

Nueva metodología de consolidación del hueso. Aplicación de nanopartículas para la remineralización de material óseo no fósil de cronologías pleistocénicas. Ensayos de aplicación en la sima del Ángel, Lucena (Córdoba)

Eva Montilla Jiménez

Resumen

El objetivo de este trabajo es plantear una técnica para la consolidación de los restos óseos no fósiles de cronologías Pleistocénicas. Estos restos no deben tratarse como otros materiales tradicionalmente abordados por la disciplina de Conservación y Restauración, ya que son susceptibles de contener material genético que puede aportar una valiosísima información. Por ello, no se deben aplicar sobre ellos polímeros sintéticos de ningún tipo, ya que quedan inservibles para diversas analíticas. El estado ideal para su estudio es el de fosilización que los mantiene consolidados naturalmente y estables químicamente, pero ¿qué hacer con aquellos restos que se presentan un estado pulverulento? La pérdida de propiedades mecánicas que afectan a los huesos de estas cronologías está a menudo causada por procesos de desmineralización. Por ello, una manera simple de abordar este problema sería someterlos a una remineralización con un material compatible químicamente con el constitutivo del propio hueso.

En este ensayo, la remineralización la hemos provocado mediante la introducción de nanopartículas de Hidróxido de Calcio que han transformado el Apatito de composición del hueso en Hidroxiapatito, un material mucho más duro y estable que es el que generalmente predomina en la composición química de los fósiles. Este proceso de "fosilización artificial" podría tener un impacto inmediato en la conservación de yacimientos del Pleistoceno. Las analíticas consistentes en Difractometría de Rayos X, Espectroscopía electrónica, y Microscopía electrónica de barrido (SEM) han sido realizadas por el Laboratorio de Microscopía del Departamento de Geología y Geoquímica de la Universidad Autónoma de Madrid.

Palabras clave

Conservación y restauración, hueso, fósiles, consolidación, nanopartículas, Sima del Ángel, Pleistoceno

Fundación Instituto de Investigación de Prehistoria y Evolución Humana

evamontillajimenez@gmail.com

Recibido: 2/IX/2015
Aceptado: 7/XI/2015

A New bone consolidation methodology. Application of nanoparticles for the remineralisation of unfossilised bone from Pleistocene periods. Application tests on the Sima del Ángel pothole, Lucena (Córdoba)

The aim of this paper is to propose a technique for consolidating unfossilised bone remains from Pleistocene periods. These remains should not be treated like other materials traditionally handled by the conservation and restoration discipline because they are likely to contain genetic material that can provide extremely valuable information. No synthetic polymers of any kind should be applied to them because this will render them useless for various analytics. The ideal state for study is fossilisation, since it keeps the bones naturally consolidated and chemically stable, but what should be done with remains in a powdery state? The loss of mechanical properties that affect bones from these periods is often caused by demineralisation processes. A simple way to tackle this problem is therefore to remineralise them with a material that is chemically compatible with the constituent materials of the bone itself.

In this test, the remineralisation was carried out by introducing calcium hydroxide nanoparticles which transformed the composition of the bone into hydroxyapatite, a much harder and stabler material that generally predominates in the chemical composition of fossils. This process of "artificial fossilisation" could have an immediate impact on the conservation of Pleistocene sites. The analytics, consisting of X-ray diffraction, electron spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM), were conducted by the Microscopy Laboratory of the Geology and Geochemistry Department of the Autonomous University of Madrid.

Keywords

Conservation and restoration, bone, fossils, consolidation, nanoparticles, Sima del Ángel, Pleistocene

Introducción

El yacimiento

La Cueva del Ángel se localiza en la Sierra de Aras, en el municipio cordobés de Lucena. Tanto el estudio de los restos paleontológicos como de las herramientas líticas hacen que este yacimiento se enmarque culturalmente en un hábitat de preneandertales del Achelense Superior (García Solano, 2014). Este sitio arqueológico, de transición entre el Pleistoceno Medio y Superior, se divide en tres espacios: Plataforma, Covacha y Sima.

