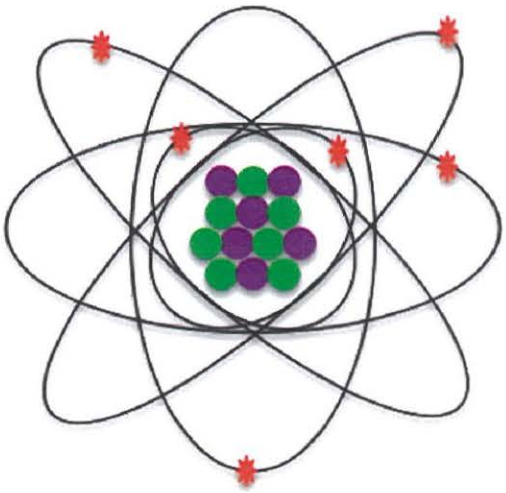
DIETA, MOVILIDAD Y JERARQUÍA EN CABEZO REDONDO Y CUEVA DE LAS LECHUZAS: ESTUDIO MEDIANTE ANÁLISIS ISOTÓPICOS DE CARBONO, NITRÓGENO, AZUFRE Y ESTRONCIO.

Informe sobre el proyecto, subvencionado por la Fundación José María Soler mediante las VII Ayudas a la Investigación.



Dr. Domingo Carlos Salazar García

"The world is a dangerous place, not because of those who do evil,
but because of those who look on and do nothing".
Albert Einstein.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....5

2. ISÓTOPOS Y PREHISTORIA

2.1. PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS ISOTÓPICAS 8

2.2. ISÓTOPOS Y PALEODIETA.....10

2.3. ISÓTOPOS, LACTANCIA Y DESTETE.....13

2.4. ISÓTOPOS Y MOVILIDAD.....15

3. RESTOS ÓSEOS COMO MATERIAL DE ANÁLISIS

3.1. HUESO.....19

3.2. DIENTE.....21

4. MATERIAL ESTUDIADO

4.1. SELECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.....24

4.2. MUESTRAS ARQUEOLÓGICAS TOMADAS.....29

5. MÉTODOS EMPLEADOS

5.1. EXTRACCIÓN DEL COLÁGENO.....32

5.2. PREPARACIÓN PARA ANÁLISIS DE ESTRONCIO.....34

5.3. ANÁLISIS EN LOS ESPECTRÓMETROS DE MASAS.....36

5.4. INDICADORES DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS.....41

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. CABEZO REDONDO 44

6.2. CUEVA DE LAS LECHUZAS 50

7. BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA.....56

1. INTRODUCCIÓN

Al abrigo de las VII Ayudas a la Investigación concedidas por la Fundación José María Soler se ha podido desarrollar el proyecto "Dieta, movilidad y jerarquía en Cabezo Redondo y Cueva de las Lechuzas: Estudio mediante análisis isotópicos de carbono, nitrógeno, azufre y estroncio". El objetivo de esta investigación no es otro que el de poner en valor dos de los yacimientos prehistóricos recientes más interesantes que existen no sólo en la provincia de Alicante, si no en toda la Comunidad Valenciana y el Mediterráneo Occidental. Dentro de ese territorio y de esas cronologías es indudable el importante papel que la zona del Alto Vinalopó, concretamente el actual término municipal de Villena y sus alrededores, desempeñó, pues su situación geoestratégica y la diversidad de recursos de que disponía la convirtieron en un área privilegiada para el desarrollo de las comunidades humanas allí asentadas. Y de ahí nuestro interés por su estudio.

Dadas las condiciones geográficas de la zona, que la convierten en el nexo de unión natural entre la Meseta y la vertiente mediterránea levantina, el territorio villenense representó desde tiempos prehistóricos una zona de paso obligado que ha favorecido el tránsito y el contacto entre diferentes comunidades humanas y pueblos, fenómeno que sin duda repercutiría en un importante florecimiento cultural a lo largo de toda su historia. Si a esto añadimos la presencia de humedales con una gran riqueza ecológica y, consecuentemente, con una elevada potencialidad de recursos económicos, se hace comprensible la importante densidad ocupacional del territorio de que disfrutó este sector del valle del Vinalopó, especialmente evidente durante el Calcolítico y la Edad del Bronce, momento para el que contamos con importantes yacimientos.

La selección de los yacimientos para el estudio, que abarca Cueva de las Lechuzas (Villena) y Cabezo Redondo (Villena), se ha efectuado conjugando la presencia de restos óseos humanos, materia básica para la realización de los análisis isotópicos, y la existencia de estudios que permitan poner en relación esos restos con su contexto, pues para que los resultados de la investigación sean productivos se hace necesario contrastarlos con determinados datos como la

fauna, la cronología, etc. No nos extenderemos aquí sobre la importancia de los yacimientos seleccionados, especialmente en el caso del Cabezo Redondo, ni sobre los debates generados alrededor de la adscripción cultural de los asentamientos de esta zona al Bronce Argárico o al Bronce Valenciano, o a la presencia de una facies local.

Tradicionalmente la investigación arqueológica que ha pretendido reconstruir los regímenes dietéticos y las pautas de movilidad de las poblaciones prehistóricas ha estado centrada en métodos de estudio indirectos al no disponer de posibilidades analíticas directas, interpretando de forma incompleta el registro arqueológico. Estos métodos tradicionales de reconstrucción de los antiguos regímenes alimentarios y de las pautas de movilidad de los individuos a partir del estudio de restos óseos, de fragmentos de plantas, de los artefactos y otras pruebas culturales hallados en yacimientos arqueológicos quedan limitados a reconstituciones cualitativas y comportan sesgos de importancia en la información que estos datos son capaces de proporcionar. Esto es así especialmente para todo lo relacionado con la importancia relativa de los distintos alimentos en la dieta, debido fundamentalmente a condiciones de preservación variables, y debiendo tener en cuenta además todas las opciones posibles (ritual, estratificación social...). Tampoco hay que olvidar la problemática de la escala temporal en arqueología, especialmente en los yacimientos prehistóricos, pues las acumulaciones que para las interpretaciones se integran en un mismo "momento" y por lo tanto son utilizadas para reconstruir las vidas cotidianas de nuestros ancestros, muchas veces han tardado múltiples generaciones en depositarse y por ende pueden comportar problemas a la hora de utilizarse para definir de forma indirecta la dieta o pautas de movilidad de los individuos como tales, generando construcciones imaginarias difíciles de vencer.

Por todo esto es interesante poder contar con métodos analíticos directos sobre el propio esqueleto (biogeoquímica, osteoarqueología) que aproximen en mayor medida las interpretaciones sobre paleodieta y pautas de movilidad a la realidad individual de cada sujeto y permitan así abordar su estudio de una manera más objetiva, analizando directamente las evidencias de la alimentación mediante la caracterización de los alimentos que ingería una población, así como

la procedencia o "indigenismo" de los individuos. Este tipo de análisis permite individualizar o aislar fenómenos con escalas temporales y espaciales muy precisas, y a partir de ahí evidenciar situaciones y dinámicas difíciles de conocer a través de otros medios. No obstante, no hay que caer en el error de considerar a los métodos biogeoquímicos como válidos por sí solos, pues éstos tienen también sus restricciones. Es por tanto necesaria la combinación de los métodos bioquímicos con los métodos tradicionales y con las diversas ramas de la antropología física para poder tener una idea más clara y global sobre las prácticas de subsistencia de los grupos humanos del pasado.

Hasta ahora, son pocos los estudios de este tipo que se han desarrollado en España, y éstos se han centrado más en cronologías paleolíticas, mesolíticas y neolíticas. Si bien es cierto que fuera de estas cronologías se ha realizado algún estudio en poblaciones del Calcolítico-Bronce, protohistóricas e históricas, la verdad es que aún queda lejos del número de trabajos realizados en otras partes de Europa. Por ello, este estudio preliminar pretende intentar rellenar algo la laguna de estudios de isótopos estables de carbono y nitrógeno que existe para estas cronologías en España.

2. ISÓTOPOS Y PREHISTORIA

2.1. PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS ISOTÓPICAS

Las técnicas de isótopos estables se basan en el principio de que lo consumido (agua y comida) durante la vida de un organismo deja "huellas" químicas en los tejidos corporales. Por tanto, los materiales biogénicos tienen su propia "impronta" isotópica, que dependerá de la composición isotópica de los componentes a estudiar, de las vías de reacción metabólico-cinéticas, y de las condiciones físico-químicas en las que se produzcan. Es por ello por lo que la aplicación de análisis isotópicos a cuestiones sobre paleoecología humana está basada en la premisa de la existencia de una relación entre la bioquímica isotópica del individuo estudiado en cuestión con, por una parte, la geología subyacente en la zona en la que el individuo desarrolló sus actividades (estroncio y azufre) y, por otra, con el entorno de suelo, plantas y animales que le rodean (carbono, nitrógeno y azufre).

Ahora bien, ¿qué es un isótopo? Un isótopo de un elemento químico no es más que un átomo de dicho elemento que presenta el mismo número atómico pero diferente masa a causa de que el núcleo contiene un número diferente de neutrones. Es decir, los isótopos de un elemento químico son átomos que comparten el mismo número de protones pero difieren en el número de neutrones (Figura 1). Los químicos se refieren a cierto isótopo utilizando la notación ^{A}X, donde X es el símbolo químico del elemento, y A es la suma de neutrones y protones. Las diferencias entre el número de neutrones no afectan significativamente a las propiedades químicas de dicho elemento, aunque al modificar la masa de los átomos y por tanto también la de las moléculas formadas por éstos, pueden influir en su comportamiento y su tasa de movimiento y difusión, alterando la tasa y temperatura de reacción. Generalmente se llaman isótopos pesados a los que dentro de un tipo de elemento tienen una masa mayor (^{13}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{34}S) e isótopos ligeros a los que tienen una masa menor (^{12}C, ^{14}N, ^{16}O, ^{32}S), aunque a veces se usa el término pesado para referirse a cualquier isótopo de elementos con masas atómicas globales más pesadas como el estroncio (^{87}Sr, ^{86}Sr) o el plomo (^{206}Pb, ^{204}Pb).

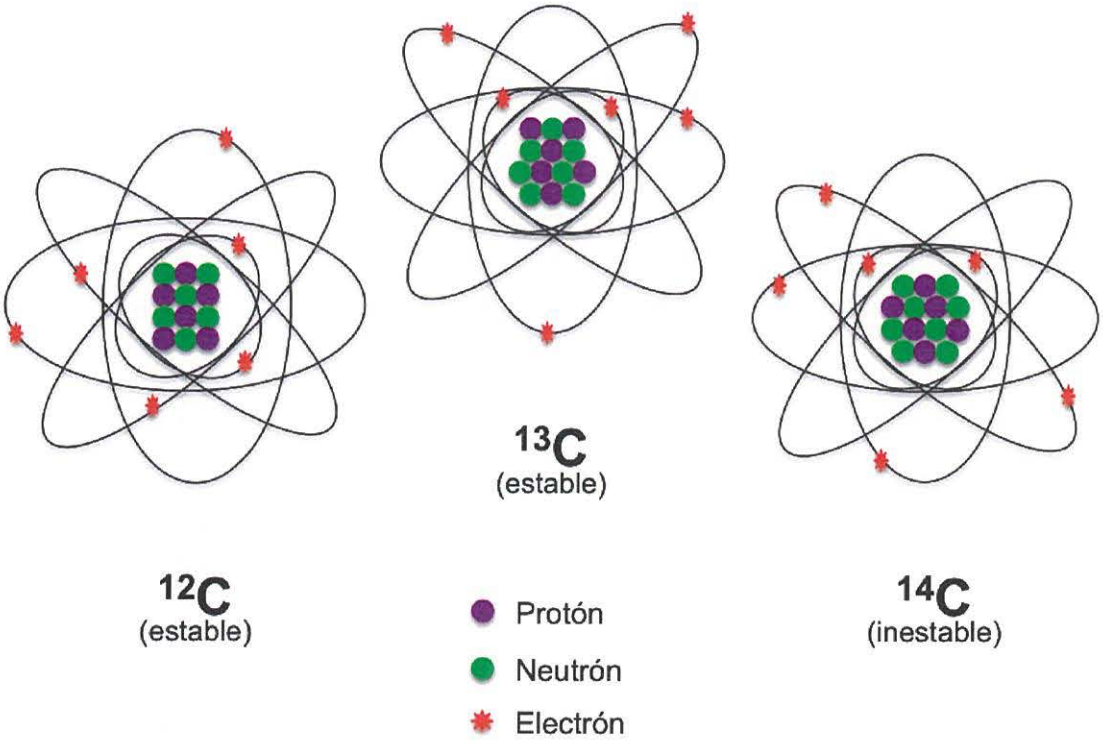


Figura 1:
Isótopos del carbono: ^{12}C (6 protones y 6 neutrones), ^{13}C (6 protones y 7 neutrones) y ^{14}C (6 protones y 8 neutrones).

Los isótopos pueden ser estables o inestables, siendo éstos últimos los radioactivos (como el ^{14}C). A diferencia de los isótopos radioactivos, los isótopos estables (que pueden tener orígenes radiogénicos, primordiales o cosmogénicos) no se descomponen con el paso del tiempo, por lo que sus ratios se fijan y reflejan por tanto los procesos y entornos inorgánico-biogénicos en los que se formaron. A pesar del hecho de que algunos isótopos de estroncio se forman por descomposición radioactiva, no existe un cambio perceptible en el sistema $^{87}Sr/^{86}Sr$ a lo largo de las escalas temporales arqueológicas, por lo que es a éste al que se le referirá a lo largo de esta memoria como estable.

Los sistemas bioquímicos de los diferentes isótopos estables muestran rasgos generales en diferentes ecosistemas y en diferentes áreas geográficas. Por ejemplo, los isótopos estables del nitrógeno en un animal pueden ser utilizados para estimar el nivel trófico, y los isótopos estables del carbono pueden ser utilizados para distinguir entre dietas basadas en distintos recursos. En cualquier caso, se debe enfatizar que patrones e isótopos estables observados a nivel individual y para cada caso concreto son, aunque pautables, el producto

de una interacción entre procesos ecológicos, fisiológicos y bioquímicos específicos para cada entorno y cada momento cronológico. Las abundancias isotópicas relativas de los diferentes elementos varían sistemáticamente tanto en la biosfera como en la geosfera, por ejemplo entre ecosistemas terrestres y marinos, entre formaciones geológicas, o entre plantas con rutas fotosintéticas diferentes.

2.2.ISÓTOPOS Y PALEODIETA

Conocer cuál es la dieta de la que disfrutaron nuestros antepasados tiene una importancia fundamental en el campo de la prehistoria, ya que la alimentación desempeñó un papel clave en el funcionamiento de las sociedades humanas del pasado. La alimentación se debe entender como un concepto amplio que incluye la dieta (los distintos alimentos que se ingieren en conjunto), la nutrición (proceso biológico mediante el cual se asimilan los nutrientes obtenidos de la digestión necesarios para el crecimiento, funcionamiento y mantenimiento de las funciones vitales), la subsistencia (patrones de comportamiento adoptados para obtener los alimentos del entorno) y los hábitos dietéticos (actos voluntarios de elección, preparación e ingesta de los alimentos). La alimentación condiciona la vida de los organismos, y es por tanto un aspecto central en la ecología y en el comportamiento de los humanos. Es evidente que en la búsqueda de alimentos se empleaba en el pasado gran parte del día, o que la calidad y cantidad de lo que se ingería afectaba al estado de salud individual y de la población. También es indiscutible el papel de la alimentación tanto en la emergencia de la economía de producción neolítica (frente a la estrategia cazadora-recolectora) y el cambio de salud general que ello implicó, como en la dimensión poblacional y la estratificación social posterior de las sociedades urbanas urbanitas. Las preferencias y la transformación de los alimentos constituyentes del repertorio dietético dependen de las tradiciones culturales además de estar determinadas en cada caso por los gustos individuales, por lo que hay que tener en cuenta que la alimentación es una realidad compleja en la que intervienen de forma

prácticamente inseparable y entrelazada cuestiones fisiológicas, ecológicas y culturales.

Hoy, los estudios de la paleodieta intentan reconstruir la dieta de poblaciones del pasado usando métodos científicos directos para su análisis, y una de las herramientas más útiles de las que se dispone para obtener información directa sobre paleodietas no es otra que el análisis de isótopos estables sobre restos óseos. Estos análisis se llevan aplicando en la investigación de la prehistoria europea desde la década de los ochenta, aunque hasta el siglo XXI no han visto potencialmente incrementado su uso.

