

Evaluación del grado de diagénesis en huesos fósiles mediante espectroscopía de infrarrojos

Evaluation of the degree of diagenesis in fossil bones by infrared spectroscopy

Jone Castaños ⁽¹⁾, Xabier Murelaga ⁽¹⁾, Idoia Castellanos ⁽²⁾, Ainhoa Alonso-Olazabal ⁽³⁾, Maria Cruz Zuluaga ⁽³⁾ y Luis Angel Ortega ⁽³⁾

⁽¹⁾ Departamento de Estratigrafía y Paleontología. Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Apdo. 644, E-48080 Bilbao. jcastanosdlf@yahoo.es; xabier.murelaga@ehu.es

⁽²⁾ Departamento de Química Inorgánica. Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco/ Euskal Herriko Unibertsitatea, Apdo. 644, E-48080 Bilbao. idoiarubio@hotmail.com

⁽³⁾ Departamento de Mineralogía y Petrología. Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Apdo. 644, E-48080 Bilbao. ainoa.alonso@ehu.es; m.zuluaga@ehu.es; l.ortega@ehu.es

ABSTRACT

In this paper the fossil bone conservation and the diagenetic changes are studied by infrared spectroscopy (FTIR). Several parameters that describe crystallographic and chemical composition of the bone are used. The possible differences in the behavior of the bones to the diagenesis having its origin in the age of the animal or its taxonomy (red deer, bison, reindeer, wildpig) are discussed. Some samples have incorporated in its structure secondary phases (calcite) that may be removed by rinsing acid but not in all the cases. It notes that some diagenetic parameters values vary with the age of the individual but not with taxonomic differences. Most of the changes are related to the loss of collagen.

Key words: Fossil bone, diagenesis, Fourier transform infrared.

Geogaceta, 49 (2010), 11-14
ISSN: 2173-6545

Fecha de recepción: 15 de julio de 2010
Fecha de revisión: 3 de noviembre de 2010
Fecha de aceptación: 26 de noviembre de 2010

Introducción

Los huesos están constituidos por cristales de carbonato-hidroxiapatito (HA) partículas incrustadas en una matriz orgánica de colágeno de escala nanométrica. La composición química de la parte mineral y la orgánica de los huesos se ha utilizado para reconstrucción paleoclimática y de paleodietas (Bocherens *et al.*, 1994). Sin embargo, durante el período de enterramiento los huesos están en contacto con los sedimentos, los suelos y el agua de los poros. Durante este periodo en el hueso se puede producir la disolución parcial o total, erosión, precipitación, recristalización, absorción de iones por adsorción y difusión, e hidrólisis que pueden dar lugar a cambios en su composición química y estructura.

Durante la diagénesis las proteínas del hueso (colágeno) son eliminadas y reemplazadas por sustancias inorgánicas. Además el hidroxiapatito está formado por cristales de pequeño tamaño que le hacen ser muy reactivo durante los procesos de diagénesis (Trueman, 1999, Trueman y Tuross, 2002). En los apatitos biogénicos modernos, el carbonato (CO_3^{2-}) puede sustituir tanto al grupo hidroxilo (OH) (tipo A) como al grupo fosfato PO_4^{3-} (tipo B)

(Newesly, 1989). La sustitución del carbonato por el fosfato puede distorsionar la red cristalina y hacer que decrezca la estabilidad del apatito biogénico (Nelson, 1981; Nelson *et al.*, 1983).

El objetivo de este trabajo es estudiar el grado de diagénesis de los huesos mediante *Espectroscopía de Infrarrojos* (FT-IR). Esta técnica analítica presenta varias ventajas respecto a otros métodos (p.e. DRX, microscopía óptica o electrónica, análisis químicos e isotópicos, etc.) donde destacan la rapidez y precisión.

Material

Las muestras seleccionadas para este estudio corresponden a 24 huesos de ciervo (*Cervus elaphus*), 9 de reno (*Rangifer tarandus*), 8 de bisonte (*Bison priscus*) y 1 de jabalí (*Sus scrofa*). Los huesos corresponden a partes del esqueleto postcranial (costilla, húmero, radio, fémur, tibia, falanges y metapodios) siendo 20 de individuos adultos y 22 de juveniles. Estos materiales proceden del yacimiento paleontológico de Kiputz IX (Mutriku, Gipuzkoa). Se trata de una cueva-trampa y no se han visto afectados por ningún proceso antrópico que haya podido interferir

en su diagénesis. Su cronología absoluta se distribuye entre el 14.000 B.P. y el 32.000 B.P. aunque la mayor parte de la muestra se concentra en el intervalo 18.140 - 19.870 B.P. (Castaños *et al.*, 2006).