El espacio que denominamos Plataforma configuraba una cavidad que en un momento indeterminado se derrumbó (Barroso *et al.* 2012). Parte de los 5m. de relleno arqueológico que posee esta zona están ocupados por estructuras de combustión, por lo que los materiales se hallan termoalterados.

La Covacha no ha sido excavada. Está configurada por una laja de piedra de más de 20m. de longitud que se desplomó, siendo ahora su suelo y a su vez el techo de la sima que le localiza debajo y a la que se accede desde una oquedad en la pared SO.

La Sima supone una fisura en las entrañas de la roca, de aproximadamente 100 m. de profundidad y 4 m. de anchura. El relleno arqueológico aquí configura un gran cono, ya que todos los depósitos accedieron al interior desde un único punto: la apertura antes mencionada de la Covacha.

En esta zona se han hallado en un solo sondeo de 6 m² más de 2000 piezas de registro, entre las destacan 854 restos humanos (que suponen un 45% del total de los registros de este sector del yacimiento).

Problemas de conservación de los restos óseos de Sima del Ángel

Los restos óseos hallados en la sima no están fosilizados debido a que la sima se encuentra activa. Por ello poseen un alto grado de deterioro, ya que el sedimento en el que los huesos se hallan insertos –conformado fundamentalmente por acumulación de deposiciones de quirópteros– está permanentemente húmedo. Contra todo pronóstico, los restos arqueológicos más superficiales extraídos en 2013 presentan una buena estabilidad ante las pruebas de cloruros. Quizá la explicación a tal hecho la encontramos en que la actividad hídrica de la sima ha ido filtrando y arrastrando al subsuelo las sales solubles. No obstante los huesos se hallan en un estado pulverulento, que hace sumamente complicada su extracción. Otras de las alteraciones que encontramos aquí son roturas postdeposicionales, erosión, desprendimiento del periosteo y estrías.

Estado de la cuestión

Los primeros tratamientos sobre algunos de los restos óseos se realizaron durante la excavación. Consistieron en la realización de carcasas mediante vendas enyesadas para proceder a su extracción, ya que presentaban un estado muy delicado de conservación y la humedad de la sima hacía complicada la utilización de polímeros en el interior de la sima. Por otro lado, el cambio brusco de temperatura y humedad entre el interior de la sima (24°C y 95% HR) y el exterior (40°C y 20%HR) hizo que los primeros huesos largos y fragmentos de bóveda craneal de cierta entidad se descompusieran en las horas posteriores a su extracción.

Hay muy pocas investigaciones sobre procedimientos de consolidación de material óseo de cronologías pleistocénicas (López Polín *et al.* 2008, 2009, 2011 ; López-Polín, 2012 ; Rosas *et al.* 2005 ; Roubach, 2010). Estos estudios, aunque van encaminados a preparar el fósil para

que pueda ser estudiado por investigadores de diversas disciplinas, suelen remitir a polímeros tanto acrílicos como vinílicos. Es cierto que cada vez se presta mayor atención a los efectos a largo plazo que pueden tener estos productos sobre el hueso, tales como la foto oxidación (Chiantore, Lazzari: 2001), y cada vez más se encamina la investigación a la búsqueda de un consolidante compatible con el hueso (Kress, 1995 ; Natali, 2014; Rossi, 2004; Roubach, 2010).

La pérdida de propiedades mecánicas que afectan a los huesos arqueológicos o paleontológicos es a menudo causada por procesos de desmineralización, por lo que un procedimiento simple y compatible podría ser reponer el mineral que han ido perdiendo los huesos a lo largo del tiempo (Natali, 2014).

Material y métodos

Los restos óseos de la Sima

Para poder abordar un procedimiento de consolidación del hueso con materiales compatibles, es necesario conocer detalladamente su composición química. Debido a la cronología, los huesos que vamos a tratar ya han perdido todo resto de materia orgánica, y su composición química se reduce casi exclusivamente a Apatito $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F,Cl,OH})$

Método de consolidación de restos óseos con nanopartículas

Cuando hablamos de nanopartículas nos referimos a partículas que miden entre 1-100 nanómetros. Un nanómetro es la millonésima parte del milímetro, así, una nanopartícula es más pequeña que una célula, y su tamaño puede oscilar entre el de un virus –100nm– y el del ADN –1nm– (Gómez Villalba, López-Arce, Fort González, Álvarez de Buergo y Zornoza-Indart: 2011).

