

Teoría y crítica de la racemización de aminoácidos como método aplicado a la datación de materiales paleontológicos, bioarqueológicos y antropológicos

Policarp Hortolà*

Las amplias potencialidades de aplicación de las Ciencias químicas y biológicas al estudio del pasado, por ejemplo, la estimación de la edad de una muestra del esqueleto interno (huesos, dientes) o externo (conchas) de un animal, mediante la investigación de la velocidad de racemización de los aminoácidos que constituyen las proteínas de sus tejidos duros, es un método cuyos fundamentos teóricos, por su relativa complejidad, se hallan a menudo poco representados dentro del bagaje de conocimientos generales de los especialistas que, por la naturaleza de su objeto de estudio, son potenciales usuarios de esta técnica de datación: paleontólogos, arqueólogos y antropológicos.

El conocimiento de los fundamentos teóricos en los que se basa la datación "absoluta" o —más apropiadamente— cronométrica, de materiales paleontológicos, bioarqueológicos o antropológicos es una condición *sine qua non* para la correcta valoración epistemológica de los resultados obtenidos en el laboratorio, al mismo tiempo que permite vislumbrar con más claridad la necesidad de un correcto planteamiento teórico apriorístico de la multitud de variables o factores (físicos, químicos, biológicos) que deben de tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en el análisis instrumental de laboratorio de materiales antiguos (fosilizados o subfosilizados) o modernos (en proceso de diagénesis fósil), sepultados en unas condiciones que, por lo común, variarán de un yacimiento (paleontológico, bioarqueológico) o de un lugar (antropológico) a otro, y, todo ello, teniendo bien presente la necesidad de una buena contrastación entre los estudios experimentales de laboratorio y los hechos con-

trastados empíricamente en la aplicación práctica del conocimiento de los fenómenos biogeoquímicos a los materiales, más o menos antiguos, pero en todo caso sujetos a estudio, objetivo final del método de datación basado en la estimación de la edad de una muestra mediante la determinación de la velocidad de racemización de los aminoácidos, en los que basan su estructura primaria las proteínas del tejido esquelético animal.

Teoría analítica: fundamentos físico-químicos de la datación de racemización de aminoácidos

1. Proteínas y aminoácidos: fundamentos bioquímicos

Las proteínas son los componentes estructurales básicos de la materia viviente. Desde este punto de vista químico, se caracterizan por el hecho de contener en su molécula, además de los elementos carbono (C), oxígeno (O) e hidrógeno (H) —también presentes en glúcidos y lípidos—, el elemento nitrógeno (N), el cual los diferencia de los otros dos "principios inmediatos" biológicos citados. Asimismo es frecuente en ellas el azufre (S), el fósforo (P) y, en menor medida, el hierro (Fe) y el cobre (Cu). Todos estos elementos químicos se hallan agrupados formando unas moléculas sencillas llamadas *aminoácidos* (AA).

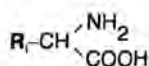
Los AA son los componentes básicos de las proteínas. A pesar de que cada especie biológica tiene multitud de proteínas diferentes a las de los demás organismos, solamente intervienen en su constitución 20 AA distintos, los cuales son indispensables

* Laboratorio de Arqueología de la Universidad Rovira i Virgili de Tarragona, España.

para la vida. Algunos de ellos pueden ser sintetizados tanto por plantas como por animales, y se les denomina "no esenciales" respecto a la dieta animal; otros, únicamente pueden ser sintetizados por los vegetales, obtenidos de éstos por los animales herbívoros, y de los animales herbívoros por parte de los carnívoros, lo que denominamos "esenciales" respecto a la dieta animal.

Los 20 AA indispensables para la vida son: glicina (Gly), alanina (Ala), valina (Val), isoleucina (Iso), leucina (Leu), hidroxiprolina (Hpr), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), cisteína (Cys), metionina (Met), tirosina (Tyr), fenilalanina (Phe), hidroxilisina (Hly), lisina (Lys), histidina (His), triptófano (Try) y arginina (Arg).

Químicamente, los AA se caracterizan por poseer un grupo alcalino amino ($-\text{NH}_2$) y otro grupo ácido carboxilo ($-\text{COOH}$), respondiendo a la siguiente fórmula general, en la que R_1 es el radical variable que caracteriza a los diferentes AA:

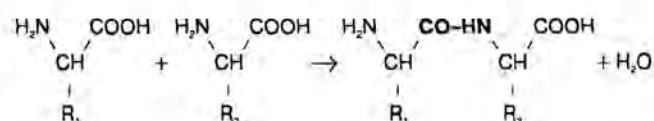


Desde el punto de vista de la nomenclatura química, los átomos de C que constituyen la cadena unida a un grupo ácido carboxílico se designan, de más cercano a más alejado al $-\text{COOH}$, con las letras griegas α (alfa), β (beta), γ (gamma), y así sucesivamente. Puesto que, en todos los AA que constituyen las proteínas, el grupo $-\text{NH}_2$ se halla siempre enlazado al C más cercano al grupo $-\text{COOH}$, aquéllos reciben el nombre de alfa-aminoácidos (α -AA).

En el ser vivo las proteínas se sintetizan en el citoplasma de las células, a partir de la unión de aminoácidos, formando una cadena lineal. En el núcleo celular el ácido desoxirribonucleico (DNA), que posee codificada la información genética para la secuencia lineal de los AA que componen cada proteína, "transcribe" esa información, induciendo la síntesis de ácido ribonucleico (RNA) mensajero, el cual pasa al citoplasma y, con el concurso de los otros tipos de RNA (ribosómico y transferente), completa el proceso de información de uniones entre AA y así el proceso de "traducción" del código genético en una secuencia lineal de AA. Más adelante, estas cadenas lineales se repliegan sobre sí mismas, para dar a cada tipo de proteína su conformación espacial característica.

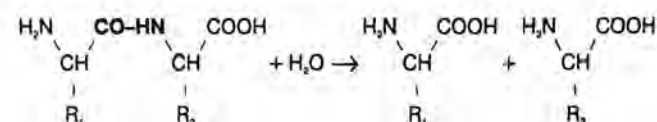
La elongación o alargamiento de la cadena de aminoácidos, para dar lugar a una proteína, se realiza mediante sucesivas uniones del extremo carboxílico de un AA con el extremo amino de otro, formando el llamado

enlace peptídico ($-\text{CO}-\text{HN}-$), con desprendimiento de una molécula de agua (H_2O) en cada reacción:



De esta manera se forman los dipéptidos (2 AA unidos), luego los tripéptidos (3 AA) y, finalmente, los polipéptidos (muchos AA), que siguen manteniendo en sus extremos un grupo amino carboxilo. Por último, la reunión de varias cadenas de polipéptidos forma la molécula de la proteína.

De manera inversa, por hidrólisis o ruptura con adición de los elementos que componen el agua, tanto biológica (mediante enzimas) como química (mediante ácidos o álcalis), las proteínas pueden ser descompuestas en sus unidades monoméricas, los AA:



2. Racemización de aminoácidos

2.1. Isomería óptica e isomería estereoquímica de los aminoácidos

Se da el nombre de *isómeros* (del griego *isos*, igual; y *meros*, parte) a los compuestos orgánicos que, siendo idénticos en su composición (es decir, en su fórmula molecular), poseen propiedades físicas y/o químicas distintas. El fenómeno de la isomería puede ser de tres tipos:

1) *isomería geométrica o "cis-trans"*; ocurre en los compuestos con estructuras idénticas pero con propiedades físicas y químicas totalmente distintas. Se explica teóricamente por la presencia de un doble enlace entre dos átomos de carbono ($-\text{C}=\text{C}-$). Es propia de hidrocarburos insaturados y sus derivados químicos. Muchas sustancias biológicas presentan este tipo de isomería (ácidos grasos, esteroides, carotenoides...), aunque no los AA naturales.

2) *isomería estereoquímica o estructural*; ocurre en los compuestos que poseen la misma composición pero difieren en su configuración espacial, es decir, que sus átomos están unidos entre sí en forma diferente. La mayoría de sus propiedades físicas y químicas son idénticas.

3) *isomería óptica o física*; ocurre en los compuestos que difieren entre sí únicamente en su acción física sobre el plano de la luz polarizada (actividad óptica). Las demás propiedades físicas y todas las químicas de los isómeros ópticos son idénticas. Las isomerías estereoquímica y óptica son debidas a las características especiales de enlace del átomo de C —elemento base de toda la química orgánica—, siendo la isomería óptica una consecuencia de la isomería estructural.