Los isótopos estables más usados en el estudio de paleodietas son los del carbono ($^{12}C/^{13}C$) y nitrógeno ($^{14}N/^{15}N$). El principio básico sobre el que se fundamentan estos estudios es el de "*somos lo que comemos*", es decir, que las unidades básicas que conforman todos los tejidos corporales de cualquier animal, incluyendo los huesos, provienen de los alimentos que éstos han ingerido a lo largo de su vida. Y, como el carbono y nitrógeno que se incorporan a nuestros huesos son los mismos átomos que forman parte de los alimentos que ingerimos, al compararlos con los valores típicos de alimentos disponibles a través del análisis de por ejemplo los restos óseos animales, reflejaran aquellos alimentos de los que derivan y será posible reconstruir los componentes principales de la dieta de un individuo. Durante este proceso de incorporación de los átomos de la dieta al hueso, la proporción entre los isótopos del carbono y del nitrógeno cambia de una manera específica y conocida, denominada fraccionamiento isotópico.

De manera muy general, se puede decir que los valores $\delta^{13}C$ (proporción isotópica entre ^{13}C y ^{12}C de la muestra en relación a la proporción de éstos en el carbono fósil marino) y $\delta^{15}N$ (proporción isotópica entre ^{15}N y ^{14}N de la muestra en relación a la proporción de éstos en el nitrógeno atmosférico) permiten establecer el origen terrestre, lacustre-fluvial o marino de los principales recursos alimentarios. Además, los isótopos estables del carbono son capaces de forma aislada de discrminar entre la presencia en la dieta de plantas con rutas fotosintéticas diferentes: plantas C_3 y plantas C_4. Las plantas C_3 son aquellas adaptadas a regiones templadas y frías, como el trigo, que poseen valores $\delta^{13}C$ más negativos. Las plantas C_4 son las de regiones tropicales, áridas o semiáridas,

como el mijo, que tienen valores $\delta^{13}C$ menos negativos. Por su parte los isótopos estables del nitrógeno, al experimentar $\delta^{15}N$ un incremento de entre 3 y 5 ‰ por cada nivel trófico, son capaces de situar a los humanos en el puesto de la cadena trófica que por su tipo de dieta les corresponda (las plantas tendrán los valores más bajos, seguidas de los herbívoros y omnívoros hasta llegar a los carnívoros, que tienen los valores más altos). En la Figura 2 se ilustran los cambios de valores teóricos para carbono entre un ecosistema terrestre y otro marino, así como el incremento de nitrógeno entre sus distintos habitantes.

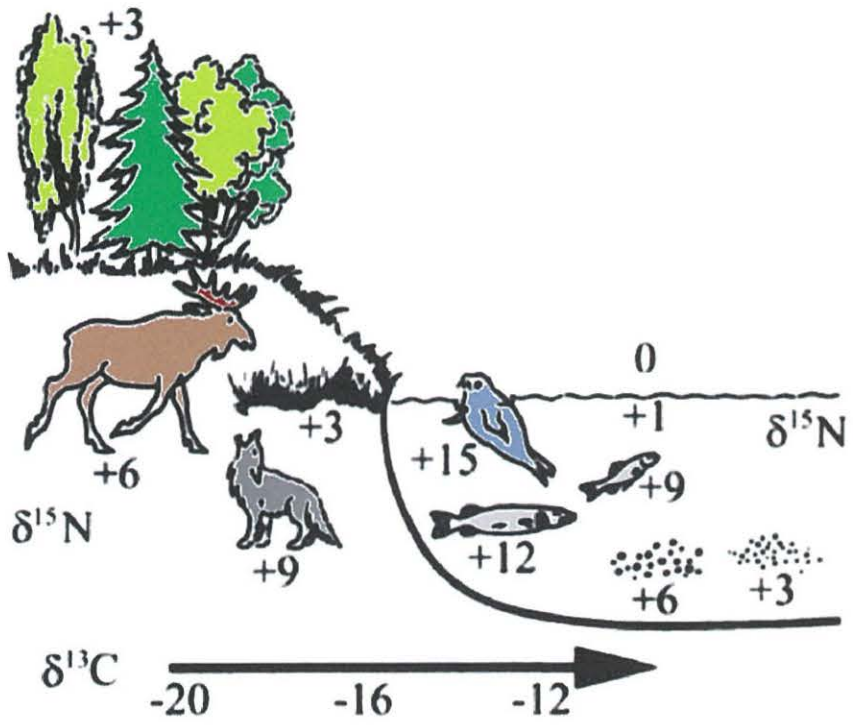


Figura 2:
Cambio en los valores de $\delta^{15}N$ (‰) entre niveles tróficos y de $\delta^{13}C$ (‰) entre ecosistemas terrestres y marinos.

Aunque todo esto suena como la panacea, la realidad es que las técnicas isotópicas tienen también sus restricciones. Para una correcta interpretación de los datos hay que tener en cuenta que las medidas sobre colágeno óseo reflejan sobretodo la ingesta de proteínas. Las comidas más ricas en proteínas como la carne o el pescado, al contribuir más a la composición isotópica del colágeno, son reflejadas en mayor medida en los análisis, mientras que en éstos se produce un

enmascaramiento de la parte de la dieta procedente de los vegetales que poseen poca cantidad de proteínas. Por otra parte, los valores obtenidos proporcionan información sobre la media del tipo de dieta que el individuo ha consumido durante sus últimos años de vida, de 2 a 15 años según el tipo de hueso del que se extraiga el colágeno en bruto. Esto último presenta la ventaja de que se aporta una imagen realista de la alimentación de los individuos a medio y largo plazo, pero presenta también el inconveniente de que su resolución no permite discernir variaciones estacionales o puntuales de la dieta que pueden ser relevantes para reconstruir la subsistencia de los grupos prehistóricos.

Son ya varias las publicaciones existentes de estudios de isótopos estables del carbono y del nitrógeno realizados en restos arqueológicos de yacimientos del Mediterráneo Occidental Europeo, aunque aún en menor número que las realizadas en otras partes de Europa. En la fachada mediterránea de la península ibérica, muchas de éstas versan sobre poblaciones prehistóricas tanto paleolíticas (Balma Guilanyà) como mesolíticas (El Collado) y neolíticas (Costamar, La Vital, Cova de la Pastora), aunque también hay otras sobre poblaciones protohistóricas (Castellet del Bernabé) o incluso históricas (La Ontavia). Como se puede apreciar, existe una laguna en la provincia de Alicante, y tan sólo un yacimeinto del Calcolítico/Edad del Bronce ha sido publicado hasta la fecha. Es por ello por lo que el estudio que se está realizando en los yacimeintos de Villena cobra una gran relevancia.

2.3. ISÓTOPOS, LACTANCIA Y DESTETE

Una práctica que se da en todas las sociedades del mundo y en todas las épocas es el amamantamiento y posterior destete de los individuos infantiles. El tiempo de amamantamiento y la edad de destete son factores culturales que suelen variar entre poblaciones pero no intra-poblaciones. Ambos procesos, al implicar un cambio de dieta, pueden ser detectados a través del análisis de los isótopos estables del carbono y del nitrógeno. El destete, que consiste en la introducción de comidas suplementarias en la dieta de los niños mientras el amamantamiento es eliminado de manera progresiva, es un proceso gradual. Teniendo en cuenta que los valores $\delta^{15}N$ son indicativos del nivel trófico que

ocupa un individuo en la cadena alimentaria, e imaginando a los niños amamantados como "carnívoros" que se alimentan de sus madres, se puede entender que éstos estarán un nivel trófico por encima de sus madres. En cualquier caso, cabe decir que estos valores de $\delta^{15}N$ de los niños varían con la edad: en el nacimiento son equiparables a los de la madre (reciben a través de la placenta los alimentos que ella ingiere), con el amamantamiento los valores $\delta^{15}N$ del niño incrementan (llegan a situarse un 3-5 ‰ por encima de los de la madre), y al empezar el destete los valores descienden hasta ocupar el nivel que les corresponde en la cadena trófica según la alimentación que reciban, como se ve en la gráfica de la Figura 3. En cuanto a los valores de $\delta^{13}C$ del niño, éstos indicarán el origen de las proteínas suplementarias que empiezan a introducirse con el destete. Así, analizando los isótopos estables de los individuos infantiles de una población y comparándolos con la mediana de los valores de las mujeres de la población, podremos saber a qué edad se produjo el destete.

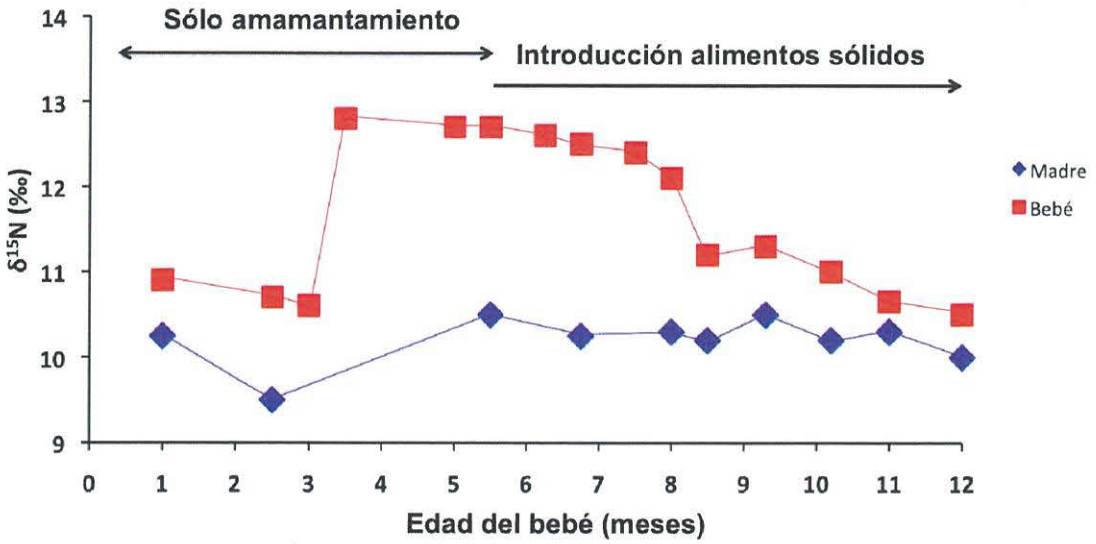


Figura 3:
Estudio longitudinal de uñas de un bebé amamantado y su madre, utilizado para detectar la duración del destete y el cese del amamantamiento.

El estudio del amamantamiento y destete es un método indirecto para investigar la fertilidad de poblaciones pasadas y las causas de mortalidad infantil. Esto es posible, porque debido a los efectos contraceptivos del amamantamiento, la edad de destete puede utilizarse como un indicador del

espaciamiento entre partos y ser así un indicador de la fertilidad femenina. Y es capaz de dar información sobre las causas de mortalidad infantil ya que el periodo inmediato post-destete, momento en el que el individuo infantil deja de recibir los factores inmunológicos de la madre a través de la leche materna, es responsable de una alta tasa de mortalidad. A pesar de todos los aspectos que este tipo de estudios aportan a la investigación arqueológica, hasta la fecha los valores isotópicos de nitrógeno y carbono han sido utilizados por pocos autores para investigar la edad de destete y el tipo de dieta infantil en diferentes sociedades prehistóricas e históricas, y nunca en yacimientos prehistóricos peninsulares. Por ello, el estudio que se está llevando a cabo en Villena para los yacimientos de Cabezo Redondo y Cueva de las Lechuzas adquiere una relevancia especial en el campo de la prehistoria peninsular.

2.4. ISÓTOPOS Y MOVILIDAD

No menos importante es poder conocer el rango de desplazamiento que las poblaciones humanas del pasado poseyeron, pues, como ha sido indicado por muchos investigadores, "*las culturas no migran; la gente lo hace*". El conocer cómo los individuos de cada grupo humano se desplazaron por el territorio es, por tanto, clave para poder entender mejor actividades de la vida cotidiana como la caza, los cambios de lugares de ocupación, el intercambio de objetos, la migración estacional, la procedencia... esto es, para acercarse mejor a comprender no sólo las relaciones de estas poblaciones del pasado con los entornos geográfico, geológico y medioambiental, sino también las relaciones entre grupos de población e incluso intrapoblacionales. En este sentido, los estudios paleodietéticos encuentran en los estudios sobre la movilidad un aliado de tremenda importancia para averiguar aspectos tanto sociales como paleodemográficos de las sociedades pasadas.

Aunque tradicionalmente la reconstrucción de movimientos migratorios y patrones de residencia en el campo de la investigación arqueológica se basaba en las comparaciones de los rasgos morfológicos y estilísticos distintivos de los bienes muebles e inmuebles, hoy en día los estudios biogeoquímicos son capaces de complementar a dichos estudios. Y es que a pesar de la utilidad de la anterior

metodología basada en el estudio de la cultura material, hay que tener siempre en cuenta que los atributos morfológicos y decorativos pueden comparecer independientemente o mediante influencias directas e indirectas que no suponen necesariamente desplazamiento de poblaciones. Con el estudio de los isótopos de estroncio y azufre, en cambio, sí se pueden obtener datos concretos sobre los individuos de los cuales se estudien sus restos óseos, sean éstos humanos o animales, obteniendo así información fiable sobre sus pautas de movilidad. Y, aunque muchas veces es difícil poder reconstruir una ruta de movimiento o la procedencia de un individuo, sí es factible averiguar si éste murió en la misma zona donde pasó la infancia o si, por el contrario, terminó sus días en otro lugar.

Los análisis de estroncio aplicados a la arqueología se basan en que sus proporciones isotópicas, que dependen exclusivamente de la geología de cada zona, se fijan en el esmalte dentario cuando éste se forma durante la infancia. Cada zona geológica tendrá unos valores propios, ya que el isótopo radiogénico del estroncio (^{87}Sr) deriva de la descomposición del rubidio (^{87}Rb) y, por ende, de la antigüedad de las rocas, variando según su edad la proporción $^{87}Sr/^{86}Sr$ entre 0.700 y 0.750. Las unidades geológicas más antiguas son las que presentan valores más altos, mientras que las más recientes son las que presentan valores más bajos (por ejemplo los materiales volcánicos). A la cadena trófica se incorpora el estroncio de la litosfera a través del agua, quedando tras esto integrado en los tejidos de las plantas y de los animales (ver Figura 4). Y al consumir el ser humano plantas y animales la relación $^{87}Sr/^{86}Sr$ en sus tejidos corporales pasa a ser idéntica a la de la zona de la que provienen dichos alimentos y, por tanto, el ratio $^{87}Sr/^{86}Sr$ puede ser usado para averiguar el sustrato geológico donde los individuos han vivido. De especial relevancia es el hecho de que se pueda obtener estroncio del esmalte dental, porque la proporción de estroncio que queda en éste de por vida es el correspondiente a los años de la infancia, lo que permitirá averiguar información sobre el lugar en el que pasó ésta. Así pues, dentro de una misma población, y conociendo la proporción isotópica de estroncio en la geología de la zona del yacimiento, se puede saber si los distintos individuos pasaron la infancia en el yacimiento o no, es decir, si son locales o no. Y, teniendo información sobre la dieta, los sexos, y si

son inmigrantes o no, se puede obtener valiosa información sobre la jerarquía y el acceso a los alimentos, sobre el denominado "mercado de mujeres" si existiese, etc.

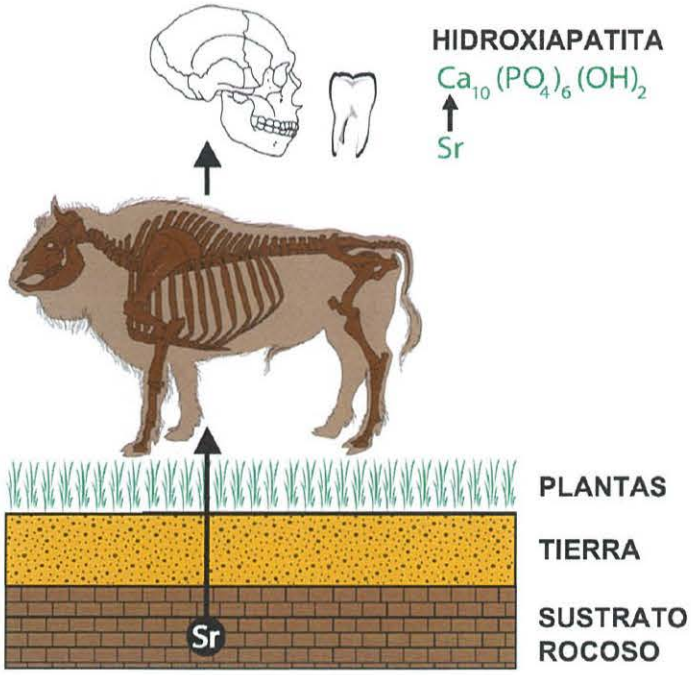


Figura 4:
Esquema del movimiento de estroncio desde el estrato geológico del suelo a los humanos.

