

Relación del índice de cristalinidad (IC) con la edad y el contenido de iones F y CO₃ en muestras de vertebrados fósiles

Relationship of the crystallinity index (CI) with the age and content of F and CO₃ ions in vertebrate fossil samples

L. Merino¹, J. Morales¹

RESUMEN

Se ha determinado el índice de cristalinidad (IC) mediante difracción de rayos X de muestras actuales y fósiles pertenecientes a esmalte, dentina y hueso de metápodo de équidos, jiráfidos, rinocerótidos y proboscídeos de diferentes yacimientos neógenos españoles. Con estos valores de la cristalinidad del apatito se estima semicuantitativamente la evolución de los cambios diagenéticos ocurridos en el material óseo fósil. Se ha observado que el esmalte presenta un IC mayor que la dentina y hueso de metápodo, debido a su estructura más compacta. Sin embargo, no hay una correlación clara entre el incremento de la cristalinidad y la edad de las muestras. Además, el contenido de flúor aumenta durante los procesos de fosilización y como consecuencia aumenta el IC en las muestras fósiles. Por otro lado, el enriquecimiento diagenético de carbonato no está relacionado con la edad de los yacimientos, pero al aumentar su contenido en el esmalte, dentina y hueso de metápodo, disminuye en ellos su IC. Los sedimentos adyacentes juegan un papel clave en los cambios de cristalinidad de los huesos fósiles, como es el caso de los yacimientos con arenas, donde las muestras tienen un IC alto, por el contrario los yacimientos de margas y arcillas tienen un IC más bajo.

Palabras clave: Índice de cristalinidad, procesos diagenéticos, intercambio iónico, yacimientos neógenos.

ABSTRACT

The crystalline fraction of enamel, dentin and metapodial bone of modern and fossil mammals were studied by X-ray diffraction analysis. The powdered samples were collected from several equids, giraffids, rhinocerotids and proboscideans of Spanish Neogene deposits. Changes in the crystallinity index (CI) of apatite are particularly useful to estimate later diagenetic changes in the fossil material. The enamel displays larger CI than dentine and metapodial bone since they have a more dense structure; furthermore there is not a clear relationship between the CI enlargement and the geological age of samples. In addition, the fluorine content increases during the fossilization process and accordingly the parameter CI increases in fossil samples. The carbonate enrichment is not linked to the age of the deposits; however this carbonate increase in enamel, dentine and metapodial bone reduces the CI parameter. The host sediments play an essential role in the crystallinity changes observed in fossil bones; e.g., in the silica sands case, samples display a high CI while in the claystone and chalks case, they display a lower crystallinity index.

Key words: Crystallinity index, diagenetic processes, ionic exchange, Neogene fossil deposits.

Introducción

Cuando los huesos quedan enterrados bajo tierra, su composición química está sujeta a cambios, unos rápidos y otros más lentos, que hacen que se destru-

yan o que fosilicen (Parker & Toots, 1980; Bochenens *et al.*, 1997; Karkanans *et al.*, 2000; Metzger *et al.*, 2004; Carpenter, 2005). La materia grasa del hueso se pierde rápidamente, pero las proteínas (como el colágeno) desaparecen más lentamente

¹ Departamento de Paleobiología. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid. Email: jorge.morales@mncn.csic.es

e incluso, en ciertas condiciones como cuando el suelo está congelado o si no hay aire y bacterias, pueden permanecer durante decenas de millares de años. Los factores abióticos influyen en la conservación del hueso enterrado. Por ejemplo, un PH alto o bajo del medio, puede afectar negativamente la preservación del material óseo; por el contrario, los ambientes ligeramente alcalinos son los mejores para su conservación (Henderson, 1987; Stephan, 1997; Denys, 2002; Hedges, 2002).

Entre las variedades de fosfatos naturales, los apatitos (fosfatos de calcio) y sobre todo el hidroxiapatito, fluorapatito y el carbonato-apatito, desempeñan un papel primordial en la conservación de los fósiles (Lucas & Prévôt, 1991). Está bien establecido que la fase mineral del tejido óseo de los vertebrados es un hidroxiapatito (Montel *et al.*, 1981; Elliott *et al.*, 1985; Carlson, 1990) cuya fórmula es $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. Como este mineral es termodinámicamente inestable, el ion hidroxilo suele quedar sustituido por otros iones en el medio sedimentario. Estos cambios se producen comúnmente dentro de su estructura mediante reemplazamientos isomórficos (Newesely, 1989; Piepenbrink, 1989; Michel *et al.*, 1995). La incorporación de estos nuevos iones dentro de la estructura cristalina del apatito, debe empezar al mismo tiempo, o un poco después, que la fracción orgánica del hueso es destruida (Grupe & Piepenbrink, 1989; Tuross *et al.*, 1989; Ayliffe *et al.*, 1994; Hubert *et al.*, 1996; Pfretzschner, 2000, 2001, 2004).

Hay que distinguir entre el enriquecimiento durante la diagénesis de elementos que están presentes en minerales que rellenan los poros del tejido óseo y los que entran en la estructura cristalina del apatito por cambios isomórficos. Las estructuras cristalinas de los minerales y las propiedades de los iones determinan en gran parte la incorporación de los elementos a los minerales y, por lo tanto, influyen enormemente en su comportamiento geoquímico. En un cristal de apatito la sustitución de un elemento por otro en su estructura cristalina está determinada dentro de unos márgenes, según el elemento en cuestión.

Distintos trabajos sobre diagénesis en huesos de mamíferos y reptiles muestran que los cambios químicos que les afectan varían según los distintos ambientes de enterramiento (Williams & Potts, 1988; Denys *et al.*, 1996; Subirá *et al.*, 1996; Lécuyer *et al.*, 2003; Berreteaga *et al.*, 2004). El estudio de los procesos de enriquecimiento o pérdida de elementos durante la diagénesis de los huesos, per-

mite establecer asociaciones con la composición del sedimento circundante. Los componentes inorgánicos de los sedimentos, así como la composición química del agua subterránea, juegan un papel fundamental en el proceso de fosilización y van a determinar las propiedades mineralógicas del fósil (Dauphin & Lange-Badré, 2000; Trueman & Martill, 2002; Trueman *et al.*, 2003; Clarke, 2004).

La toma de elementos traza del material enterrado, dientes o huesos, depende de la disponibilidad de elementos de las aguas subterráneas, temperatura, redox y acidez, así como de la estructura y composición química del material.

Los huesos fósiles muestran un incremento de la cristalinidad respecto a los actuales (Schoeninger *et al.*, 1989; Sillen, 1989; Hedges & Millard, 1995; Sillen & Parkington, 1996; Elorza *et al.*, 1999; Lee-Thorp, 2002; Reiche *et al.*, 2002; Farlow & Argast, 2006) reflejándose en el aumento del tamaño del cristal, con la incorporación de flúor y la pérdida de carbonato en la estructura del apatito. Con la muerte y enterramiento del animal el material fosfático, componente de los huesos y dientes, empieza a sufrir transformaciones diagenéticas (Merino & Morales, 2006). La cristalinidad empieza a aumentar de una manera poco significativa en los primeros años de enterramiento (Tuross *et al.*, 1989), siendo necesarios varios miles de años para un cambio verdaderamente importante (Sillen, 1989)

La cristalinidad del apatito se ha utilizado para diferenciar el grado de diagénesis en las piezas fósiles, midiéndose como el ancho Scherrer o línea de ensanchamiento al medio-máximo de una reflexión determinada, medida en grados 2θ . En tal sentido, diversos autores (Tuross *et al.*, 1989; Weiner & Bar-Yosef, 1990; Astibia *et al.*, 1990; Bartsiakos & Middleton, 1992) han definido varios índices de cristalinidad.

En el presente estudio se van a emplear las reflexiones (202), (300), (211) y (112), localizadas entre 30° y $35^\circ 2\theta$ para el cálculo del índice de cristalinidad (Person *et al.*, 1995). Con este índice se va a medir semicuantitativamente la evolución mineralógica de los dientes y huesos actuales y fósiles, proporcionando una medida de la cristalinidad, y por tanto, de la homogeneidad del fosfato óseo.

