

ANÁLISIS DE INDICADORES BIOQUÍMICOS DEL CONTENIDO DE RECIPIENTES ARQUEOLÓGICOS

*María Luisa Cañabate Guerrero, Alberto Sánchez Vizcaino**

RESUMEN.- El análisis de indicadores bioquímicos de contenidos en recipientes cerámicos tiene la capacidad de suministrar una información de alto interés para la investigación arqueológica. Dentro de esos indicadores los lípidos han sido los más extensamente empleados. No obstante, para conocer con más profundidad sus ventajas es necesario aproximarse tanto a las investigaciones que han aportado resultados más interesantes, como a las características propias de dichos indicadores. Finalmente, y mediante el empleo de la Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas, se presentan los resultados del análisis de un recipiente cerámico procedente del yacimiento romano de Puente La Olla, Martos (Jaén).

ABSTRACT.- The analysis of biochemical markers of contents in ceramic vessels provides highly relevant information for archaeological research. Among such markers, lipids are the most commonly used. However, an approach to their advantages necessarily requires an appraisal both of the most suggestive research based on these organic remains and of the properties of lipids as biochemical markers. Finally, the results obtained through Gas Chromatography-Mass Spectrometry from a vessel recovered from the Roman site of Puente La Olla, Martos (Jaén), are also presented and interpreted.

PALABRAS CLAVE: Arqueometría, Lípidos, Cerámica, Cromatografía de Gases, Espectrometría de Masas.

KEY WORDS: Archaeometry, Lipids, Ceramics, Gas Chromatography, Mass Spectrometry.

1. INTRODUCCIÓN

El análisis de indicadores bioquímicos de contenidos en recipientes cerámicos debe ser entendido como una línea más de investigación dentro de los estudios de caracterización de cerámicas. Sin embargo, hasta el momento, bien por su desconocimiento, bien por su complejidad, no ha encontrado los cauces de desarrollado adecuados en el marco de la investigación arqueológica en España. Este hecho resulta un tanto extraño por cuanto caracterizar una cerámica no debe consistir sólo en su definición tipológica, o en el estudio físico-químico de las pastas para determinar los procesos de fabricación y la procedencia de las arcillas.

La caracterización cerámica debería incluir este tipo de análisis para lograr un acercamiento lo más exacto posible al contenido y función de los recipientes. De esta manera podrían abrirse nuevas vías de estudio en el campo de las dietas o la subsistencia, de gran ayuda para las disciplinas ya existentes en-

cargadas de precisar esos sectores de la investigación (Palinología, Carpología, etc.).

Otra área de investigación que resultaría muy beneficiada sería la de los estudios arqueológicos microespaciales. Es sabido que uno de los objetivos de la excavación microespacial es la delimitación y definición de áreas de actividad, entendiéndose por ésta la unidad espacial mínima del registro arqueológico en la que las acciones sociales y económicas quedan impresas (Manzanilla 1990). Para cumplir ese objetivo el arqueólogo normalmente parte del estudio de la disposición espacial de los artefactos, ecofactos y estructuras, no siendo consciente muchas veces de que existen restos no tangibles en el registro arqueológico con capacidad de aportar información. Nos referimos en este caso a los indicadores químicos y bioquímicos presentes tanto en los pavimentos de las unidades y estructuras de habitación, como en el interior de los recipientes cerámicos. En ambos casos la distribución de los indicadores, su presencia en determinadas concentraciones o su ausencia, puede

* Departamento de Territorio y Patrimonio Histórico. Área de Prehistoria. Universidad de Jaén. Paraje Las Lagunillas s/n. 23071 Jaén.

ser determinante a la hora de establecer una clasificación funcional de espacios.

Partiendo de estas consideraciones previas, las Áreas de Prehistoria y Arqueología del Departamento de Territorio y Patrimonio Histórico de la Universidad de Jaén, han iniciado el estudio de indicadores bioquímicos de contenidos en recipientes cerámicos como parte de una serie de proyectos de investigación de mayor rango. Entre los indicadores que están siendo objeto de estudio deben destacarse principalmente los lípidos, cuya presencia habitual en diversos alimentos y sus características químicas, los hacen idóneos para la determinación de contenidos.

En este trabajo presentamos los primeros resultados obtenidos sobre un recipiente procedente del yacimiento romano de Puente La Olla, en Martos, Jaén. Además de concretar el contenido del recipiente, la investigación presenta otros importantes objetivos: dar a conocer los trabajos que se han realizado sobre material arqueológico y que han tenido como protagonista a los lípidos, el estudio de sus características, y el desarrollo de la aplicación de la Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas.

Los lípidos no son los únicos indicadores bioquímicos empleados en Arqueología. Aunque la mayoría de las investigaciones sobre contenidos parten de ellos, debe hacerse notar que existen otros indicadores que son capaces de caracterizar otros tipos de contenidos. Entre ellos debe destacarse el oxalato de calcio como indicador de la cerveza (Michel *et al.* 1993), y principalmente el ácido tartárico como compuesto característico del vino y que ya ha sido empleado con éxito en trabajos arqueológicos (Condamin y Formenti 1976, 1978; Condamin *et al.* 1976; Badler *et al.* 1990; Michel *et al.* 1993). En el campo de los alimentos sólidos podemos citar la miel, cuya presencia ha sido puesta de manifiesto a través de la identificación de cera de abeja y de glucosa (Needham y Evans 1987; Evershed 1993). Una novedosa investigación en el campo de los contenidos no alimenticios fue la realizada por Gerhardt *et al.* (1990), encaminada a la verificación de aceites y esencias perfumadas en pequeños recipientes a partir de la detección de constituyentes característicos como son los terpenos y sus derivados.

2. INVESTIGACIONES SOBRE EL ANÁLISIS DE LÍPIDOS

El inicio de las investigaciones de residuos orgánicos estuvo inevitablemente marcado por la ausencia de técnicas analíticas sensibles, y se basó mu-

chas veces en la determinación de las propiedades físicas de esos residuos usando pruebas simples como el punto de fusión o medidas de solubilidad. El proceso hacia una identificación precisa de los residuos estuvo mediatizado por la inherente complejidad de las composiciones de las sustancias sometidas a investigación, y complicada aun más por los efectos del paso del tiempo y los procesos degradativos.

A pesar de las limitaciones anteriores, las primeras investigaciones consiguieron resultados bastante interesantes como los aportados por Von Stokar (Evershed 1993), quien logró determinar la presencia de aceite de linaza en un recipiente vikingo y advirtió sobre la importancia de examinar los restos cerámicos y trabajar sobre ellos antes de limpiarlos definitivamente.

