

1.7 Analisi isotopiche

M. A. Tafuri, C. Cavazzuti

Per tutta la seconda metà del '900 e ancor di più negli ultimi 20 anni l'analisi degli isotopi ha contribuito a fornire dati essenziali per la ricostruzione storica, biologica e comportamentale sia delle comunità del passato, sia di singoli individui la cui storia particolare (*life history*) esemplifica nel dettaglio quella dei loro contemporanei (si pensi, ad esempio, all'Uomo del Similaun).

In archeologia gli obiettivi principali delle analisi chimico-fisiche sono: ^{14}C per le datazioni assolute; $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{34}\text{S}$ per l'indagine sull'alimentazione; $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ e $\delta^{18}\text{O}$ per l'analisi della mobilità individuale.

Il campionamento di resti scheletrici umani finalizzato alle indagini isotopiche è vincolato al tipo di elementi che si intende indagare. Il rapporto isotopico di elementi chimici (essenziali e non-essenziali) può essere misurato sia nella componente organica che in quella inorganica del tessuto osseo, con finalità spesso diverse, ancorché complementari. È dunque possibile campionare tessuto osseo – normalmente corticale – per analizzarne la matrice organica (collagene) e/o inorganica (idrossiapatite), ovvero i denti, prevalentemente per l'analisi della componente inorganica – dunque lo smalto (composto da cristalli di idrossiapatite) o organica, ovvero la dentina; quest'ultima è particolarmente utile in caso di resti fortemente danneggiati e/o contaminati, in virtù della protezione esterna naturale che lo smalto (per la corona dentaria) e il cemento (per la radice) garantiscono a questo tessuto.

La paleodieta

L'analisi della frazione organica del tessuto osseo si limita al collagene, che ne costituisce la proteina principale.

Il collagene, qualora conservato, può essere estratto mediante protocolli consolidati, in cui il frammento osseo (nell'ordine di 1-2 grammi) è sottoposto a demineralizzazione, gelatinizzazione (a temperature medio-elevate), e liofilizzazione, per essere infine analizzato attraverso spettrometria di massa¹³. Una serie di parametri permette di stabilire l'affidabilità dei risultati ottenuti; essi si basano principalmente sulla percentuale di collagene ottenuto, sulla percentuale di carbonio e azoto e il rapporto tra gli stessi, sul margine di errore per analisi ripetute. Questi parametri sono condizione essenziale all'utilizzo dei dati ottenuti.

Gli elementi maggiormente utilizzati nelle indagini paleonutrizionali sono il carbonio, e la relazione tra i suoi due isotopi stabili $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$, l'azoto, attraverso il rapporto $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ e lo zolfo ($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$).

Esperimenti su animali ad alimentazione controllata hanno dimostrato che il rapporto isotopico di carbonio (che si esprime normalmente attraverso un δ ; i.e., $\delta^{13}\text{C}$)

¹³La spettrometria di massa è una tecnica analitica che permette di identificare la composizione di sostanze sconosciute attraverso la ionizzazione delle molecole e la loro separazione in base alla carica e alla massa.

e azoto ($\delta^{15}\text{N}$) riflette la porzione proteica della dieta degli ultimi 5-10 anni di vita di un individuo, che corrispondono all'intervallo di tempo che le ossa impiegano per rimodellarsi chimicamente.

Requisito essenziale all'utilizzo dei dati isotopici su resti umani è l'impiego di campioni faunistici e botanici trovati in associazione a questi, allo scopo di definire una *baseline* del quadro ambientale di riferimento.

Il rapporto isotopico di un qualsiasi composto è pari alla differenza, espressa in parti per mille (‰), tra i rapporti isotopici del campione (R_c) e quelli di uno standard (R_s) rispetto al quale sono espresse le misure.