Métodos

La Espectrometría de Infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) es una técnica analítica ampliamente utilizada. Se basa en la interacción microscópica de la luz infrarroja con una sustancia química (en nuestro caso el hueso) que a través de procesos de absorción proporciona un patrón de bandas denominado espectro. La posición e intensidad de estas bandas permiten un análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes de la muestra.

Los espectros de infrarrojo han sido obtenidos en un espectrofotómetro FT-IR Mattson Satellite. Dichos espectros han sido registrados en el intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y una acumulación de 40 barridos para cada uno. Se han utilizado muestras en polvo en una matriz de bromuro potásico (Aldrich 22,186-4, FT-IR grade), previamente secado a 100°C, con una concentración de aproximadamente 1% en peso. Dichas

Nº	Propiedad	Parámetro	Cálculo	Referencia
1	Cristalinidad	IC1	I_{1030}/I_{1020}	Boskey <i>et al.</i> (2003)
2	Cristalinidad	IC2	$(I_{1607}+I_{1605})/I_{1590}$	Weiner & Bar-Yosef (1990)
3	Grado mineralización	Mineralización	$A(900-1200)/A(1587-1720)$	Pienkowski <i>et al.</i> (1997)
4	Grado mineralización	CO ₂ /Matrix	$A(860-890)/A(1587-1720)$	Smith <i>et al.</i> (2007)
5	Grado mineralización	Mineral/Matrix	$A(900-1200)/I_{1660}$	Adaptado Pienkowski <i>et al.</i> (1997)
6	Fracción orgánica	Madurez colágeno	I_{1660}/I_{1690}	Paschalis <i>et al.</i> (2001)
7	Sustituciones del ion carbonato	TipoB/TipoA	I_{878}/I_{872}	Rey <i>et al.</i> (1989)
8	Sustituciones del ion carbonato	Carbonato tipo A	$I_{872}/A(860-890)$	Rey <i>et al.</i> (1989)
9	Sustituciones del ion carbonato	Carbonato tipo B	$I_{878}/A(860-890)$	Rey <i>et al.</i> (1989)
10	Ratio carbonato/fosfato	Carbonato/Fosfato	$A(860-890)/A(900-1200)$	Smith <i>et al.</i> (2007)
11	Ratio carbonato/fosfato	C/P	I_{1415}/I_{1035}	Sponheimer <i>et al.</i> (1999)
12	Ratio carbonato/fosfato	Min CO ₂	$I_{1405}/A(900-1200)$	Adaptado Smith <i>et al.</i> (2007)

Tabla I.- Definición y cálculo de los parámetros espectroscópicos utilizados. I: valor del pico; A: área bajo la curva del intervalo.

Table I.- Definition and calculation of spectroscopic parameters used. I: value of the peak; A: area under the curve.

muestras han sido preparadas en forma de pastillas a una presión de 240 kp. cm⁻².

El espectro FTIR del hueso presenta bandas de absorción correspondientes a distintos tipos de enlaces entre las frecuencias de longitud de onda 400 cm⁻¹ y 4000 cm⁻¹. Sin embargo, las bandas y picos de mayor interés en nuestro caso corresponden al intervalo de frecuencias 400-2000 cm⁻¹. En él quedan incluidas dos bandas distintas de absorción del grupo fosfato (PO₄³⁻n₄ y PO₄³⁻n₁n₃), otras dos del grupo carbonato (CO₃²⁻n₂ y CO₃²⁻n₃) y una banda para el grupo Amida I.

A partir de los datos de espectros FTIR durante la última década se han ido definiendo diferentes parámetros que permiten un análisis de la composición química y cristalográfica del hueso. Para este trabajo se han seleccionado una docena a los que se añade el porcentaje de colágeno de cada muestra estimado por métodos no espectroscópicos. El porcentaje en colágeno se ha determinado por métodos gravimétricos tras el lavado de la fracción mineral del hueso. A través de estos parámetros se analizan cinco propiedades del hueso que se aplicarán a la comparación entre estados de edad y especies (Tabla I).