Las nanopartículas pueden ser de muy diversos materiales, pero aquí recurriremos a un material inorgánico que sea compatible con el material constitutivo del hueso. Quizá el consolidante más conocido desde tiempos históricos es el Hidróxido Cálcico, que carbonata en presencia del CO_2 atmosférico, transformándose en Carbonato Cálcico. La solución por la que se optó, por tanto, fue una dispersión de nanocal en Isopropanol. El Isopropanol, así como otros alcoholes, poseen baja tensión superficial que favorece la homogeneidad y profundidad de penetración. La solución escogida para el ensayo es una patente de la Universidad de Florencia, y fue empleada por primera vez en 1997 con buenos resultados como consolidante de pintura mural. Se comercializa bajo el nombre de Nanorestore© y actualmente se emplea también en piedra. Es quizá el producto más estudiado de su gama y, aunque *a priori* consideramos que no es el idóneo para hueso, lo hemos elegido por ser un derivado del Calcio, sabiendo que el proceso de desmineralización de los huesos en seres vivos (osteoporosis) se combate con Calcio.

Para la aplicación se ha seleccionado un fragmento de hueso humano que durante la excavación en la Sima, se rompió en dos partes. Sobre una de ellas se hizo la prueba de consolidación, conservando la otra parte para luego analizarlas conjuntamente y estudiar los cambios producidos. La aplicación se realizó mediante saturación por inmersión en laboratorio, proceso que duró 6'35". Posteriormente, la pieza permaneció durante 7 días fuera de la disolución en el laboratorio –tiempo estipulado para una correcta cristalización de las nanopartículas–.

Las analíticas consistieron en:

- Espectroscopia electrónica para apreciar los posibles cambios en la composición mineralógica del hueso antes y después de la aplicación.

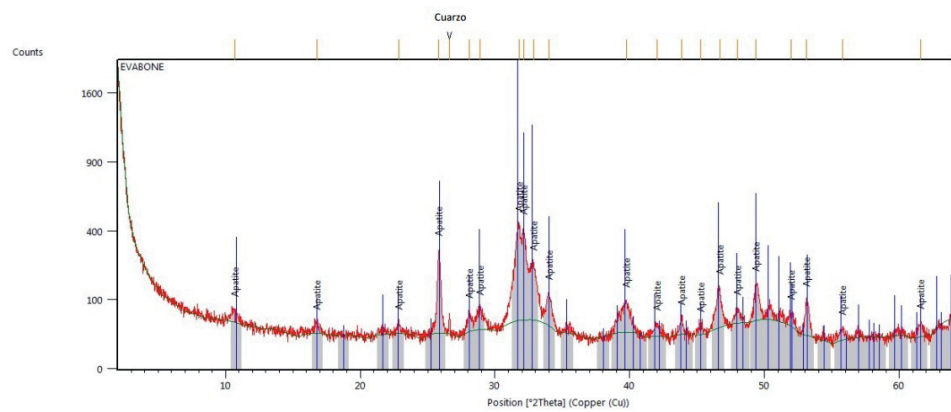
Imagen 1. Análisis mineralógico mediante espectroscopia electrónica

- Microscopía electrónica de barrido SEM para observar cambios en la superficie del hueso antes y después de la intervención.
- Difractometría de Rayos X para saber la composición de los cambios acaecidos en el hueso.