Con la única excepción de la glicina (Gly), todos los AA obtenidos a partir de la hidrólisis de las proteínas en condiciones lo suficientemente suaves muestran actividad óptica, es decir, pueden girar el plano de la luz polarizada cuando se examinan en un polarímetro. La actividad óptica se expresa cuantitativamente como la rotación específica (α)_D²⁵:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{rotación observada (}^\circ\text{)}}{\text{recorrido óptico (dm) x concentración (g/100 mL)}} \times 100$$

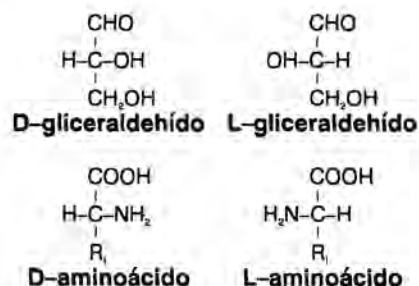
donde D indica el tipo de haz de luz polarizada que se ha empleado (en este caso y generalmente el de la denominada "línea D" del espectro luminoso del elemento sodio, cuya longitud de onda es de 589.3 nm), y 25 la temperatura a la que se ha medido (en este caso y generalmente 25°C).

A excepción de la Gly, los demás AA aislados a partir de las proteínas hacen girar el plano de la luz polarizada, unos hacia la derecha (compuestos dextrorrotatorios) y otros hacia la izquierda (compuestos levorrotatorios). Los compuestos dextrorrotatorios se designan con el símbolo (+) y los levorrotatorios con (-). La rotación específica de un AA varía en función del pH al que se mida; en general, la rotación de un AA monoamino-monocarboxílico, o sea con un solo grupo -NH₂ y un solo grupo -COOH, alcanza su máximo poder levorrotatorio cuando se halla en su punto isoeléctrico (pI); es decir, al pH en el cual sus cargas positivas y negativas están igualadas y, por ello, no posee carga eléctrica. Debido a esto, la rotación específica de un AA dependerá de la naturaleza de su grupo R₁, ya que de él dependerá el punto isoeléctrico de cada AA.

La estereoquímica de los AA hallados normalmente en las proteínas se discute mejor no según medidas de rotación específica como las anteriormente descritas, sino en función de la configuración absoluta de los cuatro átomos o grupos de átomos distintos enlazados en el tetraedro en torno al átomo asimétrico de C. Todos los compuestos ópticamente activos pueden relacionarse de forma estereoquímica (mediante secuencias de reacciones apropiadas, realizadas de tal modo que la actividad óptica no se pierda) con el cen-

tro ópticamente activo de un determinado compuesto progenitor, que ha sido arbitrariamente escogido para utilizarlo como patrón de referencia para los estereoisómeros. Este compuesto progenitor es el azúcar de tres átomos de carbono llamado gliceraldehído, el glúcido más pequeño con un átomo de C asimétrico.

Los dos isómeros posibles del gliceraldehído se designan convencionalmente por L ("levo" o izquierdo) y D ("dextro" o derecho). El grupo amino (-NH₂) del átomo de C asimétrico de cualquier α-AA puede relacionarse, en una representación tridimensional de su estructura, con el grupo hidroxilo (-OH) del átomo de C asimétrico del gliceraldehído, y el grupo R del AA puede, a su vez, relacionarse con el grupo -CH₂OH del gliceraldehído. De este modo, todos los estereoisómeros de los AA que aparecen en la naturaleza pueden relacionarse con los dos estereoisómeros del gliceraldehído, mediante su fórmula de proyección, en la cual los enlaces horizontales (-) se suponen proyectados por encima del plano del papel y los enlaces verticales (|) por debajo:



La isomería estereoquímica se presenta en todos los compuestos capaces de existir en dos formas cuyas estructuras son, una respecto de la otra, como imágenes en un espejo ("imágenes especulares"), no superponibles; tales compuestos pueden existir en formas que son entre sí como la mano derecha y la mano izquierda; se llaman compuestos *quirales* (del griego *quirós*, mano). El fenómeno de estereoisomería, llamado también quiralidad, aparece en todos los compuestos que poseen un átomo de carbono asimétrico, es decir, que esté unido a cuatro átomos o grupos de átomos distintos. El elemento C es siempre tetravalente, y sus cuatro valencias se encuentran dirigidas en el espacio según los cuatro vértices de un tetraedro regular, ocupando el centro el átomo de C; los cuatro átomos o grupos de átomos distintos enlazados en torno a él pueden ocupar dos ordenamientos diferentes en el espacio, para dar dos estereoisómeros diferentes. La Gly no posee ningún átomo de carbono asimétrico; los restantes AA hallados comúnmente en las proteínas po-

seen un átomo de C asimétrico, a excepción de la Hly, la Thr y la Ile, que poseen dos. El número de estereoisómeros posibles es de 2^n , en donde n es el número de átomos de C asimétricos.

Aunque la isomería óptica es consecuencia de la isomería estereoquímica, ambas son propiedades independientes en cuanto a las direcciones óptica y estructural. Los símbolos D y L se refieren de este modo a la configuración absoluta, no a la dirección de la rotación. Los prefijos d- y l-, que en la nomenclatura antigua indicaban la dirección de la rotación, han sido sustituidos hoy en día por los signos (+) y (-) para eliminar cualquier posible confusión. Así, un compuesto que produce rotación del plano de la luz polarizada hacia la derecha se dice que es dextrorrotatorio, y se usa el signo (+) para designar este hecho. La rotación del rayo hacia la izquierda (acción levorrotatoria) se designa con el signo (-). Todos los estereoisómeros que están relacionados estereoquímicamente con el L-gliceraldehído se designan por L (formas levóginas), y los que se hallan relacionados con el D-gliceraldehído se designan por D (formas dextróginas), independientemente de la dirección de la rotación del plano de la luz polarizada que muestren los isómeros. De este modo, un compuesto puede ser D(-) o L(+), indicando su relación estructural con el D o L gliceraldehído pero exhibiendo poder rotatorio opuesto. Así, los valores de rotación específica, medida a pH neutro, de algunos de los AA aislados de las proteínas (L-estereoisómeros) son los siguientes:

L-AA	$(\alpha)_D^{25}$
L-Ala	+1.8
L-Arg	+12.5
L-Leu	-11.0
L-Ile	+12.4
L-Phe	+34.5
L-Glu	+12.0
L-Hys	-38.5
L-Asp	+5.0
L-Met	-10.0
L-Lys	+13.5
L-Ser	-7.5
L-Pro	-86.2
L-Thr	-28.5
L-Try	-33.7
L-Val	+5.6

Siempre que se conozca la configuración absoluta de un compuesto que contenga un átomo de carbono asimétrico, se ha adoptado la convención de designarlo por D o L, siendo entonces innecesaria la espe-

cificación de la dirección de la rotación. Si no se ha establecido la configuración absoluta de un compuesto ópticamente activo, entonces tales compuestos pueden ser designados, por convención (+) o (-), para indicar la dirección de la rotación, si bien las condiciones de medida deben entonces especificarse. La configuración correcta en torno a un átomo de C asimétrico aislado, debe ser indicada mediante una fórmula de proyección. Siempre que los cuatro enlaces sencillos no aparezcan explícitamente, la estereoquímica del compuesto no está especificada.

Los estereoisómeros D y L de un compuesto determinado, en nuestro caso un α -AA, poseen propiedades físicas idénticas e igual reactividad química, a excepción de que: 1) ambos hacen girar el plano de polarización de la luz, bien en el mismo grado pero en direcciones opuestas (enantiómeros), bien en un grado diferente en el mismo sentido o en sentido opuesto; y 2) reaccionan a diferentes velocidades con reactivos que sean asimétricos (por ejemplo, la mayor parte de los enzimas que actúan sobre los α -AA poseen centros de unión asimétricos; por tanto son capaces de discriminar completamente entre las formas D y L de los mismos).