Resultados y discusión

1. Muestras con calcita diagenética.

Uno de los primeros datos a destacar a partir de los espectros de infrarrojos es la presencia en 7 de las 42 muestras analizadas de un pico de absorción a 713 cm⁻¹ que

corresponde a calcita en el hueso y no a otras formas de CO₃²⁻ (Nielsen-Marsh, 1997). La posible distorsión que esta calcita diagenética pudiese provocar en la estimación de otros parámetros nos llevó a realizar un segundo análisis tras un lavado previo con ácido acético 0,1N de estas muestras. Se trataba de verificar la posibilidad de eliminar total o parcialmente la calcita así como de evaluar los efectos de este proceso en la estructura del hueso.

Hemos analizado las diferencias entre las muestras lavadas y no lavadas respecto a su contenido en calcita, carbonato y fosfato. Para ello hemos comparado los espectros en el pico 713 cm⁻¹ de calcita, el área bajo la banda n₂ del ion carbonato y el área bajo la banda n₁n₃ del ión fosfato.

Hay tres muestras en las que se reducen el pico de calcita y las dos áreas correspondientes al contenido de carbonato y fosfato (Fig. 1A). En otra muestra también disminuyen pero en menor grado. Hay dos casos que no presentan variación alguna (Fig. 1B). Y finalmente una muestra en la que aumentan. Esta muestra de comportamiento anómalo se distingue por su cronología y por su posición estratigráfica. Es la única muestra procedente del nivel inferior del yacimiento, situada entre el fondo natural de la sima y un grueso espeleotema suprayacente con la que contactaba. La ausencia de sedimentos indica que estuvo sometido a un intenso lavado durante la formación de la capa que la cubría. El proceso de lixiviado intenso viene reflejado por el bajo contenido en colágeno (0,4%).

2. Adultos y juveniles.

La composición química y cristalográfica de un hueso varía con la edad del individuo (Alvarez-Lloret *et al.*, 2006). Por eso se han comparado los valores de los índices entre un conjunto de 15 huesos largos de individuos adultos y 19 de juveniles (Tabla II) habiendo prescindido de las siete muestras que presentaban el pico de calcita diagenética. En la mayor parte de los índices no se aprecian diferencias significativas entre los huesos de adultos y los de juveniles. El grado de cristalinidad, los tipos de sustitución del carbonato y la relación C/P son muy similares en los dos estadios de edad. Hay diferencias pequeñas en la madurez del colágeno y mayores en las proporciones del fosfato y carbonato respecto de la matriz orgánica (Tabla II).

En los huesos de individuos juveniles las relaciones entre el contenido de fosfato o de carbonato y la fracción orgánica representada por la Amida I son mayores que las correspondientes a muestras procedentes de adultos. Estas diferencias se repiten tanto si se estima el contenido en Amida I mediante el área de la banda completa 1587 cm⁻¹ 1720 cm⁻¹ (índice 3) como si se utiliza sólo el pico de mayor absorción (1660 cm⁻¹) dentro de dicha banda (índice 5). No obstante, el índice 5 es más adecuado a la hora de determinar el grado de mineralización ya que elimina la posible contribución del enlace n₂ del agua con el HAP en el cálculo de amida I.

Este resultado parece indicar que los huesos fósiles de individuos juveniles estarían más mineralizados que los de los adultos, algo que no es coherente con los mecanismos fisiológicos conocidos acerca del desarrollo de los huesos en los mamíferos. Es un hecho confirmado que los huesos van incrementando la proporción de la fracción mineral a expensas del colágeno a lo largo de la vida del individuo.

Hay una explicación de esta aparente contradicción si se admite la existencia de una mayor pérdida de colágeno en los huesos de individuos juveniles. Téngase en cuenta que los dos índices están definidos como una relación entre dos parámetros distintos (fosfato y carbonato) respecto de un mismo parámetro como es el contenido de colágeno del hueso (representado por la Amida I). Los valores de las *ratio* no dependen sólo de los numeradores sino también de las variaciones del denominador. Si éste disminuye el índice se incrementa aunque no haya diferencias significativas en los numeradores.

Los huesos de los individuos inmaduros por su menor mineralización pueden resultar más permeables y facilitar

procesos de hidrólisis y disolución de su fracción orgánica. Como consecuencia se habría producido una mayor pérdida del colágeno que es el componente más abundante del material protéico. El resultado sería un hueso con una relación mineral/colágeno mayor independientemente del contenido de carbonato o fosfato que contenga. De esta forma el incremento resultante de los valores de los índices no implica un aumento en el contenido de los componentes minerales sino que es el resultado de una disminución de la cantidad de colágeno. El análisis del contenido de colágeno en las distintas muestras confirma esta menor cantidad de colágeno en los huesos de individuos juveniles.