El avance tecnológico experimentado a partir de los años 60 en el campo de la Cromatografía de Gases propició que a partir de 1976 se publicaran los trabajos de Condamin y Formenti (1976) centrados en la investigación de ácidos grasos en cerámicas arqueológicas. En concreto, trataban de determinar la presencia de aceite de oliva en un ánfora romana, y ello lo consiguieron a partir de la identificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos más característicos de dicho aceite.

En concreto, para llevar a cabo la investigación trabajaron sobre cuatro posibilidades: aceite de oliva como referencia, fragmento de un ánfora que por su forma y origen podría haber contenido aceite, fragmentos de una lucerna galo-romana y fragmentos de un ánfora recuperada de un horno y que no debió contener sustancia alguna.

En el caso del ánfora con posible contenido de aceite se estudió su parte interna y externa, así como la tierra que estuvo en contacto con ella. Los resultados pusieron de manifiesto la presencia abundante de ácidos grasos característicos del aceite de oliva en la pared interna, mientras que en la pared externa y en la tierra su existencia era mínima. El estudio de la lucerna galo-romana se llevó a cabo para contrastar la efectividad de la metodología empleada puesto que se conocía el uso dado a ese recipiente. Finalmente, el ánfora procedente del horno aportó un gradiente de concentración de ácidos grasos inverso al obtenido en la otra ánfora, es decir, casi ausencia total de ácidos grasos en su interior como cabría esperarse en un recipiente que no fue usado.

En 1978 son presentados por Rottländer (Rottländer y Schlichherle 1978) los primeros resultados obtenidos en la Universidad de Tübingen en análisis de contenidos. En ellos, además del análisis de recipientes arqueológicos, se incluyen análisis químicos de los sedimentos que los rodean, de resi-

duos de comida actuales, y análisis óptico de restos vegetales (semillas) mediante microscopio. Así mismo se experimentó con la temperatura de descomposición de sustancias comunes en alimentos como el almidón, la celulosa y las grasas, con el fin de establecer sus variaciones con los cambios de temperatura.

La investigación se dividió entre cuatro yacimientos pertenecientes al Neolítico Final de Centroeuropa (5000-4000 a.C.), y dos yacimientos auriñacienses alemanes (32000 a.C.), siendo uno de ellos una cueva. En ambos casos las técnicas utilizadas fueron la Cromatografía de Gases (a partir de los ésteres metílicos de los ácidos grasos) y la Cromatografía en Capa Fina. En los fragmentos de recipientes correspondientes al grupo de los cuatro yacimientos neolíticos fueron identificados restos de grasa de leche, grasa de buey y aceite de semillas diversas.

En el caso de los yacimientos auriñacienses, en el primero de ellos se detectó ácido oleico en un hogar junto a restos de huesos quemados. La interpretación propuesta por los investigadores apuntaba a la posibilidad de una correspondencia entre ese ácido y el aceite desprendido de los huesos quemados (probablemente renos). En el yacimiento en cueva se registró un alto porcentaje de ácido cerótico, presente en las glándulas sebáceas de todos los mamíferos con pelo, junto con el lanosterol y alcohol cerílico. A partir de aquí se propuso, no sin reservas, que tales patrones correspondían a las pieles que debieron cubrir el suelo de la cueva.

Junto al empleo de Cromatografía de Capa Fina, Rothschild-Boros (1981) introdujo la aplicación de otra técnica al trabajo arqueológico: la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Trabajando con ambas técnicas estudió un grupo de ánforas del siglo V de Schola Praeconum que dividió en cuatro tipos: jarras micáceas de Anatolia, ánforas de Gaza, ánforas norteafricanas, y ánforas no identificadas aunque también procedentes del Mediterráneo Oriental. De todos los tipos sólo el primero aportó resultados concluyentes ya que la presencia de triacilgliceroles, ácidos grasos libres y esteroides sugirió el contenido de una sustancia lipídica, que el análisis por HPLC concretó en aceite de oliva. Estas evidencias, junto a la forma y tamaño reducidos del recipiente llevaron a esta investigadora a proponer un ungüento como contenido del mismo.

En 1985 Patrick *et al.* publicaron los resultados correspondientes al yacimiento costero de Kasteelberg, Península de Vredenburg, en la región del Suroeste del Cabo, Suráfrica. Sus investigaciones se enmarcaron en un proyecto más amplio, encaminado a la comprensión de las estrategias de explotación del

medio en la citada región. En un porcentaje importante de fragmentos cerámicos se descubrió un residuo marrón que pasó a ser analizado por Cromatografía de Gases estudiando los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Lo más interesante de los resultados aportados fue la identificación del ácido nervónico cuya presencia suponía un posible contenido de origen marino en los recipientes. Por otra parte, la alta recuperación de huesos de foca en el yacimiento les llevó a trabajar experimentalmente con muestras de tejidos de foca con el objetivo de conseguir reproducir el mismo tipo de residuo en un recipiente moderno mediante su calentamiento. Los datos obtenidos en la composición de ácidos grasos fueron muy coincidentes con aquellos registrados para la muestra arqueológica. La conclusión que se desprendió de todo ello fue que carne de animal marino, posiblemente foca, estuvo siendo hervida en recipientes cerámicos.

Siguiendo la metodología de Condamin y Formenti, Lecarpentier *et al.* (1987) estudiaron el contenido graso de una ánfora Dressel 20 de la villa Galo-Romana de Grand Loou, Roquebrusanne, Var (siglo II a.C.), junto con dos fragmentos de cerámica que probablemente sirvieron para la cocción de alimentos. Además, como elementos de comparación realizaron también análisis de aceite de oliva y de manteca de cerdo, realizándose todos los análisis por Cromatografía de Gases empleando los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Teniendo en cuenta el metabolismo de las bacterias y los procesos de degradación química y bioquímica a los que son sometidos los ácidos grasos por la cocción, llegaron a concluir que el ánfora contuvo aceite de oliva, y que los fragmentos cerámicos indicaban la utilización del aceite de oliva en la preparación y cocción de alimentos.

Retomando la investigación iniciada en 1978 por Röttlander pueden destacarse sus dos trabajos publicados en 1990. El primero de ellos referido al estudio del contenido de un recipiente fabricado en mármol (Röttlander 1990a), y el segundo con un mayor carácter experimental y destinado a poner de manifiesto la efectividad del análisis de ácidos grasos (Röttlander 1990b).

El recipiente de mármol pertenece al Bronce Antiguo y procede de las Islas Cícladas (3200-2700 a.C.). Como en otros casos, las técnicas utilizadas fueron la Cromatografía de Capa Fina y la Cromatografía de Gases mediante la conversión de los triglicéridos en los metil ésteres derivados de los ácidos grasos. Los resultados indicaron que el perfil de los ácidos grasos del recipiente se correspondía con el de las gramíneas, derivándose de ello que la cerveza podría haber sido el contenido del mismo. Por otra par-

te, la presencia de colesterol fue atribuida a una contaminación posterior al abandono del recipiente.