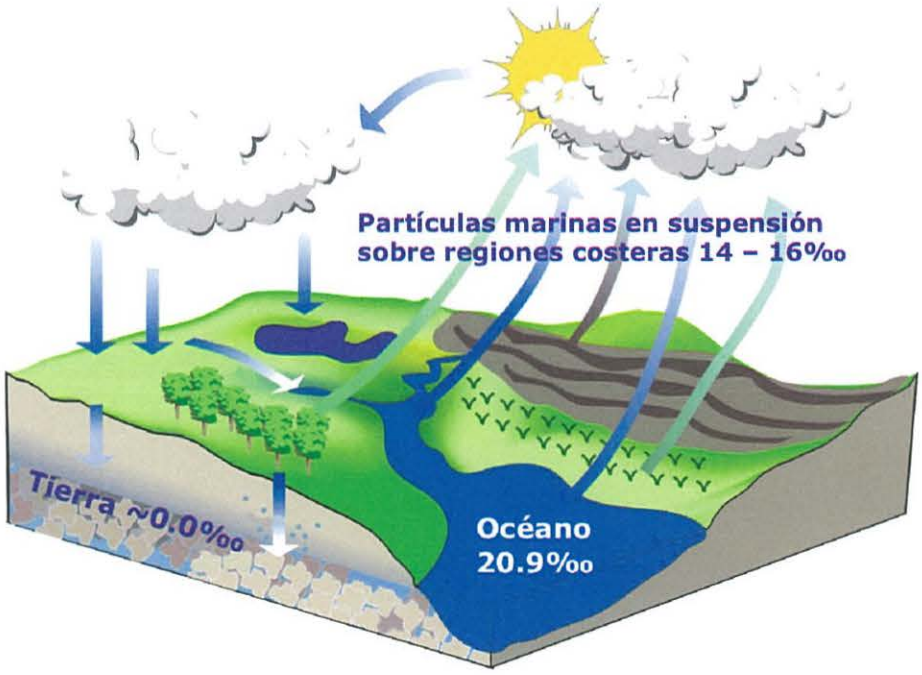


Figura 5:
Valores $\delta^{34}S$ en distintas localizaciones geográficas.

Además, añadiendo los análisis de isótopos de azufre sobre colágeno óseo se puede complementar la información sobre las pautas de movilidad de los individuos que ofrecen los análisis isotópicos de estroncio sobre esmalte dentario. Ello es debido a que los valores $\delta^{34}S$ (proporción isotópica entre ^{34}S y ^{32}S) varían según la distancia entre el individuo y la costa marina, pues se enriquece a mayor tiempo se esté más cerca del litoral (ver Figura 5). Por ello, combinándolo con los resultados basados en la geología, se puede obtener valiosa información sobre si hubo o no estacionalidad en dicha población. Y, debido al importante número de inhumaciones en Cabezo Redondo y Cueva de las Lechuzas, los resultados prometen poder desvelar importante información en estos sentidos sobre el Calcolítico y la Edad del Bronce en nuestra tierra.

3. RESTOS ÓSEOS COMO MATERIAL PARA LOS ANÁLISIS

3.1. HUESO

El material arqueológico principal sobre el que se realizan los análisis de isótopos estables suele ser el hueso debido a que es el tejido corporal que más se preserva en los yacimientos. El tejido óseo, que es una forma especializada de tejido conectivo denso, representa la parte principal del esqueleto. Se trata de un tejido duro y resistente que posee cierta elasticidad, por contener tanto una fracción inorgánica como una fracción orgánica. Según la morfología anatómica, existen varios tipos de huesos que se agrupan básicamente en dos grupos: huesos planos y huesos largos. La morfología de los huesos largos maduros es algo más compleja que la de los planos, denominándose diáfisis a la parte alargada del hueso que va de extremo a extremo, y epífisis a sus extremos. No obstante, e independientemente del tipo de hueso o parte de él, el tejido óseo se organiza de dos formas diferentes que definirán las llamadas porción cortical (externa y compacta) y porción trabecular (interna y esponjosa) (Figura 6). Mientras que el hueso cortical forma, a simple vista, una masa compacta sin espacios visibles, el hueso trabecular parece a simple vista compuesto por finos listones u hojas denominadas trabéculas que se entrecruzan en distintas direcciones formando el reticulado esponjoso en cuyos espacios huecos intercomunicantes se alberga la médula ósea.

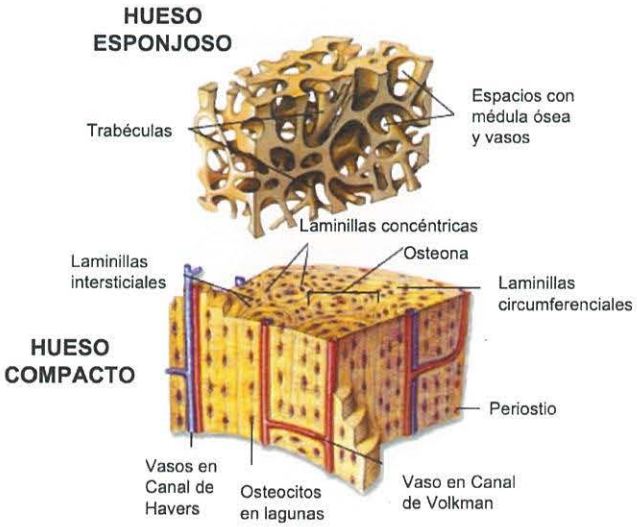


Figura 6:
Esquema de los tipos de tejido óseo esponjoso y compacto.

La fracción orgánica de la matriz ósea extracelular está formada por una proteína estructural fibrosa e insoluble denominada colágeno que aparece incluida en una sustancia fundamental formada por carbohidratos, por proteoglucanos como el condroitinsulfato y el hialuronato, y por otras proteínas como la osteocalcina, la osteonectina o la osteopontina. En adultos, el colágeno representa alrededor del 90% de la matriz orgánica, y será por tanto en la que nos centremos. Existen al menos 30 tipos de colágeno, aunque entre el 80% y el 90% del colágeno corporal es o del Tipo I, del Tipo II, o del Tipo III.

El componente preferido en este estudio para la realización de los análisis isotópicos de carbono, nitrógeno y azufre es la proteína ósea principal, el colágeno, ya que su composición isotópica es la menos alterada por las reacciones químicas producidas en el lugar de enterramiento. El colágeno es muy estable, insoluble en agua, y resistente además a los ataques de bacterias y hongos. Es capaz de sobrevivir intacto en el entorno de enterramiento, especialmente donde las condiciones son constantes y favorables, como por ejemplo donde el pH de los suelos es bajo y las condiciones son anóxicas debido a la aridez o las bajas temperaturas. Además, el colágeno óseo ya lleva tiempo usándose para realizar dataciones radiocarbónicas, y existen ya indicadores de calidad para indicar el grado de su preservación.

Hay que entender que resultado de la remodelación ósea, el carbono, nitrógeno y azufre del colágeno irá gradualmente cambiando a lo largo de la vida del individuo. Se ha calculado mediante análisis de ^{14}C que la tasa de cambio para el colágeno óseo es de 10 años aproximadamente, aunque su velocidad es dispar y puede oscilar entre los 5 y 20 años según factores como la edad, el tipo de hueso y la parte de éste. En este sentido hay que tener en cuenta que la porción cortical presenta una tasa de cambio mucho menor que la trabecular, y que los huesos largos, como el fémur o el húmero, y los huesos planos gruesos, como el cráneo, presentan tasas menores de remodelación que huesos como las costillas o la mandíbula que por ser sometidos a un estrés mecánico casi constante presentan tasas muy elevadas de remodelación. Los cambios de la dieta durante el periodo que tarda en remodelarse completamente un hueso se reflejarán en sus tejidos, ya que los isótopos de los elementos químicos de las proteínas corporales (carbono, nitrógeno y azufre en el colágeno óseo)

cambiarán gradualmente en respuesta a cambios isotópicos en la composición de la dieta. El colágeno óseo representará la composición isotópica media de la dieta ingerida, dando valores medios de intervalos largos e intermedios del individuo en cuestión.

3.2. DIENTE

En los seres humanos se desarrollan dos juegos diferentes de dientes: los dientes de leche o dientes deciduos de la primera dentición, y los dientes perennes o dientes permanentes de la segunda dentición. Aunque las características histológicas de los dientes de leche y los permanentes son en esencia las mismas, su periodo de formación y erupción no lo son. Conocer ambos, especialmente el intervalo de tiempo en que se forma cada uno de los dientes, será importante para poder diseñar los estudios e interpretar correctamente los resultados. Los distintos momentos de formación de los dientes deciduos se pueden consultar en la Tabla 1, y los de los dientes permanentes en la Tabla 2.

En general se considera que existen dos tipos de tejido dentario: el tejido dentario duro (compuesto por la dentina, el esmalte y el cemento), y el tejido dentario blando (compuesto por la pulpa, la membrana periodóntica y la encía). Bastará en este caso conocer básicamente la histogénesis e histología del esmalte, pues será sobre este subtipo de tejido dentario duro sobre el que se realicen los análisis isotópicos de estroncio.

El esmalte totalmente mineralizado está compuesto de aproximadamente un 96% de material inorgánico, 1% de material orgánico y 3% de agua, y es la sustancia más dura del organismo. La parte inorgánica se compone, en su mayor parte, de cristales de hidroxiapatita. Lo interesante es que el esmalte no presenta remodelación o renovación tras su formación y mineralización iniciales, preservando por tanto la impronta isotópica de su momento de formación y maduración a lo largo de toda la vida del individuo, lo que en este estudio es interesante para poder averiguar mediante los análisis de estroncio si el diente ha aparecido en el lugar donde se formó o no, y poder tal vez analizar la procedencia y las pautas de movilidad de dicho individuo.

Tabla 1: *Momentos de calcificación inicial, de fin del desarrollo de la corona, y de la raíz en los dientes humanos deciduos [s: semanas / m: meses / a: años].*

	I1 max	I2 max	C max	M1 max	M2 max	I1 mand	I2 mand	C mand	M1 mand	M2 mand
Calcificación inicial	14 s	16 s	17 s	15.5s	19 s	14 s	16 s	17 s	15.5 s	18 s
Corona desarrollada	1.5 m	2.5 m	9 m	6 m	11 m	2.5 m	3 m	9 m	5.5 m	10 m
Raíz desarrollada	1.5 a	2 a	3.25 a	2.5 a	3 a	1.5 a	1.5 a	3.25 a	2.5 a	3 a

Tabla 2: *Momentos de calcificación inicial, fin del desarrollo de la corona y de la raíz en los dientes humanos maxilares (a) y mandibulares (b) permanentes [m: meses / a: años].*

(a) Maxilares	**I1**	**I2**	**C**	**P1**	**P2**	**M1**	**M2**	**M3**
Calcificación inicial	3-4 m	10-12 m	4-5 m	1.5-1.75 a	2-2.25 a	al nacer	2.5-3 a	7-9 a
Corona desarrollada	4-5 a	4-5 a	6-7 a	5-6 a	6-7 a	2.5-3 a	7-8 a	12-16 a
Raíz desarrollada	10 a	11 a	13-15 a	12-13 a	12-14 a	9-10 a	14-16 a	18-25 a

(b) Mandibulares	**I1**	**I2**	**C**	**P1**	**P2**	**M1**	**M2**	**M3**
Calcificación inicial	3-4 m	3-4 m	4-5 m	1.5-2 a	2.25-2.5 a	al nacer	2.5-3 a	8-10 a
Corona desarrollada	4-5 a	4-5 a	6-7 a	5-6 a	6-7 a	2.5-3 a	7-8 a	12-16 a
Raíz desarrollada	9 a	10 a	12-14 a	12-13 a	13-14 a	9-10 a	14-15 a	18-25 a

La formación de esmalte comienza poco después de la formación de la primera dentina, cuando los ameloblastos del epitelio interno del esmalte comienzan a secretar matriz de esmalte. La amelogénesis ocurre en dos fases: una de formación en la que se da la producción de la matriz original rica en proteínas, y una posterior de maduración que consiste en una fase prolongada de acumulación mineral. Las características estructurales del esmalte se generan durante la fase inicial, pero la mayoría de la mineralización ocurre en la fase posterior de maduración, en la que las proteínas y el agua son descompuestas y eliminadas, los cristales crecen de tamaño, y se produce el denso mineralizado del esmalte maduro.

A pesar de haber definido el proceso de mineralización del esmalte como un proceso muy rápido, hay que matizar que el esmalte dental no se mineraliza completamente al principio tras haberse acabado de formar. Inicialmente el esmalte depositado tiene un contenido mineral de < del 25%. Existe todavía una gran incertidumbre respecto al patrón y a los tiempos asumidos para la mineralización posterior (momento en el que el restante 75% del material

mineralizado se incorporará, incluyendo la mayor parte del estroncio), y de momento sólo frentes de mineralización múltiples desplazándose en varias direcciones se han identificado durante la fase de maduración.

Tras el grueso de la mineralización ocurrida durante la fase de maduración del esmalte, cualquier volumen concreto de esmalte incluirá múltiples capas de esmalte producidas en momentos cronológicos diferentes durante la formación de la matriz de esmalte y durante las posteriores fases de mineralización. Y, debido a que los procedimientos de muestreo convencionales generalmente implican la sustracción de material perpendicular al eje longitudinal del diente o unión cemento-esmalte, se produce una mezcla de aportes isotópicos que influenciarán los resultados de los análisis de isótopos. Además, se ha demostrado que la localización, dirección y tamaño de las submuestras de esmalte influyen tanto en los valores obtenidos utilizando análisis de isótopos como en la resolución conseguida por éstos.

4. MATERIAL ESTUDIADO

4.1. SELECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS

Tal y como se ha comentado, los restos esqueléticos son los materiales más usados para los estudios isotópicos en Prehistoria. No existe un protocolo establecido para la selección y toma de muestras para los análisis de isótopos estables de C, N y S, por lo que cada investigador realiza la selección de muestras que considera oportuno y procede a su toma como mas idóneo le parece. Por ello describiré someramente a continuación cuales son los criterios que han sido utilizados en la elaboración de este trabajo, y el por qué de ellos.

Debido a que el proceso de crecimiento y maduración afecta de forma diferente a los diversos tipos de hueso y de tejido óseo, es fundamental determinar qué tipo de muestra hemos de elegir. Por ello, aunque la elección del hueso a utilizar para muestreo de un individuo depende en gran medida de la información que se busque y del criterio propio de cada investigador, generalmente se suelen tomar muestras de huesos identificables, preferiblemente largos y que no estén excesivamente dañados. En cualquier caso siempre hay que tener en cuenta que independientemente del tipo de hueso que se muestree se debería intentar tomar siempre muestras del mismo hueso a los individuos que van a formar parte de un mismo conjunto de datos para evitar posibles pequeñas diferencias de valores al tener cada tipo de hueso tasas de remodelación diferentes y, sobre todo, para evitar tomar muestras de huesos que sin saberlo pertenezcan al mismo individuo. Esto último es especialmente importante para evitar tener, sin ser consciente de ello, diferentes datos tomados de un mismo individuo que se interpreta como de dos individuos diferentes y obtener por ello información poblacional sesgada.

Como hemos indicado, el muestreo depende del tipo de información que se pretenda obtener, pero también del tipo de restos arqueológicos a los que se tenga acceso. Habrá que tener en cuenta que en muchas ocasiones, sobretodo tratando con poblaciones prehistóricas, o bien debido a que por ser material muy antiguo se han preservado pocos restos, o simplemente porque en excavaciones antiguas se tenía cierta fijación por conservar determinados huesos y tirar otros, los restos del yacimiento tanto humanos como de fauna a los

que se tenga acceso serán pocos y selectos. En dicho caso habrá que analizar aquello que sea posible, pero intentando siempre dañar lo menos posible las partes anatómicas del hueso que sean capaces de dar información antropológica o paleopatológica, prefiriendo fragmentos clasificados sin interés o extremos ya partidos de huesos. A su vez, siempre que sea posible se intentará evitar la elección de la dentina como objetivo del muestreo, pues además de que los dientes son partes del esqueleto capaces de proporcionar una gran cantidad de información vital del individuo, hay que tener en cuenta que la dentina nos puede proporcionar información sobre un intervalo de tiempo de la vida del individuo no equiparable a la de los huesos de los otros individuos de la misma población.

Tras seleccionar el tipo de hueso que se va a estudiar, se procede a su muestreo. Así pues, en cuanto a la toma de las muestras, éstas se pueden obtener de diferente forma según se considere oportuno. Lo típico es utilizar un taladro eléctrico, preferentemente portátil, utilizándose uno u otro tipo de fresón según la situación. Se corta del extremo del hueso un trozo aproximado de entre 200-500 mg de peso si se planea realizar análisis de C y N, y un trozo aproximadamente de entre 500-1000 mg de peso si se planea realizar análisis tanto de C y N como de S, siendo siempre conscientes de que preferiblemente se debería de dañar la parte del hueso menos importante en términos morfológicos (ver Figura 7). En algunos casos que se considere viable y poco agresivo, arrancar con la propia mano un fragmento del hueso también es aceptable.

Figura 7:
Muestra tomada de diáfisis de fémur humano de Cueva de las Lechuzas.

