró que el Ca es lixiviado (*Lambert et al.*,1979). Este fenómeno tiene también carácter diferencial, pues cuando se compararon costillas y fémures, se observó que la diagénesis actuó más drásticamente en el primer caso, lo que era de esperar por la mayor riqueza en tejido esponjoso (*Lambert et al.*,1982).

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Se emplearon 10 muestras pertenecientes a huesos largos de igual número de individuos, procedentes del sitio arqueológico Marien II, ubicado en la región de Mariel, provincia La Habana. En los análisis se utilizó el polvo óseo obtenido de la diáfisis por su riqueza en tejido compacto y la menor susceptibilidad del mismo a las acciones diagenéticas.

Se tomó 0,5g del material y se incineró a 550°C durante dos horas. En cada caso se empleó 0,1g para los análisis, preparando tres réplicas por muestra. A cada una se le añadió 3 ml de HCl 6N hasta su total disolución. En algunos casos fue necesario calentar en plancha eléctrica.

Una vez disueltas, fueron trasvasadas cuantitativamente a volumétricos de 500 ml, los que se enrasaron con agua destilada.

La técnica volumétrica a evaluar para la determinación de Ca se basa en la valoración de una alícuota de muestra con EDTA 0,02N empleando murexida como indicador (*Markowicz y Pulina, 1979*). Un cambio de color de rosado a violeta indica el punto final del proceso.

(Ver gráfico No. 1)

Cálculos:  $\%Ca = Vg \times 40.08 \times Vd / 0.1 \times 10^{-4}$   
donde: Vg volumen de EDTA gastado  
40,08 peso atómico del calcio  
Vd volumen de disolución  
0,1 peso de muestra

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

Indicador de murexida: Mezclar 1g de murexida con 50g de NaCl y 0.5g de verde de naftol. Tapar el frasco y agitar hasta la mezcla total de los sólidos.

Solución de EDTA: Disolver 3.721g de EDTA en agua destilada hasta 1l.

Solución de NaOH al 33%: Se disuelven 50g de NaOH en agua destilada hasta 100 ml.

Esta técnica es usualmente empleada para la determinación de Ca en aguas, como parte de un grupo de mediciones a realizar en el campo. Los análisis de Ca mediante ella, fueron comparados con los obtenidos por Espectrometría de Absorción Atómica (EAA) sobre las mismas muestras, tomando este procedimiento experimental como patrón de referencia. Los datos en % están referidos al peso de cenizas.

### *RESULTADOS Y DISCUSIÓN.*

En la Tabla y gráfico Nº 1 se observan los resultados obtenidos por ambas técnicas. Un Test-T de datos pareados permitió observar que para una  $T = -2.1022$ , no existían diferencias significativas, lo que indica que la técnica con EDTA puede resultar igualmente útil para la determinación de calcio en huesos arqueológicos.

Como podrá apreciarse, la posibilidad de disponer de un procedimiento experimental de poca complejidad como éste, facilita la tarea de cuantificar el Ca como elemento diagnóstico del estado de preservación ósea con un nivel de precisión en las determinaciones comparable al obtenido por EAA.

### *CONCLUSIONES*

En el caso de las muestras escogidas para este estudio, se pudo comprobar que las mismas se encuentran bien preservadas en su estructura inorgánica, teniendo en cuenta que los niveles de Ca se aproximan a los esperados para el hueso no degradado; no obstante, resulta necesario abordar el análisis de otros parámetros no contemplados en este trabajo para completar esta apreciación. La posibilidad de utilizar un procedimiento experimental como el que se ha validado ofrece un espectro de utilización muy amplio a los investigadores, si se tiene en cuenta que no siempre se dispone del equipamiento que comprende la técnica de EAA, más sofisticada y costosa.

Por otra parte, con un mínimo de entrenamiento, resulta asequible a cualquier operador, permitiendo el procesamiento de un gran número de muestras en poco tiempo con resultados confiables.

## BIBLIOGRAFIA

-Basset, E. J.

1982 *Osteological analysis of Carrier Mills burials.* In the Carrier Mills Archaeological Project. Eds. R.W. Jeffries and B.M. Butler (Carbondale, Ill.; Southern Illinois University, Center for Archaeological Investigations.

-Badone, E. and R.M. Farquhar

1982 Application of neutron activation analysis to the study of elemental concentration and exchange in fossil bones. *Journal of Radioanalytical Chemistry* 69:291-311.

-Cook, S. F.

1951a Chemical analysis of fossil bone. In *Essays on Archaeological Methods.* James B. Griffin ed. Anthropological Papers No. 8. pp. 73-84. Ann Arbor. University of Michigan.