El segundo trabajo es una defensa a ultranza de los ácidos grasos como indicadores de contenidos frente a otros como los carbohidratos y las proteínas. El razonamiento que soporta esta posición de privilegio de los ácidos grasos es su estabilidad a lo largo del tiempo y su resistencia al calor (Hasta 400°C en atmósfera de helio). Asimismo, como resultado de su trabajo se hace referencia a la elaboración de una base de datos en la que se incluyen cromatogramas de referencia de lípidos de alimentos antiguos y actuales, así como de aquellos transformados por el proceso de preparación.

Aunque ya desde 1985 el Dr. R. Evershed y sus colaboradores venían trabajando en el análisis de residuos orgánicos, no será hasta 1990 cuando él y otros investigadores como J. Goad y C. Heron, afronten la investigación de esos residuos en recipientes cerámicos arqueológicos.

La primera aportación de sus investigaciones consistió en definir una nueva metodología de trabajo a partir del análisis de muestras de cerámicas altomedievales procedentes de un conjunto de yacimientos situados en el Valle del Nene, Northamptonshire, Reino Unido (Evershed *et al.* 1990). La innovación consistió no sólo en la mejora del instrumental utilizado en la Cromatografía de Gases y en la Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas, sino también en el proceso de tratamiento y extracción de la muestra. En lugar de trabajar con los ésteres metílicos de los ácidos grasos se opta por sus derivados silanizados, procedimiento éste que ha resultado ser más satisfactorio tanto para el proceso de análisis, como para la interpretación de los resultados al obtenerse más información. No obstante, para que ésto sea posible es necesario contar con un inyector *On-column* en el cromatógrafo de gases, lo cual no es lo común en dichos aparatos.

Siguiendo en esa línea innovadora, el mismo grupo de trabajo afrontó el problema de los efectos de la migración de los lípidos del suelo y su influencia sobre los residuos de los recipientes enterrados (Heron *et al.* 1991). Se trata sin duda de una interesante investigación porque hasta el momento el problema de los efectos postdeposicionales había sido tratado en poca profundidad. Con la metodología definida anteriormente y sobre recipientes de la misma zona se abordó el análisis tanto de cerámicas como de los sedimentos a ellos asociados. Los resultados mostraron que en la mayoría de los casos se podía establecer una diferencia cualitativa y cuantitativa entre los lípidos del suelo (procedentes de la putrefacción de las plantas y de los microorganismos), y los

lípidos absorbidos por el recipiente durante su uso.

Por otra parte, la identificación en el extracto lipídico total de compuestos alquílicos de cadena larga (nonacosano y derivados oxigenados) característicos de las ceras epicuticulares de las hojas de plantas superiores como las pertenecientes al género *Brassica oleracea*, pusieron de manifiesto el consumo de este tipo de vegetales (Evershed *et al.* 1991), principalmente repollo y nabo, en época medieval en Gran Bretaña.

Otro campo de actuación interesante dentro del análisis de lípidos, por las implicaciones en el nivel interpretativo, es el de los procesos de degradación de los ácidos grasos. De nuevo, Evershed *et al.* (1992) afrontaron este problema con una relación y explicación de los efectos de dichos procesos, a saber, hidrólisis, oxidación y degradación microbiológica.

La variación de la distribución de los lípidos en diferentes partes de recipientes de distinta tipología ha sido también tema de estudio por el citado grupo de investigadores (Charters *et al.* 1993). Manteniendo la metodología y la zona de estudio se analizaron 62 recipientes (reconstruidos) tomando las muestras en la base, cuerpo y borde. Se pudieron observar variaciones significativas en el contenido de lípidos dentro de cada recipiente según la zona de muestreo, lo cual es valorado como un elemento a considerar en la técnica de muestreo actual. Asimismo esas variaciones pueden ser tenidas en cuenta como un criterio para la clasificación de los recipientes en función de su uso.

3. LOS LÍPIDOS COMO INDICADORES BIOQUÍMICOS

Del grupo de indicadores bioquímicos susceptibles de aportar información arqueológica, elegimos para nuestro estudio a los lípidos. El conocimiento de sus características y propiedades químicas, así como de los procesos degradativos que les pueden afectar, constituye un paso previo a cualquier investigación que tenga a los lípidos como protagonistas.

Bajo el nombre genérico de lípidos se engloba un conjunto de moléculas presentes en las grasas tanto de origen animal como vegetal, y que constituyen una parte muy importante de la dieta humana. Se trata de una mezcla compleja de ácidos grasos carboxílicos, esteroides, acilgliceroides, etc., que tienen como características principales el ser insolubles en agua, lo que favorece su permanencia en el lugar donde fueron depositados, y ser solubles en disolventes orgánicos como éter, cloroformo, etc. Todos los lípidos están constituidos mayoritariamente por carbono, hi-

drógeno y oxígeno, y en menor medida por fósforo y nitrógeno (Aurand *et al.* 1987).

3.1. Composición de los lípidos

Los lípidos de mayor interés en el campo de la investigación arqueológica son:

3.1.1. Ácidos grasos

La mayoría son ácidos grasos monocarboxílicos de cadena lineal, distinguiéndose unos de otros en la longitud de la cadena y en el grado de insaturación, es decir, en la presencia y número de dobles enlaces. La mayoría de los ácidos grasos presentes en la naturaleza poseen un número par de átomos de carbono en su estructura, oscilando el número entre 4 y 30, aunque ácidos grasos con más de 20 átomos de carbono no son muy frecuentes (Fig. 1).

Los ácidos grasos más comúnmente encontrados en los fragmentos cerámicos son:

- Ácidos grasos saturados

C14:0 Ácido mirístico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$
C16:0 Ácido palmítico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$
C18:0 Ácido esteárico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$
C20:0 Ácido araquídico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$

- Ácidos grasos insaturados

C16:1 Ácido palmitoleico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_8-\text{COOH}$
C18:1 Ácido oleico	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_9-\text{COOH}$

3.1.2. Acilgliceroles

Son componentes abundantes de grasas y aceites tanto de origen vegetal como animal, y se forman por una reacción de esterificación entre el glicerol y los ácidos grasos. Existen varias clases en función del tipo y número de ácidos grasos que contengan en su estructura y se denominan generalmente: monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles (según que el glicerol esté esterificado con uno, dos, o tres ácidos grasos).