Una vez obtenido el difractograma de la muestra y sustraído el fondo, hay que diferenciar las reflexiones antes mencionadas. La altura de cada pico se mide desde su punto máximo hasta el valor del «valle» de separación de éste con el pico siguiente (fig. 1). A estos valores se les divide por la altura

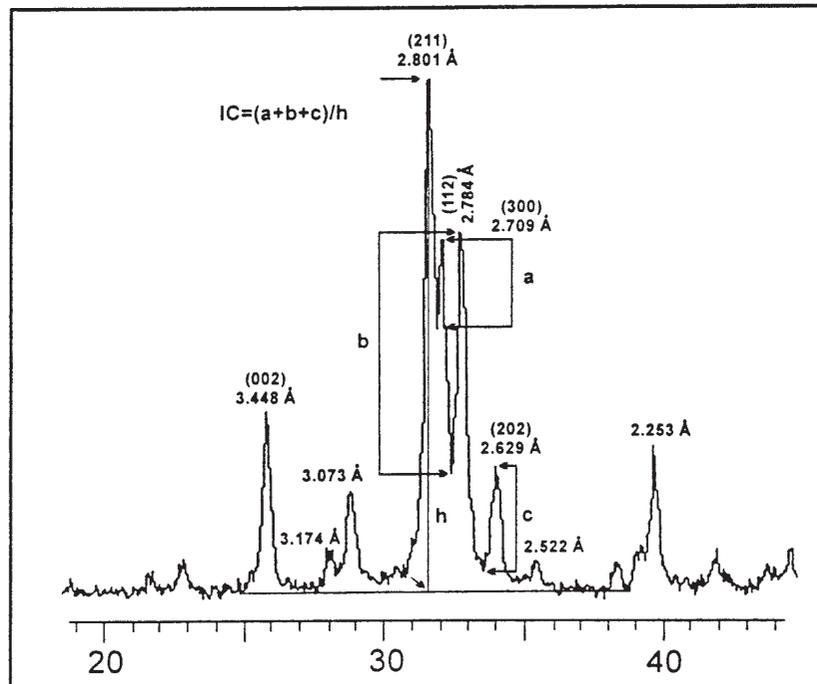


Fig. 1.—Cálculo del índice de cristalinidad (IC) entre 24° y 38° 2θ, sobre el difractograma de un carbonato apatito. Metodología propuesta por Person *et al.* (1995).

del pico más alto, que corresponde al (211), restándole el valor de la línea base tomada entre 24° y 38° 2θ. Por tanto, el índice de cristalinidad (IC) se expresará de la siguiente manera:

$$IC = \frac{\Sigma\{a(112), b(300), c(202)\}}{h(211)} = \frac{a + b + c}{h}$$

Por lo que teóricamente, cuanto más elevado sea este índice mayor será la cristalinidad del apatito.

El objetivo de este trabajo es estudiar la evolución del IC del material óseo fósil, perteneciente a vertebrados de distintos yacimientos neógenos españoles, así como la influencia del flúor y del carbonato en la cristalinidad de las muestras.

Material y métodos

Se han analizado un total de 65 muestras actuales y fósiles pertenecientes a esmaltes, dentinas y metápodos de équidos, jiráfidos, rinocerótidos y proboscídeos. Del rinoceronte actual no se ha podido analizar el metápodo por no disponer de material. Las piezas actuales tienen diferente procedencia: el caballo de Teruel, el elefante de Guinea Ecuatorial, una jirafa de la República de Sudáfrica y la otra del Zoológico de Madrid y por último el rinoceronte de Kenia. El material procede en su mayor parte de las colecciones de vertebrados fósiles y actuales del Museo Nacional

de Ciencias Naturales. Se han analizado los taxones actuales para poder compararlos con los fósiles y de esta manera intentar reconstruir los procesos diagenéticos acaecidos.

Al elegir el material fósil se tuvo en cuenta: que los yacimientos estudiados abarcaran desde el Mioceno inferior al Plioceno, que estuvieran en distintas cuencas sedimentarias y que las facies de estos yacimientos fueran diferentes para observar mejor la influencia que ejercen composicionalmente en los procesos de fosilización y, por tanto, en la cristalización de los huesos.

Los tres tipos de tejidos óseos de las muestras presentan un comportamiento diagenético diferente, siendo los metápodos y las dentinas más sensibles a las variaciones en la composición química que los esmaltes (fig. 2), por ser más porosos y permeables (Toyoda & Tokomani, 1990; Michel *et al.*, 1996).

Para identificar las distintas fases minerales de los componentes de las muestras y calcular su índice de cristalinidad (IC) se han utilizado técnicas de difracción de rayos X (DRX), con un difractómetro Philips modelo PW 1710 del Laboratorio de DRX del Museo Nacional de Ciencias Naturales, equipado con monocromador de grafito y utilizando la radiación Cu Kα. Los registros de los difractogramas se han estudiado con el programa PLV v. 2.01 (Martín Ramos, 1994).

Se han realizado análisis químicos a 48 muestras mediante fluorescencia de rayos X (FRX) con un espectrómetro Philips 1410/20. El contenido de CO₂ de las muestras se ha determinado mediante calcinación a 1.000 °C y se ha cuantificado gravimétricamente como pérdida de peso.

En los huesos actuales se ha eliminado la materia orgánica mediante el ataque en caliente con hidrógeno peróxido 33% p/v (H₂O₂ 110 Vol.).

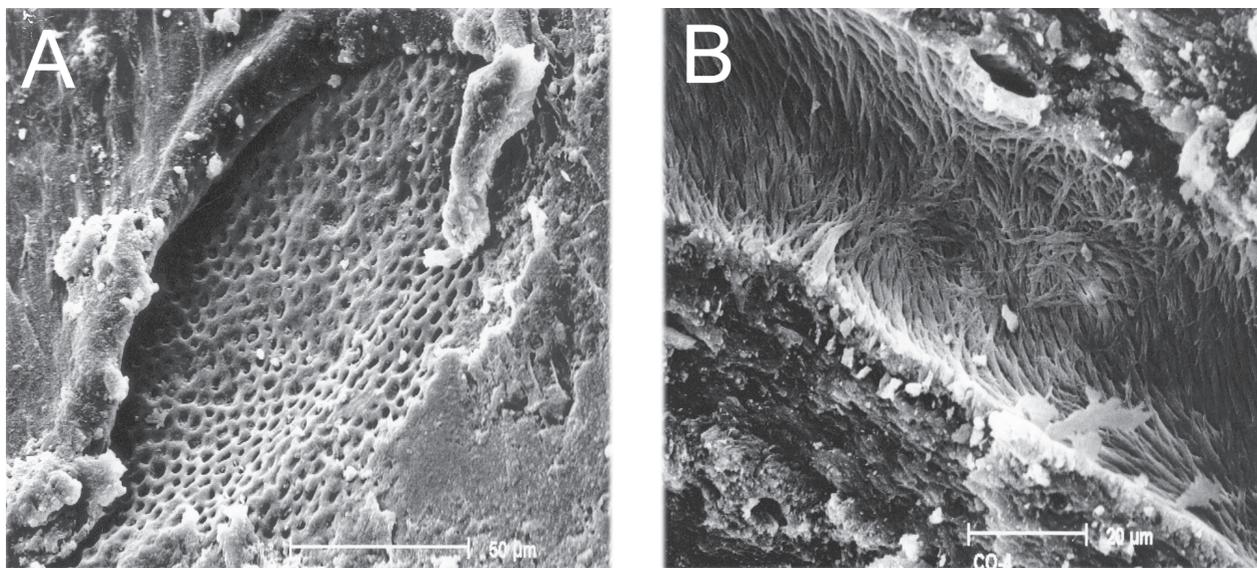


Fig. 2.—A) Imagen de M.E.B. de esmalte y dentina de *Hipparion primigenium* del yacimiento Los Valles de Fuentidueña, donde se observa la estructura más porosa de la dentina (en el centro). B) Detalle de una sección longitudinal de metápodo de *Hipparion conculdense* del yacimiento Concul. Se aprecian las fibras de colágeno mineralizado en un canal de Havers.