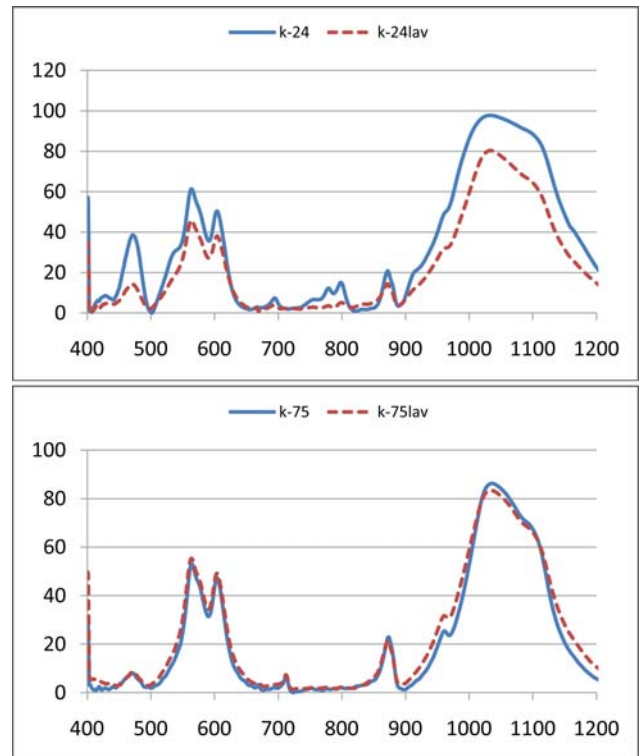
3. Diferencias interespecíficas.

La mayor parte de los trabajos sobre evaluación de la diagénesis se han centrado en la influencia de los factores extrínsecos. Se suele dar por supuesto que las variaciones interespecíficas dentro de un mismo grupo zoológico no afectan de forma significativa al proceso de fosilización. Sin embargo, un análisis de las posibles diferencias en el desarrollo de la diagénesis en diferentes especies también debe ser considerado como un factor intrínseco. Nielsen-Marsh y Hedges (2000) y Nielsen-Marsh *et al.*, (2007) han presentado recientemente una correlación entre diferentes parámetros diagenéticos como la histología ósea, la porosidad del hueso, contenido de proteína, la cristalinidad del apatito del hueso, contenido de carbonatos... donde las consideraciones tafonómicas tienen cierto grado de influencia.

El yacimiento de Kiputz representa un caso ideal para realizar este tipo de estudio,

Fig. 1.- Espectros FTIR superpuestos antes y después del lavado ácido: A (superior con variaciones) y B (inferior sin variaciones).

Fig. 1.- Spectra FTIR overlapping before and after washing acid: A (upper with variations) and B (lower without variations).



ya que permite eliminar la mayor parte de los factores extrínsecos y algunos de los intrínsecos. Este yacimiento presenta dimensiones reducidas, la forma de depósito, y el intervalo cronológico también son reducidos de modo que se puede aceptar una cierta homogeneidad en la acción del entorno sobre todo el material óseo. Además, la fauna recogida en el yacimiento presenta cierta proximidad ecológica. Se trata de herbívoros con un nicho ecológico bastante similar. La base de subsistencia de todos ellos es el pastizal estepario que domina el paisaje del último

máximo glacial (LGM) en el que vivieron. Aunque los dos primeros son cérvidos y el tercero bóvido, la fisiología básica es similar y común a la mayoría de los rumiantes. La diferencia más notable reside en el tamaño corporal que disminuye progresivamente desde el bisonte al reno pasando por el ciervo.

Se ha estudiado el diferente comportamiento en la evolución de la diagénesis de las diferentes especies a partir de una muestra de 22 huesos de ciervo, 8 de reno y 8 de bisonte, que son reflejo de la fauna presente en el yacimiento. Se observan variaciones significativas entre las diferentes especies en algunos de los índices estudiados (Tabla III).

El grado de mineralización es diferente entre las tres especies consideradas, de modo que la relación entre la fracción mineral de fosfato o del carbonato respecto de la matriz orgánica (índices 3, 4 y 5) presenta los valores más altos en el bisonte. Lo mismo ocurre con la madurez del colágeno (índices 6) y la relación C/P (índice 11). Por el contrario todos estos índices muestran los valores más bajos en el reno, mientras que el ciervo presenta siempre valores intermedios. Por otro lado los índices de cristalinidad (IC1 e IC2) más altos corresponden al reno y sólo el IC2 presenta su valor más bajo en el bisonte. En el resto de los índices no se observan diferencias entre las distintas especies.