3.1.3. Esteroles

Los esteroles son alcoholes de alto peso molecular presentes minoritariamente en la fracción insaponificable de las grasas. Son insolubles en agua y solubles en los disolventes comunes de las grasas. El

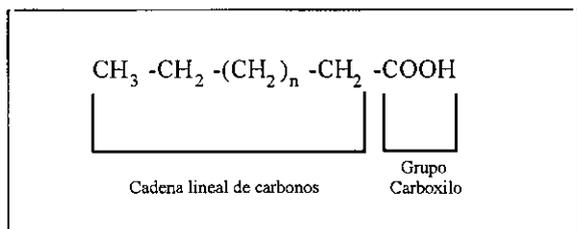


Figura 1.- Estructura química general de un ácido graso.

colesterol es el esteroles más abundante en los animales, está presente en las células y tiene muchas e importantes funciones biológicas. Por el contrario, el campesterol y el sitosterol, son los esteroides más abundantes en las plantas. La detección de algún esteroles, algo que resulta relativamente difícil dada su baja proporción, nos puede orientar acerca del tipo de grasa asociada con el contenido del fragmento.

3.2. Conservación del material lipídico

El grado de conservación de los lípidos puede depender en gran medida de tres factores:

3.2.1. Las condiciones de enterramiento. Condiciones homogéneas a lo largo del período de enterramiento favorecen la conservación. Por el contrario, acusados y continuos cambios medioambientales tienen una incidencia negativa sobre ella.

3.2.2. El material cerámico. Debido a las características de la matriz arcillosa de las cerámicas, los lípidos quedan atrapados en ella, permaneciendo protegidos de agresiones degradativas externas (Heron *et al.* 1991).

3.2.3. Carbonización. Cuando los tejidos orgánicos se carbonizan a baja temperatura, la actividad de cualquier microorganismo presente en esos tejidos disminuye y las superficies externas se fusionan proporcionando una barrera carbonizada contra el ataque microbiológico, ello es debido a que los microorganismos son incapaces de digerir el carbón. (Evans 1993; Needhan y Evans 1987; Evershed 1993). De una manera más simple se podría decir que el efecto final es la formación de una especie de vesículas en las que el material lipídico permanece intacto hasta el momento en que se rompen para su análisis.

3.3. Procesos degradativos y de contaminación

Como se ha mostrado antes, los lípidos presentan unas características que favorecen su elección como indicadores bioquímicos, no obstante, hay que tener en cuenta un conjunto de procesos degradativos y/o de contaminación que pueden tener lugar en la matriz de enterramiento.

3.3.1. En condiciones normales no se suele producir migración entre el material cerámico y la tierra con la que está en contacto (Heron *et al.* 1991). No obstante, sería conveniente siempre que sea posible, y como medida de control, analizarla también.

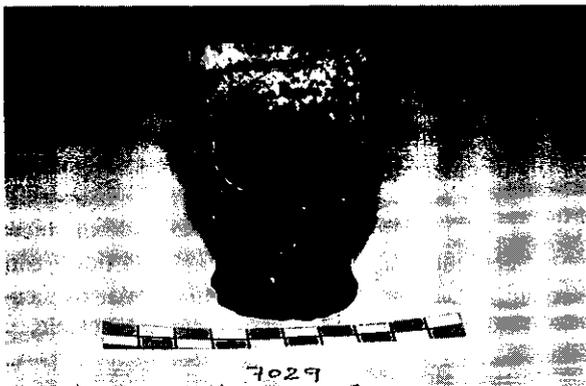
3.3.2. Reutilización del recipiente. Es ésta una posi-

bilidad que debe ser tenida en cuenta y que es difícil de detectar. No obstante, la presencia simultánea de compuestos exclusivos de ciertas especies animales o vegetales podría indicar la reutilización del recipiente.

3.3.3. Cambios químicos producidos por procesos degradativos en la materia orgánica. El conocimiento de los procesos degradativos que pueden tener lugar en las sustancias orgánicas es de gran importancia a la hora de interpretar los datos que se desprenden de los análisis químicos de los restos arqueológicos. Los principales procesos degradativos son los siguientes (Evershed *et al.* 1992):

— Hidrólisis. Este proceso, provocado por la humedad, temperatura, enzimas y diversos microorganismos, produce la ruptura del enlace éster, dando lugar a la liberación de los ácidos grasos que forman parte de los acilgliceroles. A efectos de interpretación, la hidrólisis produciría una alteración de las proporciones relativas de ácidos grasos y acilgliceroles.

— Oxidación. Ciertos grupos funcionales presentes en los lípidos son particularmente sensibles a la oxidación. Entre estos grupos encontramos principalmente los dobles enlaces, y en consecuencia, los ácidos grasos insaturados sufrirán en mayor extensión este proceso (Evershed *et al.* 1992), de ahí que resulte difícil encontrar ácidos grasos con un número de insaturaciones superior a una. Por tanto, serían los ácidos grasos con una insaturación, como el ácido oleico (C18:1), los que se podrían detectar en recipientes cerámicos. Este hecho es importante porque la variación en la concentración de este ácido probablemente pueda reflejar el tipo de alimento depositado en el recipiente así como el nivel de conservación y/o degradación experimentado por el material lipídico.



Fotografía 1.

— Degradación microbiológica. La materia orgánica enterrada, a menos que esté protegida de alguna forma, puede sufrir procesos degradativos por microorganismos activos en la matriz de enterramiento. La población de microorganismos, en condiciones aeróbicas, estaría influida por las condiciones físicas del enterramiento, p.ej., clima, grado de aireación, humedad y pH.

— Contaminación lipídica post-excavación. Un tipo de contaminación, que no tiene un origen biológico, surge del almacenamiento de las muestras en plásticos. Las sustancias contaminantes procedentes de este tipo de almacenamiento son los ftalatos, fácilmente identificables por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas. Otro modo muy corriente de contaminación proviene de los lípidos de la piel introducidos a través de la manipulación de los artefactos, de ahí la importancia de su correcto almacenaje y transporte hasta el laboratorio.

4. ANÁLISIS DE UN RECIPIENTE CERÁMICO POR CROMATOGRÁFIA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

En 1993 se llevó a cabo una excavación de urgencia en el yacimiento romano de Puente La Olla en Martos, Jaén (siglos I-V). En el transcurso de la intervención se recuperó un fondo de cerámica común de clasificación tipológica incierta pero con carácter de contenedor de uso doméstico (mitad del siglo II) (Foto 1). El espacio en el que apareció parece corresponder a un exterior no cubierto que estaría funcionando como patio situado entre las tres zonas principales de la villa: edificio residencial, complejo termal y áreas de trabajo. Los motivos que condujeron a su selección fueron:

— Al ser el fragmento que se analiza el fondo de un recipiente, existe una mayor seguridad de contacto continuo con el líquido o sustancia que en su momento pudiera contener.