Las características microtexturales y mineralógicas de las muestras se han estudiado mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y análisis EDX del Servicio de Microscopía Electrónica del Museo Nacional de Ciencias Naturales. Las observaciones se efectuaron sobre superficies de fractura fresca de pequeñas muestras de material óseo, cubiertas de una película de oro.

Resultados

Cristalinidad y edad de las muestras

Se han calculado los índices de cristalinidad (IC) de muestras actuales y de distintos yacimientos de edades que van desde hace 2 m.a. hasta alrededor de 24,5 m.a. (tabla 1). Las muestras actuales tienen unos valores del IC menores que las muestras fósiles, tanto para los tres tipos de tejidos como para los diferentes taxones estudiados. Las muestras PV-1, VM-4 y RE-4, pertenecientes las tres a esmaltes, tienen el IC mayor que 1 porque las alturas de los picos de sus reflexiones (300) son mayores que las de (211).

Comparando el IC del esmalte, dentina y metápodo de las muestras con la edad (fig. 3) se ha observado que no existe una relación clara entre ambos parámetros.

Además, se ha visto que los valores del IC de taxones de la misma familia no muestran ninguna

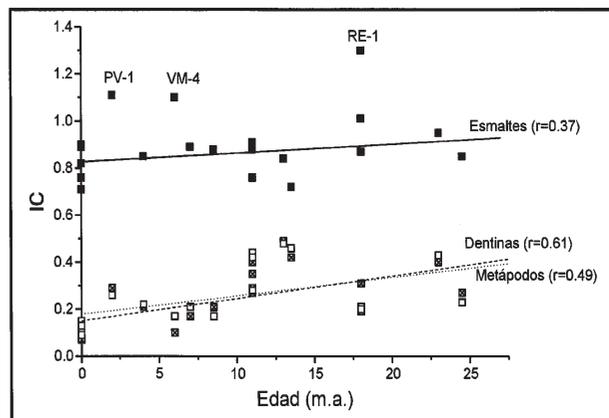


Fig. 3.—Variación del índice de cristalinidad (IC) en los esmaltes, dentinas y metápodos actuales y fósiles en relación con la edad de los yacimientos.

relación definida con la edad, como se demuestra si comparamos los metápodos de los rinocerontes de la muestra PA-3 del yacimiento Paracuellos 3, cuyo IC es de 0,48 y su edad es de 13 m.a. con la muestra VA-3 del yacimiento de Valquemado, de IC de 0,23 y edad de alrededor de 24,5 m.a.

Lo mismo se puede observar en el caso de dentinas de équido de la muestra LVF-2 del yacimiento Los Valles de Fuentidueña, cuyo IC es de 0,35 y la edad es de 11 m.a. y la muestra RE-7 del yacimiento La Retama, de IC de 0,19 y edad 18 m.a.

Tabla 1.—Valores del índice de cristalinidad (IC) de las muestras y contenido de flúor y carbonato

Muestra	Yacimiento	Edad (m.a.)	Familia	Taxón	Pieza	IC	F (%)	CO ₃ (%)
CAB-1	Actual	Actual	Equidae	<i>E. caballus</i>	Esmalte	0,76	0,768	6,23
CAB-2					Dentina	0,07	0,931	5,48
CAB-3					Metápodo	0,15	0,778	6,74
JIR-1			Giraffidae	<i>G. camelopardalis</i>	Esmalte	0,89	1,236	5,75
JIR-2					Dentina	0,10	1,465	5,75
JIR-3					Metápodo	0,09	1,083	4,54
JIRA-1			Giraffidae	<i>G. camelopardalis</i>	Esmalte	0,90	1,541	6,09
JIRA-2					Dentina	0,10	0,931	5,09
JIRA-3					Metápodo	0,13	1,373	5,15
ELF-1			Elephantidae	<i>L. africana</i>	Esmalte	0,71	0,712	7,13
ELF-2					Dentina	0,13	0,778	6,27
ELF-3					Metápodo	0,10	0,625	7,39
RIN-1			Rhinocerotidae	<i>D. bicornis</i>	Esmalte	0,82	0,778	6,66
RIN-2					Dentina	0,10	1,389	5,65
PV-1					La Puebla de V.	2	Equidae	<i>E. stenonis</i>
PV-2	Dentina	0,29	1,694	9,74				
PV-3	Metápodo	0,26	1,259	10,47				
LAY-1	Layna	4	Rhinocerotidae	<i>S. miguelcrusafonti</i>	Esmalte	0,85	1,090	7,78
LAY-2					Dentina	0,21	1,541	6,06
LAY-3					Metápodo	0,22	1,077	29,72
VM-4	Venta del Moro	6	Equidae	<i>Hipparion</i> sp.	Esmalte	1,10		
VM-5					Dentina	0,10		
VM-6					Metápodo	0,17		
CO-2	Concud	7	Equidae	<i>H. concudense</i>	Esmalte	0,89	1,541	6,29
CO-3					Dentina	0,17	2,172	8,74
CO-4					Metápodo	0,21	2,720	12,09
PM-1	Puente Minero	8,5	Equidae	<i>H. primigenium</i>	Esmalte	0,88		
PM-2					Dentina	0,21		
PM-3					Metápodo	0,17		
LVF-1	Los Valles de F.	11	Equidae	<i>H. primigenium</i>	Esmalte	0,91	1,239	6,80
LVF-2					Dentina	0,35	2,903	9,55
LVF-3					Metápodo	0,28	2,903	8,07
LVF-4			Gomphotheriidae	<i>T. longirostris</i>	Esmalte	0,71	0,894	7,48
LVF-5					Dentina	0,27	2,530	8,01
LVF-15					Metápodo	0,44	2,152	25,57
LVF-6			Giraffidae	<i>D. pachecoi</i>	Esmalte	0,91	1,442	7,14
LVF-7					Dentina	0,29		
LVF-8					Metápodo	0,41		
LVF-9			Rhinocerotidae	<i>A. simorrense</i>	Esmalte	0,88	1,077	6,94
LVF-10					Dentina	0,40	2,916	7,69
LVF-11					Metápodo	0,42	3,268	8,30
PA-1	Paracuellos 3	13	Rhinocerotidae	<i>A. simorrense</i>	Esmalte	0,84		
PA-2					Dentina	0,49		
PA-3					Metápodo	0,48		
PAV-1	Paracuellos 5	13,5	Gomphotheriidae	<i>G. angustidens</i>	Esmalte	0,72	2,152	8,20
PAV-2					Dentina	0,42	3,374	8,75
PAV-3					Metápodo	0,48	3,085	9,47
PAV-4			Equidae	<i>A. procerum</i>	Esmalte	0,85		
PAV-5					Dentina	0,26		
PAV-6					Metápodo	0,32		
RE-1	La Retama	18	Rhinocerotidae	<i>H. matritense</i>	Esmalte	1,30	1,259	7,40
RE-2					Dentina	0,19	2,538	8,31
RE-3					Metápodo	0,21	2,172	22,07
RE-4			Gomphotheriidae	<i>G. angustidens</i>	Esmalte	0,87	1,442	8,01
RE-5					Dentina	0,31	2,305	8,75
RE-9					Metápodo	0,21	2,610	8,37
RE-6			Equidae	<i>A. castellanum</i>	Esmalte	1,01	1,259	6,83
RE-7					Dentina	0,19	2,610	7,66
RE-8					Metápodo	0,13	2,720	12,90
LO-1	Loranca	23	Rhinocerotidae	<i>P. minutum</i>	Esmalte	0,95	1,541	7,39
LO-2					Dentina	0,38	2,720	6,91
LO-3					Metápodo	0,43	2,903	5,23
VA-1	Valquemado	24,5	Rhinocerotidae	<i>P. minutum</i>	Esmalte	0,85		
VA-2					Dentina	0,27		
VA-3					Metápodo	0,23		