Hay que tener en cuenta que, cuando se utilice el taladro portátil, no podrá usarse un mismo fresón para distintos huesos sin haber sido previamente lavado y limpiado. Tras cada uno de sus usos, se meterá en un pequeño vaso de precipitado con acetona que cubra la parte que ha estado en contacto con el tejido esquelético, , dejando a ésta actuar durante 10 minutos. Tras ese tiempo, se sacará el fresón, y se limpiará unas 2-3 veces con agua. Por supuesto, además de limpiar el fresón, habrá que pasar un pañuelo con acetona sobre la superficie donde se haya trabajado, se cambiará el papel de aluminio sobre el que se estaba cortando por otro nuevo, y se limpiarán o renovarán también los guantes y el taladro.

Tras el muestreo propiamente dicho es fundamental también tanto escribir con rotulador permanente en la bolsa la muestra de la que se trata como meter en ella una etiqueta que contenga también toda la información de interés. Los datos que se pueden incluir son, por ejemplo, el yacimiento, la especie, el tipo de hueso muestreado así como el lado y parte de los cuales se toma la muestra (por ejemplo, diáfisis de fémur izquierdo), la campaña arqueológica en la que se obtuvo, el código que se le asigna al hueso del que se ha obtenido la muestra según el museo, centro de investigación o universidad, así como cualquier otro dato que por peculiaridades propias de cada yacimiento se considere oportuno anotar en la etiqueta adjunta a la muestra. Por otro lado, se debe crear una base de datos en la que se registre si es posible, además de lo dicho anteriormente, otros datos como la edad del individuo, el sexo del individuo, su cronología, el peso total de la muestra, cualquier otro comentario que interese, y el número S-EVA (numeración que se da en el Max-Planck a cada muestra de hueso que entra en los laboratorios).

Esto que acabamos de ver hasta ahora es sobre el muestreo de hueso para realizar los análisis de carbono, nitrógeno y azufre. En cuanto a los análisis de estroncio, que se realizan sobre esmalte dentario, la selección de los dientes dependerá de varios factores como el enfoque del estudio, los restos disponibles y la preservación del esmalte. Como ya sabemos, cada uno de los dientes se forma en un momento concreto de la infancia del individuo, lo que significa que podemos averiguar las proporciones isotópicas del estroncio del esmalte de distintos momentos de la vida del individuo, y poder sacar una secuencia sobre

su situación geográfica a lo largo de sus primeros años de vida. Esta aproximación sería sin duda la que más información proporcionaría, sin embargo en muchas ocasiones no aparecen muchos dientes que se pueda saber que pertenecen a un mismo individuo. Por ello, otro posible diseño del estudio es poder contar con un mínimo de dos dientes del individuo que se formen en momentos cronológicos lo más alejado posible el uno del otro para así poder averiguar, a falta de una secuencia cronológica más detallada, si la impronta isotópica del estroncio varía o no entre esos dos momentos para poder saber si al menos se movió de lugar alguna vez entre ese intervalo de tiempo en el que se formaron las piezas dentarias en análisis.

Si ya hay que tener especial cuidado en el muestreo de huesos arqueológicos, no hace falta decir que en el caso del esmalte arqueológico es necesario proceder con extrema precaución durante el muestreo. Además de presentar el desgaste de esmalte propio de su uso, en muchas ocasiones los dientes arqueológicos presentan una corona dentaria fragmentada y parcial muy dañada por procesos posdeposicionales, por lo que hay que ir con mucho cuidado e intentar dañar lo menos posible el esmalte.

La técnica de muestreo habitualmente realizada es el corte mediante sierra de un trocito de esmalte (Figura 8a). Habitualmente cantidades de entre 20 y 40 mg de esmalte son suficientes. Tras el corte del pedazo de esmalte hay que limpiar la parte superficial de impurezas y asegurarse de que en la parte interior del pedazo no quede nada de dentina (se ve algo más amarillenta, y con un fresón de abrasión se nota más blanda que el esmalte al presionar sobre ella). Mediante este método hay que tener cuidado porque es muy fácil cortar de más o hacer, por las vibraciones, que el diente estalle. También se puede, en lugar de cortar un trozo de esmalte, utilizar un fresón de abrasión muy finito con forma cónica y acabado en una punta no punzante (Figura 8b) para obtener polvillo de esmalte (≈20 mg) de la superficie aplicando dicho fresón a presión sobre la corona. Si se opta por esta última opción hay que llevar cuidado en no dañar superficialmente un gran área, siendo preferible el poder estar obteniendo el polvillo siempre de la misma zona en la que se trabaja. El polvillo que se recoja no será el de la superficie, pues puede estar contaminado con otro tipo de

materia, y se llevará cuidado para no llegar hasta la dentina interna para evitar que ésta contamine la muestra de esmalte.

(a)

(b)

Figura 8:
Proceso de muestreo del esmalte de los dientes: (a) mediante sierra en un diente de Cueva de las Lechuzas, y (b) mediante fresón de abrasión en un diente de Cabezo Redondo.

Sea cual sea el método de los anteriormente usados para obtener la muestra, los fresones que se usen para tomar muestras de esmalte tienen que estar limpios y sólo usarse para esmalte. Además, hay que limpiar los fresones entre uso y uso. Para ello, se realizará un proceso de limpieza similar al descrito para el muestreo de hueso, pero se añadirá un paso posterior a la limpieza con acetona que consistirá en meter la fresa en un vaso de precipitados que contenga metanol suficiente como para cubrir la parte que ha estado en contacto con el esmalte y ponerlo en una cubeta de ultrasonidos durante 5 minutos.

Tras obtener la muestra hay que limpiarla y guardarla. En el caso de los trocitos cortados de esmalte, se limpian introduciéndolos en vasos de precipitado muy pequeños con acetona suficiente para cubrir el trozo de esmalte, y se ponen en una cubeta de ultrasonidos durante un periodo de 10 minutos. Tras esto, se repite el mismo proceso con metanol y se limpian tres

veces con agua bidestilada. Entonces lo habitual es meter cada muestra dentro de un tubo eppendorf apropiadamente etiquetado con el número S-EVA que se dé a cada uno de los dientes que se vayan a usar para análisis de estroncio (si además se usan para otros análisis sobre colágeno, se les dará otro número para ello). Este eppendorf etiquetado se meterá a su vez dentro de una bolsita de plástico transparente apropiadamente etiquetada, en la cuál se incluirá también una etiqueta con los mismos datos. Se recogerán también todos los datos necesarios en una base de datos como la utilizada para el registro de muestras para análisis de C, N y S.

4.2. MUESTRAS ARQUEOLÓGICAS TOMADAS

Para el estudio de la dieta (análisis isotópicos de C y N, y de S cuando ha sido posible) se han tomado un total de 88 muestras de restos esqueléticos (51 de humanos y 37 de animales) de los yacimientos de Cabezo Redondo y Cueva de las Lechuzas. Se detallan a continuación en diversas tablas en las que se incluyen la especie, el tipo y parte de hueso del que se han tomado muestras, el código en los museos o centros de origen, su contexto arqueológico, y el número S-EVA asignado a su entrada en los laboratorios del Max-Planck Institute for Evolutionary Anthropology (MPI-EVA) para su procesado.

Del yacimiento de Cabezo Redondo se tomaron muestras de 34 humanos (sobretodo muestras de cráneo, costillas y diáfisis de huesos largos) y de 12 animales de 6 especies diferentes (Tabla 3). Y del yacimiento de Cueva de las Lechuzas se tomaron muestras de 17 humanos (todas ellas de cráneo) y de 25 animales de al menos 7 especies diferentes (Tabla 5).

Para el estudio de la procedencia y movilidad (análisis isotópico de estroncio en esmalte dentario) se tomaron un total de 24 muestras de esmalte dentario humano de diferentes individuos. En concreto, se muestrearon 13 piezas dentarias humanas de Cabezo Redondo (Tabla 4) y 11 piezas dentarias humanas del yacimiento de Cueva de las Lechuzas(Tabla 6). En cada una de estas tablas aparece el código que se dio a la muestra en el laboratorio (número S-EVA), la pieza dentaria muestreada y el contexto arqueológico y de almacenamiento de la muestra.

Tabla 3: *Muestras óseas para análisis de paleodieta tomadas de Cabezo Redondo.*

ESPECIE	HUESO MUESTREADO	CÓDIGO Y CONTEXTO ARQUEOLÓGICO	S-EVA #
Humano	cráneo	Ind I / 90 DXIX	9103
Humano	cráneo	Ind 2 / 267 DIV	9104
Humano	cráneo	Ind 3 / 95 DXX	9105
Humano	cráneo	Ind 4 / 91 C7	9106
Humano	cráneo	Ind 5 / 91 C7	9107
Humano	cráneo	Ind 6 / 91 C4	9108
Humano	mandíbula	Ind 10 / 01 C6	9109
Humano	mandíbula	Ind 11 / 06 Cort	9110
Humano	cráneo	Campañas viejas sin procedencia / Ind 1 / Bolsa 2656	25417
Humano	cráneo	Campañas viejas sin procedencia / Ind 2 / Bolsa 2041	25418
Humano	húmero	Campañas viejas sin procedencia / Ind 3 / Bolsa 2040	25419
Humano	húmero	Campañas viejas sin procedencia/ Ind 4 / Bolsa 2040	25420
Humano	maxilar	Campañas viejas sin procedencia / Ind 5 / Bolsa 2028	25421
Humano	costilla	Expuestos Museo / Ind 1 / CR2 / en vasija	25422
Humano	cráneo	Expuestos Museo / Ind 2 / CR3 / no vasija	25423
Humano	costilla	Expuestos Museo / Ind 3 / CR1 / en vasija	25424
Humano	1ª costilla	Departamento III / Enterramiento 1 / Bolsa 160	25425
Humano	cráneo	Departamento 4 / Bolsa 2261	25426
Humano	cráneo	Departamento II / Enterramiento 2 / UA 161	25427
Humano	cráneo	Departamento X / Enterramiento 1 / Bolsa 857	25428
Humano	costilla	Departamento XIII / Enterramiento en urna 1	25429
Humano	1ª costilla	Departamento XXX / Enterramiento 2 / Bolsa 1177	25430
Humano	costilla	Departamento XIII / Enterramiento 3 / Bolsa 1177	25431
Humano	cráneo	Cantera Sureste / Bolsa 1880	25432
Humano	fémur	Covacha Oriental 1 / Bolsa 1917 / Enterramiento cista	25433
Humano	cráneo	Cueva Oriental 2 / Enterramiento nº1 / Bolsa 1921	25434
Humano	cráneo	Cueva Oriental 2 / Enterramiento nº2 / Bolsa 1921	25435
Humano	metapodo	Cantera Occidental / Bolsa 1962	25436
Humano	costilla	Enterramiento nº4 / Bolsa 1997	25437
Humano	costilla	enterramiento nº4 / Bolsa 1999	25438
Humano	cráneo	Campañas Nuevas / Ind 1 / Corte 2B / Bolsa 5199	25439
Humano	cráneo	Campañas Nuevas / Ind 2 / Corte 2B / Bolsa 5199	25440
Humano	cráneo	Campañas Nuevas / Capa2 / Bolsas 4387 y 5201	25441
Humano	fémur	Campañas Nuevas / Corte 4 / Enterramiento Bolsa 4215	25442
Cerdo	mandíbula	Cueva Oriental 2	25443
Liebre	fémur	Campañas Nuevas / Corte 2B / Bolsa 5199	25444
Ovicáprido	1ª falange	Departamento XIII	25445
Ovicáprido	metacarpo	Departamento XIII	25446
Cabra	fémur	Departamento XIII	25447
Vaca	pelvis	Departamento XIII	25448
Ungulado mediano	húmero	Departamento XIII	25449
Conejo	fémur	Departamento XIII	25450
Conejo	tibia	Departamento XIII	25451
Conejo	fémur	Departamento XIII	25452
Cabra	vértebra axis	Departamento XIII	25453
Cabra	húmero	Departamento XIII	25454

Tabla 4: *Muestras de esmalte humano para análisis de estroncio tomadas de Cabezo Redondo.*

DIENTE MUESTREADO	CÓDIGO Y CONTEXTO ARQUEOLÓGICO	S-EVA #
M3 superior	Individuo 1 / CR90 / Dpt XIX	22919
P1 superior	Individuo 1 / CR90 / Dpt XIX	22920
P2 inferior	Individuo 2 / 267 / DIV	22921
M2 deciduo superior	Individuo 3 / 95 / DXX	22922
M2 deciduo superior	Individuo 4 / 91 / C7	22923
M2 inferior	Individuo 5 / 91 / Capa 7 Testigo A Sector 5	22924
M2 inferior	Individuo 6 / 91 / C4	22925
I1 inferior	Individuo 10 / 01 / C6	22926
M3 inferior	Individuo 10 / 01 / C6	22927
P1 inferior	Indidivuo 11 / 06 / Corte	22928
P1 inferior	sin # individuo / CR91 C / 10 Capa superficial	22929
M2 superior	sin # individuo / CR02 C1 / UE 02114 nº 22	22930
M1 inferior	sin # individuo / CR04 / 04303	22931

Tabla 5: *Muestras óseas para análisis de paleodieta tomadas de Cueva de las Lechuzas.*

ESPECIE	HUESO MUESTREADO	CÓDIGO Y CONTEXTO ARQUEOLÓGICO	S-EVA #
Humano	cráneo	Lech 1	23555
Humano	cráneo	Lech 2	23556
Humano	cráneo	Lech 3	23557
Humano	cráneo	Lech 5	23558
Humano	cráneo	Lech 7	23559
Humano	cráneo	Lech 8	23560
Humano	cráneo	Lech 9	23561
Humano	cráneo	Lech 10	23562
Humano	cráneo	Lech 11	23563
Humano	cráneo	Lech 11bis inf	23564
Humano	cráneo	Lech 13	23565
Humano	cráneo	Lech 14-6 (es el 6)	23566
Humano	cráneo	Lech 14 bis (es el 14)	23567
Humano	cráneo	Lech 18	23568
Humano	cráneo	Lech sin nº X1	23569
Humano	cráneo	Lech sin nº X2	23570
Humano	cráneo	Lech sin nº X3	23571
Liebre	vértebra	sin código	23572
Conejo	pelvis	sin código	23573
Conejo	calcáneo	sin código	23574
Conejo	pelvis	sin código	23575
Perro	cubito	sin código	23576
Conejo	meta	sin código	23577
Liebre	cráneo	sin código	23578
Liebre	fémur	sin código	23579
Conejo	húmero	sin código	23580
Conejo	cráneo	sin código	23581
Ovicáprido	carpal	sin código	23582
Conejo	pelvis	sin código	23583
Conejo	vértebra	sin código	23584
Liebre	pelvis	sin código	23585
Ovicáprid	fémur	sin código	23586
Carnívoro	peroné	sin código	23587
Carnívoro	pelvis	sin código	23588
Conejo	tibia	sin código	23589
Liebre	tibia	sin código	23590
Ovicáprido	tibia	sin código	23591
Ciervo	metapodo	sin código	23592
Carnívoro	húmero	sin código	23593
Conejo	tibia	sin código	23594
Ciervo	vértebra	sin código	23595
Carnívoro	pelvis	sin código	23596

Tabla 6: *Muestras de esmalte humano para análisis de estroncio de Cueva de las Lechuzas.*

DIENTE MUESTREADO	CÓDIGO Y CONTEXTO ARQUEOLÓGICO	S-EVA #
M1 superior derecho	Lech 11 bis infantil	23649
M1 superior izquierdo	Lech 14 bis adulto	23650
M1 superior derecho	Lech 14-6 bis adulto	23651
M2 superior derecho	Lech 11 adulto	23652
M2 superior derecho	Lech X3 adulto	23653
M1 superior izquierdo	Lech 7 adulto	23654
P2 superior derecho	Lech 1 adulto	23655
M2 superior izquierdo	Lech 5 adulto	23656
M2 superior derecho	Lech 8 adulto	23657
M2 superior izquierdo	Lech 2 adulto	23658
M2 superior derecho	Lech 3 adulto	23659

5. MÉTODOS EMPLEADOS

5.1. EXTRACCIÓN DEL COLÁGENO

El objetivo de cualquier protocolo para la extracción del colágeno de las muestras no debe ser exclusivamente aislar y purificar el colágeno, sino obtener su máximo rendimiento a la vez que deshacerse de todos sus contaminantes exógenos. Fundamental es que la composición isotópica del propio colágeno no se vea alterada en este proceso. De todos modos el producto, inevitablemente, tendrá trazas de otras sustancias como por ejemplo proteínas óseas distintas al colágeno. Por convenio, se le llama a toda esta extracción "colágeno" a pesar de incluir también estas otras proteínas que no lo son en sentido estricto.

El protocolo de preparación y extracción del colágeno del hueso y de la dentina se basa en el método Longin con modificaciones propuestas por algunos investigadores, y con el añadido de un paso de ultrafiltración en su preparación. Esencialmente se está ante un método que convierte la proteína fijada en la matriz mineral del tejido biogénico calcificado en gelatina, y que incluye pasos para eliminar las sustancias húmicas y otro tipo de contaminantes, teniendo además en cuenta, en el rendimiento y calidad del colágeno aislado, la influencia del pH, de la temperatura, del triturado y de la remoción de las muestras durante su procesado.