Estos resultados sugieren que el factor más importante asociado a las diferencias observadas corresponde al tamaño corpo-

Nº	INDICES	ADULTOS			JUVENILES		
		n	Mín.- Máx.	Media	n	Mín.- Máx.	Media
1	IC1	15	1,01- 1,11	1,044	19	1,02- 1,11	1,041
2	IC2	15	2,22- 3,93	2,86	19	2,37- 4,19	2,87
3	Mineralización	15	3,06- 7,78	4,89	19	2,68- 7,74	5,51
4	CO ₃ /Matrix	15	0,2- 0,45	0,286	19	0,14- 0,57	0,321
5	Mineral/Matrix	15	5,01- 17,39	11,29	19	6,04- 18,83	12,55
6	Madurez colágeno	15	1,33- 2,46	1,624	19	1,19- 2,25	1,707
7	TipoB/TipoA	15	0,59- 0,86	0,656	19	0,59- 0,78	0,653
8	Tipo A	15	0,08- 0,11	0,100	19	0,09- 0,11	0,104
9	Tipo B	15	0,07- 0,08	0,075	19	0,07- 0,10	0,078
10	Carbonato/Fosfato	15	0,02- 0,05	0,026	19	0,02- 0,05	0,025
11	C/P	15	0,39- 0,67	0,494	19	0,4- 0,8	0,514
12	MinCO ₃	15	0,00-0,01	0,007	19	0,0- 0,1	0,007
	% colágeno	15	0,25- 10,14	3,91	19	0,64- 9,99	3,26

Tabla II.- Intervalo de variación y valor promedio de los distintos parámetros definidos a partir de los espectros de infrarrojos en individuos adultos y juveniles.

Table II.- Variation and mean of the spectroscopic parameters in individuals adults and juveniles.

Nº	ÍNDICES	<i>Bison priscus</i>	<i>Cervus elaphus</i>	<i>Rangifer tarandus</i>
1	IC1	1,038	1,036	1,057
2	IC2	2,88	2,79	2,98
3	Mineralización	6,17	5,00	4,58
4	CO ₃ /Matrix	0,338	0,290	0,281
5	Mineral/Matrix	13,61	11,48	10,79
6	Madurez colágeno	1,833	1,653	1,555
7	Tipo B/Tipo A	0,661	0,651	0,650
8	Tipo A	0,103	0,101	0,103
9	Tipo B	0,080	0,075	0,077
10	Carbonato/Fosfato	0,025	0,026	0,025
11	C/P	0,523	0,501	0,493
12	Min CO ₃	0,006	0,006	0,008
	% Colágeno	3,76	3,89	5,17

Tabla III.- Valores medios de los índices en cada una de las especies. Valor medio más bajo; Valor medio más alto.

Table III.- Means of the parameters in each of the species. Average value lower; Average value higher.

ral de las especies. El bisonte es de mayor envergadura, presenta los valores más altos de mineralización mientras que el reno muestra los valores mínimos. Se produce una situación parecida a la observada entre individuos adultos y juveniles. Los valores más altos de mineralización, típicos de individuos juveniles, se dan en el bisonte. Sin embargo, los valores promedio más bajos de carbonato y fosfato, como los observados en los adultos, coinciden con los del reno. De nuevo, la clave parece estar en el contenido relativo de colágeno. Este componente es más escaso en el bisonte y más abundante en el reno.

Resulta extraño que siendo el bisonte la especie de mayor talla presente el menor contenido relativo de colágeno. Al tratarse de huesos con mayor espesor y por tanto con una capa de hueso compacto más gruesa en las diáfisis resultarían menos vulnerables a los procesos de disolución e hidrólisis. La explicación puede estar en que la estructura de edad no es la misma en las tres especies. Mientras que la mayoría de las muestras de bisonte corresponden a individuos juveniles, en el ciervo y reno la proporción entre los dos estados de edad está bastante equilibrada.

Sin embargo, las diferencias en la proporción de colágeno entre el ciervo y el reno representan un obstáculo. No se explica el mayor contenido de fracción orgánica en los huesos de reno con una proporción de edad muy semejante a la del ciervo.

Conclusiones

La primera conclusión es de carácter metodológico. En las muestras que presentan calcita diagenética el lavado ácido reduce no sólo la calcita secundaria sino

también el resto de componentes minerales (carbonatos y fosfatos) en la mayoría de los casos.