1951b The fossilization of human bone: calcium phosphate and carbonate. *University of California Publications in American Archaeology and Ethnology.* Vol. 40, No. 6. pp. 263-280. University of California Press.

-Cook, S.F. and R.F. Heizer

1947 The quantitative investigation of aboriginal sites: analysis of human bone. *American Journal of Physical Anthropology* 5:201-219.

-Easthoe, J. E.

1961 *The chemical composition of bone.* In *Biochemist's Handbook*, ed. C. Long. London: Spon.

-Katzenberg, M. A.

1984 *Chemical analysis of prehistoric human bone from five temporally distinct populations in Southern Ontario.* National Museum of Man, Mercury Series. Archaeological Survey of Canada, Paper 129.

-Krueger, H. W. and C. H. Sullivan

1984 *Models for carbon isotope fractionation between diet and bone.* In *Stable Isotopes in Nutrition.* Eds. J.R. Turnland and P.E. Johnson. American Chemical Society Symposium Series No. 258.

-Lambert, J.B.; C.B. Szpunar, and J.E. Buikstra

1979 *Chemical analysis of excavated human bone from Middle and Late Woodland sites.* *Archaeometry* 21:115-129.

-Lambert, J.B.; S.M. Vlasak; A.C. Thometz and J.E. Buikstra

1982 *A comparative study of the chemical analysis of ribs and femurs in Woodland populations.* *American Journal of Physical Anthropology* 59:289-294.

-Lambert, J.B.; S. V. Simpson; J.E. Buikstra and D. Hanson

1983 Electron microprobe analysis of elemental distribution in excavated human femurs. *American Journal of Physical Anthropology* 62:409-423.

-Lambert, J.B.; S. V. Simpson; C.B. Szpunar and J.E. Buikstra

1984a *Analysis of soil associated with Woodland burials. In Archaeological Chemistry III*, ed. J.B. Lambert. Washington, D.C. American Chemical Society.

1984b *Ancient human diet from inorganic analysis of bone. Accounts of Chemical Research* 17:298-305.

-Markowicz, M. y M. Pulina

1979 Ilościowa Polikroanaliza chemiczna wod w obszarach krasu weglamowego, p.67. Uniwersytet Katowice.

-Parker, R.B. and H. Toots

1970 *Minor elements in fossil bones. Geological Society of American Bulletin* 81:925-932.

1980 *Trace elements in bones as paleobiological indicators. In fossils in the Making*, eds. A.K. Behrens-meyer and A.P. Hill. Chicago. University of Chicago Press.

-Price, T.D.

1989 *Multielement studies of diagenesis in prehistoric bone. In The Chemistry of Prehistoric Human Bone. De. T. D. Price. pp. 126-153. Cambridge University Press.*

-Sillen, A.

1989 *Diagenesis of the inorganic phase of cortical bone. In The Chemistry of Prehistoric Human Bone. T.D. Price de. pp. 211 - 229. Cambridge University Press.*

-Schoeninger, M.J.

1982 *Diet and the evolution of modern human form in the Middle East. American Journal of Physical Anthropology* 58:37-52.

-Waldron, T.

1987 *The potential of analysis of chemical constituents of bone. In Death, decay and reconstruction: Approaches to archaeology and forensic science. A. Boddington, A.N. Garland and R.C. Janaway eds. pp. 149-159.*

-White, E.M. and L.A. Hannus

1983 *Chemical weathering of bone in archaeological sites. American Antiquity* 48:316-322.