Los AA que poseen dos átomos de C asimétricos (Hly, Thr e Ile) presentan cuatro estereoisómeros. Las formas de estos AA aisladas de los hidrolizados de proteína se designan convencionalmente como L, y su imagen especular será la forma D. Los otros dos estereoisómeros son denominados diastereoisómeros o formas alo; también son entre sí como imágenes especulares uno del otro. Siempre que un AA posea más de un átomo de C asimétrico, se toma la configuración del átomo α -C como base para la designación de la configuración. La cistina, AA formado por la unión de dos unidades de Cys mediante un puente disulfuro (-S-S-), contiene dos átomos de C asimétrico, uno en cada mitad de la molécula; puede aparecer no sólo en las formas D y L sino también como un isómero en el que los átomos de carbono asimétricos sean la imagen especular uno del otro. Este isómero "compensado internamente", que no aparece en los seres vivos, se llama forma meso. Los isómeros estereoquímicos de los compuestos con más de un C asimétrico reciben el nombre genérico de epímeros.

Aunque en las moléculas de las proteínas solamente se encuentran L-AA, muchos D-AA diferentes están presentes en las células vivientes en otras formas químicas: en forma de aminoácidos libres (monómeros o FAA, "free amino acids") o en forma de relativamente cortos péptidos (polímeros), por ejemplo, en las paredes celulares de algunos microorganismos procariotas

(ácido diaminopimélico) o formando parte de la estructura de diversos antibióticos peptídicos (gramicidina, actinomicina D, etcétera).

2.2. Cinética de los procesos químicos reversibles

La cinética química es la ciencia que estudia la magnitud de la influencia sobre la velocidad de las reacciones químicas, las cantidades de sustancias que toman parte en la reacción, así como la temperatura y otros factores externos.

Una reacción química es el cambio en el que unos compuestos desaparecen y otros se transforman con alguna característica física y/c química. Las reacciones químicas se expresan gráficamente mediante ecuaciones químicas. Éstas constan de dos miembros: primero, se escriben las fórmulas de los cuerpos reaccionantes, y segundo; los productos de la reacción.

Respecto a su composición final, las reacciones químicas pueden ser:

- *irreversibles*; sólo pueden verificarse en un único sentido, representándose éste mediante una flecha (\rightarrow), o
- *reversibles*; se pueden verificar en uno u otro sentido simultáneamente, lo cual se representa mediante dos flechas de sentido contrario (\rightleftharpoons), o bien mediante el signo "igual a" (=).

Podemos representar una reacción química reversible mediante la ecuación de reacción siguiente:



en donde m_1 moléculas de la sustancia A_1 reaccionan con m_2 moléculas de A_2 , etcétera, formando n_1 moléculas de la sustancia B_1 , n_2 de B_2 , etcétera.

Para representar la concentración molar o molaridad (número de moléculas-gramo contenidas en 1 litro de disolución) se utilizan a menudo corchetes que encierran la fórmula de la sustancia de que se trata. Así, la concentración de A_i se representa por $[A_i]$ y la de B_i por $[B_i]$.

Cuando se ha alcanzado el equilibrio en el sistema anterior, las concentraciones de las sustancias que toman parte en la reacción, según la ley de acción de masas de Guldberg y Waage (1867), debe cumplirse la ecuación de equilibrio siguiente:

$$\frac{[B_1]^{n_1} \cdot [B_2]^{n_2} \cdot [B_3]^{n_3} \dots}{[A_1]^{m_1} \cdot [A_2]^{m_2} \cdot [A_3]^{m_3} \dots} = K_{eq}$$

donde K_{eq} es una constante característica de la reacción conocida como constante de equilibrio, la cual es

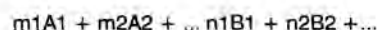
dependiente de la temperatura y del medio. Esta constante no es adimensional, sino que posee la dimensión "concentración" (molaridad).

Cuando una de las sustancias que toma parte en la reacción se halla en forma sólida, la concentración de la misma en fase homogénea (disolución o fase gaseosa) debe considerarse como constante. Por lo tanto, la concentración de estas sustancias en la ecuación de equilibrio puede ser incluida en K_{eq} . Como indica la fórmula, en la ecuación de equilibrio las concentraciones de sustancias deben elevarse a la potencia correspondiente a los coeficientes de la ecuación de reacción. Así, pues, para establecer la ecuación de equilibrio, es necesario conocer previamente la ecuación de reacción.

Un concepto fundamental en la cinética química es la velocidad de reacción. Con ello se expresa la cantidad de una de las sustancias participantes en la reacción que en un instante dado se modifica en un breve intervalo de tiempo. Si la sustancia, durante un intervalo de tiempo Δt , (léase "incremento de t "), modifica su concentración en Δc , la velocidad de reacción es el límite matemático $\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta c}{\Delta t}$, cuando Δt tiende a cero, es decir, la relación diferencial dc/dt .

La ley primordial de la cinética química puede enunciarse como sigue: "en una reacción que se efectúa en medio homogéneo, la velocidad de reacción en cada instante es proporcional al producto de las concentraciones de las sustancias reaccionantes". Cada concentración debe hallarse elevada a una potencia igual al número de moléculas (o de iones) de cada sustancia que toma parte en la reacción.

Si un proceso químico tiene lugar en un sentido prácticamente irreversible en fase homogénea (bien sea en disolución o bien en fase gaseosa), según la ecuación de reacción:



si la concentración de las sustancias reaccionantes A_1 , A_2 , etcétera, en algún momento vienen expresadas por a_1 , a_2 , etcétera, de acuerdo con la ley antes citada, la velocidad de reacción, calculada por variación de la cantidad de sustancia A_i , será:

$$\frac{da_i}{dt} = k \cdot a_1^{m_1} \cdot a_2^{m_2} \dots$$

donde k es una constante característica para la reacción, denominada constante de velocidad. El valor numérico de k depende de las unidades de concentración y tiempo utilizadas, de la temperatura, de la clase y cantidad del catalizador (si lo hay) y de la naturaleza del

medio (disolvente, presencia de sustancias electrolíticas, etcétera), en el que tiene lugar la reacción.

En la investigación de la cinética de una reacción química, se debe conocer en primer lugar el denominado orden de reacción, que es igual a la suma de los coeficientes m_i . Si la suma vale 1, 2, 3..., decimos que la reacción es de "primer, segundo, tercer... orden". Cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración, se dice que su transcurso es de "orden cero".

Las reacciones también pueden clasificarse en mono-, bi- o tri-moleculares. En una reacción mono-celular (también llamadas reacciones unimoleculares) es una molécula la que sufre una descomposición o transformación ($A \rightarrow B_1 + B_2 + \dots$). En una reacción bimolecular, deben ponerse en contacto dos moléculas para que pueda producirse el proceso, bien sean 2 moléculas diferentes ($A_1 + A_2 \rightarrow B_1 + B_2 + \dots$) o bien se trate de 2 moléculas iguales ($A_1 + A_1 \rightarrow B_1 + B_2 + \dots$).

La velocidad de reacción en las reacciones de primer orden es proporcional a la concentración de una de las sustancias reaccionantes. Si la concentración de una de las sustancias es de a moles/L y al cabo de un tiempo t es $a - x$ (siendo x la cantidad transformada en el tiempo t), la expresión de la velocidad de reacción vendrá expresada por la ecuación diferencial:

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (a-x)$$

que se puede expresar de la forma:

$$\frac{dx}{(a-x)} = k \cdot dt$$

la cual, por integración, dará:

$$-\ln(a-x) = k \cdot t + c \quad (1)$$

siendo \ln el logaritmo llamado "natural", "neperiano" o "de base e " ($\log; e = 2.71828\dots$). Para $t = 0$, también $x = 0$, con lo cual se obtiene, a partir de la ecuación (1), que $C = \ln a$. Sustituyendo este valor en (1) y despejando k se obtiene:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} \quad (2)$$

que se puede expresar en forma exponencial como:

$$a - x = a \cdot e^{-kt} \quad (3)$$

Pasando la ecuación (2) a logaritmos decimales, dará:

$$k = \frac{2.303}{t} \log \frac{a}{a-x} \quad (4)$$

Si x_1 y x_2 son las cantidades transformadas en los intervalos de tiempo t_1 y t_2 , a partir de la ecuación (4) se obtiene:

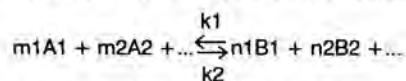
$$k \cdot t_1 = 2.303 \log \frac{a}{a-x_1} \quad \text{y} \quad k \cdot t_2 = 2.303 \log \frac{a}{a-x_2}$$

y restando ambas ecuaciones y despejando k obtenemos:

$$k = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \frac{a-x_1}{a-x_2}$$

De las ecuaciones (3) y (4) se puede deducir que el valor de k es independiente de la concentración, si a y $a-x$ se expresan en las mismas unidades. Pueden utilizarse todas las magnitudes proporcionales a la molaridad. El valor numérico de k , por el contrario, sí depende de la unidad de tiempo empleada, puesto que su dimensión es t^{-1} .