En los huesos de individuos juveniles las relaciones de los componentes minerales (carbonato y fosfato) respecto de la matriz orgánica son las únicas que presentan variaciones. Sin embargo, los índices restantes tienen valores similares en los dos estadios de edad. Esto se debe a que los individuos juveniles están menos mineralizados, por lo que resultan más permeables y facilitan los procesos de hidrólisis. Este hecho favorece la disolución de la fracción orgánica y como consecuencia se produce una mayor pérdida de colágeno.

Además, no se observan pautas claras en los parámetros diagenéticos entre individuos de distintas especies. Las diferencias entre bisonte y reno pueden explicarse por el predominio de individuos juveniles en las muestras de bisonte. Sin embargo, las diferencias entre el ciervo y el reno no son tan evidentes.

Finalmente se pone de manifiesto la gran utilidad de esta técnica a la hora de detectar fases diagenéticas. Por tanto, es una buena herramienta para realizar la selección de muestras para su estudio isotópico, ya que permite reconocer las muestras que han sufrido modificaciones químicas.

Agradecimientos

Agradecemos a M. Sasieta y J.M. Arruabarrena por su apoyo en la excavación de Kiputz IX. Así mismo, también agradecemos el trabajo de revisión de este artículo a Alejandro Rodríguez Navarro (Universidad de Granada) y José Reyes-Gasca (Universidad Nacional Autónoma de México). La autora de este trabajo (J.C.) disfruta de una Beca predoctoral

(BFI.09.21/AE) del Gobierno Vasco. Este estudio ha sido subvencionado por los proyectos CGL2007-64428/BE, Unesco 09/01 y EHU 08/06 de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea e IT315-10 del Gobierno Vasco.

Referencias

- Alvarez-Lloret, P., Rodríguez-Navarro, A.B., Romanek, Ch.S., Gaines, K.F. y Congdon, J. (2006). *Macla*, 6, 45- 47.
- Bocherens, H., Andre, M.F. y Mariotti, A. (1994). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 107, 213- 225.
- Boskey, A.L., Moore, D.J., Amling, M., Canalis, E. y Delany, A.M. (2003). *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(6), 1005-1011.
- Castaños, J., Castaños, P. y Murélagua, X. (2006). *Geogaceta*, 40, 163- 166.
- Nelson, D.G.A. (1981). *Journal of Dental Research*, 60 (3), 1621- 1629.
- Nelson, D.G., McLean, J.D. y Sanders, J.V. (1983). *Journal of Ultrastructure Research*, 84, 1- 15.
- Newesly, H. (1989). *Applied Geochemistry*, 4, 233- 245.
- Nielsen-Marsh, C.N. y Hedges, R.E.M. (1997). *Bulletin de la Société Géologique de France*, 168, 485- 490.
- Nielsen-Marsh, C.N., Hedges, R.E.M., Mann, T. y Collins, M.J. (2000). *Terrestrial Acta*, 365, 129- 139.
- Nielsen-Marsh, C.N., Smith, C.I., Jans, M.E., Nord, A., Kars, H. y Collins, M.J. (2007). *Journal of Archaeological Science*, 34, 1523- 1531.
- Paschalis, E.P., Verdelis, K., Doty, S.B., Boskey, A.L. y Mendelsonh, R., y Yamauchi, M. (2001). *Journal of Bone and Mineral Research*, 16 (10), 1821-1828.
- Pienkowski D., Doers T.M., Monier-Faugere M.C., Geng Z., Camacho N.P., Boskey A.L., Malluche H.H. (1997). *Journal of Bone and Mineral Research*, 12, 1936-1943.
- Rey, C., Collins, B., Goehl, T., Dickson, I.R. y Glimmer, M.J. (1989). *Calcified Tissue International*, 45, 157-164.
- Smith, C.I. Nielsen-Marsh, Jans, M.E., Nord, A., Kars, H. y Collins, M.J. (2007). *Journal of Archaeological Science*, 34, 1485- 1493.
- Sponheimer, M. y Lee-Thorp, J.A. (1999). *Journal Archaeological Science*, 26, 143-150.
- Trueman, C.N. (1999). *Palaios*, 14, 555- 568.
- Trueman, C.N. y Tuross, N. (2002). *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 48, 489- 521.
- Weiner, S. y Baryosef, O. (1990). *Journal Archaeological Science*, 17, 187-196.