Il rapporto isotopico del carbonio ($\delta^{13}\text{C}$) misurato in diversi organismi è normalmente legato al loro metabolismo. Per le piante terrestri, il carbonio disponibile nell'atmosfera, sotto forma di CO_2 è assorbito negli stomi delle foglie e diviene parte dei loro tessuti in base al processo fotosintetico da esse utilizzato. La maggior parte delle piante presenti in zone temperate, e in particolare cereali come il grano, l'orzo o l'avena, utilizzano il processo fotosintetico detto C_3 (o di *Calvin*). Il rapporto tra ^{12}C e ^{13}C , definito $\delta^{13}\text{C}$, delle piante C_3 ha normalmente valori maggiormente negativi, compresi tra -17 e -40‰. Piante adattate a climi più caldi e aridi come mais, miglio e sorgo (e il gruppo delle migliacee in generale) hanno un processo di fotosintesi detto C_4 , o di *Hatch-Slack*, con un $\delta^{13}\text{C}$ meno negativo, che varia tra -18 e -4‰, grazie ad un frazionamento isotopico più "efficiente". Per gli organismi marini il frazionamento isotopico del carbonio deriva dall'assorbimento diretto dei carbonati disciolti nell'oceano che hanno valori tendenzialmente più alti rispetto a quelli dell'atmosfera; le piante acquatiche e gli organismi che si nutrono di esse avranno dunque un $\delta^{13}\text{C}$ meno negativo rispetto agli organismi terrestri. Esiste, tuttavia, un margine di sovrapposibilità tra i valori $\delta^{13}\text{C}$ di piante di tipo C_4 e organismi marini che rende talvolta difficoltoso discernere tra diete basate prevalentemente su l'uno o l'altro tipo di risorsa.

Il rapporto isotopico dell'azoto ($\delta^{15}\text{N}$) è in grado di fornire informazioni sulla catena alimentare nonché distinguere tra dieta terrestre e marina. Numerosi studi hanno dimostrato che i mammiferi rispecchiano la concentrazione di azoto della loro dieta con un relativo arricchimento che si aggira intorno al 3‰ lungo la catena trofica. Secondo questo principio gli erbivori dovrebbero riflettere il $\delta^{15}\text{N}$ della vegetazione locale, mentre gli umani quella degli erbivori arricchita di circa il 3-5‰. Il rapporto isotopico dell'azoto è inoltre in grado di determinare il relativo apporto di risorse marine rispetto a quelle terrestri poiché le prime hanno un $\delta^{15}\text{N}$ più elevato.

Il rapporto isotopico dello zolfo ($\delta^{34}\text{S}$) è legato a quello del substrato geologico di una regione e conseguentemente disciolto nei suoli e nelle acque circostanti. Gli organismi terrestri hanno valori che si aggirano intorno allo 0‰, mentre quelli marini si concentrano intorno al 20‰. La misurazione del rapporto isotopico dello zolfo è dunque utile a discriminare tra organismi terrestri e marini e contribuisce a determinare il consumo di risorse marine negli umani. L'applicazione di questo tipo di indagini è stata a lungo limitata dalla necessità di utilizzare elevate quantità di campione, oggi il progresso nei metodi di analisi consente una sua più frequente attuazione.

La mobilità individuale

Per quello che riguarda la mobilità, i rapporti isotopici che di norma si analizzano per verificare se un individuo è originario del luogo dove i suoi resti sono stati trovati sepolti sono $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (o $\delta^{18}\text{O}$), i quali dipendono da parametri diversi.

I rapporti fra isotopi stronzio 87 (radiogenico) e stronzio 86 (stabile) variano in base dalla geolitologia locale, e in particolare dall'età geologica dei sedimenti che costituiscono il suolo. Ad esempio, sedimenti provenienti dalle rocce magmatiche o metamorfiche alpine, di origine molto antica (Paleozoica e Mesozoica), restituiscono valori di $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ elevati (di solito >0.71), mentre geologie più recenti, come i carbonati marini che costruiscono larga parte dell'area appenninica si caratterizzano per valori più bassi. Le aree vallive ovviamente riflettono le caratteristiche della "roccia madre" che è stata erosa a monte e i cui sedimenti si sono depositati nei bacini alluvionali.

Dal punto di vista biochimico, lo stronzio biodisponibile contenuto nel suolo viene assorbito dalle piante e procedendo attraverso la catena trofica, viene poi assunto, senza incorrere in frazionamento isotopico, dagli organismi animali e umani, nei quali in minima parte si sostituisce, per l'analoga valenza, al calcio nell'idrossiapatite che costituisce la parte minerale di ossa e denti.

I target principali delle analisi del rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sono lo smalto dentario dei molari (bastano pochi mg) e la capsula otica dell'osso petroso (o "rocca petrosa", o "*pars petrosa*" del temporale) nel caso delle cremazioni. Entrambi, formandosi in età infantile e non essendo sottoposti a significativo rimodellamento nelle successive fasi di vita, "incapsulano" la "firma isotopica" del luogo in cui il cibo ingerito durante l'infanzia è stato prodotto e quindi, presumibilmente, del luogo d'origine. Per la preistoria il cibo consumato era in larghissima misura prodotto localmente. Per fasi storiche e centri più interconnesse in cui una parte più o meno consistente degli alimenti veniva importata, questo tipo di analisi risulta meno efficace.