Si ahora consideramos una reacción reversible en un sistema homogéneo, tendremos que tener en cuenta el sentido de la reacción. Podemos describir el proceso mediante la ecuación de reacción:



en la que k_1 y k_2 con las constantes de velocidad para las dos reacciones de sentido contrario.

Si en el instante t la concentración de la sustancia A_i (para todo i entre 1 y n) es a_i , la de B_i es b_i , y llamamos v_1 a la velocidad con que se consume A_1 , tendremos que:

$$v_1 = k_1 \cdot a_1^{m_1} \cdot a_2^{m_2} \dots \quad (5)$$

Sin embargo, simultáneamente por efecto de la reacción de sentido contrario, A_1 se forma con la velocidad v_2 :

$$v_2 = k_2 \cdot b_1^{n_1} \cdot b_2^{n_2} \dots \quad (6)$$

y, por lo tanto, la velocidad de formación de A_1 será $v_2 - v_1$.

En el sistema se alcanza el equilibrio cuando las reacciones en sentido contrario se efectúan con la misma velocidad, es decir, cuando $v_1 = v_2$. A partir del momento en que se cumple esta condición, la composición del sistema permanece constante y es

independiente del tiempo. Según estas consideraciones, el equilibrio es de carácter dinámico.

En el equilibrio, por lo tanto, serán iguales los segundos miembros de las ecuaciones (5) y (6). Si designamos las concentraciones de equilibrio por (A1'), (A2'), (B1'), etcétera, tendremos:

$$k_1 \cdot [A1']^{m_1} \cdot [A2']^{m_2} \dots = k_2 \cdot [B1']^{n_1} \cdot [B2']^{n_2} \dots$$

Comparando esta expresión con la de la ley de acción de masas, se llega a la conclusión de que la constante de equilibrio (K_{eq}) es relación entre las constantes de velocidad de los dos procesos de sentido contrario:

$$K_{eq} = \frac{k_1}{k_2}$$

La temperatura, con algunas pocas excepciones, como la de las reacciones nucleares, ejerce una marcada influencia en la velocidad de reacción.

En primera aproximación, se puede decir que un aumento de 10°C en la temperatura duplica o triplica la velocidad de reacción (Ley de Van't Hoff, 1884). La razón de aumento se designa como:

$$Q_{10} = \frac{V_{t+10}}{V_t}$$

donde V_t es la velocidad de reacción a la temperatura t, y V_{t+10} es la velocidad de reacción a una temperatura 10°C más elevada.

Una expresión más exacta para la relación entre la temperatura y la constante de velocidad k es la establecida por la ecuación de Arrhenius (1889):

$$k = Z \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

La expresión exponencial es una medida de la fracción de las moléculas reaccionantes que poseen la cantidad de energía cinética necesaria para que se efectúe la reacción; E_a es la energía de activación y se da en calorías; R es la constante universal de los gases, que en este caso tiene un valor de 1.986 calorías/grado.mol; T es la temperatura absoluta, en grados Kelvin [T (°K) = 273 + t(°C)]; Z es el llamado factor de frecuencia o factor de choque, relacionado en las reacciones gaseosas bimoleculares con el número de moléculas que por segundo chocan en un volumen de 1 mL.

Si a la ecuación de Arrhenius le aplicamos logaritmos neperianos, seguidamente los transformamos en

$$\log k = \frac{E_a}{4.75 \cdot T} + \log Z$$

logaritmos decimales y sustituimos R por su valor numérico, tendremos:

(7)

Si log k se representa gráficamente frente a 1/T, el resultado es una línea recta, a partir de la cual se puede determinar el valor de la energía de activación E_a. Sustituyendo, en la ecuación (7), el valor de E_a así obtenido, se puede determinar el valor de Z para los valores de K y T correspondientes.

2.3. Racemización

Se denomina *racemización* al proceso estereoquímico en el cual una forma de un compuesto quiral se va transformando en su imagen especular, es decir, a la conversión de un compuesto L en D, o viceversa. Desde el punto de vista de la isomería óptica, un compuesto susceptible de racemizar, al ser quiral (con algún C asimétrico), tendrá actividad óptica; al llegar la reacción de racemización al equilibrio (momento en que el número de moléculas que se convertirán en L será igual al de las que se conviertan en D) cada compuesto, según sus características particulares, dará lugar a:

1. Si se trata de un compuesto enantiomérico (de formas con rotación específica de igual magnitud pero de signo contrario),
 - 1.1. a una mezcla equimolar sin actividad óptica (mezcla racémica o racemato), o
 - 1.2. a una mezcla no equimolar con actividad óptica,
2. Si se trata de un compuesto no enantiomérico (de formas con rotación específica de diferente magnitud),
 - 2.1. a una mezcla equimolar con actividad óptica, o
 - 2.2. a una mezcla no equimolar,
 - 2.b. α sin actividad óptica, si las direcciones de rotación específica son inversas en ambas formas,
 - 2.b. β con actividad óptica, si las direcciones de rotación específica son las mismas para ambas formas.

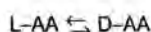
Cuando la racemización tiene lugar en un compuesto con más de un C asimétrico, es decir, con más de un isómero estructural, la reacción recibe también el nombre de *epimerización*.

3. La racemización de aminoácidos como método de datación paleontológica, bioarqueológica y antropológica

3.1. Racemización "posmortem" de los aminoácidos constituyentes de la materia viva

La presencia de cantidades crecientes de D-AA en fósiles progresivamente más antiguos es un hecho constatado primeramente en conchas de moluscos. El primer uso del grado de racemización como medio para estimar la edad de un fósil fue también realizado en conchas.

Los AA de las proteínas de los seres vivos únicamente suelen estar presentes en la forma estructural levógira (L). Al morir el organismo, se inicia una lenta reacción de racemización de aminoácidos (AAR, "amino acid racemization"), de acuerdo con la ecuación esquemática:



Por esta causa, en los fósiles se hallan tanto formas L como D. Dado que la proporción D-AA/L-AA aumenta con la edad de la muestra, conociendo de un AA su tasa anual de racemización (la cual es dependiente de la temperatura) y las cantidades de forma L y D presentes en una muestra que se suponga se ha mantenido en condiciones constantes de temperatura (por ejemplo, en el interior de cuevas), podremos estimar la edad absoluta de la misma.

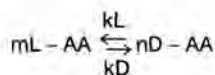
Los diversos AA hallados en proteínas racemizan a diferentes velocidades, siendo el Asp de los más rápidos y la Ile de los más lentos, de acuerdo con la siguiente secuencia:



En función del AA de que se trate, la reacción de AAR puede ser utilizada para datar materiales de hasta 10 millones de años de antigüedad, requiriéndose para este análisis una cantidad de muestra del orden de gramos.