— Por otra parte, siendo un recipiente de cerámica común es de suponer su utilización en funciones domésticas y, por tanto, ello incidiría aún más en la posibilidad de identificar algún contenido.

4.1. Condiciones experimentales

Tras limpiar el fragmento de la tierra adherida a él, se recuperan mediante su raspado 2 gramos de muestra de su interior. A partir de aquí la muestra debe ser sometida a un doble proceso antes de su inyección en el cromatógrafo: extracción y derivatización.

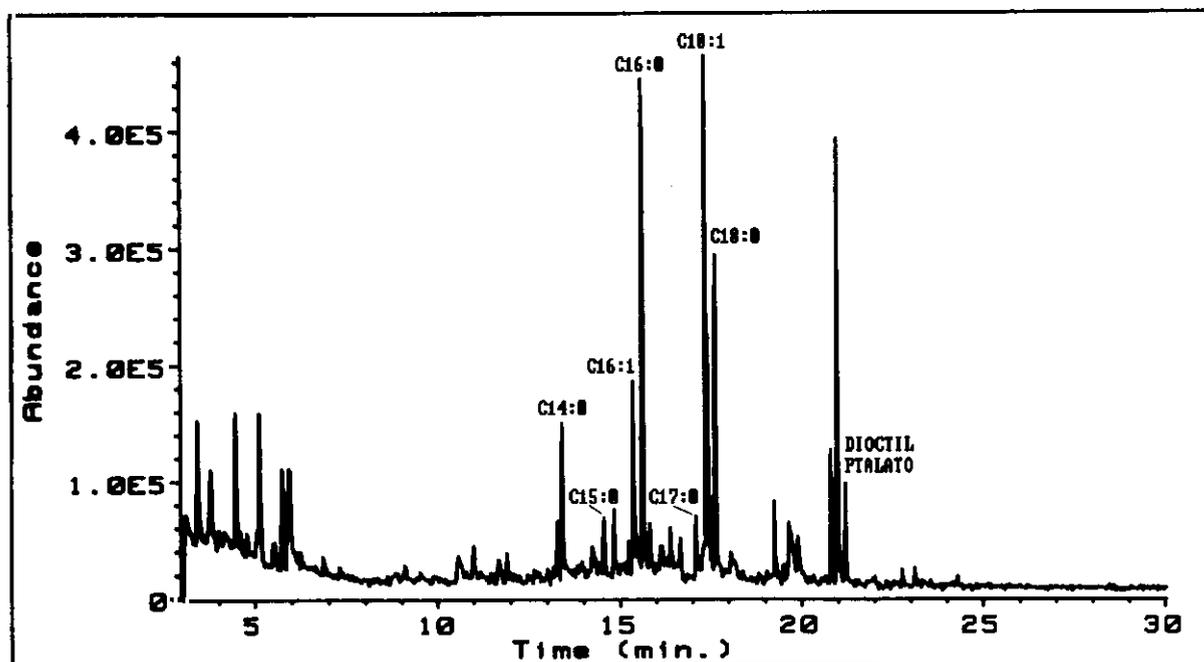


Figura 2.- Cromatograma Total de Iones del fragmento cerámico.

4.1.1. Extracción

Los 2 gr. de muestra se extraen dos veces con una mezcla de cloroformo:metanol 2:1 (v/v) durante 30 minutos con ultrasonidos. A continuación se centrifuga la muestra a 3500 r.p.m., y el líquido sobrenadante se decanta en un matraz de fondo redondo y se evapora a presión reducida en un rotavapor (Evershed *et al.* 1990).

4.1.2. Derivatización

La derivatización consiste en transformar los ácidos grasos presentes en la muestra en sus correspondientes ésteres metílicos para conseguir compuestos menos polares y térmicamente estables ya que, de no ser así, no sería posible su análisis por Cromatografía de Gases.

La transformación se realiza de la siguiente manera (Evershed *et al.* 1990): el material extraído se trata durante una hora a una temperatura de 70 °C con 1.5 ml de una mezcla al 5% (v/v) de ácido sulfúrico concentrado en metanol. A continuación se diluye con 5 ml de agua destilada y se extrae tres veces con 2 ml de éter etílico en cada extracción, obteniéndose los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes en la muestra. Tras la evaporación del éter etílico bajo una corriente de nitrógeno, la muestra se disuelve en 0.5 ml de hexano y ya queda lista para la inyección de 1 µl en el cromatógrafo.

4.1.3. Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas

Para el análisis se ha empleado un cromatógrafo Hewlett-Packard 5890A acoplado mediante una interfase a un espectrómetro de masas. La muestra se introduce a través de un inyector Split-Splitless a una temperatura de 280 °C en una columna capilar de metil silicona de 25 cm x 0.2 mm de diámetro interno. Se utiliza helio como gas portador. El programa de temperatura empleado comienza a 80 °C y llega hasta 320 °C a razón de 10 °C por minuto, manteniéndose al final el horno a 320 °C durante 10 minutos.

4.2. Estudio e interpretación de los resultados

El cromatograma obtenido (Fig. 2) aporta una interesante información acerca del contenido del recipiente. La identidad de cada uno de los picos que aparecen en él se determina a través del estudio de sus espectros de masas. Los espectros de masas nos informan del tipo de iones fragmentados en los que se ha dividido cada una de las moléculas registradas en el cromatograma. Cada molécula se fragmenta de un modo característico en función de que el tipo de enlaces que haya en su estructura sean más o menos débiles o que se encuentren cercanos a determinados grupos funcionales; o bien según ciertas reglas com-