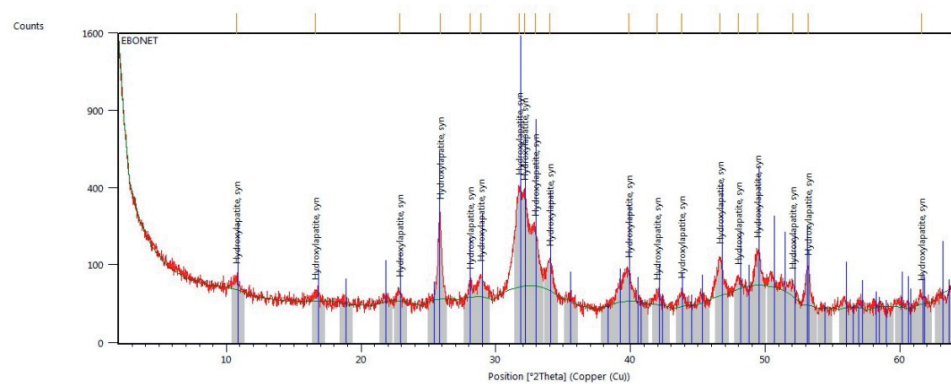
Resultados

Transcurridos los siete días de cristalización, las nanopartículas de Ca(OH)_2 habían consolidado el sustrato poroso debilitado original. La muestra consolidada había dejado de presentar un estado pulverulento, y sus características físicas y mecánicas habían mejorado sensiblemente. La diferencia de estado entre la muestra tratada y la que estaba sin tratar eran patentes a simple vista: cada una estaba dentro de una pequeña bolsa de autocierre, y en el caso de la parte sin consolidar se observaba en la bolsa polvo blanco y algún fragmento del periósteo, mientras que la bolsa de la parte consolidada estaba completamente limpia. Ambas partes fueron enviadas al Laboratorio de Microscopía del Departamento de Geología y Geoquímica de la Universidad Autónoma de Madrid, que unos meses más tarde nos envió los siguientes resultados:

MUESTRA SIN TRATAR

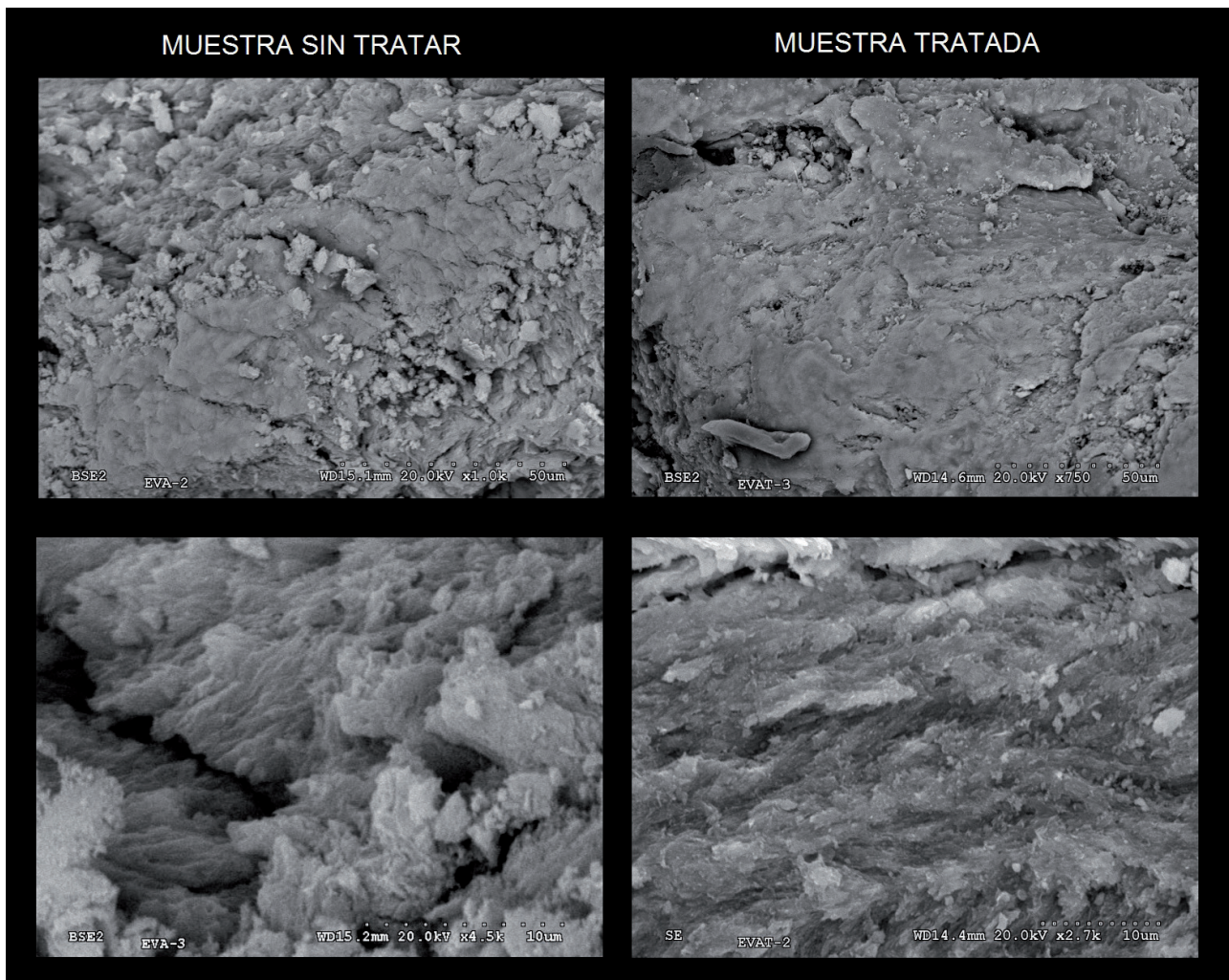


MUESTRA TRATADA



El análisis mineralógico con espectroscopia electrónica (Imagen 1) reveló que el espécimen sin consolidar estaba compuesto de Apatito $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{Cl},\text{OH})$, composición habitual del hueso, mientras que el consolidado se había transformado en Hidroxiapatito $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, composición habitual de los fósiles, por lo que podríamos decir, que se habría producido una "fosilización artificial". Al aplicar Hidróxido de Cal, el Apatito se ha convertido en Hidroxiapatito. Al observar las muestras al microscopio electrónico, la superficie de la muestra tratada con nanopartículas se presenta más compacta, y parece que las nanopartículas han actuado cristalizando en los huecos, rellenando los pequeños espacios y aglutinando de esta manera el material compositivo disgregado del hueso.

Imagen 2. Microfotografía electrónica de barrido. SEM.



Sin embargo, en una de las fotografías tomadas de la muestra consolidada con el microscopio electrónico de barrido (SEM) se apreciaba una costra sobre la superficie del hueso. Esta costra se analizó mediante difracción de Rayos X, y estaba formada fundamentalmente por sílice. Este hecho se ha interpretado como una alteración puntual de la muestra provocada por las arcillas del sedimento de la Sima, ya que es un mineral que no posee el hueso en composición ni el consolidante utilizado.

Discusión

Al aplicar un consolidante ocurren dos posibilidades: que penetre en el interior o que se quede en superficie. Es obvio que cualquier consolidante que se aplica a una pieza muy deteriorada, para que funcione, tiene que penetrar en el interior, por lo tanto, siempre que