3.2. Cinética de la racemización de aminoácidos

La reacción de racemización de un AA puede ser escrita como:



donde m y n son el número de moléculas de cada isómero, y kL y kD son las constantes de velocidad para la interconversión de los AA L y D, respectivamente (reacción reversible de primer orden). La velocidad de reacción de racemización sigue una ley que cumple la ecuación diferencial:

$$\frac{d[L-AA]}{dt} = kL \cdot [L-AA] - kD \cdot [D-AA] \quad (8)$$

Utilizando en la ecuación (8) la notación matemática $A = [L-AA]$, $B = [D-AA]$, $K = kL$ y $K' = kD$ podemos describir, pues, la desaparición de L-AA y consecuente aparición de D-AA de la siguiente manera:

$$\frac{dA}{dt} = KA - K'B \quad (9)$$

y, dado que la cantidad total de isómeros L + D es constante, se cumple la condición siguiente:

$$A + B = K'' \quad (10)$$

Del sistema de ecuaciones (9) y (10) obtenemos la siguiente ecuación:

$$\frac{dA}{dt} = KA - K'(K'' - A)$$

que también podemos escribir como:

$$\frac{dA}{dt} = (K + K')A - K'K'' \quad (11)$$

Cambiando de signo ambos miembros de la ecuación (11) y despejando para t, obtenemos:

$$\frac{dA}{(K + K')A - K'K''} = -dt \quad (12)$$

Si representamos la concentración inicial de L-AA por A_0 y su concentración en el tiempo t por A_t , tendremos que:

$$\ln [(K+K')A_t - K'K''] - \ln [(K+K')A_0 - K'K''] = -(K+K')t \quad (13)$$

que podemos convertir en:

$$\ln \frac{(K + K')A_t - K'K''}{(K + K')A_0 - K'K''} = -(K+K')t \quad (14)$$

Resolviendo la ecuación logarítmica (14), tendremos:

$$(K+K')A_t - K'K'' = [(K+K')A_0 - K'K'']e^{-(K+K')t} \quad (15)$$

Despejando A_t en la ecuación (15) obtendremos, finalmente, la concentración de L-AA, transcurrido el tiempo t , será:

$$A_t = \frac{K'K''}{K+K'} + (A_0 - \frac{K'K''}{K+K'}) e^{-(K+K')t} \quad (16)$$

La información que nos ofrecen las ecuaciones (10) y (16), permite llegar a la conclusión de que, a medida que transcurra el tiempo, la cantidad de isómero L sufrirá un decremento paulatino hasta que llegue a un valor *cuasi*-estable, mientras que la cantidad de isómero D tendrá un incremento equivalente al decremento de la forma L hasta que llegue, en el mismo momento que ésta, a un punto de *cuasi*-estabilidad. Por otra parte, las cantidades de los dos isómeros ya no variarán prácticamente y, por ello, el tiempo t correspondiente a dicho punto será el límite de datación teórico de cada AA.

En la práctica es previsible que se medirán las concentraciones de ambos isómeros a partir de la misma muestra (es decir, de un mismo peso); podemos considerar cantidades absolutas entre paréntesis (peso de isómero) en vez de concentraciones entre corchetes (peso de isómero/peso total).

Si utilizamos un razonamiento matemático similar al expuesto hasta ahora, y consideramos que $K'' = A+B = A_0$ (es decir, que la cantidad inicial de D-AA es despreciable respecto a la de L-AA), podemos, a partir de la ecuación (11), llegar por integración a la ecuación siguiente:

$$\ln \left[\frac{1+(D-AA/L-AA)}{1-Keq'(D-AA/L-AA)} \right]_t - \ln \left[\frac{1+(D-AA/L-AA)}{1-Keq'(D-AA/L-AA)} \right]_0 = (1+Keq') \cdot kL \cdot t \quad (17)$$

donde Keq' es el inverso de la constante de equilibrio ($Keq' = kL/kD$), y el término logarítmico para el instante 0 (C_0) corresponde a la relación enantiomérica inicial, es decir, $(D-AA) / (L-AA)$ en el tiempo 0.

Las constantes kL y kD son iguales si la energía de activación para la reacción química en un sentido es la misma que para la de sentido inverso, lo cual se cumple en el caso de muchos aminoácidos; ello implicará que, entonces, $Keq = Keq' = 1$. El término C_0 únicamente valdrá 0 en el caso de que no existiese cantidad apreciable de D-AA en el ser vivo ni se produjese a consecuencia del tratamiento químico previo de la muestra a analizar.

Para cada AA, una vez conocidas, mediante determinación experimental, la constante de velocidad kL y (trás averiguar kD) el inverso de la constante de equilibrio (Keq'), si medimos en una muestra su cantidad de D-AA respecto a la de L-AA, podremos estimar su edad absoluta simplemente despejando t en la anterior ecuación (17):

$$t = \frac{\ln \{ [1 + (D-AA) / (L-AA)] / [1 - Keq' (D-AA) / (L-AA)] \} - C_0}{(1 + Keq') \cdot kL}$$

3.3. Aminoácidos más utilizados en datación por racemización

3.3.1. Ácido aspártico

El Asp ha recibido amplia atención como herramienta de datación, por su relativamente rápida velocidad de racemización, que lo ha hecho apropiado para ser utilizado no solamente en paleobiología y bioarqueología, sino también en antropología forense y en zoología.

Efectivamente, ha sido constatado en los mamíferos y especialmente en el hombre, que el enantiómero D-Asp se acumula al aumentar la edad del individuo, en proteínas que son sintetizadas tempranamente en vida y que no están envueltas activamente en los procesos metabólicos del organismo. Por ejemplo, se da un incremento sistemático de D-Asp en el esmalte y la dentina de los dientes; la tasa anual de acumulación en el esmalte de los mismos es de aproximadamente un 0.01%, por lo que en individuos viejos se hallan presentes cantidades significativas de D-Asp en los tejidos afectados. Sólo el Asp tiende a la racemización en vida del organismo, lo cual es consistente con las observaciones, pues posee la velocidad de racemización más rápida de entre los distintos AA que forman parte de las proteínas.

Esta tendencia a la racemización del Asp aún en vida del organismo, implica que la ecuación integrada debe ser corregida restando la proporción de D-Asp acumulada antes de la muerte (es decir, que $C_0 > 0$). El valor numérico de la relación enantiomérica inicial C_0 se obtiene a partir de la determinación de la tasa $[D-Asp] / [L-Asp]$ en diente o hueso fresco similar al fósil a ser datado, utilizando el mismo procedimiento analítico en ambos. Por ejemplo, se ha hallado en hueso fresco de bóvido que $[D-Asp] / [L-Asp] = 0.07$, lo cual conduce a un valor de $C_0 = 0.140229341 (= 0.14)$.

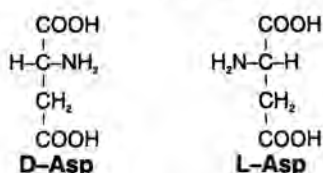
3.3.1.1. Características físico-químicas del ácido aspártico

Abreviatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry): Asp. Nombre químico: ácido α -amino-

succínico. Fórmula desarrollada: $\text{HOOC-CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$. Peso molecular: 133.10 Daltons. Punto isoeléctrico: 2.77. Aminoácido clasificado como "no esencial" en la dieta, por su posibilidad de ser sintetizado por los animales.

La forma común del Asp es la forma L. La rotación óptica específica del Asp, en disolución acuosa y a 25°C es, para la línea D del sodio: +5.0°. Su solubilidad en agua (g/L): 4.5 a 20°C, 6.67 a 30°C, siendo las formas supersaturadas solubles fácilmente. Es más soluble en soluciones salinas, siendo también soluble en ácidos y álcalis. La forma D es el estereoisómero levorrotatorio en que racemiza.

Fórmulas estereoquímicas de proyección:



3.3.1.2. Un ejemplo de datación del material óseo, según la magnitud de racemización del Asp: el "Hombre de Los Ángeles" y las muestras de San Diego

La reacción de racemización del Asp ha sido utilizada para datar, entre otros materiales de interés científico, varios esqueletos paleoindios californianos procedentes del Museo del Hombre de San Diego (SDM) y del Museo de Historia Natural del Distrito de Los Ángeles (LAM).

Las muestras de Los Ángeles fueron analizadas debido a que ya habían sido datadas por radiocarbono. En uno de los casos sólo había sido deducida la edad mínima; de igual forma, las muestras de San Diego fueron seleccionadas por su gran antigüedad potencial, estimada a partir de las evidencias geológicas del lugar en que se hallaron.

La selección de San Diego fue tomada de una serie de restos esqueléticos excavados entre 1920 y 1935 por M.J. Rogers, situados en dos yacimientos de la localidad de La Jolla, California. El primer yacimiento, denominado "yacimiento W-2 del Museo de San Diego", se encuentra en Costas de la Jolla, a 1.2 km al sur de la localidad de Scripps. En 1926, durante unos trabajos urbanísticos, una pala mecánica desenterró varios restos humanos.

El yacimiento es un extenso pero delgado conchero que cubre la arena de un estuario. Un *conchero* es un depósito de conchas y otros restos de moluscos y peces que servían de alimento básico a ciertos grupos hu-

manos de la prehistoria; generalmente se hallan a orillas del mar o de los ríos y cerca de las cuevas o abrigos.

