Análisis mediante Espectroscopía Raman de Huesos Fósiles de Micromamíferos del Yacimiento Paleontológico de Húmera (Madrid)

/ISABEL HERNANDO ALONSO (1), OMID FESHARAKI (2*), NURIA SÁNCHEZ-PASTOR (1), ANA I. CASADO (3), JOSÉ MANUEL ASTILLEROS (1,3), ÁLVARO LOBATO (4), MERCEDES TARAVILLO (4), LURDES FERNÁNDEZ-DÍAZ (1,3)

(1) Departamento de Cristalografía y Mineralogía, Facultad de Ciencias Geológicas, Universidad Complutense de Madrid, C/ José Antonio Novais 12, 28040 Madrid (España)

- (2) Departamento de Paleontología, Facultad de Ciencias Geológicas, Universidad Complutense de Madrid, C/ José Antonio Novais 12, 28040 Madrid (España)
- (3) Instituto de Geociencias (UCM-CSIC), C/ José Antonio Novais 12, 28040 Madrid (España)
- Departamento de Química Física I. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid, Av. Complutense s/n 28040 (4) (España)

INTRODUCCIÓN

El vacimiento de fósiles de vertebrados del Mioceno medio de Húmera se encuentra al oeste de la ciudad de Madrid. Tanto el yacimiento de Húmera como el cercano yacimiento de Somosaguas se encuentran en el denominado "Pasillo lutítico de Majadahonda", una franja lutíticoarcillosa entre dos abanicos aluviales arenosos, al oeste de la cuenca de Madrid (Torres et al., 1995).

En este vacimiento se han descrito hasta el momento dos columnas estratigráficas, Húmera Norte (Fig. 1) y Húmera Oeste, con una potencia media de la sucesión de unos 3,60 m (Cárdaba et al., 2013). Ambas columnas están constituidas por sedimentos siliciclásticos. Se han definido cinco tramos según sus características sedimentológicas, petrológicas paleontológicas (Menéndez Gamella et al., 2010). Los tramos H1 y H2 están constituidos por areniscas con fósiles de macromamíferos. H3 v H4 son tramos limo-arcillosos y están separados por un nivel de carbonato laminar. Por último, en el tramo H5 se observa una litología similar a las dos anteriores, pero con características de un horizonte edáfico (Menéndez Gamella et al., 2010). El único tramo que ha proporcionado restos paleontológicos de microfauna es el tramo H3.

Los medios sedimentarios que se han inferido en trabajos previos (Menéndez Gamella et al. 2010, Cárdaba et al. 2013, Fesharaki, 2016) son de abanicos aluviales medio-distales con efímeras superficies inundadas por una capa



Fig. 1. Columna estratigráfica de Húmera Norte (modificado de Fesharaki, 2016).

poco profunda de agua. Además, se ha inferido un paleoambiente de sabana seca con zonas más vegetadas, y un clima con estacionalidad hídrica marcada, con una larga época seca y una corta época húmeda (Fesharaki, 2016). En trabajos recientes, tanto en el área de estudio (Hernández Fernández et al., 2006; Carrasco et al., 2008; Domingo et al., 2009) como de forma general en la Cuenca de Madrid (Domingo et al., 2012) se ha detectado un periodo de enfriamiento global posterior al Óptimo Climático del Mioceno entre los 14 y 13,5 millones de años (Zachos et al., 2001; Böhme, 2003).

macrovertebrados Los restos de presentan estados de conservación variables, desde huesos bien preservados hasta aquellos que están muy fracturados, lo que es común en medios como los descritos para estos vacimientos (Menéndez Gamella et al., 2010, Cárdaba et al., 2013). Las características tafonómicas de los restos de microfauna son mucho menos comunes en la bibliografía, y hay rasgos destacables como la disolución total de la dentina en los molares de los micromamíferos. Además, estudios mineralógicos en este yacimiento han detectado procesos de diagénesis temprana (Fesharaki, 2016). En el tramo H3, en concreto, se ha observado

palabras clave: mamíferos, altera	Espectroscopía ción diagenética.	Raman,	Húmera,	fósiles	de	key Diag	words: enetic all	Raman teration.	Spectroscopy,	Húmera,	mammals	fossils,
Jornada SEM									* correspond	ding author	: omidfesh@	⊉ucm.es

que los huesos de los micromamíferos presentan una amplia gama de colores, desde su propio tono blanco-marfil hasta colores rojos rosáceos, negros grisáceos y verdes azulados.

En este trabajo preliminar mostramos los resultados del estudio mediante espectroscopia Raman de aquellos restos fósiles que presentan colores blanco-marfil y negro grisáceo con el objetivo principal de determinar si este cambio de color se relaciona con procesos que hayan podido afectar la mineralogía de los huesos, tanto por cambios composicionales de la fase original como por transformación parcial o total de dicha fase en otra u otras.

METODOLOGÍA

Los fósiles se han separado en función de su color y porosidad en seis grupos de estudio: blancos densos (BD), rojos densos (RD), grises densos (GD), grises porosos (GP), verdes densos (VD) y verdes porosos (VP). Para este estudio se han elegido los grupos blancos densos (BD) y grises (GD).