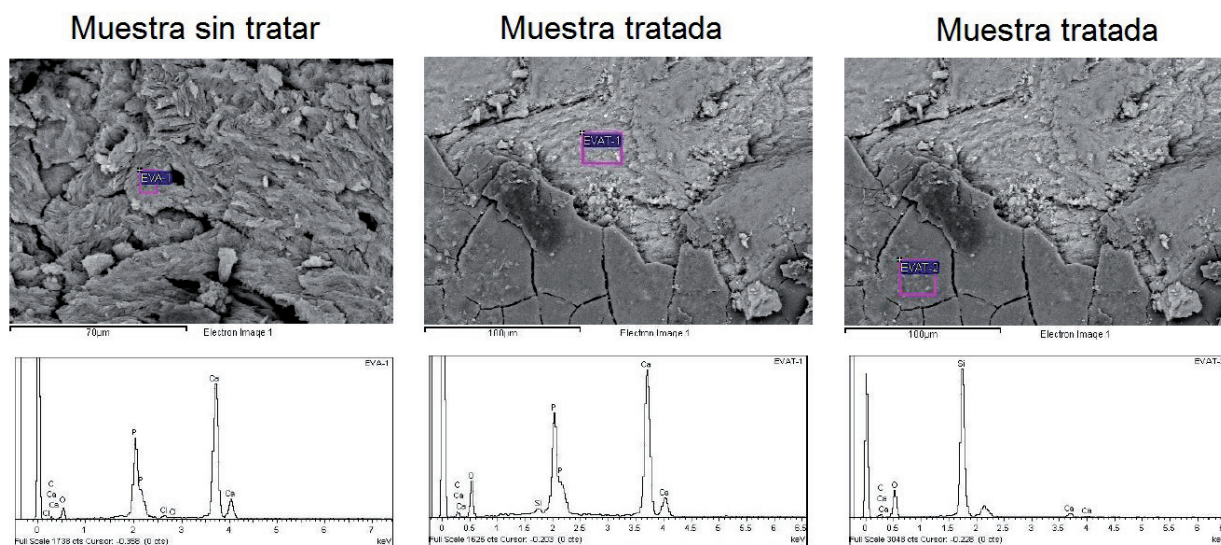


Imagen 3. Difractograma de Rayos X.

una pieza se somete a un proceso de consolidación, estamos introduciéndole un componente esputo y alterando su composición. Por el contrario, si el consolidante se queda sobre la superficie, forma una película superficial plástica que puede impedir la transpiración del material, además de alterarlo visualmente. Además, este método de aplicación, en el caso de piezas muy deterioradas, no garantiza la consolidación.

Como ya se ha comentado anteriormente, en el momento en el que sometemos una pieza a consolidación con polímeros, queda inservible para muchos de los análisis a los que puede ser sometida actualmente y a los que puedan surgir en un futuro (López-Polín, 2012). Por ello, se hace necesaria la búsqueda de un sistema alternativo de consolidación en el que no intervengan polímeros sintéticos, ya que por su propia naturaleza, a la larga, no son compatibles con el hueso o con los estudios que pueden realizarse sobre él. Y dado que el proceso de consolidación sobre el tejido esponjoso es irreversible, pensamos que quizá una solución alternativa, sería realizar una remineralización, con un material que fuese más o menos similar al constitutivo del hueso.

Tras la realización de los análisis en 2013 se publicó un artículo por parte del Departamento de Química "Ugo Schiff" y del Consorcio CSGI de la Universidad de Florencia (Natali et al. 2014) donde se aplicaban nanopartículas de Hidróxido de Cal para la consolidación de unos fragmentos óseos de la Baja Edad Media pertenecientes a las reliquias de San Clemente de la iglesia parroquial de "San Vittore Mártir" de Lainate en Milán. El resultado que obtuvieron fue diferente al de este trabajo, ya que en su caso, los restos eran mucho menos antiguos y aún conservaban colágeno. Dicho colágeno había reaccionado con el Hidróxido de Cal formando diminutas redes de cristales de Aragonito que habían actuado retejiendo la estructura ósea.

Conclusiones

Se considera fundamental abrir nuevas líneas de investigación que permitan definir nuevos parámetros de conservación en los yacimientos del Pleistoceno, ya que las piezas que de ellos se extraen son objeto de estudio de diversas disciplinas y susceptibles de ser sometidas a diversas analíticas.

Para ello es necesario abordar un estudio pormenorizado de composición de los huesos para poder encaminar la investigación a la búsqueda de una fórmula específica para huesos de cronologías tan antiguas.

Las nanopartículas constituyen un sistema alternativo de consolidación, a base de una remineralización que actúa aglutinando las micropartículas disgregadas del hueso. Al aplicarse a una escala nanométrica, resultan imperceptibles. No obstante, los resultados expuestos en este artículo son de un ensayo puntual y hay que seguir trabajando en este sentido con la proporción y el origen de las nanopartículas para buscar las más compatibles a la hora de abordar tratamientos sobre hueso. Además se considera fundamental llevar a cabo una observación de su estabilidad a largo plazo.

En este trabajo simplemente se ha querido presentar una línea de trabajo que *a priori* se considera con potencial para ser aplicada en los materiales procedentes de yacimientos del Pleistoceno. Estos estudios se pretenden continuar en el marco de una tesis doctoral que profundizará sobre estos y otros métodos alternativos de limpieza y consolidación sobre hueso y piedra procedente de yacimientos pleistocénicos, basándose siempre en la compatibilidad de materiales y en el respeto por las necesidades de otros investigadores.