La muestra SDM 18402 (un esqueleto parcial que apareció en posición de enterramiento flexionada) fue hallada aproximadamente 0.5 m debajo del nivel del suelo, en una arena roja compactada, directamente abajo de la capa de conchas. Fechas radiocarbónicas determinadas en conchas de concheros similares de California dieron edades entre unos 5000 y 7500 años b.p. ("before present": antes del año 1950). La muestra SDM 16742 (un hueso frontal de cráneo humano) fue recuperada a 1.5 m debajo del nivel del suelo, en la base de un estrato de arena blanca abajo de la capa de arena roja.

La muestra SDM 16755 (varias costillas y otros fragmentos humanos diversos) fue descubierta en una arena gris-blanca y no fue hallada *in situ* sino fue recuperada del terraplén excavado por la pala mecánica en el conchero. Una concha en forma de cuenta de collar estaba cementada en una de las costillas, y los restos parecían ser parte de un enterramiento. Las muestras SDM 16742 y SDM 16755 fueron recuperadas de horizontes estratigráficos más antiguos que el de la muestra SDM 18402.

El segundo yacimiento, designado "yacimiento W-34 del Museo de San Diego", está localizado entre las ciudades Del Mar y Playa de Solana, al noroeste del cenegal del río San Dieguito. Este yacimiento consiste en un conchero superior (W-34) y uno inferior (W-34-A); este último ha sido destruido en gran parte por la erosión y acción de la marea. El conchero superior es similar a los otros de California que datan de entre 5000 y 7500 años b.p. Rogers había sugerido que el conchero inferior podría representar una ocupación humana de edad comparable a los restos hallados en las arenas blancas (es decir, la muestra SDM 16742) del yacimiento W-2. La muestra SDM 16704 (un cráneo, mandíbula y costillas humanas) fue hallada sobresaliendo del acantilado marino erosionado, en la base del conchero inferior; con respecto a las restantes partes del esqueleto, se pensó que habían caído al mar.

La posible contaminación de las muestras con AA modernos fue testada. En un análisis de la SDM 16742 y del llamado "Hombre de Los Ángeles" (un fragmento de cráneo hallado en 1936 al norte de Baldwin Hills, datado por C_{14} en >23,600 b.p.) indicaron que la magnitud de racemización de AA sigue el patrón Asp > Ala > Ile, que es la secuencia predecible para huesos que no han sido contaminados con AA modernos.

Para calibrar la tasa anual de racemización de los enantiómeros L(+)-Asp y D(-)-Asp para una temperatura similar a la mantenida en los estratos geológicos

de los ejemplares estudiados, se utilizó una muestra del llamado "cráneo de Laguna" (cráneo y huesos largos hallados en Laguna Beach en 1933), con una fecha radiocarbónica bien establecida de $17,150 \pm 1,470$ b.p.

Las edades deducidas de la tasa de racemización del Asp, en años b.p., fueron las siguientes:

Muestra	D/L
"Hombre de Los Ángeles"	26 000
SDM 18402	≈ 6 000
SDM 16755	28 000
SDM 16742	44 000
SDM 16704	48 000

3.3.2. Isoleucina

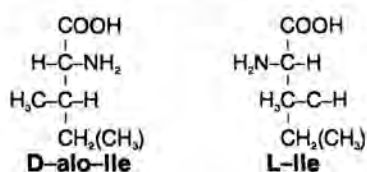
De particular interés en datación, debido a su lenta velocidad de racemización y relativa facilidad de medida, es la reacción que implica la L-isoleucina (L-Ile) y su diastereoisómero levorrotatorio D-aloisoleucina (D-aló-Ile). La L-Ile y la D-aló-Ile son directamente separables en los analizadores automáticos de AA, en contraste con los enantiómeros D y L de otros AA, que sólo son separables por las técnicas de análisis de AA después de obtener un derivado sintético (dipéptido) de los mismos.

3.3.2.1. Características físico-químicas de la isoleucina

Abreviatura IUPAC: Ile. Nombre químico: ácido α -amino- β -metilvalérico. Fórmula desarrollada: $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$. Peso molecular: 131.17 Daltons. Punto isoeléctrico: 5.98. Aminoácido clasificado como esencial en la dieta, al no poder ser sintetizado por los animales.

La forma natural es la L. Rotación óptica específica a 25°C para la línea D del sodio, en disolución acuosa: +12.4°. Solubilidad en agua (g/L): 37.9 a 0°C, 41.2 a 25°C, 48.2 a 50°C. La forma D-aló es el diastereoisómero levorrotatorio en que epimeriza (racemiza) mayoritariamente.

Fórmulas estereoquímicas de proyección:



3.3.2.2. Un ejemplo de datación del material óseo según la magnitud de racemización de la Ile: la cueva de Muleta

La Ile ha sido ampliamente utilizada para datar tanto huesos, dientes y conchas fósiles, como los sedimentos que los contienen.

Mediante el análisis de este AA, han sido datados materiales procedentes de la cueva de Muleta (Mallorca, Islas Baleares), comparando los valores obtenidos con la edad establecida por el método del radiocarbono o C_{14} .

La cueva de Muleta es un yacimiento que posee un registro estratigráfico continuo de huesos de mamíferos; tiene una profundidad de alrededor de 8 m y está a menos de 200 msnm, con una temperatura actual de $19 \pm 1/-0.5^\circ\text{C}$; cabe recordar que la isla donde está ubicada nunca sufrió las glaciaciones pleistocénicas.

En la cueva se encontraron restos de más de un millar de ejemplares de miotrago (*Myotragus balearicus*), antílope extinto parecido a una gacela, descrito en 1909 por D. Bate; este animal fue el mamífero de mayor tamaño de entre todos los indígenas de las Islas Baleares, donde había sufrido una evolución propia debida al fenómeno insular del aislamiento. Las últimas poblaciones de miotragos convivieron con los primeros seres humanos que habitaron la isla durante la prehistoria, y probablemente la extinción de este antílope balear fuera debida a la intensa caza de que fue objeto por parte del hombre, hecho constatable por la gran cantidad de huesos hallados junto a restos materiales de actividad humana, en Mallorca y en Menorca.

De varios sectores y niveles de la cueva fueron recuperados huesos de miotrago y analizados para la L-Ile y la D-aló-Ile. Las fechas fueron calculadas con base en una tasa anual de racemización de L a D-aló del 0.0006% a 19°C, basada en la ecuación de Arrhenius de cinética química. Las dataciones calculadas mediante la tasa D-aló/L y mediante el uso del C_{14} dieron los siguientes resultados en años b.p.:

Diferencia de resultados

D-aló/L	C_{14}	máxima	mínima
14 000	$14\,465 \pm 315$	780	150
18 600	$18\,980 \pm 200$	580	180
33 700	$28\,600 \pm 600$	5 700	4 500

Contexto crítico: ventajas e inconvenientes de la datación por racemización de aminoácidos

1. Ventajas de la datación por AAR: escala temporal y cantidad de muestra requerida

Mientras que el límite temporal para la datación mediante un método tan universal como el radiocarbono (C_{14}) es de unos 40000 años y la cantidad de muestra requerida para este análisis es del orden de centenas de gramos, la AAR puede ser utilizada para datar materiales de hasta 10 millones de años de antigüedad, requiriéndose una cantidad de muestra para este análisis de tan sólo unos pocos gramos.

Ello es especialmente útil en campos como la paleontología humana y la antropología prehistórica, cuyos rangos temporales de estudio abarcan, en su conjunto, los dos últimos millones de años de historia de la Tierra.

2. Inconvenientes de la datación por AAR: temperatura y lixiviación del sedimento

El tiempo necesario para que los diferentes AA lleguen a un equilibrio depende de cada compuesto. Puesto que la racemización es una reacción química, y la velocidad de reacción depende de la temperatura, es indispensable conocer esta variable para poder aplicar este método de datación absoluta. Se supone, no obstante, que la temperatura de enterramiento de una muestra se mantuvo constante y que es la misma que la actual. Esta hipótesis limita la aplicación del método, restringiéndolo a épocas no demasiado lejanas.