Existe actualmente un amplio acuerdo en las ciencias arqueológicas concerniente al mejor método existente para extraer colágeno de materiales antiguos, y aunque existen diferencias entre los métodos, son pequeñas. Este método consensuado implica la eliminación de la fracción mineral usando una solución ácida (habitualmente de HCl), la gelatinización del colágeno y su posterior liofilización, quedando al final un producto sólido susceptible de ser analizado. Algunas de las modificaciones existentes incluyen el uso de una solución de hidróxido sódico (NaOH) de forma previa a la gelatinización para eliminar contaminantes orgánicos, el uso de EDTA (ácido etilendiaminotetracético) para la desmineralización en lugar del habitual HCl, y el ya mencionado uso de ultrafiltros para purificar el colágeno gelatinizado.

El argumento utilizado por aquellos que incluyen el tratamiento de las muestras con NaOH se basa en la creencia de que este paso es importante para la

eliminación de sustancias contaminantes orgánicas como el ácido húmico. No parece muy sólido debido a que ni los lípidos ni las sustancias húmicas deberían de suponer un sesgo significativo para los valores isotópicos en el colágeno a no ser que su presencia también altere los ratios de C:N, cosa que no suele ocurrir debido a preservarse en su caso estas sustancias contaminantes en muy pequeñas cantidades en el hueso arqueológico. En la mayoría de laboratorios se omite esta modificación del proceso, pues se ha demostrado que el NaOH se deshace de los contaminantes de forma insuficiente pero causa un descenso importante en el rendimiento del colágeno, y además parece alterar los valores δ al eliminar de forma selectiva aminoácidos específicos.

En el proceso estandarizado habitual, las sustancias vinculadas con la humedad se eliminan durante la fase de ultrafiltrado, y varios estudios han demostrado que este método es al menos igual de efectivo, para esta finalidad, que el tratamiento con NaOH, ya que separa las cadenas proteicas más largas del colágeno (>30,000 kDa o >10,000 kDa, según el ultrafiltro seleccionado) y se asegura con ello que las cadenas cortas de los potenciales contaminantes no se preserven. Por todo ello es por lo que en la preparación de las muestras de este estudio no se ha utilizado el paso añadido de tratamiento de las muestras con NaOH, pero sin embargo sí que se ha utilizado el paso de ultrafiltración.

En cuanto a la modificación que proponen algunos autores de utilizar EDTA para la desmineralización en lugar de HCl, se ha preferido en el procesado de las muestras de este estudio utilizar el HCl, pues su uso está ya claramente aceptado mientras que el uso del EDTA está todavía en fase experimental. De hecho, usar HCl presenta la ventaja de que al no contener carbono, a diferencia del EDTA, es imposible que contamine el colágeno extraído aunque se dé el caso de que el ácido no sea completamente retirado tras el proceso.

Por tanto el protocolo que se ha seguido en este estudio para el procesado de las muestras se divide en las fases típicas del proceso de extracción del colágeno. Lo primero que se hace es limpiar la muestra mediante abrasión de partículas de óxido de aluminio, tras lo cuál se introduce en ácido hidroclórico a 0.5M hasta que se desmineralice (puede tardar hasta varios meses). Tras ello se procede con la gelatinización de la parte orgánica del hueso a 70 ºC durante dos días, siguiendo entonces con el filtrado y el ultrafiltrado de la muestra. Durante

el ultrafiltrado se conserva la solución acuosa con las moléculas de colágeno grandes (>30 kDa), que entonces se congelan. Tras esto se procede con el secado en frío de las muestras a -52 ºC durante dos días, siendo el resultado final una sustancia esponjosa que es el colágeno que se va a analizar.

5.2. PREPARACIÓN PARA ANÁLISIS DE ESTRONCIO

El proceso de preparación del esmalte dentario en solución para poder aislar las partículas de estroncio es más rápido pero más complejo y costoso. Las muestras se han de disolver en varios ácidos fuertemente concentrados, y se han de colar por una resina especial que retiene los átomos de estroncio y no los de otros elementos y moléculas con similar masa atómica. Todo esto se ha de realizar en un laboratorio especial en el que no haya nada de metal, y al que se ha de entrar utilizando trajes de seguridad que cubran todo el cuerpo, pies, cara y cabeza; todo ello para evitar la contaminación con partículas de estroncio del entorno. A su vez, debe de existir una serie de corrientes de aire dirigidas concienzudamente dentro del laboratorio y de las diferentes campanas de extracción para evitar la contaminación durante el proceso. Las fases en las que se divide el proceso de preparación de las muestras en solución consta a grandes rasgos de tres fases básicas: la preparación previa a la digestión, la digestión, y la separación por columnas.

Antes de comenzar con la fase de digestión, hay que preparar las muestras para ésta. La idea general es poderlas limpiar y transformarlas a un estado en que se puedan digerir por ácido. Se necesitará un fragmento de muestra de entre 10 y 20 mg de peso para preparar. En ocasiones, y debido a la fragilidad de la pieza se recomienda tomar menos cantidad de muestra o tomarla incluso en forma de polvillo. Estas muestras deben ser limpiadas de nuevo antes de comenzar su digestión. La limpieza consiste en dos pasos. El primero es enjuagar tres veces las muestras en agua desionizada de alta pureza. El segundo paso de la limpieza es enjuagar las muestras con acetona ultrapura. Tras su secado se meterán las muestras de esmalte en tubos eppendorf de microcentrifugación, y estarán entonces ya preparadas para pasar a la fase de digestión.

El objetivo de la fase de digestión es disolver completamente las muestras en ácido y redisolverlas de nuevo para que acaben acondicionadas para poder pasar por las columnas de intercambio de iones de la siguiente fase. En un principio lo que se debe hacer es meter cada una de las muestras en vasos diferentes apropiadamente etiquetados. Estos vasos especiales de la están hechos de teflón, tienen una capacidad de 3 mL, y se utilizan únicamente para los análisis isotópicos de estroncio. El siguiente paso tras meter las muestras en los vasos de teflón es añadir ácido nítrico (HNO_3) concentrado al 65% (14.3M) a éstos y calentarlos para disolver las muestras. La última parte de esta fase es redisolver en HNO_3, pero a menor concentración que el utilizado con anterioridad, la masa amorfa de la muestra resultante de la digestión. Para ello se introduce 1 mL de HNO_3 3M en cada uno de los vasos de teflón y se calientan. Una vez acabado este proceso, se almacenará en un eppendorf nuevo el mililitro de HNO_3 3M con la muestra disuelta en él.

La muestra se debe entonces meter en una columna de intercambio de iones, gota a gota. Para asegurarse de que la mayor parte posible de las partículas de estroncio de la muestra se queden adheridas a la resina, se pasará la muestra tres veces más por las columnas. Si todo se ha hecho correctamente, en este momento estará todo el estroncio capturado en la resina intercambiadora de iones que tiene afinidad por el estroncio. No obstante, para asegurarse de que sólo quede el estroncio atrapado en la resina, se lava ésta tres veces con 400 μL de HNO_3 3M, que hará que toda partícula que no sea estroncio sea desadherida de la columna y salga con éste de ella. Tras esto habrá que recoger el estroncio en solución. Para ello se introducirá lentamente 1.5 mL de agua desionizada ultrapura, que se encargará de recoger en vasos de teflón todo el estroncio que había quedado fijado a la resina. Entonces se pondrá a calentar sin tapa, quedando el estroncio en estado sólido y de forma apenas perceptible.

Entonces se ha preparar el estroncio de cada muestra en una solución que pueda ser analizada por el espectrómetro de masas. Para ello se redisolverá el estroncio que ha quedado en los vasos de teflón en HNO_3 concentrado al 3%, y se calentará la solución. Tras ello se recogerá el estroncio disuelto y se meterá en un tubo eppendorf hasta que vaya a ser analizado.

5.3. ANÁLISIS EN LOS ESPECTRÓMETROS DE MASAS

Los análisis isotópicos se realizan normalmente utilizando espectrómetros de masas, máquinas que están diseñadas para separar iones (átomos o moléculas cargadas) en base a sus masas y como consecuencia de los movimientos diferenciales de éstos en los campos magnéticos. La mayoría de estos espectrómetros de masas (Figura 9) consisten básicamente en las siguientes partes: un sistema de entrada de muestras, una cámara de ionización, un sistema acelerador, un analizador de masas, y un detector de iones. Las muestras, cuya preparación previa al análisis se realiza de diferente manera en el laboratorio según se trate de un material u otro, pueden ser analizadas en función del tipo de fuentes de iones e independientemente de si su estado es sólido o líquido. En el caso de muestras sólidas, éstas son volatilizadas durante el análisis al entrar en contacto con un filamento incandescente a alta temperatura, ionizándose los átomos en el gas resultante debido al bombardeo que sufren éstos desde la fuente de electrones. Estos iones son acelerados a su salida de la fuente mediante un campo de alto voltaje y focalizados en un haz de iones hacia un campo magnético cuya dirección es perpendicular al paso del haz de iones en movimiento.

A su paso por el campo magnético los iones se desvían en su recorrido con una curvatura diferente según su relación masa/carga (m/z), experimentando los ligeros un menor grado de radio de curvatura que los pesados. Entonces los haces de iones ya separados y de distinta masa pasan a través del analizador y llegan con una carga positiva a un colector simple o múltiple, según el modelo del espectrómetro. En este colector o detector es donde impactan los haces de iones previamente separados y focalizados hacia su interior mediante la variación en su aceleración debido a cambios en el campo magnético o en el voltaje. Estos impactos se registran como corrientes eléctricas diferenciadas según el punto de llegada de los distintos iones y sus masas, convirtiéndose inmediatamente, mediante un software específico, en señales digitales de fácil lectura. La señal resultante consiste en una secuencia de picos y valles que conforma el llamado espectro de masas del elemento en cuestión, y en el que cada pico representa cada uno de los isótopos del elemento analizado. En

cualquier caso, hay que tener en cuenta que los haces de iones principales pueden ser contaminados por iones menores, por lo que los cálculos deben realizarse de forma rutinaria para evaluar y corregir los posibles desajustes debido a este motivo.

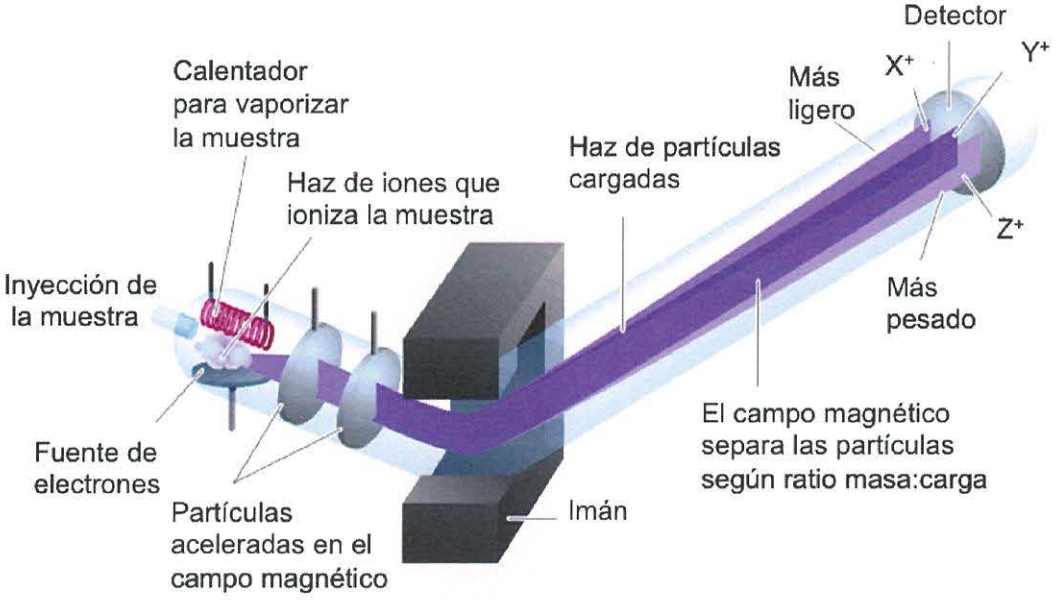


Figura 9:
Esquema de un espectrómetro de masas.

Son estos espectrómetros de masas y los analizadores de elementos acoplados a ellos los que cuantifican la presencia de isótopos de un elemento y proporcionan las ratios isotópicas de éstos, que se calculan mediante la comparación de las corrientes generadas por los iones de una muestra con aquellas producidas por un material de referencia estándar de composición isotópica conocida. Es decir, se mide la proporción de isótopos estables existente en una determinada muestra respecto a la proporción conocida de isótopos estables existente en un material de referencia. A las cantidades isotópicas relativas obtenidas por comparación con un estándar conocido se las refiere como "delta" (δ). Este valor resultante, "δ", que se expresa en partes por mil (‰) debido a que las abundancias naturales de los diferentes isótopos son habitualmente muy pequeñas, se calcula con la siguiente fórmula, donde "E" es el elemento considerado y "R" es la proporción isotópica de dicho elemento ($^{13}C/^{12}C$, $^{15}N/^{14}N$, $^{34}S/^{32}S$), como se aprecia en la fórmula siguiente:

$$\delta E (‰) = \left(\frac{R_{muestra}}{R_{estándar}} - 1 \right) \times 1000$$

Los valores delta denotan una diferencia en su medida, respecto a la del estándar internacional. Los estándares internacionales, por definición, tienen un valor delta de 0‰ a pesar de que estándares individuales contendrán cantidades apreciables de isótopos pesados y ligeros. Un valor δ elevado y positivo indica que la muestra es más pesada que el material de referencia. Es por esto por lo que se utilizan los términos "enriquecido" o "empobrecido" tomándose como referencia siempre al isótopo más pesado (^{13}C en el caso del carbono, ^{15}N en el caso del nitrógeno, y ^{34}S en el caso del azufre). Hay que tener también en cuenta que los valores de la escala pueden ser negativos, como en el caso del carbono, o positivos, como en el caso del nitrógeno o azufre, a causa del material de referencia internacional estandarizado utilizado. Sirva de ejemplo el decir que un valor $\delta^{13}C$ de -13 ‰ de una muestra significa que ésta tiene 13 partes por mil menos de ^{13}C que el material de referencia estándar utilizado para el carbono (es decir, está empobrecido respecto a éste), y que un valor $\delta^{15}N$ de 17 ‰ de una muestra significa que ésta contiene 17 partes por mil más de ^{15}N que el material de referencia estándar utilizado para el nitrógeno (es decir, está enriquecido respecto a éste). Nótese que para los sistemas de isótopos con alta masa atómica, como el estroncio, la notación delta no es comúnmente utilizada. Más información sobre cada uno de los grupos isotópicos, incluso acerca de las notaciones y estándares internacionales definidos para diferentes materiales y elementos químicos, aparecen en los siguientes apartados.

En el caso de las muestras que aquí se presentan, la medición de los valores de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ por espectrometría de masas de ratio isotópicos por flujo continuo se ha llevado a cabo en un analizador de elementos Flash EA 2112 acoplado a un espectrómetro de masas Delta XP, ambos de la compañía Thermo-Finnigan. Las muestras de colágeno analizadas para isótopos estables de azufre se incineraron en el analizador elemental Heka EuroVector y se analizaron utilizando un espectrómetro de masas Delta V plus de la compañía Thermo-

Finnigan. Por su parte, el tipo de espectrómetro que se ha utilizado para analizar directamente las muestras de estroncio es el espectrómetro de masas MC-ICP-MS Thermo Fisher Neptune de la compañía Thermo Fisher Scientific.

Para cada uno de los tipos de análisis, y con el objetivo de asegurar la fiabilidad de los datos, además de analizar las muestras se han analizado estándares conocidos intercaladas entre ellas. En el caso de los análisis de carbono y nitrógeno, el orden en el que se han analizado los estándares y muestras para cada serie analítica es el siguiente: 1 estándar del aminoácido metionina (0.73 ± 0.02 mg), 1 estándar del aminoácido metionina (0.55 ± 0.02 mg), 1 estándar del aminoácido metionina (0.65 ± 0.02 mg), 5 muestras (0.5 ± 0.05 mg por muestra), 1 estándar del aminoácido metionina (0.65 ± 0.05 mg), 1 estándar de hígado bovino (0.55 ± 0.05 mg), 5 muestras (0.5 ± 0.05 mg por muestra), 1 estándar del aminoácido metionina (0.65 ± 0.05 mg), 1 estándar de IAEA N1/CH6 (0.40 ± 0.05 mg de N1, y 0.35 ± 0.05 mg de CH6), 5 muestras (0.5 ± 0.05 mg por muestra), 1 estándar de IAEA N2/CH7 (0.30 ± 0.05 mg de N2, y 0.30 ± 0.05 mg de CH7), 1 estándar del aminoácido metionina (0.65 ± 0.05 mg), 6 muestras (0.5 ± 0.05 mg por muestra), 1 estándar de hígado bovino (0.55 ± 0.05 mg), y 1 estándar del aminoácido metionina (0.65 ± 0.05 mg). Además, cada muestra de colágeno se mide al menos por duplicado, duplicados que se recomienda no realizar de forma simultánea sino en series diferentes en días distintos. Esto hace que también se pudiese utilizar el error analítico medio de ellas a lo largo de todos los análisis, siendo rutinariamente éste 0.2 ‰ (1σ) o menor.