Agradecimientos

En este trabajo me gustaría agradecer a Manuel del Pozo Rodríguez, coordinador del Laboratorio de Microscopía del Departamento de Geología y Geoquímica de la Universidad Autónoma de Madrid su disponibilidad y la honestidad de sus consejos. A Cecilio Barroso por confiar en mi propuesta y haberme dado la posibilidad de estar al frente de la conservación de la colección de Cueva del Ángel. A mis compañeros de FIPEH por el asesoramiento y apoyo continuo en la investigación. Este artículo se inscribe dentro del proyecto de investigación denominado: "Estudio sobre el Pleistoceno Medio y Superior en depósitos de cavernas en Andalucía: Cueva del Ángel".

Lista de referencias

Barroso Ruiz, C., Botella Ortega, D., Caparrós, M., Moigne, A.M., Celiberti, V., Bohórquez, A.M., y de Lumley, H. (2012): La cueva del Ángel (Lucena, Córdoba): un hábitat achelense de cazadores en Andalucía. *Menga: revista de prehistoria de Andalucía*, (3), 27-56.

Chiantore, O. y Lazzari, M. (2001). Photo-oxidative stability of paraloid acrylic protective polymers. *Polymer*, 42, (1), 17-27.

García Solano, J.A. (2014). *La persistencia en las estrategias de subsistencia de los grupos humanos del pleistoceno medio ibérico, a partir del registro fósil de la cueva del Ángel (Lucena, Córdoba)*. Granada: Universidad de Granada.

Gómez Villalba, L.S., López-Arce, P., Fort González, R., Álvarez de Buergo, M., y Zornoza-Indart, A. (2011). "·Aplicación de nanopartículas a la consolidación del patrimonio pétreo". En: Ministerio de Cultura. Subdirección General de Publicaciones, Información y Documentación (Ed.). *La Ciencia y el Arte III. Ciencias experimentales y conservación del patrimonio* (pp 39-57). Madrid.

Kress, L.A. y Lovell, N.C. (1995). A comparison of consolidants for archaeological bone. *Journal of field archaeology*, 22, (4), 508-515.

López-Polín, L. (2012). Possible interferences of some conservation treatments with subsequent studies on fossil bones: A conservator's overview. *Quaternary International*, 275, 120-127.

López-Polín, L., Castro, J.M., y Carbonell, E. (2011). Preparation of Pleistocene Human Bones with an Ultrasonic Scaler: The Case of Mandible ATD6-112 from Atapuerca (Spain). *ArcheoSciences. Revue d'archéométrie*, (35), 235-239.

López-Polín, L., Bertral, A., Font, B., y Ollé, A. (2009). Preparation and conservation treatments of the Pleistocene fossils vertebrate remains from the cave site of Tossal de la Font (Vilafamés,

Castelló, Spain). *Paleontologia i Evolució*, 4 (Memòria especial), 225-231.