Se ha dado por sentado, empleando las tasas de racemización de AA para dataciones, que los L-AA en hueso siguen la ley de la proporción para las reacciones químicas reversibles denominadas "de primer orden". Esto es estrictamente verdadero sólo para un sistema cerrado, en el cual los productos de reacción no sufren lixiviación (proceso de arrastre por el agua de lluvia de los materiales solubles o coloidales de los horizontes superiores de un suelo a horizontes más profundos). Puesto que la curva de racemización para un hueso continuamente lixiviado no sigue una línea recta, las estimaciones de edad basadas en los datos de racemización pueden ser muy erróneas si la muestra usada para la calibración y la muestra para ser datada caen sobre diferentes segmentos de la curva de racemización. Por ejemplo, si la calibración (datada por C_{14}) resulta estar sobre la curva inicial de inclinación suave, la edad deter-

minada para una muestra que puede estar sobre la curva más empinada será sobreestimada. Si tanto la calibración como la muestra para ser datada están sobre el mismo segmento de la curva, entonces una estimación razonable de la edad puede ser posible.

No obstante, los problemas inherentes a la calibración, la datación por racemización de AA representa una herramienta útil, que suficientemente desarrollada puede hacer posible en un futuro determinar la edad de un fósil. Ello debería ser realizado combinando datos sobre reacciones de racemización con otras reacciones que tengan diferentes energías de activación, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius, empleada en los cálculos de cinética química.

3. El ácido aspártico en datación

La racemización del Asp ha recibido amplia atención como herramienta para datar hueso, particularmente desde que fue aplicada por Bada, Schroeder y Carter a la datación del llamado "Hombre de San Diego", dando una antigüedad de aproximadamente 50000 años, muy superior a la de las dataciones radiocarbónicas más fiables realizadas para América, que sitúan la colonización humana de este continente alrededor de 20000 -15000 años atrás.

Uno de los supuestos en que se basó la datación de las muestras de San Diego mediante la racemización del Asp fue la temperatura como el único factor ambiental importante. Experimentos de simulación realizados en laboratorio por Hare sugieren que la distribución de agua en el ambiente puede ser igualmente importante que la temperatura para determinar el grado de racemización del AA y, realmente, en el proceso entero de diagénesis o transformación química de la materia fosilizante.

4. La isoleucina en datación

Los resultados obtenidos hasta el momento señalan que el uso de la tasa D-allo-Ile/L-Ile tiene un gran potencial para la estimación de la edad de huesos fósiles hallados en cuevas. Una de las ventajas de este método es que se requiere una pequeña cantidad de material. Por ejemplo, en el caso de la cueva de Muleta, Turekian y Bada, utilizaron fragmentos entre 5 y 20 gr. Para muestras más antiguas la cantidad de hueso fósil requerida aumenta, aunque probablemente no serían necesarios más de 20 gr, incluso para un hueso de cien mil años de antigüedad. Otra ventaja es que pueden ser datados huesos que son demasiado antiguos como para utilizar el método del C_{14} .

En sentido contrario, el análisis de algunos de los huesos de la cueva de Muleta también indicó que la Ala racemiza entre tres y cuatro veces más rápido que la Ile; por lo tanto, midiendo la tasa D-Ala/L-Ala sería posible datar huesos que sean demasiado recientes como para ser datados por la tasa D-alo-Ile/L-Ile.

La edad máxima que podría ser determinada mediante la tasa D-alo-Ile/L-Ile depende, desde luego, de la temperatura del ambiente de la cueva. Para determinar una edad con certeza aproximada del 90%, el valor máximo para la tasa D-alo-Ile/L-Ile que podría ser usado tendría que ser menor de 1.0, puesto que la incertidumbre de la tasa es $\pm 5\%$. Esto indica que la edad máxima que podría ser obtenida por este método para cuevas con temperaturas entre 10 y 20°C abarcaría entre 1300000 y 190000 años, en el supuesto teórico de que no hubiera variación en la temperatura a lo largo de este tiempo, lo cual generalmente no sucede en la realidad.

La tasa de racemización (epimerización) de la Ile depende en gran medida de la temperatura y también del ambiente físico-químico en el cual está contenido el AA. Por lo tanto, su constante de velocidad debe ser evaluada empíricamente con la temperatura apropiada para cada tipo de material a ser datado. En la actualidad, ya se han publicado investigaciones de la tasa de epimerización de la Ile, en conchas y en soluciones acuosas tamponadas. De igual forma, se han obtenido resultados sobre sedimentos del fondo marino y de huesos tratados experimentalmente. Así, P. E. Hare incubó varios fragmentos de costilla de bóvido a elevadas temperaturas y los valores de su tasa de racemización fueron calculados. Se descubrió que a altas temperaturas la tasa de racemización es dos veces mayor en el hueso que en un ambiente acuoso a pH 7.5, aunque en principio los valores de la constante de velocidad de la Ile para los diversos materiales (conchas, dientes, huesos) pueden ser aplicados a la datación. Por otra parte debe cumplir ciertas condiciones: la primera es que el material a datar debe haber mantenido una temperatura relativamente constante a través de su historia. Puede ser visto que, cerca de 0°C, un aumento de temperatura de 1°C causa un incremento en la constante de velocidad de la Ile de aproximadamente 20%, mientras que a 20°C el incremento es ligeramente menor.

Una segunda condición designa que los AA en la muestra deben ser separables de cualquier contaminación en su superficie. Dos ambientes donde parece ser que las condiciones se cumplen son en el fondo marino (especialmente útil para dataciones marinas en paleontología de invertebrados) y en el interior de las cuevas (especialmente ventajoso para dataciones con-

tinental en paleontología del Cuaternario y en prehistoria).

5. La cueva como ejemplo de ambiente a temperatura constante

Un ambiente que suele contener huesos y dientes fósiles y que cumple la condición de una temperatura constante a través de su historia es la cueva. Sin embargo, existe una limitación, porque debe haber sido mantenida a una temperatura relativamente constante a través de las vicisitudes climáticas de los periodos glaciales, y para que pueda ser útil sobre esta escala de tiempo la temperatura de la cueva debe ser exacta, y cuidadosamente conocida.

La fluctuación anual media de temperatura para una cueva caliza más honda de 15 m debajo de la superficie es de 0.5°C. Esto provee una incertidumbre de menos del 10% en la edad de racemización. Si somos capaces de medir el clima de la Edad de Hielo, debemos usar cuevas que sean relativamente insensibles a los posibles cambios climáticos continentales, o cuevas en las cuales las variaciones de temperatura estén amortiguadas. En muchas cuevas, tales restricciones pueden ser reunidas, pero lo ideal es una cueva en una isla alejada de la cubierta de hielo glacial del Pleistoceno.

Conclusión: cronometría y AAR

Un método que todavía está en fase de desarrollo, a pesar de que en la bibliografía se han obtenido buenos resultados, es el método de la racemización de aminoácidos, los cuales son los componentes estructurales básicos de las proteínas.

Los AA naturales, a excepción de la Gly, presentan a la vez dos tipos de isomería:

a) Isomería estereoquímica o estructural, que ocurre en los compuestos que poseen la misma composición pero difieren en su configuración espacial, es decir, que sus átomos están unidos entre sí en forma diferente. La mayoría de sus propiedades físicas y químicas son idénticas.

b) Isomería óptica o física, que ocurre en los compuestos que difieren entre sí únicamente en su acción física sobre el plano de la luz polarizada (actividad óptica). Las demás propiedades físicas y todas las químicas de los isómeros ópticos son idénticas.

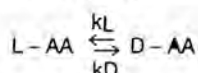
Las isomerías estereoquímica y óptica son causadas por las características especiales de enlace del átomo

mo de C —elemento base de toda la química orgánica—, siendo la isomería óptica una consecuencia de la isomería estructural.

La mayoría de los AA tienen dos isómeros estructurales: la forma D (dextrógira) y la forma L (levógira). Tres de los AA obtenidos de la hidrólisis de las proteínas tienen, además, dos diastereoisómeros o formas alo: L-alo y D-alo. Los L-AA únicamente se encuentran en los seres vivos.

Se denomina racemización al proceso estereoquímico en el cual una forma de un compuesto quiral se va transformando en su imagen especular, es decir, a la conversión de un compuesto L en D, o viceversa.

Los AA de las proteínas de los seres vivos suelen estar presentes únicamente en la forma estructural levógira (L). Al morir el organismo, se inicia una lenta reacción de racemización, que puede ser escrita como:



donde k_L y k_D son las constantes que definen la velocidad de racemización.