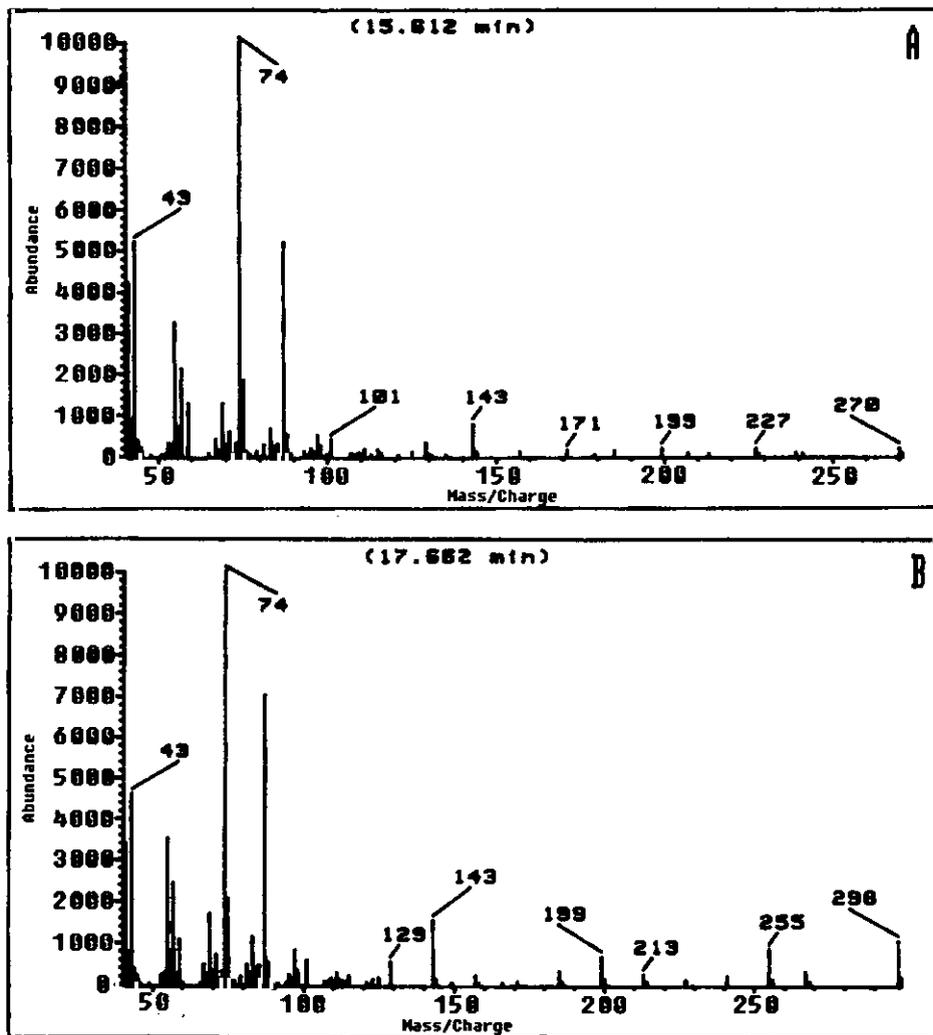


Figura 3.- Espectros de Masas de los ácidos grasos saturados. A: Ácido Palmítico. B: Ácido Estearico.

plejas que se han formulado a partir de estudios con compuestos modelo. En definitiva, cada espectro de masas se puede considerar como la huella dactilar de cada estructura.

En nuestro caso, dado que hemos transformado los ácidos grasos en sus metil ésteres derivados para poder analizarlos por Cromatografía de Gases, se puede observar en todos los espectros de masas una señal a $m/z=74$, correspondiente al reagrupamiento de McLafferty propio de los ésteres metílicos (Christie 1989). En la mayoría de ellos también está presente el ión Molecular M^+ que es el que proviene directamente de la molécula padre y nos da idea del peso molecular de la misma, aunque en otros casos este pico tiene una abundancia tan escasa que no llega a registrarse. En las figuras 3 y 4 se representan los espectros de masas de los ácidos grasos más interesantes y representativos para este estudio.

Lo que primero se desprende de los resulta-

dos obtenidos es la elevada proporción de ácidos grasos insaturados presentes en la muestra (C16:1 y C18:1) (Tabla 1). Esto nos da una idea de las buenas condiciones de conservación a las que ha estado sometido el fragmento cerámico ya que, como se ha comentado en un apartado anterior, los ácidos grasos

ÁCIDOS GRASOS	PORCENTAJE
C14:0	3.77%
C15:0	1.88%
C16:1	4.90%
C16:0	13.98%
C17:0	1.70%
C18:1	16.39%
C18:0	8.67%

Tabla 1.- Principales ácidos grasos detectados en el extracto.

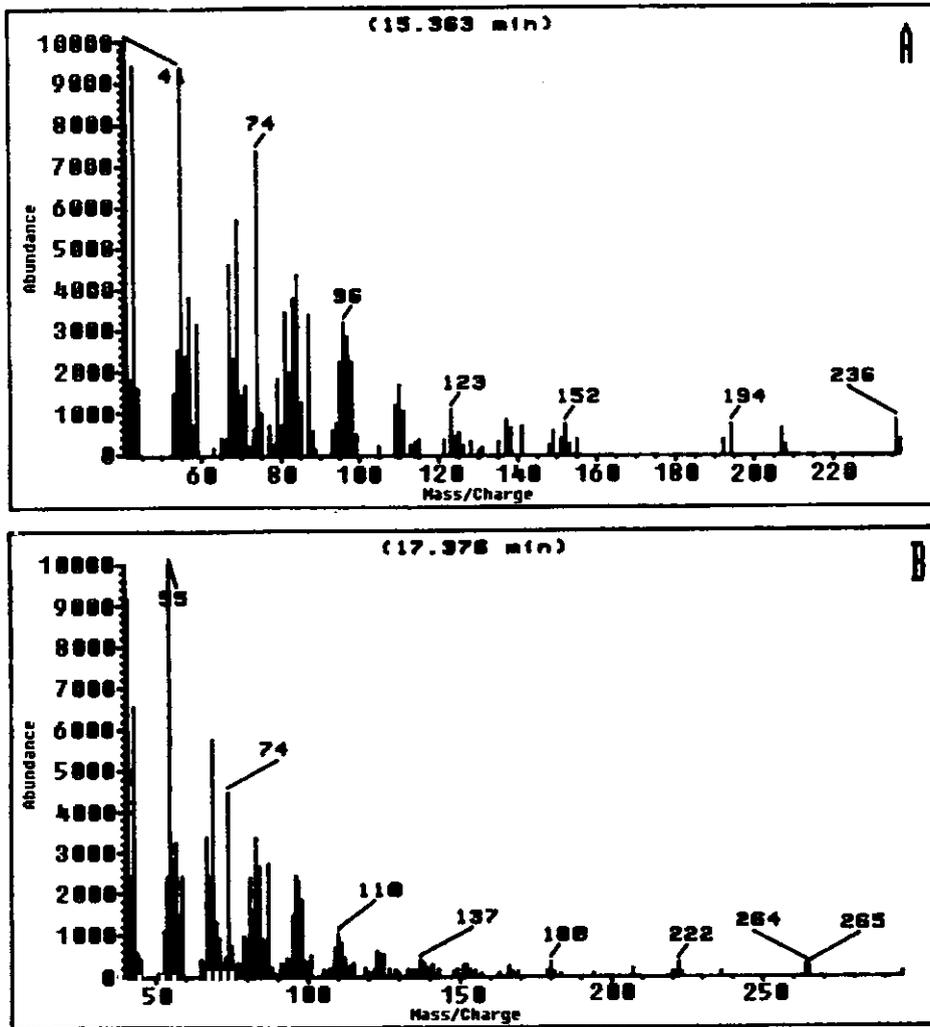


Figura 4.- Espectros de Masas de los ácidos grasos con una insaturación. A: Ácido Palmitoleico. B: Ácido Oleico.

con dobles enlaces serían los que sufrirían más fácilmente la oxidación, reduciéndose este proceso si las condiciones de enterramiento han sido favorables.