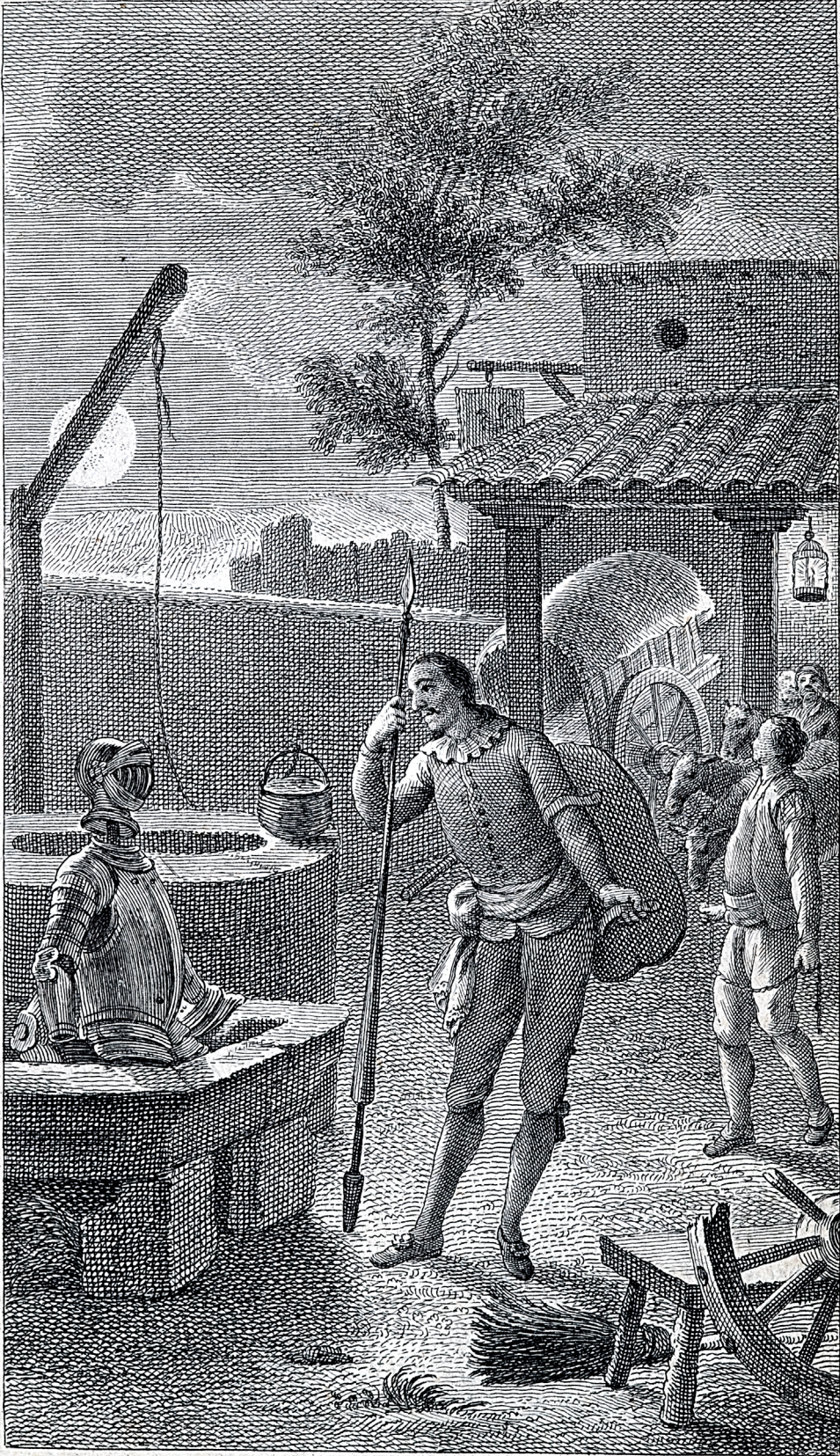
López-Polín, L., Ollé, A., Cáceres, I., Carbonell, E., y de Castro, J.M.B. (2008). Pleistocene human remains and conservation treatments: the case of a mandible from Atapuerca (Spain). *Journal of human evolution*, 54 (5), 539-545.

Natali, I., Tempesti, P., Carretti, E., Potenza, M., Sansoni, S., Baglioni, P., y Dei, L. (2014). Aragonite crystals grown on bones by reaction of CO₂ with nanostructured Ca (OH)₂ in the presence of collagen. Implications in archaeology and paleontology. *Langmuir*, 30 (2), 660-668.

Rosas González, A., Fortea Pérez, J., de la Rasilla Vives, M., Fernández Colón, P., Hidalgo González, A., Lacasa Marquina, E., Martínez-Maza, C., García Tabernero, A. y Bastir, M. (2005). Restos neandertales de la Cueva de El Sidrón: una restauración al servicio de la investigación paleontológica. *Revista PH Boletín del Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico*, 13 (53), Junta de Andalucía: Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico. 70-73.

Rossi, D., De Gruchy, S., y Lovell, N.C. (2004). A comparative experiment in the consolidation of cremated bone. *International Journal of Osteoarchaeology*, 14 (2), 104-111.

Roubach, S. (2010). Matériaux et tests de consolidation des vestiges archéopaléontologiques: empreintes de feuilles Pliocènes (Camp dels Ninots) et restes osseux actuels et Pléistocènes (Gran Dolina et Arago). *Annali dell'Università di Ferrara* (6), 61-68.



Isidro y Antonio Carniceros lo dibujaron. Fran^{co} Muntaner la Gravó en Madrid 1781