En los fósiles se han encontrado tanto formas L como D; cabe señalar que la proporción D-AA/L-AA aumenta con la edad de la muestra; conociendo de un AA su tasa anual de racemización y las cantidades de forma L y D presentes en una muestra, podremos estimar la edad absoluta de la misma, de acuerdo con la ecuación general:

$$t = \frac{\ln \{ [1 + (D-AA) / (L-AA)] / [1 - Keq' (D-AA) / (L-AA)] \} - C_0}{(1 + Keq') \cdot k_L}$$

donde Keq' es el inverso de la constante de equilibrio para la reacción reversible de racemización, C_0 el término correspondiente a la relación enantiomérica inicial y t es el tiempo transcurrido.

Aunque la cantidad relativa de materia orgánica presente en una muestra no puede ser generalmente usada para calcular la antigüedad de los huesos y dientes fósiles, la propiedad de algunos AA de tener una velocidad de racemización lo suficientemente lenta, ha permitido utilizarlos para la datación en cronología absoluta paleontológica y prehistórica.

El ácido aspártico ha recibido amplia atención como herramienta de datación, por su relativamente rápida velocidad de racemización y por ser apto, no solamente en paleobiología y bioarqueología, sino también en antropología general y forense, y en estudios zoológicos. Otro material paleontológico-prehistórico es la reacción de racemización del Asp que sirvió para datar varios esqueletos paleoindios californianos proceden-

tes del Museo del Hombre de San Diego y del Museo de Historia Natural del Distrito de Los Angeles.

De particular interés en datación, debido a su lenta velocidad de racemización y relativa facilidad de medida, es la reacción que implica la L-isoleucina (L-Ile) y su diastereoisómero levorrotatorio D-aloisoleucina (D-alo-Ile), la cual ha sido ampliamente usada para datar tanto huesos, dientes y conchas fósiles, como los sedimentos que los contienen. Mediante el análisis de este AA han sido datados materiales procedentes de la cueva de Muleta (Mallorca, Baleares), comparando los valores obtenidos con la edad establecida por el método del radiocarbono o C_{14} .

Frente al clásico método de datación mediante C_{14} , la técnica de la AAR ofrece dos ventajas: 1) en materiales de campo a datar (los fósiles y subfósiles) la escala temporal a la que se puede aplicar es mucho mayor, y 2) respecto a métodos de laboratorio utilizados, la cantidad de material necesario para la datación es mucho menor; este aspecto no es nada desdeñable, teniendo en cuenta que ambos métodos de datación son "métodos destructivos" de la muestra.

El tiempo necesario para que los diferentes AA lleguen a un equilibrio depende de cada compuesto. Ya que la racemización es una reacción química, y la velocidad de reacción es función de la temperatura, es necesario conocer esta variable para poder aplicar este método de datación absoluta. Se supone que la temperatura de enterramiento de una muestra se ha mantenido constante y es la misma que la actual. Esta hipótesis limita la aplicación de este método, restringiéndolo a épocas no demasiado lejanas. Además, experimentos de simulación en laboratorio sugieren que la distribución de agua en el ambiente puede ser tan importante como la temperatura en determinar el grado de racemización del AA.

En su conjunto, todas las condiciones ambientales (temperatura, humedad, pH del suelo, etcétera) en las que están inmersos los restos fósiles determinan la velocidad de racemización. Por ello, cuanto más homogéneas sean las condiciones ambientales del lugar donde se hallan los restos, más probabilidad de éxito tiene el método de datación por racemización. Hay dos ambientes en que es mayor la homogeneidad; éstos son el fondo oceánico y las cuevas. Las dataciones efectuadas en yacimientos como el de la cueva de Muleta pueden ofrecer mayores garantías de fiabilidad que otros, como los realizados en los yacimientos del Museo de San Diego.

La dificultad que representa la influencia de las condiciones ambientales de cada momento en la velocidad de racemización de los aminoácidos sólo pueden su-

perarse mediante la conjugación de los datos experimentales obtenidos en el laboratorio y los datos de campo de los ejemplares de interés para la paleontología, la bioarqueología y la antropología.

La mejor aproximación para la metodología de la datación por medio de la AAR es a través de la combinación de estudios de laboratorio y de campo. Después de que un conjunto de huesos son recogidos en el campo, con diversas especies y tipos de hueso representados y de diferentes ambientes, pueden ser comparados con materiales óseos modernos que han experimentado distintos tratamientos de simulación en laboratorio. Sin embargo, en los tratamientos de laboratorio a temperaturas relativamente altas (75–150°C) se han podido constatar, dentro de intervalos de tiempo de horas o incluso de minutos, cambios químicos que pueden ser observados al cabo de años a temperaturas ambientales (15–20°C); sólo la contrastación empírica con los datos de campo puede validar suficientemente los resultados del método de datación cronométrica por AAR como para poder ser éste utilizado con fiabilidad sobre los materiales procedentes del *lapsus* de la escala de tiempo geológico, en el cual pueden confluir los estudios paleontológicos, bioarqueológicos y antropológicos: el Cuaternario.

Bibliografía

- Bada, J. L. y R. A. Shroeder**
1972 "Racemization of isoleucine in calcareous marine sediments: kinetics and mechanism", en *Earth and Planetary Science Letters*, 15, pp. 1-11.
- Bada, J. L. y R. Protsch**
1973 "Racemization reaction of aspartic acid and its use in dating fossil bones", en *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 70, pp. 1331-1334.
- Bada, J. L., R. A. Schroeder y G. F. Carter**
1974 "New evidence for the antiquity of man in North America deduced from aspartic acid racemization", en *Science*, 184, pp. 791-793.
- Bada, J. L. y L. Deems**
1975 "Accuracy of dates beyond the C₁₄ dating limit using the aspartic acid racemisation reaction", en *Nature*, 255, pp. 218-219.
- Bates, M. R.**
1993 "Quaternary aminostratigraphy in northwestern France", en *Quaternary Science Reviews*, 12, pp. 793-809.
- Behresmeyer, A. K. y A. P. Hill (eds.)**
1980 *Fossils in the Making*, Chicago, Chicago University Press.
- Bishop, W. W. y J. A. Miller (eds.)**
1972 *Calibration of Hominoid Evolution*, Edimburgh, Scottish Academic Press.
- Bradley, R. S.**
1985 *Quaternary Paleoclimatology: Methods of Paleoclimatic Reconstruction*, Boston, Allen y Unwin.
- Eglinton, G. y M. T. J. Murphy (eds.)**
1969 *Organics Geochemistry*, Berlin/Heidelberg, Springer-Verlag.
- Eglinton, G. y G. B. Curry (eds.)**
1991 *Molecules through Time: Fossil Molecules and Biochemical Systematics*, London, The Royal Society.
- Engel, M. H. y S. A. Macko (eds.)**
1993 *Organic Geochemistry: Principles and Applications*, New York, Plenum Press.
- Geyh, M. A. y H. Schleicher**
1990 *Absolute Age Determination: Physical and Chemical Dating Methods and their Application*, Berlin/Heidelberg, Springer-Verlag.
- Harper, H. A.**
1975 *Manual de Química Fisiológica, El Manual Moderno*, 4a. ed. en español, México, D.F., Título de la edición original inglesa, *Review of Physiological Chemistry*, publicada por Lange Medical Publications.
- Lauritzen, S. E. et al.**
1994 "Geochronological potential of isoleucine epimerization in calcite speleothems", en *Quaternary Research*, 41, pp. 52-58.
- Lehninger, A. L.**
1979 *Bioquímica: las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular*, Barcelona, Omega,

2a. ed. Título de la edición original inglesa *Biochemistry*, publicada por Worth Publishers, Inc.

Nikolski, S. M.

1984 *Elementos del Análisis Matemático*, Moscú, Mir. Título de la edición original rusa *Élémiént matiématitchiéskogo analiza*, publicada por Nauka.

Pericot, L.

1991 *Las Islas Baleares en los Tiempos Prehistóricos*, Barcelona, Destino, 2a. ed.

Nylén, P. y N. Wigren

1967 *Tratado de Estequiometría*, Barcelona, Ars, 8a. ed. Título de la edición original sueca *Kemiska Räkneuppgifter*.

Reverte, J. M.

1991 *Antropología Forense*, Madrid, Ministerio de Justicia.

Taylor, R. E. et al.

1983 "Middle Holocene age of the Sunnyvale human skeleton", en *Science*, 220, pp. 1271-1273.