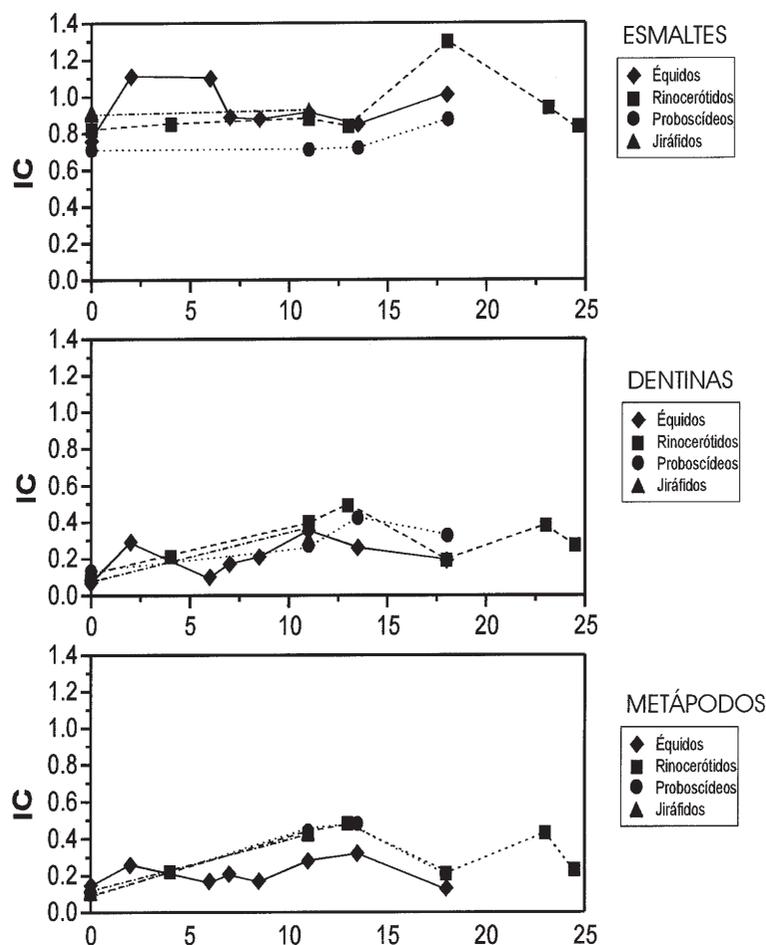


Fig. 4.—Variación del índice de cristalinidad (IC) de los esmaltes, dentinas y metápodos de los taxones en función de su edad.

También, para un mismo IC se han encontrado muestras de taxones de la misma familia y edades muy distintas. Esto se observa en el caso del esmalte de rinoceronte de las muestras LAY-1 del yacimiento de Layna, de edad 4 m.a. y VA-1 del yacimiento de Valquemado, de edad 24,5 m.a., cuyos IC en ambos es de 0,85.

Para un mismo yacimiento y muestras de la misma antigüedad, el mismo IC no se mantiene constante, como se aprecia claramente en los yacimientos de Los Valles de Fuentidueña y La Retama.

Como se puede observar en la figura 3, en general hay un pequeño aumento de la cristalinidad con la edad de las muestras (algo más acusado en las dentinas) aunque no se cumple en todos los yacimientos. La estructura compacta del esmalte hace que apenas sufra variaciones diagenéticas que pue-

dan alterar su cristalinidad. Por tanto, la correlación con la edad de las muestras es prácticamente inexistente ($r = 0,37$). No se han considerado para este cálculo las muestras PV-1, VM-4 y RE-1 por tener unos valores del IC superiores a uno.

En las dentinas y metápodos se observa que la correlación del IC con la edad de las muestras es algo mayor que en los esmaltes ($r = 0,61$ para las dentinas y $r = 0,49$ para los metápodos), aunque no se cumple para todos los yacimientos. La estructura más porosa de los primeros es la causa de que sufran más cambios diagenéticos que los esmaltes, especialmente los metápodos, donde pueden entrar un mayor número de iones en la estructura del apatito que hacen que aumente o baje su cristalinidad. Por lo expuesto anteriormente, se considera que no es correcto utilizar el IC como criterio en la datación relativa de huesos fósiles.

Comparando el IC de distintos taxones se ha visto que en el caso de los esmaltes, son los équidos y rinocerótidos los que, en general, presentan unos IC más elevados y los proboscídeos los más bajos (fig. 4). Para las dentinas, son los rinocerótidos y los proboscídeos los que muestran unos valores del IC más altos y los équidos los presentan más bajos. La misma tendencia se observa en el caso de los metápodos.

Relación del flúor con la edad y cristalinidad de las muestras

El flúor es un elemento que se encuentra en pequeñas cantidades en la casi totalidad de las aguas subterráneas. Es incorporado al apatito del hueso mediante el agua que contiene sus poros (Berna *et al.*, 2004), por intercambio iónico con el hidroxilo, sin llegar a alterar su estructura. En un cristal de este tipo la cantidad de flúor que puede entrar como máximo es de un 3,8% (Molleson, 1990). El fluorapatito es más estable que el hidroxiapatito, siendo este último el principal componente de los tejidos duros de los vertebrados.

Estudios de secciones de esmaltes realizados por Robinson *et al.* (1986) han mostrado que el flúor está concentrado en la superficie del esmalte y que continúa incrementándose a lo largo de la vida del individuo.

Para estudiar la relación del flúor con la edad y el IC en el material óseo, se han analizado un total de 48 muestras correspondientes a esmaltes, dentinas y metápodos, de las cuales 14 pertenecen a taxones actuales y el resto a siete yacimientos neógenos (tabla 1).

De las muestras analizadas correspondientes a taxones actuales, la concentración de flúor del esmalte es, por regla general, menor que la de la dentina y mayor que la del metápedo. Como se puede observar (fig. 5), las jirafas son las que tienen mayor contenido de flúor de las muestras actuales: JIRA-1 para los esmaltes, con un 1,54%, JIR-2 para las dentinas, con un 1,46% y JIRA-3 en los metápodos, con un 1,37%.

Por el contrario, las muestras correspondientes al elefante, ELF-1, ELF-2 y ELF-3 son las que presentan un porcentaje menor para los esmaltes, dentinas y metápodos respectivamente con un 0,71% en el primer caso, 0,77% en el segundo y 0,62% en el tercero. Los valores de las muestras del caballo actual son parecidos a los anteriores.

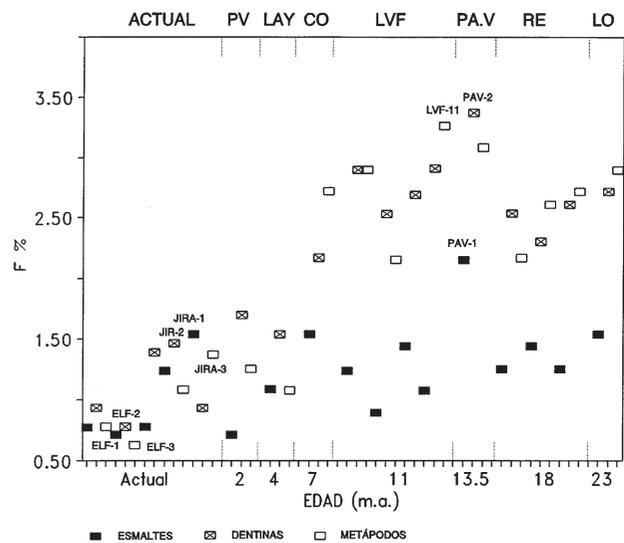


Fig. 5.—Contenido de flúor (en %) en las muestras en función de su edad.

Los esmaltes actuales tienen unas cantidades de flúor en general parecidas a las de los fósiles, con unos valores medios composicionales del 1,01% y del 1,30% para ambos, por lo que ha habido un pequeño enriquecimiento diagenético de este componente. En las dentinas y metápodos fósiles el contenido de flúor (2,47% y 2,43%) es claramente superior a los de las muestras actuales (1,09% y 0,96%).

El mayor contenido de flúor lo presenta la muestra PAV-2, una dentina de *Gomphotherium* del yacimiento de Paracuellos 5 (3,37%), seguida de la muestra LVF-11 (3,26%), un metápedo de *Alicornops* del yacimiento de los Valles de Fuentidueña. Es de destacar el alto contenido de flúor de la muestra PAV-1 (2,15%), un esmalte del mismo taxón y yacimiento que la PAV-2.

Debido al mayor tamaño de los cristales de apatito en los esmaltes con respecto a los de dentinas y metápodos, la sustitución del ion OH por el F se dificulta, por lo que el contenido de flúor en los esmaltes fósiles es menor que en dentinas y metápodos.