Para los análisis de isótopos estables del azufre, y en el laboratorio en el que directamente se han realizado los análisis de este estudio, cada cápsula de aluminio se prepara para contener entre 10.2 ± 0.3 mg de colágeno. Como se necesita mucho colágeno por análisis, no se realiza duplicado de las muestras en este caso. Una novedad con respecto a los análisis de carbono y nitrógeno es que aquí, junto al colágeno, hay que añadir al colágeno otra sustancia, el pentóxido de vanadio (V_2O_5). Esta molécula, de la cual se añade 1 mg por muestra de colágeno, sirve para catalizar la combustión de tanta cantidad de colágeno y ayuda a reducir la variabilidad entre muestras. En este caso también se añaden estándares internacionales entre las muestras en cada serie analítica, en el

siguiente orden: 1 estándar inorgánico NBS127 (0.265 ± 0.035 mg de éste, más ca. 0.100 mg de V_2O_5), 1 estándar inorgánico IAEA-S1 (0.265 ± 0.035 mg de éste, más ca. 0.100 mg de V_2O_5), 2 estándares orgánicos seguidos de proteína caseína IVA-001 (5.500 ± 0.015 mg de éste, más ca. 0.500 mg de V_2O_5), 4 muestras, 1 estándar inorgánico IAEA-S2 (0.285 ± 0.015 mg de éste, más ca. 0.100 mg de V_2O_5), 1 estándar orgánico de hígado bovino NIST 1577b (6.000 ± 0.0155 mg de éste más ca. 0.500 mg de V_2O_5), 4 muestras, 1 estándar inorgánico IAEA-SO-5 (0.265 ± 0.035 mg de éste más ca. 0.100 mg de V_2O_5), 1 estándar orgánico de proteína caseína IVA-001 (5.500 ± 0.015 mg de éste más ca. 0.500 mg de V_2O_5), 4 muestras, 1 estándar inorgánico IAEA-S3 (0.265 ± 0.035 mg de éste más ca. 0.100 mg de V_2O_5), y 1 estándar orgánico de hígado bovino NIST 1577b (6.000 ± 0.0155 mg de éste más ca. 0.500 mg de V_2O_5). El error analítico en este caso es similar al de los análisis de carbono y nitrógeno, muy bajo.

Como ocurre con los análisis de carbono, nitrógeno y azufre, existen también en los de estroncio unos estándares internacionales y propios del laboratorio que se utilizan a lo largo del proceso analítico para calibrar los datos y dar más precisión al análisis. En concreto, lo que se hace es procesar de igual forma que se hace con el resto de las muestras un estándar cuyo valor es conocido (SRM987) y que se analizará con las muestras. También, y debido a que en el proceso es muy importante asegurarse de que no haya contaminación, además de las muestras y el estándar se utiliza también un blanco que se preparará y analizará junto al resto de muestras. Así pues, las muestras en solución se analizarán en grupos de 15 unidades como máximo, de las cuales una será el estándar, otra será el blanco, y el resto (13 como máximo) serán muestras de investigación. Además, para asegurar la fiabiliad de los datos, se realizaron correcciones para anular las interferencias del kriptón (Kr) y del rubidio (Rb), y se normalizaron a $^{88}Sr/^{86}Sr$ = 8.375209 (ley exponencial) para evitar interferencias de masa en los instrumentos. El análisis del estándar internacional para estroncio NIST SRM987 del National Institute of Standards and Technology se usó durante cada serie analítica para normalizar externamente los datos. El valor $^{87}Sr/^{86}Sr$ de este estándar a largo plazo es de 0.710273 ± 0.000033 (46 ppm, 2σ, n=97). Todos los valores de $^{87}Sr/^{86}Sr$ se ajustaron entonces a SRM987 = 0.710240, un valor $^{87}Sr/^{86}Sr$ TIMS publicado. El

error interno medio de cualquier medición fue de 0.000006 ± 0.0000004 (8 ppm, 2σ, n=97).

5.4. INDICADORES DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS

Existen para el colágeno óseo unos indicadores de calidad bien establecidos y utilizados por la mayoría de laboratorios del mundo para identificar si el colágeno extraído ha sido degradado o contaminado. Se tienen en cuenta varios indicadores de calidad del colágeno para saber si el dato que proporciona el espectrómetro de masas es correcto o no, tales como el rendimiento del colágeno, los pesos moleculares porcentuales del carbono y el nitrógeno, y los ratios C:N.

El porcentaje del rendimiento del colágeno es el indicador más sencillo para poder identificar la pérdida de colágeno por degradación. Éste se calcula determinando el porcentaje de contribución del colágeno extraído relativo a la masa de hueso usado para preparar la muestra como se ve a continuación:

$$\text{Rendimiento colágeno (‰)} = \left(\frac{\text{Masa de colágeno}}{\text{Masa inicial ósea}}\right) \times 100$$

El hueso fresco contiene un 22% de peso de colágeno, pero este porcentaje va disminuyendo progresivamente durante el tiempo arqueológico de deposición. Por ello se ha tomado como cantidad porcentual mínima aceptable de una muestra de colágeno arqueológico el 1 % o incluso el 0.5 %, considerándose un valor menor como indicador de destrucción de la integridad de la muestra, aunque se recomienda que las muestras que tengan menos de un 2% de rendimiento de colágeno se examinen para buscar otras indicaciones de degradación. En cualquier caso, y como estos valores se utilizaban antes cuando no se realizaba de forma tan extendida como actualmente el paso del ultrafiltrado, ahora un rendimiento mínimo del 1%, o incluso menos, puede ser aceptable cuando el resto de indicadores sean buenos, debido a que se pierde bastante colágeno en la ultrafiltración y a que este indicador ya no es considerado fundamental.

Otros indicadores de calidad del colágeno extraído son los pesos moleculares porcentuales de carbono (%C) y nitrógeno (%N), que en el caso del colágeno fresco son de aproximadamente 35 %C y de entre 11 y 16 %N e implican integridad del colágeno extraído. Se considera generalmente aceptable un valor de >35% para el C y un valor de >10% para el N en muestras arqueológicas, en algunos casos de colágeno degradado parece que valores >13% para carbono y valores de >5% para nitrógeno pueden ser todavía aceptables si otros criterios de calidad lo secundan, siempre y cuando su relación proporcional sea la correcta.

El indicador de calidad del colágeno que indica si la proporción entre los pesos moleculares de carbono y nitrógeno es la correcta es el ratio C:N, y se toma su valor como un indicador de integridad de la muestra. Para muestras de colágeno tanto de humanos como de animales actuales los ratios atómicos C:N oscilan normalmente entre valores de 2.9 y 3.6, por lo que los valores de las muestras arqueológicas deberían encajar también en este mismo intervalo, considerándose resultado de la contaminación del colágeno cuando no lo hagan. Nótese que los ratios atómicos C:N se calculan aplicando una corrección para diferencia de masas entre átomos de carbono y nitrógeno:

$$C/N_{\text{atómico}} = \left(\frac{\%\,C}{\%\,N}\right) \times \left(\frac{14}{12}\right)$$

En el caso de los análisis de azufre sobre colágeno óseo, además de los distintos indicadores vistos para los análisis de isótopos estables del carbono y del nitrógeno, existen también otros propios. Estos criterios de calidad estandarizados e internacionalmente aceptados específicos para los análisis de isótopos estables del azufre son el porcentaje de azufre en el colágeno (% S), el ratio C:S, y el ratio N:S. La cantidad de azufre en el colágeno óseo de mamíferos actuales es de 0.28 ± 0.07%, el rango para el ratio C:S es de 600 ± 300, y el rango para el ratio N:S es de 200 ± 100 para el mismo material. Por ello, se considera que los valores para restos arqueológicos deberían encontrarse entre dichos intervalos para cada uno de los indicadores, demostrando así que el colágeno y la presencia de azufre en él son correctos y aceptables.

La situación referente a los análisis de estroncio es algo más compleja, ya que no existen indicadores de calidad propiamente dichos que nos asesoren sobre si la muestra es seguro válida o no, ya que el método y los controles de calidad puestos a punto para el estroncio son relativamente nuevos y están aún en desarrollo. Lo que existen son algunos parámetros que nos indican si la concentración de estroncio es suficiente como para poder ser analizada correctamente y si algunas otras proporciones isotópicas además de la que nos interesa, que es la de $^{87}Sr/^{86}Sr$, entran dentro de lo esperado. En este sentido el voltaje de ^{88}Sr de cada muestra fue monitorizado a lo largo de los análisis considerándose que un valor >1 implica la presencia de suficiente estroncio como para proseguir con el análisis. Interesa también comprobar que la concentración de estroncio en partes por mil sea adecuada y coherente con el resto de la serie analizada para descartar contaminación por estroncio diagenético. Además, la ratio isotópica $^{84}Sr/^{86}Sr$ también fue monitorizada para cada muestra durante ambos tipos de análisis, considerándose aceptables los valores de entre 0.055 y 0.057.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. CABEZO REDONDO

Tabla 7:
Número S-EVA, masa inicial de hueso utilizada, cantidad de colágeno extraído e índices de calidad (rendimiento colágeno, %C, %N, C:N) de Cabezo Redondo [A: serie analítica A / B: serie analítica B]

S-EVA	MASA INICIAL (mg)	CANTIDAD DE COLÁGENO (mg) Y RENDIMIENTO (%)	%C(A)	%N(A)	C:N(A)	%C(B)	%N(B)	C:N(B)
9103	484.4	17,5 / 3,61	43,80	15,71	3,25	42,95	16,09	3,11
9104	577.8	9,4 / 1,63	37,93	13,21	3,35	37,57	13,76	3,19
9105	471	1 / 0,21	38,27	11,35	3,93	35,24	11,24	3,66
9106	640.4	21,6 / 3,37	42,93	15,19	3,30	*	*	*
9107	451.4	19,2 / 4,25	42,58	15,10	3,29	*	*	*
9108	474.8	21,5 / 4,58	43,78	15,58	3,28	41,88	15,53	3,15
9109	484.5	15,6 / 3,22	44,50	15,91	3,26	43,27	16,05	3,15
9110	481.8	7,7 / 1,59	41,08	14,45	3,32	40,17	14,55	3,22
25417	512,5	21,4 / 4,18	45,14	16,41	3,21	45,71	16,66	3,20
25418	770,3	29,4 / 3,82	43,19	15,84	3,18	46,53	17,06	3,18
25419	694,9	29,1 / 4,19	44,51	16,31	3,18	44,94	16,57	3,16
25420	552,3	20,8 / 3,77	43,00	15,66	3,20	43,82	16,06	3,18
25421	451,1	13,2 / 2,93	32,40	11,77	3,21	34,19	12,42	3,21
25422	429,5	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25423	480,1	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25424	675,5	48,1 / 7,12	44,83	16,19	3,23	45,53	16,55	3,21
25425	517,1	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25426	741,5	16,9 / 2,28	43,31	15,67	3,22	44,10	16,09	3,20
25427	501,2	11,6 / 2,31	42,15	15,18	3,24	42,69	15,52	3,21
25428	589	0,4 / 0,07	34,54	10,64	3,79	*	*	*
25429	445,4	35,8 / 8,04	45,30	15,85	3,33	46,42	16,34	3,31
25430	536,4	16,5 / 3,08	45,04	16,34	3,21	45,52	16,60	3,20
25431	418,5	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25432	469,4	17,1 / 3,64	45,05	16,28	3,23	44,74	16,34	3,19
25433	449,6	8 / 1,78	34,15	12,40	3,21	35,36	12,84	3,21
25434	548	41,5 / 7,57	45,15	16,41	3,21	47,13	17,27	3,18
25435	540,4	22,5 / 4,16	45,27	16,49	3,20	44,63	16,45	3,17
25436	583,4	22,7 / 3,89	37,84	13,74	3,21	39,92	14,56	3,20
25437	450,3	25,6 / 5,69	45,11	16,39	3,21	45,85	16,67	3,21
25438	524,1	26,5 / 5,06	45,27	16,40	3,22	46,35	16,85	3,21
25439	523,4	30,3 / 5,79	45,93	16,68	3,21	45,93	16,79	3,19
25440	422,5	32,1 / 7,6	45,14	16,47	3,20	46,19	16,94	3,18
25441	577,7	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25442	658,5	19 / 2,89	43,69	15,53	3,28	43,96	15,72	3,26
25443	603,4	17,5 / 2,90	45,06	16,35	3,22	42,16	15,33	3,21
25444	387,2	19 / 4,91	45,30	16,41	3,22	43,44	15,76	3,22
25445	726,9	20,4 / 2,81	43,43	15,75	3,22	40,86	14,85	3,21
25446	521,8	16,6 / 3,18	43,63	15,92	3,20	41,26	15,07	3,19
25447	432,1	3,8 / 0,88	40,26	14,02	3,35	38,89	13,59	3,34
25448	394,3	4,3 / 1,09	42,73	14,85	3,36	42,48	14,68	3,38
25449	504,8	22,1 / 4,38	44,09	16,11	3,19	42,68	15,63	3,19
25450	451,3	8,7 / 1,93	43,88	15,59	3,28	42,10	14,93	3,29
25451	721,7	0 / 0	*	*	*	*	*	*
25452	683,4	23,1 / 3,38	45,02	15,71	3,34	42,78	14,96	3,34
25453	392,5	10,5 / 2,68	42,00	15,55	3,15	41,11	15,16	3,16
25454	615,1	25 / 4,06	45,46	16,39	3,24	43,38	15,69	3,23

Se ha conseguido extraer colágeno con buenos índices de preservación en la gran mayoría de muestras tomadas del conjunto arqueológico de Cabezo Redondo, aunque de cinco de ellas no se ha podido (S-EVA 25422, 25423, 25425,

25431, 25441) en ninguna de sus fracciones moleculares (>30 kDa, 10-30 kDa, <10 kDa). Además, de otras tres muestras (S-EVA 9106, 9107, 25428) sólo se ha podido extraer colágeno suficiente para una serie analítica. Del resto de muestras se ha podido extraer colágeno con buenos índices de calidad al tener éstas los parámetros %C, %N y C:N de cada una de las dos series realizadas por muestra dentro de los límites aceptables. Para todas las muestras siempre se ha analizado la fracción de colágeno >30 kDa. Todo esto se puede consultar en la Tabla 7.

Tabla 8:

Resultados de Cabezo Redondo (valor medio $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$) junto a la fracción de colágeno analizada, la especie y el número S-EVA de los individuos con buenos índices de preservación de colágeno.

ESPECIE	$\delta^{13}C_{av}$ (‰)	$\delta^{15}N_{av}$ (‰)	COLLAGEN FRACTION	S-EVA
Humano	-12,85	14,47	>30 kDa	9103
Humano	-18,48	12,10	>30 kDa	9104
Humano	-19,29	13,29	>30 kDa	9105
Humano	-18,55	10,70	>30 kDa	9106
Humano	-18,36	10,66	>30 kDa	9107
Humano	-18,62	10,99	>30 kDa	9108
Humano	-19,51	6,39	>30 kDa	9109
Humano	-18,84	9,91	>30 kDa	9110
Humano	-18,24	11,92	>30 kDa	25417
Humano	-18,92	11,78	>30 kDa	25418
Humano	-18,93	10,43	>30 kDa	25419
Humano	-18,50	13,44	>30 kDa	25420
Humano	-18,28	12,17	>30 kDa	25421
Humano	-19,02	13,30	>30 kDa	25424
Humano	-18,89	12,93	>30 kDa	25426
Humano	-18,53	11,59	>30 kDa	25427
Humano	-19,44	12,44	>30 kDa	25428
Humano	-18,41	14,58	>30 kDa	25429
Humano	-18,84	9,93	>30 kDa	25430
Humano	-18,60	11,47	>30 kDa	25432
Humano	-17,98	11,64	>30 kDa	25433
Humano	-18,88	10,26	>30 kDa	25434
Humano	-18,72	12,65	>30 kDa	25435
Humano	-18,35	10,65	>30 kDa	25436
Humano	-18,64	13,45	>30 kDa	25437
Humano	-18,76	10,98	>30 kDa	25438
Humano	-15,29	13,05	>30 kDa	25439
Humano	-13,87	14,39	>30 kDa	25440
Humano	-18,63	5,17	>30 kDa	25442
Cerdo	-19,95	6,67	>30 kDa	25443
Liebre	-21,81	5,27	>30 kDa	25444
Ovicáprido	-18,65	6,66	>30 kDa	25445
Ovicáprido	-19,20	5,65	>30 kDa	25446
Cabra	-19,06	7,88	>30 kDa	25447
Vaca	-17,87	6,98	>30 kDa	25448
Ungulado mediano	-19,94	3,54	>30 kDa	25449
Conejo	-18,33	10,73	>30 kDa	25450
Conejo	-20,86	7,55	>30 kDa	25452
Cabra	-18,47	6,83	>30 kDa	25453
Cabra	-19,84	5,14	>30 kDa	25454

En la Tabla 8 se recogen los valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de las muestras tanto de animales herbívoros como de humanos de Cabezo Redondo de colágeno con buenos índices de calidad y preservación. Los animales herbívoros tienen unos valores medios $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ ± 1σ de -19,45 ± 1,17 ‰ y 6,62 ± 1,84 ‰ respectivamente, con valores máximos y mínimos para $\delta^{13}C$ de -17,87 ‰ y -21,81 ‰, y para $\delta^{15}N$ de 10,73 ‰ y 3,54 ‰. Estos valores son compatibles a grandes rasgos con un entorno terrestre de plantas C_3, y definen el peldaño trófico para los herbívoros sobre los que se compararán los individuos humanos. Los valores medios $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ ± 1σ de los humanos son de -18,21 ± 1,53 ‰ y 11,61 ± 2,11 ‰ respectivamente, siendo los valores máximos y mínimos para $\delta^{13}C$ de -12,85 ‰ y -19,51 ‰, y los máximos y mínimos para $\delta^{15}N$ de 14,58 ‰ y 5,17 ‰ . A grandes rasgos, y utilizando los valores medios, podemos decir que el grueso de la población de Cabezo Redondo basaba su dieta en recursos terrestres C3, y que se sitúan un peldaño trófico por encima de los animales. A su vez, podemos decir que, en general para la mayoría de la población no se están consumiendo ni recursos de origen marino ni de origen lacustre-fluvial de forma importante en la dieta.

