

KOBIE SERIE BIZKAIKO ARKEOLOGI INDUSKETAK - EXCAVACIONES ARQUEOLOGICAS EN BIZKAIA, nº 2: 45-50
Bizkaiko Foru Aldundia-Diputación Foral de Bizkaia
Bilbao - 2012
ISSN 0214-7971
Web <http://www.bizkaia.eus/kobie>

DATACIÓN MEDIANTE RACEMIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS DE RESTOS DE URSUS SPELAEUS DEL YACIMIENTO DE ASKONDO (MAÑARIA, BIZKAIA)

*Aspartic Acid Racemization dating of Ursus spelaeus remains
from Askondo site (Mañaria, Bizkaia)*

Trinidad Torres Pérez-Hidalgo¹
José Eugenio Ortiz Menéndez¹

Palabras clave: Racemización. Cronología. Ursus spelaeus. Askondo.

Gako-Hitzak: Errazemizazioa. Kronologia. Ursus spaleus. Askondo.

Keywords: Racemization. Chronology. Ursus spelaeus. Askondo.

RESUMEN

Se presentan los resultados de la datación por racemización de aminoácidos de cuatro piezas dentarias de Ursus spelaeus de los niveles 12,11, 10 y 8 del yacimiento de Askondo.

LABURPENA

Aminoazidoen errazemizazioaren bidez lortutako datazioen emaitzak aurkezten dira. Laginak 12, 11, 10 eta 8 mailetatik ateratako lau Ursus spelaeus hortzak izan dira.

ABSTRACT

Aspartic Acid Racemization dating results from four Ursus spelaeus samples recovered from levels 12, 11, 10 and 8 of Askondo archeological site are presented.

¹ Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas

1. INTRODUCCIÓN.

El estudio de racemización de aminoácidos (AAR) se llevó a cabo en el Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular (LEB) de la E.T.S.I. de Minas de Madrid. Las muestras fueron preparadas de acuerdo al protocolo del L.E.B. y analizadas en un cromatógrafo de líquidos de altas prestaciones HPLC-1100 con detector de fluorescencia.

2. MATERIALES Y MÉTODO.

Las 4 piezas dentarias de *Ursus spelaeus* (fig. 1) recogidas en distintos niveles del sondeo O13 fueron limpiadas física y químicamente, las muestras analíticas en polvo se obtuvieron perforando con una broca de diamante la dentina; el polvo del cemento se rechazó. Se tomaron entre 31,6 y 42,5 mg de muestra.

Referencia LEB	Taxón	Sigla, coordenadas
10853	<i>Ursus spelaeus</i>	AZ.O13.3.18.003 (Nivel 11) x:44, y:24, z:-377
10854	<i>Ursus spelaeus</i>	AZ.O13.4.17.028 (Nivel 10) x:62, y:26, z:-382
10940	<i>Ursus spelaeus</i>	AZ.O13.4.19.006 (Nivel 12) x:20, y:33, z:-387
10941	<i>Ursus spelaeus</i>	AZ.O13.1.15.016 (Nivel 8) x:46, y:68, z:-359

Tabla I. Referencia de las piezas dentarias analizadas.



Figura 1. Dientes de *Ursus spelaeus* datados mediante AAR 1: Nivel 8; 2: Nivel 10; 3: Nivel 11; 4: Nivel 12.

Previamente a los procesos de hidrólisis y derivatización, las muestras de dientes se trataron para eliminar los aminoácidos libres. Cada muestra en polvo se disolvió en 1ml 2N HCl. Posteriormente, se añadieron 5 ml de en una solución salina tamponada de fosfato y la muestra se dializó a 3500Da (Spectra/Por mnco 3500 membrane) durante 24 h a temperatura ambiente.