Las medidas se han obtenido mediante un espectrómetro portable B&W Tek i-Raman (BWS415), equipado para la excitación con un diodo láser de 785 nm con el que se puede alcanzar una potencia máxima de 300 mW acoplado a un video microscopio BAC151A, con un objetivo 20x mediante fibra óptica. La señal Raman ha sido adquirida con un detector CCD (charged couple device) de 2048 píxeles, enfriado termoeléctricamente.

Los espectros Raman han sido adquiridos con el software BWSpec[™] 4.03, cubriendo el rango espectral desde 175 cm⁻¹ hasta 3200 cm⁻¹ con una resolución de 5 cm⁻¹, trabajando con potencias entre 3 y 120 mW, y tiempos de adquisición desde los 0,8 s hasta los 2,5 s.

Se realizaron análisis en las superficies lo más planas posibles para obtener la mejor calidad de enfoque y señal. En los huesos alargados, como es el caso de los huesos de fémur, se hicieron los análisis en los extremos y centros de los fósiles. La razón es que la estructura y la densidad mineral son diferentes en estas zonas de los huesos y, por lo tanto, pueden ser susceptibles de mostrar diferente reactividad y, en consecuencia, diferencias composicionales y mineralógicas desarrolladas durante la



Fig 2. Espectros del grupo BD obtenidos mediante espectroscospía Raman.



Fig 3. Espectros del grupo GD obtenidos mediante espectroscospía Raman.

Asigr	nación	Referencias			
	Amida III				
Orgánico	Amida I	Penel <i>et al</i> . (2005)			
Organico		Kazanci et al. (2006)			
	Grupos C-H				
	U1				
	U2	Penel <i>et al</i> . (2005)			
PO43-		Kazanci et al. (2007)			
	03	Goodyear et al. (2009)			
	U4				
	U1	Penel et al. (2005)			
CO32-	U3	Schauble et al. (2006)			
	U4	Antonakos et al. (2007)			
	PO4 ³⁻	Asignation Amida III Amida I Grupos C-H U1 U2 PO43- U3 U4 U1 U3 U4 U1 U3 U4 U3 U4 U3 U4 U3 U4 U3 U4			

Tabla I. Asignación de bandas de los espectros Raman de las muestras BD y GD.

diagénesis (Lyman, 1894), tal como se puede deducir de los resultados del estudio llevado a cabo por Stathopoulou *et al.* (2008) utilizando difracción de rayos X para evaluar la evolución diagenética de huesos fósiles.

RESULTADOS

Se han realizado 5 análisis a los fósiles BD (Fig. 2) y otros 5 análisis a los fósiles GD (Fig. 3). Los espectros Raman obtenidos presentan bandas е intensidades similares con pequeñas diferencias y desplazamientos. La asignación de bandas se ha realizado por regiones espectrales y se han comparado con datos de la bibliografía (Tabla I). De este modo, se han asignado las bandas a tres grupos principales: orgánicos (Amida III, Amida I y Grupos C-H) en la región espectral entre los 1200 y 3100 cm⁻¹. Como se observa en las figuras 2 y 3, las bandas de mayor intensidad son las correspondientes a la Amida III en la región de 1200 a 1320 cm-1. Los enlaces C-H se corresponden con las bandas de 1400-3100 cm-1. Hay una biomolécula, en concreto Amida I que está representada en la región de 1595-1700 cm⁻¹. Se observa también una banda en 1540 cm-1, la cual no se ha podido asignar a ninguna de las fases que se encuentran habitualmente en huesos fósiles.

El segundo tramo de bandas asignado se corresponde con los modos de vibración del grupo del PO4³⁻ (υ_1 , υ_2 , υ_3 y υ_4).

Por último, se han identificado varias regiones que se corresponderían con las bandas pertenecientes a los modos de vibración υ_1 , υ_2 y υ_4 del grupo CO_3^{2-} . Están representados enlaces C-C de fosfolípidos en la región comprendida entre 1063 y 1094 cm⁻¹.

En ambos grupos de muestras se puede inferir la influencia de los procesos de diagénesis por el desplazamiento de las bandas debido seguramente a una mayor sustitución iónica en el bioapatito (Thomas *et al.*, 2007). Sin embargo, tanto en el grupo BD como en el GD, aparecen diferentes bandas que no se han podido relacionar con ninguna fase mineral ni biomolécula debido a las limitaciones en la base de datos de los espectros Raman. Por ello, es necesario, además de un estudio más exhaustivo de cada uno de los tipos de huesos con análisis del desplazamiento e intensidad de cada una de las bandas. complementar la información con la que pueden aportar otras técnicas analíticas, que permitan conocer con detalle la composición de las fases minerales que constituyen estos huesos fósiles. Esta información permitirá establecer los mecanismos que han dado lugar a las variaciones de color observadas en los restos fósiles del vacimiento estudiado V alcanzar conclusiones respecto al origen de los restos y los procesos diagenéticos que les han afectado.