No obstante, y debido a que los rangos de los valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ son muy amplios para los humanos, para poder interpretar información más detallada sobre cada uno de los individuos de la población de Cabezo Redondo es necesario recurrir a la gráfica de la Figura 10. En esta gráfica se relacionan los valores isotópicos de cada una de las muestras con las del resto de la población.
Al observarla, lo primero que se ve a simple vista es que hay tres agrupaciones de humanos en zonas diferentes de la gráfica. La más numerosa oscila entre valores de carbono de -20 ‰ y -18 ‰, y entre 9 ‰ y 15 ‰ de nitrógeno. Si atendemos a los valores de carbono de este grupo, se puede decir que este grueso de la población está basando su dieta en recursos terrestres C_3, y no consume recursos proteicos de origen marino. No obstante, y aunque claramente están por encima de la mayoría de los herbívoros en nitrógeno y se sitúan en un peldaño trófico superior, la disparidad de nitrógeno entre los individuos que forman este grupo es muy grande. Esta disparidad en nitrógeno se debe a que existe una diferencia de cantidad de consumo de carne o recursos secundarios animales (como la leche) entro los miembros de la población. Los

individuos que están más abajo estarían consumiendo poca carne y muchos recursos vegetales, mientras que conforme se aumenta el valor de nitrógeno se indica que se está consumiendo más carne y menos vegetales, o incluso algo de proteína lacustre fluvial para los individuos con los valores más altos de nitrógeno del grupo.

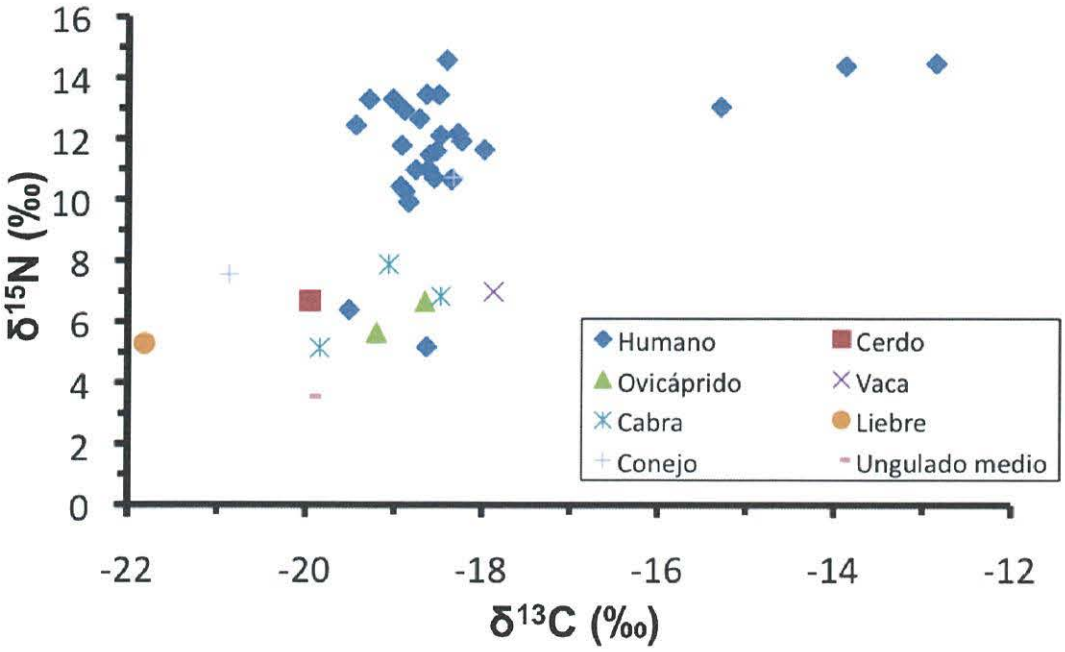


Figura 10:
Valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de los humanos y animales del yacimiento de Cabezo Redondo.

Además de este grupo principal ya descrito, se puede apreciar en la gráfica de la figura 10 cómo hay dos humanos mezclados entre los animales herbívoros. Estos dos humanos no están consumiendo nada de proteína cárnica, y basan su dieta exclusivamente en plantas C_3 (están en el mismo peldaño trófico que los animales herbívoros). También se puede ver que existen tres individuos humanos más desplazados hacia la derecha en la gráfica, con valores $\delta^{13}C$ que oscilan entre -15 ‰ y -12 ‰. Que estos valores sean tan positivos y dispares respecto al resto de la población sólo pueden significar que estos individuos están comiendo de forma regular alimentos completamente diferentes a los que consumen los otros individuos. Podría tratarse de alimentos de origen marino o de recursos terrestres C_4 como el mijo. Para saber si se trata de lo uno o lo otro miramos a sus valores $\delta^{15}N$, que son elevados (de entre 13-14 ‰) e indican por

tanto que estos tres individuos están obteniendo la mayor parte proteica de la dieta de recursos marinos.

Así pues, tenemos para la población de Cabezo Redondo una dieta bastante parecida para gran parte de la población, pero muy dispar con respecto a algunos individuos. Sería interesante poder saber el sexo y edad de los individuos para poder ver si existe una correlación entre la disparidad de valores isotópicos y ellos. Además, poder datar cada uno de los individuos también sería interesante para saber si esa diferencia en la dieta es tal vez producto de diferencias alimentarias cronológicas. Lo que, en cualquier caso no deja de ser llamativo, es que tres de los individuos se estén alimentando casi completamente de recursos marinos, ya que Villena está muy lejos de la costa. Probablemente ello indique que estos individuos son viajeros que vivieron la mayor parte de su vida cerca de la costa y murieron en Cabezo Redondo, o bien que existía una red de intercambios tan sofisticada como para suministrar constantemente de recursos marinos a una minoría de la población de Cabezo Redondo, tal vez la élite.

En cuanto a los análisis de isótopos estables del azufre, éstos se han realizado tan sólo sobre 14 humanos y 4 animales herbívoros, pues tan sólo en ellos había colágeno suficiente para hacerlo. En la Tabla 9 se recogen tanto el índice de calidad para S (recordemos que se aplican igualmente los descritos para carbono y nitrógeno) como el valor $\delta^{34}S$ para cada una de las muestras analizadas. Está claro que ninguno de los humanos ni animales ha vivido cerca del mar, ya que ninguno de los valores de azufre es superior a 14 ‰. Es una lástima no haber podido realizar este tipo de análisis en los individuos que ya hemos mencionado que están consumiendo muchos recursos marinos, ya que según nos hubiese dado uno u otro tipo de información los valores podríamos haber sabido si éstos son foráneos o existe una red de intercambio comercial importante entre la costa y el interior. No obstante, se intentará extraer más colágeno en el futuro para averiguar más información al respecto. Además, vemos también en la gráfica de la Figura 11 que el rango de azufre tanto para los humanos como para los animales es bastante estrecho (de entorno a un 4 ‰), lo que sugiere que estos humanos estarían consumiendo recursos alimentarios de la zona local donde se encuentra el yacimiento.

Tabla 9:
Valores $\delta^{34}S$ e índice de calidad (% S) de humanos y animales de Cabezo Redondo.

ESPECIE	$\delta^{34}S$ (‰)	Cantidad S (%)	S-EVA
Animal	8.23	0.220	25443
Animal	7.12	0.176	25453
Animal	10.90	0.209	25450
Animal	10.83	0.188	25448
Humano	8.20	0.182	9107
Humano	10.16	0.225	9108
Humano	7.86	0.195	9109
Humano	9.38	0.198	25418
Humano	8.18	0.172	25419
Humano	9.64	0.223	25420
Humano	9.33	0.189	25421
Humano	7.42	0.198	25424
Humano	7.34	0.185	25427
Humano	10.34	0.218	25429
Humano	10.81	0.245	25436
Humano	10.58	0.217	25437
Humano	10.46	0.176	25438
Humano	9.80	0.239	25442

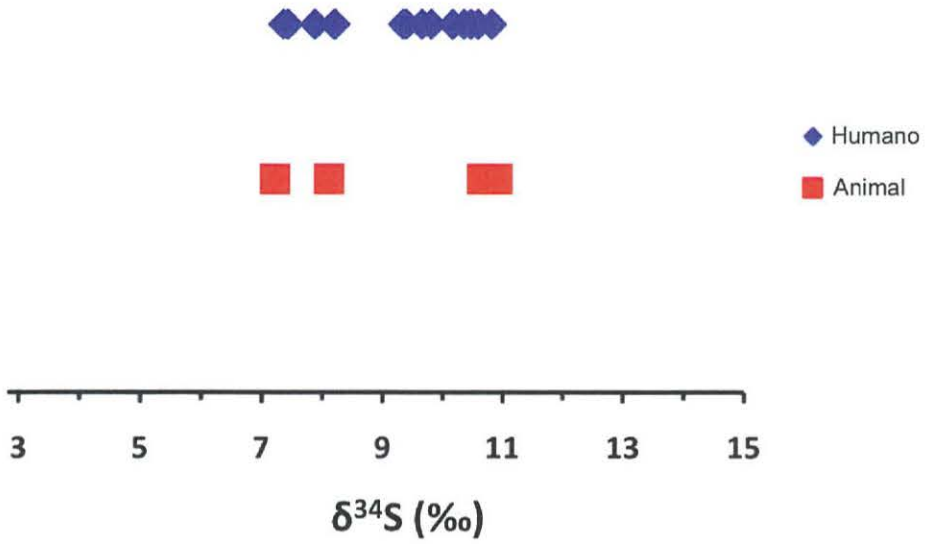


Figura 11:
Valores $\delta^{34}S$ de animales y humanos de Cabezo Redondo.

En la Tabla 10 aparecen los datos referentes a los análisis isotópicos de estroncio realizados sobre esmalte dentario de piezas dentarias de varios individuos de Cabezo Redondo. Todas las muestras realizadas han dado buenos parámetros analíticos, por lo que pueden usarse los ratios $^{87}Sr/^{86}Sr$ para el estudio.

Tabla 10:
Valores $^{87}Sr/^{86}Sr$ de esmalte humano de Cabezo Redondo, junto a parámetros analíticos de control.

S-EVA	MASA INICIAL (mg)	$^{87}Sr/^{86}Sr$	Sr conc. (ppm)	^{88}Sr (V)	$^{84}Sr/^{86}Sr$
22919	32,7	0,70827	409	21,9	0.05643
22920	42.8	0.70839	173	15.0	0.05648
22921	58.9	0.70845	215	21.2	0.05649
22922	26.9	0.70857	219	15.0	0.05644
22923	89	0.70840	175	20.7	0.05647
22924	89.6	0.70841	129	15.5	0.05651
22925	78.4	0.70849	261	20.7	0.05645
22926	20.4	0.70886	46	18.1	0.05648
22927	20.9	0.70879	43	15.9	0.05650
22928	23.3	0.70872	27	18.7	0.05646
22929	21.3	0.70838	57	20.2	0.05649
22930	32.2	0.70837	55	19.7	0.05647
22931	56.1	0.70856	246	19.9	0.05648

Atendiendo a los valores de estroncio del esmalte de todos los individuos analizados, se puede decir que todos ellos pasaron la infancia en el mismo lugar, ya que los valores varían poco. A falta de saber los valores de la geología del entorno inmediato del yacimiento, creemos probable que por tanto sean locales y no se hayan desplazado a otros territorios con geologías diferentes en vida. Nótese que incluso en el caso de dos individuos de los que se ha analizado dos dientes diferentes que representan momentos dispares de la infancia, los valores son iguales. Todo este análisis indica que la población de Cabezo Redondo era una población con poca movilidad territorial y eran todos lugareños. Es por ello necesario buscar una explicación de tipo jerárquico para explicar las diferencias de dieta observadas mediante los análisis de carbono y nitrógeno entre algunos individuos de la población y el resto de sus miembros.

6.2. CUEVA DE LAS LECHUZAS

Se ha conseguido extraer colágeno con buenos índices de preservación en la gran mayoría de muestras tomadas del yacimiento de Cueva de las Lechuzas, aunque de siete de ellas no se ha podido (S-EVA 23556, 23561, 23566, 23573, 23578, 23584, 23594) en ninguna de sus fracciones moleculares (>30 kDa, 10-30 kDa, <10 kDa). Además, de tres muestras (S-EVA 23562, 23574, 23589) se ha podido extraer colágeno pero no ha dado valores aceptables al tener malos indicadores de preservación. Del resto de muestras se ha podido extraer

colágeno con buenos índices de calidad al tener éstas los parámetros %C, %N y C:N de cada una de las dos series realizadas por muestra dentro de los límites aceptables. Hay que tener en cuenta que de diecisiete muestras (S-EVA 23555, 23557, 23560, 23563, 23565, 23567, 23568, 23570, 23572, 23575, 23577, 23579, 23581, 23583, 23585, 23586, 23590) sólo se ha podido analizar una serie analítica, aunque con buenos índices de preservación de colágeno. Para todas las muestras siempre se ha analizado la fracción de colágeno >30 kDa. Todo esto se puede consultar en la Tabla 11.

Tabla 11:

Número S-EVA, masa inicial de hueso utilizada, cantidad de colágeno extraído e índices de calidad (rendimiento colágeno, %C, %N, C:N) de Cueva Lechuzas [A: serie analítica A / B: serie analítica B]

S-EVA	MASA INICIAL (mg)	CANTIDAD DE COLÁGENO (mg) Y RENDIMIENTO (%)	$\%C_{(A)}$	$\%N_{(A)}$	$C:N_{(A)}$	$\%C_{(B)}$	$\%N_{(B)}$	$C:N_{(B)}$
23555	363,8	4,2 / 1,15	*	*	*	41,46	14,90	3,25
23556	438,7	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23557	694,7	26,6 / 3,83	45,48	16,18	3,28	*	*	*
23558	461,1	19,5 / 4,23	43,87	15,86	3,23	43,53	15,59	3,26
23559	913,7	21,9 / 2,40	45,95	16,36	3,28	45,99	16,24	3,30
23560	292,8	14,8 / 5,05	*	*	*	41,18	13,84	3,47
23561	574,4	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23562	*486,9*	*29,9 / 6,14*	*33,31*	*12,95*	*6,00*	*	*	*
23563	592,3	23,2 / 3,92	40,01	14,72	3,17	*	*	*
23564	379,5	12 / 3,16	44,83	16,30	3,21	44,91	16,15	3,24
23565	390,4	8,2 / 2,10	*	*	*	40,79	14,67	3,24
23566	371,3	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23567	512,6	31,5 / 6,15	45,37	16,40	3,23	*	*	*
23568	221,7	10,6 / 4,78	42,30	15,71	3,14	*	*	*
23569	409,2	21,3 / 5,21	44,94	16,36	3,20	45,17	16,35	3,22
23570	706,7	21,1 / 2,99	*	*	*	41,31	15,00	3,21
23571	531	20 / 3,77	43,80	15,70	3,26	43,97	15,71	3,27
23572	247,2	9,3 / 3,76	*	*	*	40,27	14,80	3,17
23573	338	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23574	*648,9*	*17,6 / 2,71*	*31,25*	*12,27*	*1,97*	*	*	*
23575	246,5	9,1 / 3,69	40,51	15,01	3,15	*	*	*
23576	638,1	22,6 / 3,54	43,94	16,14	3,18	43,66	15,95	3,19
23577	194,2	10,6 / 5,46	*	*	*	40,10	14,59	3,21
23578	268	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23579	473,8	16,4 / 3,46	43,10	15,09	3,33	*	*	*
23580	283,7	7,7 / 2,71	43,62	15,50	3,28	43,65	15,41	3,31
23581	285,7	19 / 6,65	92,39	33,17	3,25	*	*	*
23582	707,8	37,6 / 5,31	44,86	16,44	3,18	43,54	15,87	3,20
23583	224,9	6,3 / 2,80	*	*	*	37,73	13,98	3,15
23584	212	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23585	569,1	43,9 / 7,71	46,33	16,94	3,19	*	*	*
23586	596,3	22 / 3,69	43,76	15,78	3,24	*	*	*
23587	794,2	33 / 4,16	41,88	15,36	3,18	42,98	15,68	3,20
23588	252,4	8,6 / 3,41	41,77	15,12	3,22	43,22	15,47	3,26
23589	*686,7*	*49,6 / 7,22*	*35,71*	*14,05*	*7,96*	*	*	*
23590	483,9	19,8 / 4,09	42,72	15,61	3,19	*	*	*
23591	873,9	16 / 1,83	43,35	16,01	3,16	43,22	15,79	3,19
23592	598,9	19,7 / 3,29	42,87	15,58	3,21	44,67	16,09	3,24
23593	634,2	17,7 / 2,79	46,07	16,82	3,20	45,89	16,66	3,21
23594	567,1	0 / 0	*	*	*	*	*	*
23595	358,4	22,6 / 6,31	44,68	16,34	3,19	44,78	16,19	3,23
23596	505,5	23,3 / 4,61	43,03	15,51	3,24	42,58	15,32	3,24

**En letra itálica aparecen las muestras con unos indicadores de colágeno no aceptables.*

Tabla 12:

Resultados de Cueva de las Lechuzas (valor medio $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$), fracción de colágeno analizada, la especie y el número S-EVA de los individuos con buenos índices de preservación de colágeno.