El vidrio empleado para los análisis (excepto las pipetas Pasteur) se limpió por calcinación en un horno a 500°C durante 9 h. Los tapones y septa de teflón se lavaron cuidadosamente con éter de petróleo, acetona y se enjuagaron tres veces con agua ultralimpia. Toda el agua empleada en los análisis es de calidad Milli-Q de Millipore. El ácido clorhídrico es de Merck grado analítico.

La hidrólisis se realizó en ácido clorhídrico 7 N (20 µl/mg) en viales de 4 ml con tapones de rosca recubiertos de teflón, cerrados bajo atmósfera de nitrógeno, en una estufa a 100°C durante 20 h. Posteriormente se evaporó bajo vacío (tapones sin acabar de desenroscar) en el desecador de plástico.

Previamente al análisis la muestra se rehidrató con ácido clorhídrico 0.01 N (20 µl/mg) y se transfirió a viales de inyección de 150 µl.

Para el análisis en HPLC se inyectaron 2 µl de la muestra en un cromatógrafo de líquidos Agilent 1100. La derivatización tuvo lugar en el inyector automático mediante la adición de 4 µl del reactivo OPA/IBLC (45,6 mg de O-phtaldialdehyde-OPA- y 99,4 mg de N-isobutiryl-L-cysteine-IBLC- disueltos en 2 ml de borato potásico a un pH de 10.4). Se utilizaron tres fases móviles:

- A: H₂O HPLC con 3,13 g de sodio acetato trihidratado, 275 mg de EDTA y 100 mg de azida sódica. Se ajustó el pH a 6 añadiendo gotas de hidróxido de sodio 10M.

- B: Metanol grado gradiente HPLC

- D: Acetonitrilo grado gradiente HPLC.

La columna es de tipo Hypersil DBS C18 (250 x 4 mm). Las condiciones de análisis fueron las siguientes:

tiempo (min)	A (%)	B (%)	D (%)	Flujo (ml/min)	
0	95	5	0	1	
31	76,6	23	0,4	1	Análisis
83	51	44	5	1	
84	0	95	5	1	Limpieza
99	0	95	5	1	
100	95	5	0	1	Equilibrar para el siguiente análisis
115	95	5	0	1	

Tabla II. Condiciones de análisis.

3. RESULTADOS.

Los resultados de los análisis de las piezas dentarias y las edades individuales (tb. III) consisten en las

relaciones D/L de cada aminoácido identificado y el contenido total de cada enantiómero.

Muestra Aminoácidos	LEB 10853 (talla 18)	LEB 10854 (talla 17)	LEB 10940	LEB 10941
Peso (mg)	42,5	40,7	40,7	31,6
D Aspártico	5215,19	4653,04	508,29	1223,62
L Aspártico	57453,8	59787,5	5930,57	16365,7
D/L Asp	0,091	0,078	0,086	0,075
D Glutámico	3563,26	3127,76	269,55	730,07
L Glutámico	10551,4	11044,9	9734,63	27234,5
D/L Glu	0,337	0,283	0,028	0,027
D Serina	1892,44	927,95	107,06	234,39
L Serina	50858,4	54471,6	4228,77	11624,2
D/L Ser	0,037	0,017	0,025	0,020
Edad (ka)	68,4	57,2	64,0	54,6

Tabla III. Abundancia, relaciones de racemización para el ácido aspártico, ácido glutámico y serina y edad de las muestras de la cueva de Askondo.

La edad de las muestras se ha determinado introduciendo los valores D/L del ácido aspártico en el algoritmo de cálculo de edad establecido para el colágeno de la dentina de osos fósiles de la Península Ibérica (*Ursus deningeri* y *Ursus spelaeus*), de Torres *et al.* (2002).

4. BIBLIOGRAFÍA.

Torres, T., Ortiz, J.E., Llamas, F.J., Canoira, L., Juliá, R., García-Martínez, M.J.

2002 “Bear Dentine Aspartic Acid Racemization Analysis, Proxy for Pleistocene Cave Infills Dating”, *Archeometry* 44 (3), 417-426.