Como se puede observar en la figura 5, la proporción de flúor se incrementa en los procesos de fosilización y va a tener una influencia significativa en la cristalinidad y solubilidad del hueso (Sillen & LeGeros, 1991). Para Posner (1985) a mayor contenido de flúor en las muestras fósiles existe un incremento del tamaño del cristal del apatito, lo que da lugar a una mayor estabilidad del mineral y un decrecimiento de la solubilidad.

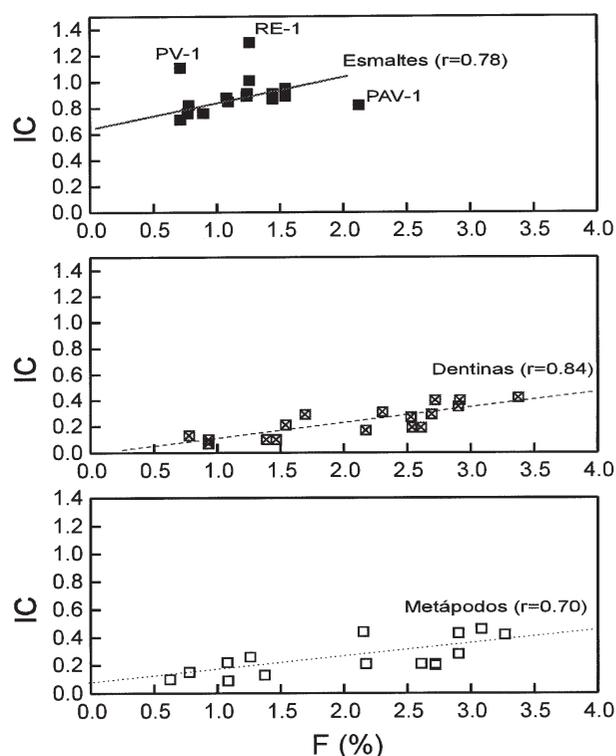


Fig. 6.—Variación del índice de cristalinidad (IC) de los esmaltes, dentinas y metápodos actuales y fósiles en relación con su contenido en flúor.

Del análisis de los esmaltes actuales y fósiles (fig. 6), se deduce que existe una correlación entre el contenido en F y el IC ($r = 0,78$). No se han considerado para este cálculo las muestras PV-1 y RE-1 por tener unos valores del IC superiores a uno. Tampoco se ha considerado la muestra PAV-1 por su contenido anómalo en flúor (2,152%) respecto a los demás esmaltes.

En las dentinas y metápodos (fig. 6) también se correlaciona la cantidad de flúor con el IC ($r = 0,84$ y $r = 0,70$ respectivamente), por lo que al aumentar la cantidad de flúor se observa un incremento de la cristalinidad.

Por consiguiente, lo que se deduce de lo anterior es que en todos los casos, tanto en esmaltes, dentinas como metápodos, el IC aumenta con el contenido en flúor.

Relación del carbonato con la edad y cristalinidad de las muestras

Para establecer la relación del ion CO_3 con la edad y el IC del material óseo se han analizado las mismas muestras que en el caso del flúor (tabla 1).

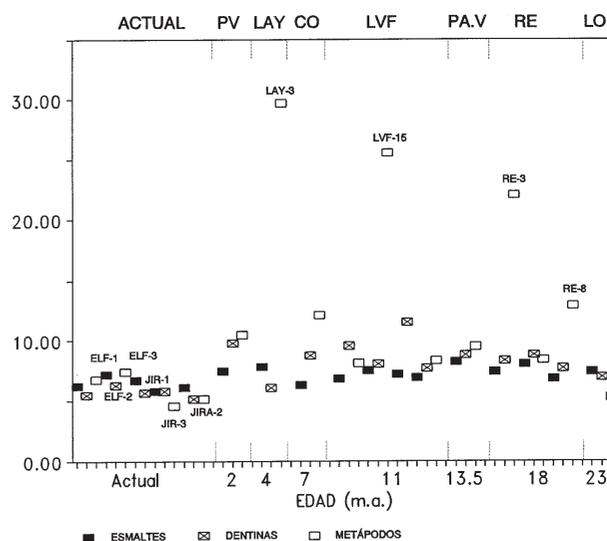


Fig. 7.—Contenido del ion CO_3 (en %) en las muestras en función de su edad.

De la figura 7 se desprende que el elefante es el que presenta mayor contenido relativo en carbonato de las muestras actuales: de los esmaltes la muestra ELF-1 con un 7,13%; de las dentinas, ELF-2 con un 6,27% y de los metápodos ELF-3 con un 7,39%. Las que menor contenido en carbonato presentan son las jirafas: con un 5,75% JIR-1, 5,09% JIRA-2 y 4,54% JIR-3 para los esmaltes, dentinas y metápodos respectivamente.

Las cantidades de carbonato en los esmaltes actuales (5,75-7,13%) son parecidas a las de los fósiles (6,29-8,20%), lo que indica que no ha habido prácticamente ni enriquecimiento ni pérdida diagenética. En las dentinas (5,09-6,27%) y metápodos actuales (4,54-7,39%) el contenido en carbonato es menor que en los fósiles (6,06-9,74% y 5,23-29,72% respectivamente). Este enriquecimiento extremo de carbonato es debido a la precipitación de calcita en los poros y fisuras de metápodos y dentinas, que ha sido identificada por DRX, microscopio petrográfico y MEB.

Es de destacar que las tres muestras que contienen mayor proporción de carbonato (LAY-3, LVF-15 y RE-3) son metápodos de taxones de talla grande y, por tanto, el tamaño de los poros de los huesos es mayor, favoreciendo así la entrada y precipitación de calcita (fig. 8).

Por tanto, como se puede apreciar en la figura 7, los esmaltes sufren pocas variaciones composicionales de carbonato (valor medio de actuales: 6,37% y valor medio de fósiles: 7,31%). Las muestras de dentinas y metápodos actuales tienen un contenido