ESPECIE	$\delta^{13}C_{av}$ (‰)	$\delta^{15}N_{av}$ (‰)	COLLAGEN FRACTION	S-EVA
Humano	-18,37	10,07	>30 kDa	23555
Humano	-18,64	10,02	>30 kDa	23557
Humano	-19,07	10,63	>30 kDa	23558
Humano	-18,58	10,53	>30 kDa	23559
Humano	-19,37	9,65	>30 kDa	23560
Humano	-18,77	11,56	>30 kDa	23563
Humano	-18,44	10,24	>30 kDa	23564
Humano	-18,54	11,17	>30 kDa	23565
Humano	-18,39	11,62	>30 kDa	23567
Humano	-18,44	10,48	>30 kDa	23568
Humano	-18,75	11,11	>30 kDa	23569
Humano	-18,65	10,10	>30 kDa	23570
Humano	-18,66	10,28	>30 kDa	23571
Liebre	-20,95	5,61	>30 kDa	23572
Conejo	-21,20	7,23	>30 kDa	23575
Perro	-17,76	10,03	>30 kDa	23576
Conejo	-18,16	5,88	>30 kDa	23577
Liebre	-20,67	5,06	>30 kDa	23579
Conejo	-21,04	5,40	>30 kDa	23580
Conejo	-20,81	8,08	>30 kDa	23581
Ovicáprido	-19,64	8,12	>30 kDa	23582
Conejo	-20,95	6,75	>30 kDa	23583
Liebre	-19,93	6,12	>30 kDa	23585
Ovicáprid	-19,80	9,53	>30 kDa	23586
Carnívoro	-18,57	10,81	>30 kDa	23587
Carnívoro	-18,66	10,66	>30 kDa	23588
Liebre	-21,57	5,43	>30 kDa	23590
Ovicáprido	-18,97	4,92	>30 kDa	23591
Ciervo	-19,86	9,51	>30 kDa	23592
Carnívoro	-16,60	9,83	>30 kDa	23593
Ciervo	-19,51	7,53	>30 kDa	23595
Carnívoro	-16,74	9,55	>30 kDa	23596

En la Tabla 12 se recogen los valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de las muestras tanto de animales herbívoros como de humanos de Cueva de las Lechuzas de colágeno con buenos índices de calidad y preservación. Los animales herbívoros tienen unos valores medios $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ ± 1σ de -20,22 ± 0,96 ‰ y 6,79 ± 1,56 ‰ respectivamente, con valores máximos y mínimos para $\delta^{13}C$ de -18,16 ‰ y -21,57 ‰, y para $\delta^{15}N$ de 9,53 ‰ y 4,92 ‰. Por su parte, los animales carnívoros presentan unos valores medios $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ ± 1σ de -17,66 ± 0,97 ‰ y 10,17 ± 0,54 ‰ respectivamente, con valores máximos y mínimos para $\delta^{13}C$ de -16,60 ‰ y -18,66 ‰, y para $\delta^{15}N$ de 10,81 ‰ y 9,55 ‰. Todos estos valores animales son compatibles con un entorno terrestre de plantas C_3, y definen para el ecosistema local el peldaño trófico para los herbívoros y carnívoros, y así se podrán comparar con los valores de los humanos.. Los valores medios $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ ± 1σ de los humanos son de -18,66 ± 0,28 ‰ y 10,57 ± 0,61 ‰

respectivamente, siendo los valores máximos y mínimos para $\delta^{13}C$ de -18,37 ‰ y -19,37 ‰, y los máximos y mínimos para $\delta^{15}N$ de 11,62 ‰ y 9,65 ‰. En general podemos ver cómo la población humana de Cueva de las Lechuzas tiene una dieta proteica basada en recursos terrestres C_3, sin que exista presencia de recursos de origen marino o lacustre-fluvial. Si los comparamos con los valores medios de los herbívoros y los carnívoros, podemos ver cómo los humanos tienen valores similares a los de los carnívoros y superiores a los de los herbívoros, lo que los sitúa en el peldaño trófico de los carnívoros.

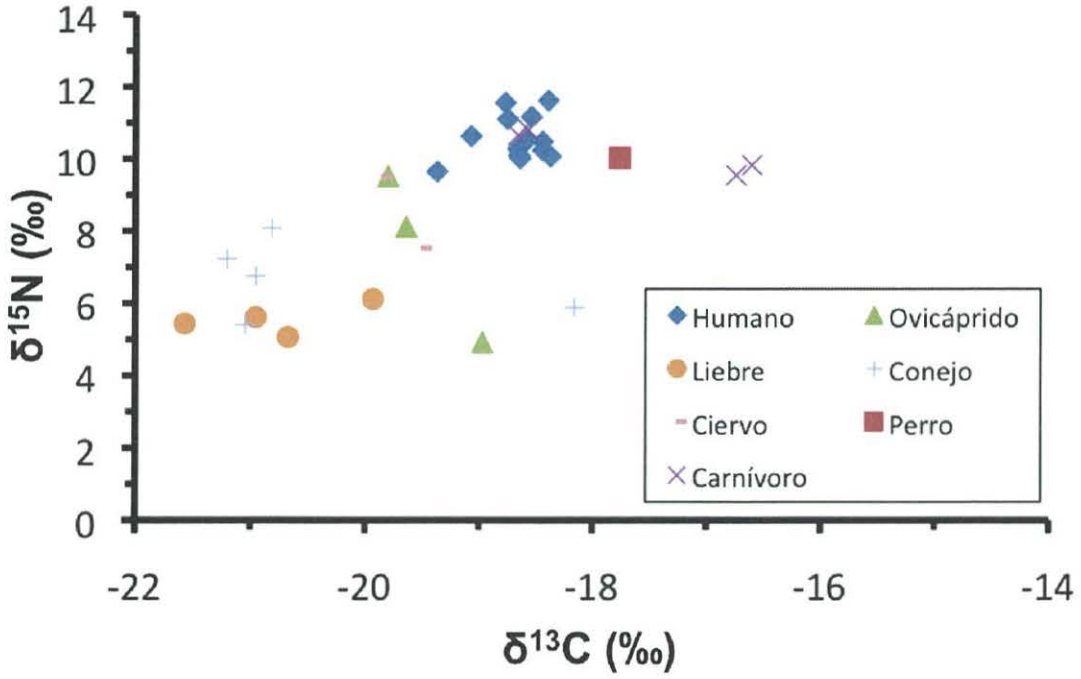


Figura 12:
Valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de los humanos y animales del yacimiento de Cueva de las Lechuzas.

Para poder interpretar más información sobre la población de Cabezo Redondo, es necesario recurrir a la gráfica de la Figura 12, en que se relacionan los valores $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de cada una de las muestras con el resto de la población. A diferencia de lo que ocurría en Cabezo Redondo, se aprecia que la población de Cueva de las Lechuzas tiene una dieta mucho más homogénea entre sus individuos, y ninguno de ellos consume mucha más carne que otros, ni ninguno consume algo de recursos acuáticos. Viendo esta gráfica lo único que podemos

afinar es el tipo de animales en los que basarían más su dieta (al menos de los analizados), que serían la liebre y el conejo.

Tabla 13:
Valores $\delta^{34}S$ e índice de calidad (% S) de humanos y animales de Cueva de las Lechuzas.

ESPECIE	$\delta^{34}S$ (‰)	CANTIDAD S (%)	S-EVA
Humano	4.17	0.205	23557
Humano	7.95	0.195	23558
Humano	4.85	0.250	23559
Humano	9.28	0.246	23560
Humano	6.75	0.205	23563
Humano	10.53	0.193	23564
Humano	8.07	0.148	23567
Animal	4.90	0.201	23576
Animal	5.00	0.182	23577
Animal	5.98	0.154	23579
Animal	8.68	0.216	23581
Animal	8.17	0.191	23582
Animal	4.92	0.226	23585
Animal	6.25	0.224	23586
Animal	8.22	0.187	23587
Animal	7.68	0.216	23590
Animal	3.81	0.182	23591
Animal	9.27	0.199	23592
Animal	10.15	0.207	23593
Animal	11.59	0.161	23595
Animal	10.91	0.175	23596

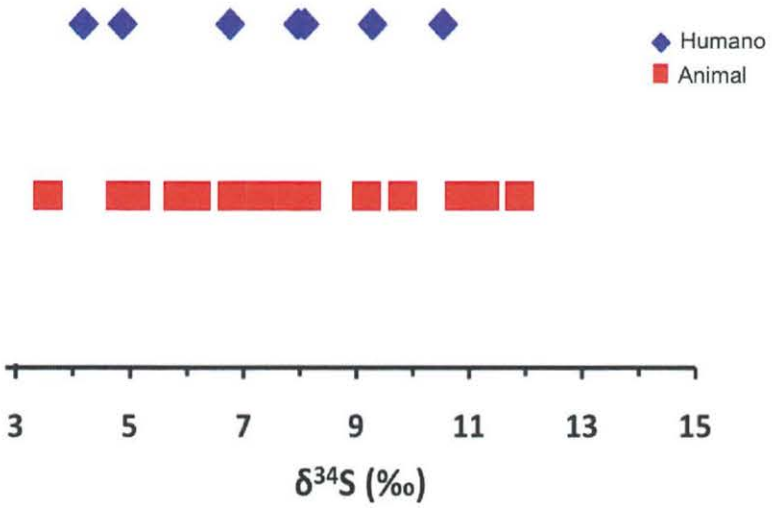


Figura 13:
Valores $\delta^{34}S$ de animales y humanos de Cueva de las Lechuzas.

Los resultados de los análisis de isótopos estables de azufre los tenemos en la Tabla 13. Todas las muestras analizadas tienen buenos índices de preservación del colágeno para azufre, por lo que es correcto su uso. Ninguno de

los individuos humanos analizados presenta valores de azufre > 14 ‰, lo que indica que ninguno de estos individuos vivió cerca del litoral. No obstante, si nos fijamos en el rango de los valores $\delta^{34}S$ tanto de los humanos como de los animales (Figura 13), vemos que su éste es muy amplio (va entre 3 y 13 ‰), a diferencia de lo que ocurría en Cabezo Redondo. Ello indica que la movilidad territorial de estos individuos de Cueva de las Lechuzas es más amplia que la de Cabezo Redondo, consumiendo éstos recursos no sólo del ámbito local sino también del regional.

Tabla 14:
Valores $^{87}Sr/^{86}Sr$ de esmalte humano de Cueva Lechuzas, junto a parámetros analíticos de control.

S-EVA	MASA INICIAL (mg)	$^{87}Sr/^{86}Sr$	Sr conc. (ppm)	^{88}Sr (V)	$^{84}Sr/^{86}Sr$
23649	13.4	0.70828	345	22.5	0.05652
23650	13.5	0.70827	174	13.7	0.05649
23651	16.5	0.70824	194	20.8	0.05651
23652	7.3	0.70825	138	13.7	0.05648
23653	25.9	0.70825	528	22.9	0.05649
23654	15.8	0.70816	349	14.1	0.05643
23655	18.6	0.70815	462	22.4	0.05650
23656	20.5	0.70783	91	19.2	0.05647
23657	21.2	0.70783	100	17.7	0.05647
23658	30.1	0.70797	58	19.3	0.05649
23659	28.5	0.70828	197	14.3	0.05645

En cuanto a los resultados de los análisis isotópicos de estroncio, éstos se pueden consultar en la Tabla 14. A grandes rasgos, se puede ver que la mayoría de individuos de la población tienen un ratio $^{87}Sr/^{86}Sr$ similar, lo que sugiere que pasaron su infancia en un mismo lugar, probablemente el entorno inmediato del yacimiento. No obstante, tres de los individuos (S-EVA 23656, 23657 y 23658) presentan una signatura de estroncio menos radiogénica que la del resto de la población. Esto quiere decir que estos tres individuos provienen de un lugar distinto a los otros individuos. Es una pena no poder contar con los estudios antropológicos, porque ello podría indicar si ésta procedencia dispar tiene que ver o no con los sexos de los individuos. En cualquier caso, la población de Cueva de las Lechuzas, aunque posee una dieta muy homogénea entre todos sus individuos, tiene viviendo entre ellos a varios individuos que se originan de otro lugar aún por determinar.

7. BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

Para más información sobre análisis de isótopos y paleodieta, consultar :

-Ambrose, S.H., Katzenberg, M.A. (2002). *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis.* Nueva York, Kluwer Academic Publishers.

-Buikstra, J.E., Rihuete Herrada, C. (2006). "Isòtops i arqueologia: investigació del consum alimentari i dels historials de residencia". *Cota Zero*, 21, pp. 96-107.

-García-Guixé, E. (2006). "Carn, marisc o cereals? Evolució de l'alimentació a Europa entre el 10,000 i el 5,000 AP". *Cota Zero*, 21, pp. 108-112.

Para más información sobre análisis de isótopos, lactancia y destete, consultar :

-Fuller, B.T., Fuller, J.L., Harris, D.A., Hedges, R.E.M. (2006a). "Detection of breastfeeding and weaning in modern human infants with carbon and nitrogen stable isotope ratios". *American Journal of Physical Anthropology*, 129, pp. 279-293.

-Mays, S.A., Richards, M.P., Fuller, B.T. (2002). "Bone stable isotope evidence for infant feeding in Mediaeval England". *Antiquity*, 76 (293), pp. 654-656.

Para más información sobre análisis isotópicos y pautas de movilidad, consultar:

-Bentley, R.A. (2006). "Strontium Isotopes from the Earth to the Archaeological Skeleton: A Review". Journal of Archaeological Method and Theory, 13, pp. 135-187.

-Nehlich, O. y Richards, M.P. (2009). "Establishing collagen quality criteria for sulphur isotope analysis of archaeological bone collagen". *Journal of Archaeological Anthropological Science.*

Para más información sobre los yacimientos de Cabezo Redondo y Cueva de las Lechuzas, así como de su territorio, consultar:

-Hernández Alcaraz, L. (coord.) (2006). *Historia de Villena desde la Prehistoria hasta el siglo XVIII*, Ayuntamiento de Villena.

-Hernández Pérez, M. S. (2001-2002). "La Edad del Bronce en Alicante". *...Y acumularon tesoros. Mil años de historia en nuestras tierras.* Caja de Ahorros del Mediterráneo, Alicante, pp. 201-217.

-Jover Maestre, Fco. J., López Mira, J. A. y López Padilla, J. A. (1995). El *poblamiento durante el II milenio a. C. en Villena (Alicante).* Fundación Municipal "José María Soler", Villena.

Para más información sobre análisis isotópicos en yacimientos de la fachada mediterránea peninsular, consultar:

-García-Guixé, E., Subira, M.E., Richards, M.P. (2006). "Paleodiets of humans and fauna from the Spanish Mesolithic site of El Collado". *Current Anthropology*, 47, pp. 549-556.

-McClure, S., García-Puchol, O., Roca, C., Culleton, B., Kennett, D. (2011). "Osteological and paleodietary investigation of burials from Cova la Pastora, Alicante, Spain". *Journal of Archaeological Science*, 38, pp. 420-428.

-Salazar-García, D.C., Vives-Ferrándiz, J., Fuller, B.T., Richards, M.P. (2010). "Alimentación de la población del Castellet de Bernabé (ss. V-III a.C.) mediante el uso de ratios de isótopos estables de C y N". *Saguntum*, Extra-9, pp. 313-322.