GRAFICO Nº 1: *Esquema para la determinación de Ca empleando EDTA.*

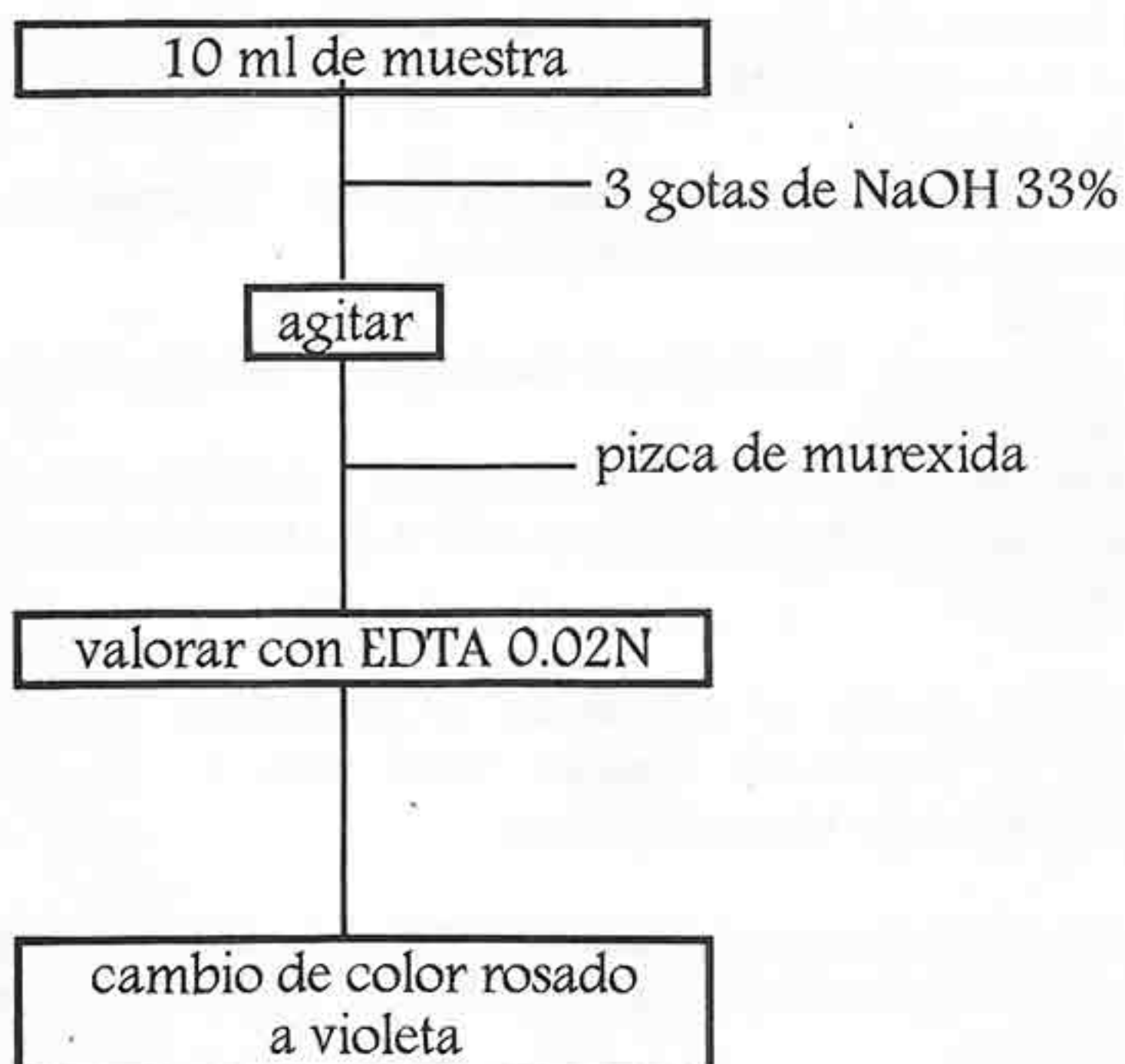


TABLA Nº 1 *CONTENIDO DE Ca EN % DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS POR AMBAS TECNICAS*

MUESTRAS	EAA	EDTA
1	36.64	36.87
2	36.49	35.07
3	36.68	35.07
4	36.78	35.67
5	36.52	34.37
6	36.68	34.47
7	38.04	35.67
8	36.99	36.07
9	37.31	38.48
10	36.03	35.27
----- X	----- 36.82± 0.54	----- 36.15±1.16

#### RESUMEN

En el presente trabajo se realiza la valoración de una técnica rápida para la determinación de calcio (Ca) como elemento diagnóstico de diagénesis ósea en diez muestras de huesos largos procedentes del sitio arqueológico Mariel II, provincia de Mariel, provincia La Habana, Cuba.

Palabras-claves: Diagénesis ósea, determinación de calcio, arqueología, Cuba.

#### ABSTRACT

This paper assesses a technique for rapidly measuring calcium (Ca) in diagnosing osseous diagenesis in ten samples of large bones from the Mariel II archeological site in La Habana province, Cuba.

Key words: Osseous diagenesis, calcium measurement, archeology, Cuba.

*“Son propiedad del Estado: todos los bienes culturales declarados Patrimonio Cultural de la República relativos al Patrimonio Arqueológico, Prehispánico colonial; republicano y moderno. Así como los bienes del patrimonio Paleontológico que fuesen descubiertos en cualquier zona del suelo o subsuelo nacional; incluidas las zonas subacuáticas, especialmente las submarinas”.*

*Ley de Protección y Defensa del Patrimonio Cultural. Art. 35.*