Se si intende determinare l'origine geografica di un individuo, occorre quindi misurare rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ tramite spettrometria di massa su denti o ossa e confrontarlo con i valori, o *baseline*, dell'ambiente circostante il luogo di sepoltura.

Per prima cosa, occorre quindi costruire il "paesaggio isotopico" (*isoscape*) dell'area in esame, anche utilizzando dati biogeochimici noti in letteratura. A questi è spesso necessario aggiungere nuove *baseline* ottenute analizzando campioni di acque, vegetali e animali moderni e antichi.

Se i valori di $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ misurati sul campione umano coincidono con quelli della zona è probabile che l'individuo sia indigeno o locale. Se invece differiscono significativamente, allora l'individuo sarà certamente alloctono. Nel primo dei due casi, tuttavia, una certa cautela si rende comunque necessaria. Poiché luoghi diversi, più o meno distanti, possono caratterizzarsi per una geolitologia simile, e quindi per una composizione isotopica analoga, un individuo può apparire compatibile con il segnale isotopico locale, ma provenire da un'altra zona, anche remota, ma geologicamente simile. Non si può pertanto assegnare una provenienza in maniera univoca e certa. Al contrario però, questo tipo di analisi è efficace per **escludere** possibili provenien-

ze, suggerite, magari, dalla presenza di materiale archeologico che rimanda ad altre aree, fuori dal raggio locale.

Integrando l'analisi del rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ con l'analisi degli isotopi dell'ossigeno ($\delta^{18}\text{O}$) contenuto nella frazione carbonatica o fosfatica dello smalto sullo stesso campione, si possono analizzare i dati secondo una distribuzione bivariata, anziché per una sola variabile.

La composizione isotopica dell'ossigeno dipende essenzialmente dalla temperatura delle acque ingerite e, pertanto da quella piovana, delle falde e dei corsi d'acqua. Valori più alti, compresi fra -4‰ e -6‰ (VPDB_{dw} dove "dw" sta per *drinking water*), sono più tipici delle zone climatiche calde (basse altitudini e latitudini), i valori intermedi, fra -6‰ e -8‰, rimandano ad aree a clima temperato, mentre quelli più bassi, inferiori a -8‰, sono tipici delle zone a clima freddo (elevate altitudini e latitudini). Anche in questo caso confrontando i valori misurati sul tessuto umano convertiti in VPDB_{dw} con gli *isoscapes* della regione e con la distribuzione generale degli individui analizzati si possono rintracciare individui compatibili con il segnale locale e individui alloctoni.

Poiché gli isotopi dell'ossigeno dipendono dalla temperatura delle acque potabili, è evidente che l'assunzione dell'acqua contenuta in cibi cotti e bevande fermentate contribuisce a innalzare la composizione isotopica $\delta^{18}\text{O}$ nel passaggio all'organismo umano. A differenza del rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, pertanto, il confronto fra valori misurati sugli individui e baseline territoriali costruite su acque piovane e di specchi/corsi d'acqua potenzialmente potabile non è altrettanto lineare e diretto. Risulta più corretto ed efficace comparare i valori di ciascun individuo con la distribuzione complessiva dei valori di tutti gli individui. I locali si concentreranno nell'intervallo più "affollato", mentre gli *outlier* saranno presumibilmente alloctoni.

Tutte queste indagini possono essere condotte anche su campioni animali, per documentare ad esempio scambi di capi di bestiame o, effettuando analisi sequenziali dello smalto dentario eventualmente con tecnologie avanzate poco distruttive (*laser ablation*), anche pratiche stagionali di transumanza.

Bibliografia essenziale

- | | |
|-----------------------------------|----------------------------|
| 1. Ambrose 1993 | 6. Iacumin et al. 1996 |
| 2. Bentley 2006 | 7. van Klinken et al. 1994 |
| 3. Cavazzuti, Skeates et al. 2019 | 8. Krouse et al. 1991 |
| 4. DeNiro 1985 | 9. Longin 1971 |
| 5. Hedges e Reynard 2007 | 10. Nriagu et al. 1991 |