Para valorar el posible grado de contaminación postdeposicional de la muestra se ha realizado también un análisis por Cromatografía de Gases de la tierra que se encontraba en contacto con el recipiente, no detectándose ácidos grasos en su extracto, lo que confirma que no se ha producido migración de componentes lipídicos entre el fragmento y la tierra en contacto. Por otra parte, se ha detectado en el cromatograma un pico que, tras el estudio de su espectro de masa (caracterizado por una señal intensa a $m/z=149$), nos lleva a determinar la presencia del dioctil phtalato procedente de las bolsas de plástico utilizadas en el almacenaje.

De una manera global, lo primero que se desprende del estudio del cromatograma es que este recipiente se ha utilizado como contenedor de algún

tipo de grasa animal o vegetal debido a la detección de ácidos grasos en su extracto. Un estudio más pormenorizado de esos ácidos nos ayudará a determinar con más precisión el contenido del recipiente.

Lo primero que llama la atención es la alta proporción en la que se encuentra el ácido palmitoleico (C16:1). Este ácido normalmente no está presente en los extractos de los fragmentos cerámicos y, cuando lo está, se detecta en muy baja proporción. Asimismo, no forma parte del conjunto de ácidos grasos característicos de las grasas vegetales siendo, por el contrario, propio de las de tipo animal (Gunstone *et al.* 1986). Del estudio de las proporciones de los diferentes ácidos grasos en los distintos tipos de grasas de origen animal, podríamos concluir que lo que contuvo el recipiente fue algún tipo de producto lácteo. Las clases de ácidos grasos encontrados en el extracto coinciden con los que componen ese tipo de grasas animales. Aunque la constatación de este tipo

de contenido no ha sido muy corriente en materiales arqueológicos, podemos citar como precedente la investigación realizada por Rottländer y Schlichtherle (1978) sobre una serie de fragmentos cerámicos procedentes de un contexto neolítico alemán.

5. CONSIDERACIONES FINALES

La presente investigación ha pretendido mostrar una metodología general de trabajo para recipientes arqueológicos. Se trataría en definitiva de una primera fase de investigación que debe ser cubierta de la manera más completa posible porque de nada serviría pasar a estudios más amplios si no se cuenta con una base de partida sólida. A partir de aquí las posibilidades de este tipo de investigación van más allá de la mera identificación de un contenido. Si bien, a veces, la excepcionalidad del mismo puede justificar por sí sola estudios aislados de recipientes, lo ideal, y lo que desde aquí se defiende, es el inicio de análisis de grupos de fragmentos perfectamente contextualizados y la integración de los resultados con aquellos otros obtenidos tanto en cerámicas como sobre pavimentos y suelos de ocupación.

Inciendiando en lo que ya se decía al principio de este artículo, los análisis de indicadores bioquímicos de contenidos en recipientes cerámicos, los análisis químicos de pavimentos, la distribución espacial y

la tipología del material arqueológico deben ir encaminados, en la medida de lo posible, a una mejor definición de lugares y áreas de actividad. Muchas actividades no pueden a veces ser precisadas simplemente por la distribución espacial del material arqueológico, y menos aún cuando éste es escaso. Desde este punto de vista la inclusión de los análisis químicos permitiría salvar en parte esas limitaciones. De esta manera, la identificación de aceite, vino, derivados lácteos, así como de otras grasas de tipo animal o vegetal, junto con la disposición espacial de los recipientes y otros materiales arqueológicos, puede facilitar la interpretación funcional de determinados espacios y, a una mayor escala, contribuir a la explicación del mismo asentamiento.

Finalmente, otra vertiente que inicia esta investigación consiste en la valoración del producto identificado en una doble dirección. En primer lugar la recurrencia del mismo en los grupos de recipientes analizados estaría indicando la importancia de ese producto en la economía del asentamiento y, en segundo lugar, se podría inferir su carácter alóctono o autóctono, lo que podría ser de gran ayuda para las investigaciones centradas en las rutas y redes de intercambio.