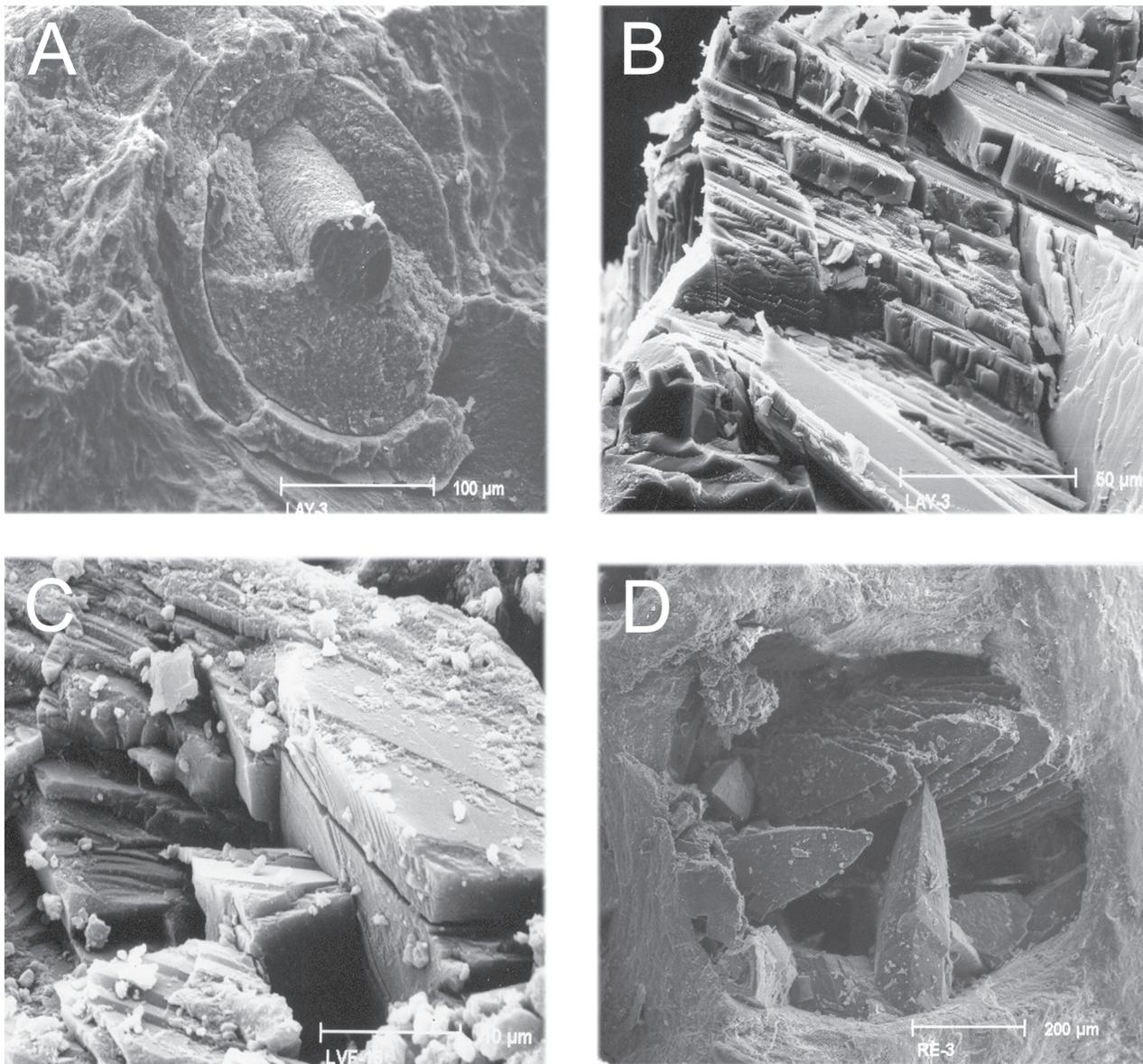


Fig. 8.—A) Imagen de M.E.B. de calcita relleno de un canal de Havers de un metápodo de *Stephanorhinus miguelcrusafonti* (LAY-3) del yacimiento Layna. B) Cristales de calcita en el interior de un poro de la muestra anterior. C) Calcita en un poro de metápodo de *Tetralophodon longirostris* (LVF-15) de Los Valles de Fuentidueña. D) Cristales de calcita en «arco gótico» relleno de un poro de metápodo de *Hispanotherium matritense* (RE-3) del yacimiento La Retama.

menor de carbonato (valores medios: 5,64% y 5,95%) que las fósiles (8,19% y 8,32%), pues éstas se han enriquecido diagenéticamente sin que haya una relación con la edad de los yacimientos.

La figura 9 muestra que el IC de los esmaltes actuales y fósiles correlaciona negativamente ($r = -0,80$ y $r = -0,57$ respectivamente) con el contenido en carbonato. No se han considerado las muestras PV-1 y RE-1 por tener unos valores altos del IC respecto a las demás.

En las dentinas actuales (fig. 9) hay una cierta correlación ($r = 0,66$) entre el IC y el contenido del ion CO₃. En las fósiles no existe correlación ($r = 0,08$) al haberse incrementado el contenido de carbonato. Lo mismo sucede con los metápodos (fig. 9) siendo los actuales los que presentan una pequeña correlación, que es negativa en los fósiles debido al fuerte incremento en el contenido de carbonato por la precipitación de calcita (como es el caso de las muestras LAY-3, LVF-15, RE-3, RE-8 y CO-4 entre otras).

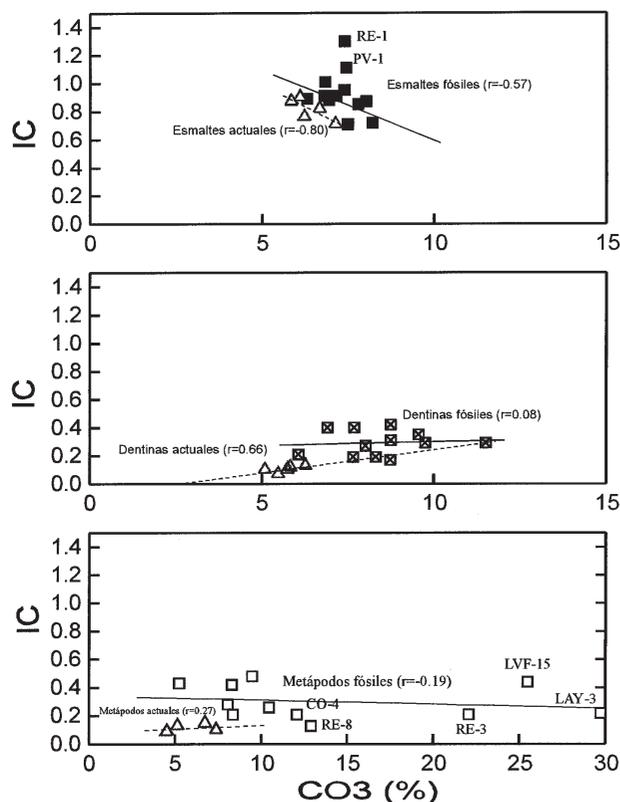


Fig. 9.—Variación del índice de cristalinidad (IC) de los esmaltes, dentinas y metápodos actuales y fósiles en relación con su contenido en carbonato.

Por consiguiente, al aumentar el contenido de carbonato en las muestras fósiles disminuye en ellas su índice de cristalinidad, tanto para los esmaltes como para las dentinas y metápodos.

Discusión

Durante la diagénesis hay un intercambio iónico del hueso con el medio que le rodea, alterándose la estructura y composición mineralógicas originales. Como se ha visto anteriormente, no hay un incremento claro de la cristalinidad con la edad del fósil, lo que coincide con los estudios realizados por Person *et al.* (1995, 1996), por lo que se podría pensar que son las condiciones tafonómicas de enterramiento el factor que influye más directamente en la cristalinidad. Para Sillen & Parkington (1996) sí hay una relación entre la cristalinidad del hueso y la edad, pero sólo para huesos de hasta 20.000 años de antigüedad. El IC de los esmaltes es claramente mayor que el de las dentinas y metápodos, ya que es

un tejido altamente mineralizado y más cristalizado que el de la dentina y el hueso.

Hay un incremento de la cristalinidad de las muestras después del enterramiento, lo que se pone de manifiesto al observar los resultados del IC de las mismas. Esto se ha comprobado al calcular la media del IC de las muestras actuales de esmalte (IC = 0,82), dentina (IC = 0,10) y metápodo (IC = 0,11), así como de las muestras fósiles de esmalte (IC = 0,92), dentina (IC = 0,28) y metápodo (IC = 0,30). Como se puede apreciar, el IC es mayor en las muestras fósiles que en las actuales por su ganancia en flúor. Esto se confirma con lo observado por Lozinski (1973), Schoeninger *et al.* (1989) y Newesely (1989), según los cuales, el incremento en flúor durante la diagénesis conduce a un aumento de la cristalinidad del apatito.

Los resultados obtenidos sobre el contenido de carbonato en las muestras y su relación con el IC, concuerdan con los estudios realizados por LeGeros & LeGeros (1984), según los cuales al aumentar el contenido de carbonato en las muestras disminuye su índice de cristalinidad. Este carbonato incorporado hace que se incremente la solubilidad del apatito (Sillen & LeGeros, 1991).

Para ver la influencia del sedimento en el IC del material óseo fósil, se ha determinado la composición mineralógica del sedimento de los distintos yacimientos: La Puebla de Valverde y Layna son margas arcillosas algo arenosas, Concud y La Retama margas calcíticas, Paracuellos 5 margas arcillosas y por último, en Los Valles de Fuentidueña y Loranca arenas.

Se ha observado que los yacimientos con sedimentos de arenas, y por tanto con un alto porcentaje de cuarzo y feldespatos, tienen un IC alto para las dentinas y metápodos (por ej., Loranca que tiene un IC de 0,38 en la dentina y 0,43 en el metápodo), mientras que los yacimientos cuyos sedimentos son margas y arcillas, tienen un índice de cristalinidad más bajo (por ej., La Retama que tiene una media del IC de 0,23 en las dentinas y 0,18 en los metápodos).

Estos hechos indican que los sedimentos adyacentes son un factor clave en los cambios de cristalinidad de los huesos fósiles.