AGRADECIMIENTOS

El análisis Raman de las muestras se ha llevado a cabo en los laboratorios del Departamento de Química Física I de la Facultad de CC. Químicas (UCM). Esta investigación ha sido financiada por los proyectos CGL2013-47988-C2-01-P, CGL2016-77138-C2-1-P y CTQ2015-67755-C2-1-R

REFERENCIAS

- Antonakos, A., Liarokapis, E.n Leventouri, T. (2007): Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites. Biomaterials, **28**: 3043-3054.
- Böhme, M. (2003): The Miocene Climatic Optimum: evidence from ectothermic vertebrates of Central Europe. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., **195**: 389-401.
- Cárdaba, J.A., Presumido, M., Fesharaki, O., Casado, A.I., Perales, R., Muniz Perez, M. (2013): New data on taxonomy and biostratigraphy of Húmera paleontological site (Middle Miocene, Madrid Basin). Spanish J. Palaeontology, 28(1): 29-42.
- Carrasco, A., Sacristán, S., Benítez-López, G., Romero-Nieto, D., Fesharaki, O., López-Martínez, N. (2008): Aplicaciones paleoclimáticas y paleoambientales de los estudios mineralógicos al yacimiento de vertebrados miocenos de Somosaguas. Publicaciones del Seminario de Paleontología de Zaragoza, 8: 135-149.
- Domingo, L., Cuevas-González, J., Grimes, S.T., Hernández Fernández, M., López-Martínez, N. (2009): Multiproxy reconstruction of the palaeoclimate and palaeoenvironment of the middle Miocene Somosaguas sites (Madrid, Spain) using herbivore dental enamel. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., 272: 53-68.
- Domingo, L., Koch, P.L., Grimes, S.T., Morales, J., López-Martínez, N. (2012): Isotopic paleoecology of mammals and the Middle Miocene cooling event in the Madrid Basin (Spain). Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., **339**: 98-113.
- Fesharaki, O. (2016): Análisis Paleoambiental y Paleoclimático de los Yacimientos de Somosaguas y Húmera (Mioceno Medio, Madrid): Sedimentología, Petrología,

Mineralogía y Aplicación a Divulgación e Innovación Educativa. TESIS DOCTORAL. Universidad Complutense de Madrid.

- Goodyear, S.R., Gibson, I.R., Skakle, J.M., Wells, R.P., Aspden, R.M. (2009): A comparation of cortical and trabecular bone from C57 Black 6 mice using Raman spectroscopy. Bone, 55: 899-907.
- Hernández Fernández, M., Cárdaba, J.A., Cuevas-González, J., Fesharaki,O., Salesa, M.J., Corrales, B., Domingo, L., Élez, J., López Guerrero, P., Sala-Burgos, N., Morales, J., López Martínez, N. (2006): Los yacimientos de vertebrados del Mioceno Medio de Somosaguas (Pozuelo de Alarcón, Madrid): implicaciones paleoambientales y paleoclimáticas. Estudios Geológicos, 62: 263-294.
- Kazanci, M., Roschger, P., Paschalis, E.P., Klaushofer, K., Fratzl, P. (2006): Bone osteonal tissues by Raman spectral mapping: Orientation-composition. Journal of Structural Biology, **156** (3): 489-496.
- Kazanci, M., Wagner, H.D., Manjubala, N.I., Gupta, H.S., Paschalis, E., Roschger, P., Fratzl (2007): Raman imaging of two orthogonal planes within cortical bone. Bone, **41**: 456-461.
- Lyman, R.L. (1984): Bone density and differential survivorship in fossil classes. J. Anthropol. Archaeol., **3**: 259-299.
- Menéndez Gamella, A., Serrano, H., Presumido, M. Cardaba, J.A., Fesharaki, O. (2010): Yacimientos paleontológicos de Húmera (Mioceno medio, Cuenca de Madrid): Datos preliminares en Estratigrafía y Paleontología. Cidaris, **30**: 187-196.
- Penel, G., Delfosse, C., Descamps, M., Leroy, G. (2005): Composition of bone and apatitic biomaterials as revealed by intravital Raman microspectroscopy. Bone, **36**(5): 893-901.
- Schauble, E.A., Ghosh, P., Eiler, J.M. (2006): Preferential formation of 13C-180 bonds in carbonate minerals, estimated using first-principles lattice dynamics. Geochim. Cosmochim. Acta, **70**: 2510-2529.
- Stathopoulou, E. T., Psycharis, V., Chryssikos, G. D., Gionis, V., Theodorou, G. (2008): Bone diagenesis: new data from infrared spectroscopy and X-ray diffraction. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., 266(3): 168-174.
- Thomas, D. B., Fordyce, R. E., Frew, R. D., & Gordon, K. C. (2007). A rapid, non-destructive method of detecting diagenetic alteration in fossil bone using Raman spectroscopy. Journal of Raman Spectroscopy, 38(12), 1533-1537
- Torres, T., Maldonado, A., Querol, R., Zamora, I. (1995): Evolución en el subsuelo de los sistemas de abanicos aluviales del Mioceno de la cuenca de Madrid (España). Geogaceta, **18**: 56-58.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., Billups, K. (2001): Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. Science, **292**: 686-693.