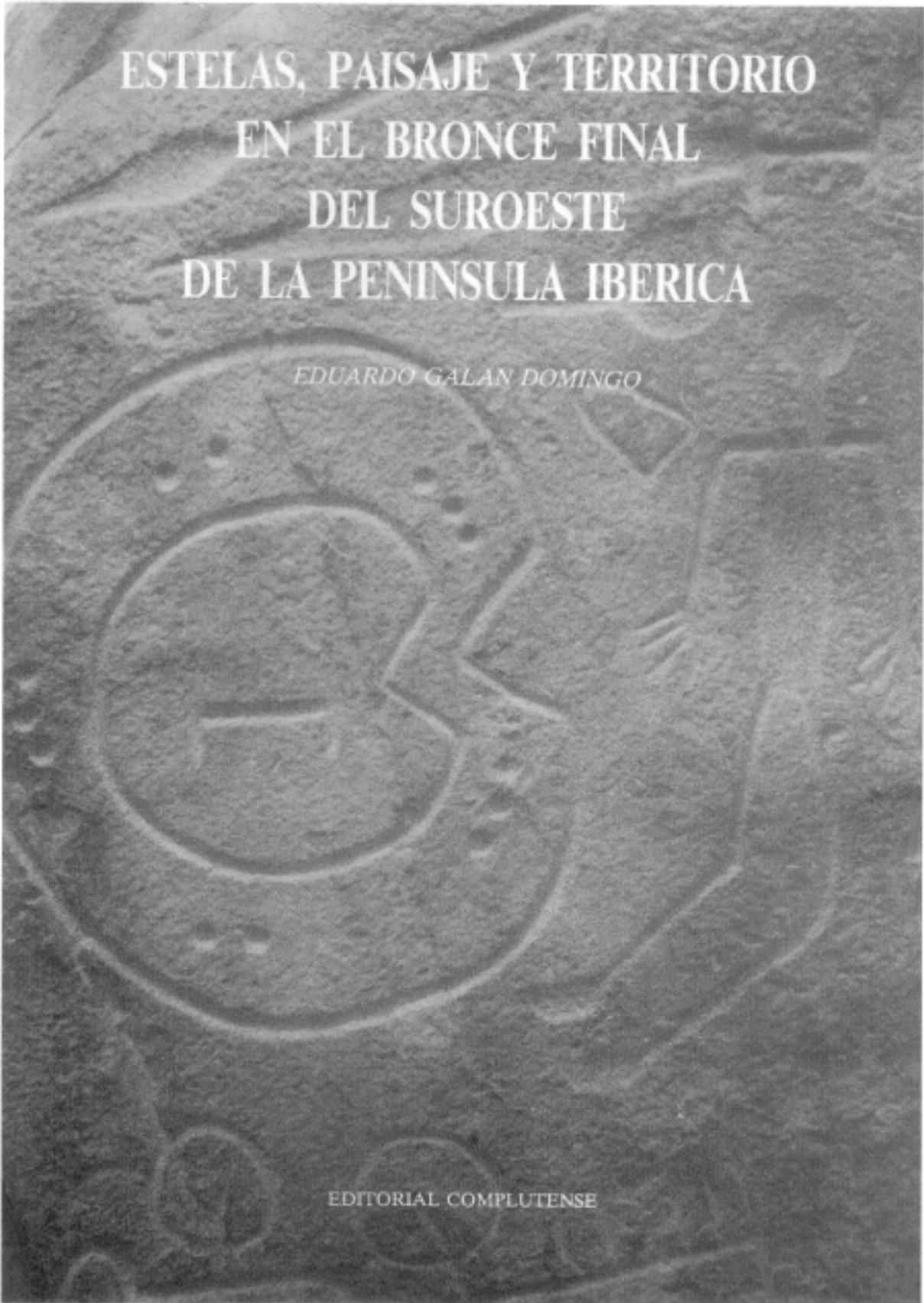
Agradecimientos

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a José Luis Serrano y Joaquín Zafra, directores de la excavación arqueológica de urgencia del yacimiento de Puente La Olla.

BIBLIOGRAFÍA

- AURAND, L.W.; WOODS, A.E.; WELLS, M.R. (1987): *Food composition and analysis*. Wan Nostrand Reinhold, New York.
- BADLER, V.R.; MCGOVERN, P.E.; MICHEL, R.H. (1990): *Drink and be merry!*. Infrared spectroscopy and Ancient Near Eastern wine. *MASCA Research Paper in Science and Archaeology*, 7: 25-36.
- CHARTERS, S.; EVERSLED, R.P.; GOAD, L.J.; LEYDEN, A.; BLINKHORN, P.W.; DENHAM, V. (1993): Quantification and distribution of lipid in archaeological ceramics: implications for sampling potsherds for organic residue analysis and the classification of vessels use. *Archaeometry*, 35(2): 211-223.
- CHRISTIE, W.W. (1989): *Gas Chromatography and lipids. A practical guide*. The Oily Press, Scotland.
- CONDAMIN, J.; FORMENTI, F. (1976): Recherche de traces d'huile d'olive et de vin dans les amphores antiques. *Figlina*, 1: 143-158.
- CONDAMIN, J.; FORMENTI, F. (1978): Determination of the ancient content of amphorae. *Revue d'Archéométrie*, 2: 43-57.
- CONDAMIN, J.; FORMENTI, F.; METAIS, M.O.; MICHEL, M.; BLOND, P. (1976): The application of gas chromatography to the tracing of oil in ancient amphorae. *Archaeometry*, 18: 195-201.
- EVANS, J. (1993): Identifying problematic remains of ancient plant food: a comparison of the role of chemical, histological and morphological criteria. *World Archaeology*, 25(1): 94-121.
- EVERSLED, R.P. (1993): Biomolecular archaeology and lipids. *World Archaeology*, 25(1): 74-93.
- EVERSLED, R.P.; HERON, C.; GOAD, J. (1990): Analysis of organic residues of archaeological origin by high-temperature gas chromatography and gas

- chromatography-mass spectrometry. *Analyst*, 115 (10): 1339-1342.
- EVERSHED, R.P.; HERON, C.; GOAD, J. (1991): Epicuticular wax components preserved in potsherds as chemical indicators of leafy vegetables in ancient diets. *Antiquity*, 65(248): 540-44.
- EVERSHED, R.P.; HERON, C.; CHARTERS, S.; GOAD, L.J. (1992): The survival of food residues: new methods of analysis, interpretation and application. *Proceedings of the British Academy*, 77: 187-208.
- GERHARDT, K.O.; SEARLES, S.; BIERS, W.R. (1990): Corinthian figure vases: Non-destructive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *MASCA Research Paper in Science and Archaeology*, 7: 41-50.
- GUNSTONE, F.D.; HARDWOOD, J. L.; PADLEY F.B. (eds.) (1986): *The Lipid Handbook*. Chapman and Hall, London-New York.
- HERON, A.; EVERSHED, P.; GOAD, J. (1991): Effects of migration of soil lipids on organic residues associated with buried potsherds. *Journal of Archaeological Science*, 18: 641-659.
- LECARPENTIER, C.; MALATEZZE, E.; BERATO, J.; CLAIR, P.; TABARIES, F. (1987): Analyse des matières grasses extraites des céramiques antiques. *Revue d'Archéométrie*, 11: 11-16.
- MANZANILLA, L. (1990): Niveles de análisis en el estudio de unidades habitacionales. *Revista española de Antropología Americana*, 20: 9-18.
- MICHEL, R.H.; MCGOVERN, P.E.; BADLER V.R. (1993): The first wine and beer. Chemical detection of ancient fermented beverages. *Analytical Chemistry*, 65(8): 408-413.
- NEEDHAM, S.; EVANS, J. (1987): Honey and dripping; Neolithic food residues from Runnymede Bridge. *Oxford Journal of Archaeology*, 6(1): 21-28.
- PATRICK, M.; DE KONING, A.J.; SMITH, A.B. (1985): Gas liquid chromatographic analysis of fatty acids in food residues from ceramics found in the southwestern Cape, South Africa. *Archaeometry*, 27 (2): 321-6.
- ROTHSCHILD-BOROS, M.C. (1981): The determination of amphora contents. *Archaeology and Italian Society* (Barker, G.; Hodges, R., eds.), British Archaeological Report, International Series, 102, Oxford: 79-89.
- ROTTLÄNDER, R.C.A. (1990a): Investigations into a vessel of the Cyclades. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 338: 138-139.
- ROTTLÄNDER, R.C.A. (1990b): Lipid analysis in the identification of vessel contents. *MASCA Research Paper Science and Archaeology*, 7: 37-40.
- ROTTLÄNDER, R.C.A.; SCHLICHTERLE, H. (1978): Food identification by analysis of samples from archaeological sites. *Archaeophysika*, 10: 260-267.



ESTELAS, PAISAJE Y TERRITORIO
EN EL BRONCE FINAL
DEL SUROESTE
DE LA PENINSULA IBERICA

EDUARDO GALAN DOMINGO

EDITORIAL COMPLUTENSE