Conclusiones

Las principales conclusiones de este estudio son las siguientes:

— En las muestras actuales y fósiles, los picos de las reflexiones de los esmaltes son más agudos y con

más resolución que los de las dentinas y metápodos, lo que indica una mayor definición cristalográfica.

— En los esmaltes, dentinas y metápodos de los taxones actuales estudiados, la fase mineral predominante es el hidroxiapatito, al igual que en los esmaltes fósiles. En las dentinas y metápodos fósiles predomina el carbonato fluorapatito. Esto es debido a que los huesos al fosilizar pasan de hidroxiapatito a carbonato fluorapatito por una ganancia de los iones CO₃ y F.

— Al calcular el índice de cristalinidad (IC) de las muestras actuales y fósiles se ha comprobado que es mayor en las fósiles, por lo que se deduce que en el proceso de fosilización se produce un incremento en el tamaño del cristal del apatito en dientes y huesos. Los esmaltes presentan un IC mayor que las dentinas y metápodos debido a la estructura más compacta de su tejido óseo.

— No hay una correlación clara entre el incremento de la cristalinidad y la edad de las muestras, por lo que no se puede utilizar el IC para la datación de huesos fósiles.

— Los esmaltes fósiles de los équidos presentan un IC más alto que el resto de los taxones estudiados (proboscídeos, rinocerótidos y jiráfidos). Para las dentinas y metápodos, los proboscídeos y rinocerótidos tienen el IC mayor. Dado que el IC discrimina algunos taxones, éste sería un camino para poder identificar algún resto fósil, que de otra manera no podría ser reconocido, aunque este estudio habría que realizarlo para cada yacimiento independientemente.

— Existe una correlación positiva entre el aumento del contenido de flúor y el IC de las muestras, lo que les confiere una mayor estabilidad y un decrecimiento de la solubilidad. El incremento de carbonato en las muestras fósiles supone una disminución del IC, como se ha puesto de manifiesto al confrontar los IC y los contenidos de ion CO₃.

— En yacimientos con facies de arenas, los huesos presentan un IC mayor que en los yacimientos cuyas facies son margas y arcillas. Dado que el incremento de la cristalinidad de los huesos fósiles no está relacionado necesariamente con la edad, sino más bien con las características geoquímicas del sedimento de cada yacimiento, este incremento de la cristalinidad se produce en las primeras etapas de la diagénesis de enterramiento.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a: Rafael González, del Laboratorio de Difracción de Rayos X del MNCN (CSIC), M^a Isabel Ruiz y M^a Asunción Vallejo del MNCN por la realización de los análisis

geoquímicos y Manuel Castillejo del MNCN por la preparación de las láminas delgadas. A Javier García Guinea por la revisión del manuscrito. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto: CGL 2005-03900/BTE del Ministerio de Educación y Ciencia y se ha realizado en el marco del Convenio entre la Comunidad de Madrid y el CSIC para el estudio del Patrimonio Paleontológico.

Referencias

- Astibia, H.; Herrero, J.M. & Elorza, J.J. (1990). An example of petrographic microscopy and X-Ray diffraction techniques as tools in vertebrate taphonomic analysis of some Spanish fossil material. *Comunicaciones de la Reunión de Tafonomía y Fosilización*, 27-39.
- Ayliffe, L.K.; Chivas, A.R. & Leakey, M.G. (1994). The retention of primary oxygen isotope compositions of fossil elephant skeletal phosphate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58: 5291-5298. doi:10.1016/0016-7037(94)90312-3
- Bartsiokas, A. & Middleton, A.P. (1992). Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19: 63-72. doi:10.1016/0305-4403(92)90007-P
- Berna, F.; Matthews, A. & Weiner, S. (2004). Solubilities of bone mineral from archaeological sites: the recrystallization window. *Journal of Archaeological Science*, 31: 867-882. doi:10.1016/j.jas.2003.12.003
- Berreteaga, A.; Badiola, A.; Astibia, H.; Pereda Suberbiola, X.; Elorza, J.; Etxebarria, N. & Alvarez, A. (2004). Estudio geoquímico de fósiles de vertebrados de varias localidades del Cretácico Superior y Paleógeno de los Pirineos occidentales. *Geogaceta*, 36: 171-174.
- Bocherens, H.; Tresset, A.; Weidemann, F.; Giligny, F.; Lafage, F.; Lanchon, Y. & Mariotti, A. (1997). Diagenetic evolution of mammal bones in two French Neolithic sites. *Bulletin de la Société Géologique de France*, 168: 555-564.
- Carlson, S.J. (1990). Vertebrate dental structures. In: *Skeletal biomineralization: patterns, processes and evolutionary trends* (Carter, J.G., ed.). Vol. I. Van Nostrand Reinhold, New York, 531-556.
- Carpenter, K. (2005). Experimental investigation of the role of bacteria in bone fossilization. *Neues Jahrbuch für Geologie und Palaöntologie Abhandlungen*, 2005: 83-94.
- Clarke, J.B. (2004). A mineralogical method to determine cyclicity in the taphonomic and diagenetic history of fossilized bones. *Lethaia*, 37: 281-284. doi:10.1080/00241160410006564
- Dauphin, Y. & Lange-Badré, B. (2000). Evaluation de la conservation de l'os fossile: intégration des différents niveaux d'observation. *Palaontologische Zeitschrift*, 74: 441-457.
- Denys, C. (2002). Taphonomy and experimentation. *Archaeometry*, 44: 469-484. doi:10.1111/1475-4754.00079
- Denys, C.; Williams, C.T.; Dauphin, Y.; Andrews, P. & Fernández-Jalvo, Y. (1996). Diagenetical changes in Pleistocene small mammal bones from Olduvai Bed I.

- Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 126: 121-134. doi:10.1016/S0031-0182(97)88905-5
- Elorza, J.; Astibia, H.; Murelaga, X. & Pereda-Suberbiola, X. (1999). Francolite as a diagenetic mineral in dinosaur and other Upper Cretaceous reptile bones (Laño, Iberian Peninsula): microstructural, petrological and geochemical features. *Cretaceous Research*, 20: 169-187. doi:10.1006/cres.1999.0144
- Elliot, J.C.; Holcomb, D.W. & Young, R.A. (1985). Infrared determination of degree of substitution of hydroxyl by carbonate ions in human dental enamel. *Calcified Tissue International*, 37: 372-375. doi:10.1007/BF02553704
- Farlow, J.O. & Argast, A. (2006). Preservation of fossil bone from the Pipe Creek Sinkhole (late Neogene, Grant County, Indiana, U.S.A.). *Journal of the Paleontological Society of Korea*, 22: 51-75.
- Grupe, G. & Piepenbrink, H. (1989). Impact of microbial activity on trace element concentrations in excavated bones. *Applied Geochemistry*, 4: 293-298. doi:10.1016/0883-2927(89)90031-0
- Hedges, R.E.M. (2002). Bone diagenesis: an overview of process. *Archaeometry*, 44: 319-328. doi:10.1111/1475-4754.00064
- Hedges, R.E.M. & Millard, A.R. (1995). Measurements and relationships of diagenetic alteration of bone from three archaeological sites. *Journal of Archaeological Science*, 22: 201-209. doi:10.1006/jasc.1995.0022
- Henderson, J. (1987). Factor determining the state of preservation of human remains. In: *Death, Decay and Reconstruction: Approaches to Archaeology and Forensic Science*. (Boddington, A.; Gaarland, A.N. & Janaway, R.C., eds.). Manchester University Press, Manchester, U.K., 43-54.
- Hubert, J.F.; Panish, P.T.; Chure, D.J. & Probst, K.S. (1996). Chemistry, microstructure, petrology, and diagenetic model of Jurassic dinosaur bones, Dinosaur National Monument, Utah. *Journal of Sedimentary Research*, 66: 531-547.
- Karkanas, P.; Bar-Yosef, O.; Goldberg, P. & Weiner, S. (2000). Diagenesis in prehistoric caves: the use of mineral that form *in situ* to assess the completeness of the archaeological record. *Journal of Archaeological Science*, 27: 915-929. doi:10.1006/jasc.1999.0506
- Lécuyer, C.; Bogey, C.; García, J.P.; Grandjean, P.; Barrat, J.A.; Floquet, M.; Bardet, N. & Pereda Suberbiola, X. (2003). Stable isotope composition and rare Earth element content of vertebrate remains from the Late Cretaceous of northern Spain (Laño): did the environmental record survive? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 193: 457-471 (Corrigendum: *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 196: 427-428). doi:10.1016/S0031-0182(03)00454-1
- Lee-Thorp, J. (2002). Two decades of progress towards understanding fossilization processes and isotopic signals in calcified tissue minerals. *Archaeometry*, 44: 435-446. doi:10.1111/1475-4754.t01-1-00076
- LeGeros, R.Z. & LeGeros, J.P. (1984). Phosphate minerals in human tissues. In: *Phosphate Minerals* (Nriagu, J.O. & Moore, P.B., eds.), Springer-Verlag, 351-385.
- Lozinski, J. (1973). Rare earth elements in fossil bone. *Rocznik Polskiego Towarzystwa Geologicznego*, 43: 407-435.
- Lucas, J. & Prévôt, L.E. (1991). Phosphates and fossil preservation. In: *Taphonomy. Releasing the data locked in the fossil record* (Allison, P.A. & Briggs, D.E.G., eds.). Plenum Press, 389-409.
- Martín Ramos, J.D. (1994). *PLV. Programa para la interpretación de diagramas de polvo*. D-legal M-11719. Registro 08605.
- Merino, L. & Morales, J. (2006). Mineralogía y geoquímica del esqueleto de los mastodontes de los yacimientos de Batallones 1, 2 y 5. Implicaciones tafonómicas. *Estudios Geológicos*, 62: 53-63.
- Metzger, C.A.; Ferry, D.O. Jr. & Grandstaff, D.E. (2004). Effect of paleosol formation on rare earth element signatures in fossil bone. *Geology*, 32: 497-500. doi:10.1130/G20376.1
- Michel, V.; Ildefonse, P. & Morin, G. (1995). Chemical and structural in *Cervus elaphus* tooth enamels during fossilization (Lazaret cave): a combined IR and XRD Rietveld analysis. *Applied Geochemistry*, 10: 145-159. doi:10.1016/0883-2927(95)00001-Z
- Michel, V.; Ildefonse, Ph. & Morin, G. (1996). Assessment of archaeological bone and dentine preservation from Lazaret Cave (Middle Pleistocene) in France. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 126: 109-119. doi:10.1016/S0031-0182(96)00074-0
- Molleson, T.I. (1990). The accumulation of trace metals in bone during fossilization. In: *Trace Metals and Fluoride in Bones and Teeth* (Priest, N.D. & Van de Vyver, F.L., eds.). CRC Press, 341-365.
- Montel, G.; Bonel, G.; Heughebaert, J.C.; Trombe, J.C. & Rey, C. (1981). New concepts in the composition, crystallization and growth of the mineral component of calcified tissues. *Journal of Crystal Growth*, 53: 74-99. doi:10.1016/0022-0248(81)90057-9
- Newesely, H. (1989). Fossil bone apatite. *Applied Geochemistry*, 4: 233-245. doi:10.1016/0883-2927(89)90023-1
- Parker, R.B. & Toots, H. (1980). Trace elements in bones as paleobiological indicators. In: *Fossils in the Making* (Behrensmeier, A.K. & Hill, A.P., eds.). Univ. Chicago Press, 197-207.
- Person, A.; Bocherens, H.; Saliège, J.F.; Paris, F.; Zeintoun, V. & Gérard, M. (1995). Early diagenetic evolution of bone phosphate: an X-ray diffractometry analysis. *Journal of Archaeological Science*, 22: 211-221. doi:10.1006/jasc.1995.0023
- Person, A.; Bocherens, H.; Mariotti, A. & Renard, M. (1996). Diagenetic evolution and experimental heating of bone phosphate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 126: 135-149. doi:10.1016/S0031-0182(97)88906-7
- Pfretzschner, H.-U. (2000). Microcracks and fossilization of Haversian bone. *Neues Jahrbuch für Geologie und Palaöntologie Abhandlungen*, 216: 413-432.
- Pfretzschner, H.-U. (2001). Iron oxides in fossil bone. *Neues Jahrbuch für Geologie und Palaöntologie Abhandlungen*, 220: 417-429.

- Pfretzschner, H.-U. (2004). Fossilization of Haversian bone in aquatic environments. *Comptes Rendus Palevol*, 3: 605-616. doi:10.1016/j.crpv.2004.07.006
- Piepenbrink, H. (1989). Examples of chemical changes during fossilisation. *Applied Geochemistry*, 4: 273-280. doi:10.1016/0883-2927(89)90029-2
- Posner, A.S. (1985). The mineral of bone. *Clinical Orthopaedics*, 200: 87-99.
- Reiche, I.; Vignaud, C. & Menu, M. (2002). The crystallinity of ancient bone and dentine: new insights by transmission electron microscopy. *Archaeometry*, 44: 447-459. doi:10.1111/1475-4754.00077
- Robinson, C.; Kirkham, J.; Weatherell, J.A. & Strong, M. (1986). Dental enamel – a living fossil. In: *Teeth and Anthropology*. (Cruwys, E. & Foley, R.A., eds). BAR Intern Ser, 291: 31-54.
- Schoeninger, M.J.; Moore, K.M.; Murray, M.L. & Kingston, J.D. (1989). Detection of bone preservation in archaeological and fossil samples. *Applied Geochemistry*, 4: 281-292. doi:10.1016/0883-2927(89)90030-9
- Sillen, A. (1989). Diagenesis of the inorganic phase of cortical bone. In: *The Chemistry of Prehistoric Human bone* (Price, T.D., ed.). Cambridge University Press, U.K., 211-229.
- Sillen, A. & LeGeros, R. (1991). Solubility profiles of synthetic apatites and of modern and fossil bones. *Journal of Archaeological Science*, 18: 385-397. doi:10.1016/0305-4403(91)90073-X
- Sillen, A. & Parkington, J. (1996). Diagenesis of bones from Eland's Bay Cave. *Journal of Archaeological Science*, 23: 535-542. doi:10.1006/jasc.1996.0050
- Stephan, E. (1997). Patterns of chemical change in fossil bones and various states of bone preservation associated with soil conditions. *Anthropozoologica*, 1997: 173-180.
- Subirà, M.E.; Safont, S. & Malgosa, A. (1996). The role of zinc in diet reconstruction and its diagenesis. *TD News Taphonomy and Diagenesis Newsletter*. Special issue. Résumés 3ème Conf. Internationale sur la Diagenèse de l'Os. Paris, 5: 60.
- Toyoda, K. & Tokonami, M. (1990). Difusión of rare-earth elements in fish teeth from deep-sea sediments. *Nature*, 345: 607-609. doi:10.1038/345607a0
- Trueman, C.N. & Martill, D.M. (2002). The long-term survival of bone: the role of bioerosion. *Archaeometry*, 44: 371-382. doi:10.1111/1475-4754.t01-1-00070
- Trueman, C.N.; Chenery, C.; Eberth, D.A. & Spiro, B. (2003). Diagenetic effects on the oxygen isotope composition of bones of dinosaurs and other vertebrates recovered from terrestrial and marine sediments. *Journal of the Geological Society*, London, 160: 895-901. doi:10.1144/0016-764903-019
- Tuross, N.; Behrensmeyer, A.K.; Eanes, E.D.; Fisher, L.W. & Hare, P.E. (1989). Molecular preservation and crystallographic alterations in a weathering sequence of wildebeest bones. *Applied Geochemistry*, 4: 261-270. doi:10.1016/0883-2927(89)90027-9
- Weiner, S. & Bar-Yosef, O. (1990). States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: A survey. *Journal of Archaeological Science*, 17: 187-196. doi:10.1016/0305-4403(90)90058-D
- Williams, C.T. & Potts, P.J. (1988). Element distribution maps in fossil bones. *Archaeometry*, 30: 237-247. doi:10.1111/j.1475-4754.1988.tb00450.x

Recibido el 10 de octubre de 2007

Aceptado el 15 de diciembre de 2007

Publicado online el 25 de febrero de 2008