



ISOTOPI STABILI E ANALISI PALEONUTRIZIONALE

Sabrina Masotti, PhD

LA PALEONUTRIZIONE O PALEODIETA

«siamo quello che mangiamo» ovvero riflettiamo attraverso l'alimentazione, la componente chimica del luogo in cui viviamo e del modo con cui interagiamo con esso.



Analisi del rapporto tra gli ISOTOPI STABILI

Quando un alimento viene assimilato, i suoi atomi vengono incorporati nei tessuti dell'organismo consumatore che ne rispecchierà il rapporto isotopico originario.

Mediante l'analisi del rapporto isotopico di alcuni elementi nei tessuti duri (osso e dente) delle popolazioni scheletriche si può risalire al tipo di dieta praticata.

COSA SONO GLI ISOTOPI?

- Sono nuclidi di uno stesso elemento aventi pesi atomici differenti; si tratta di atomi con diverso numero di neutroni, ma con la medesima carica nucleare (protoni).
- Gli isotopi stabili non vanno incontro a spontanei processi di decadimento.
- Il rapporto tra le abbondanze degli isotopi di un elemento viene espresso tramite i rapporti isotopici, cioè i rapporti tra il numero di atomi di ciascun isotopo. Per convenzione, i rapporti isotopici vengono espressi ponendo al numeratore l'abbondanza dell'isotopo più pesante.
- Viene utilizzato il rapporto relativo ad uno standard di cui si conosce il rapporto isotopico con bassa incertezza.

$$\delta X(\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{campione}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \times 1000$$

Dove R= rapporto massa isotopo pesante/massa isotopo leggero (esempio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)

$\delta X > 0$ indica un arricchimento dell'isotopo pesante nel campione rispetto allo standard

$\delta X < 0$ indica un impoverimento dell'isotopo pesante o un arricchimento dell'isotopo leggero rispetto allo standard.

I MARCATORI ISOTOPICI

Gli elementi maggiormente utilizzati nelle indagini paleonutrizionali sono il **carbonio** e la relazione tra i suoi due isotopi stabili $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e l'**azoto** attraverso il rapporto $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ contenuti nella componente organica (collagene) delle ossa.

I valori degli isotopi stabili nei tessuti animali incluso l'osso dipendono dalla dieta.

Frazionamento isotopico: durante un qualunque processo chimico-fisico si origina una selezione isotopica dell'elemento di partenza. Il frazionamento avviene come conseguenza della minore capacità degli isotopi più pesanti di un elemento a diffondere o reagire. Le molecole più pesanti hanno infatti minore mobilità e maggiore energia di legame e reagiranno con maggiore difficoltà.

STANDARD DI RIFERIMENTO PER IL CARBONIO E L'AZOTO

Per il carbonio e l'azoto, le diciture $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ si riferiscono rispettivamente ai rapporti $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in relazione a standard specifici.



Carbonio

PeeDee Belemnite (PDB) fossile marino della formazione PeeDee in Sud Carolina chiamato *Belemnitella americana*. Rapporto $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ estremamente elevato.

Quasi tutti gli altri composti rivelano un $\delta^{13}\text{C}$ negativo.

Oggi questo materiale non è più disponibile ci si basa quindi su una serie di standard di riferimento forniti dal **National Bureau of Standards (NBS)**.



Azoto

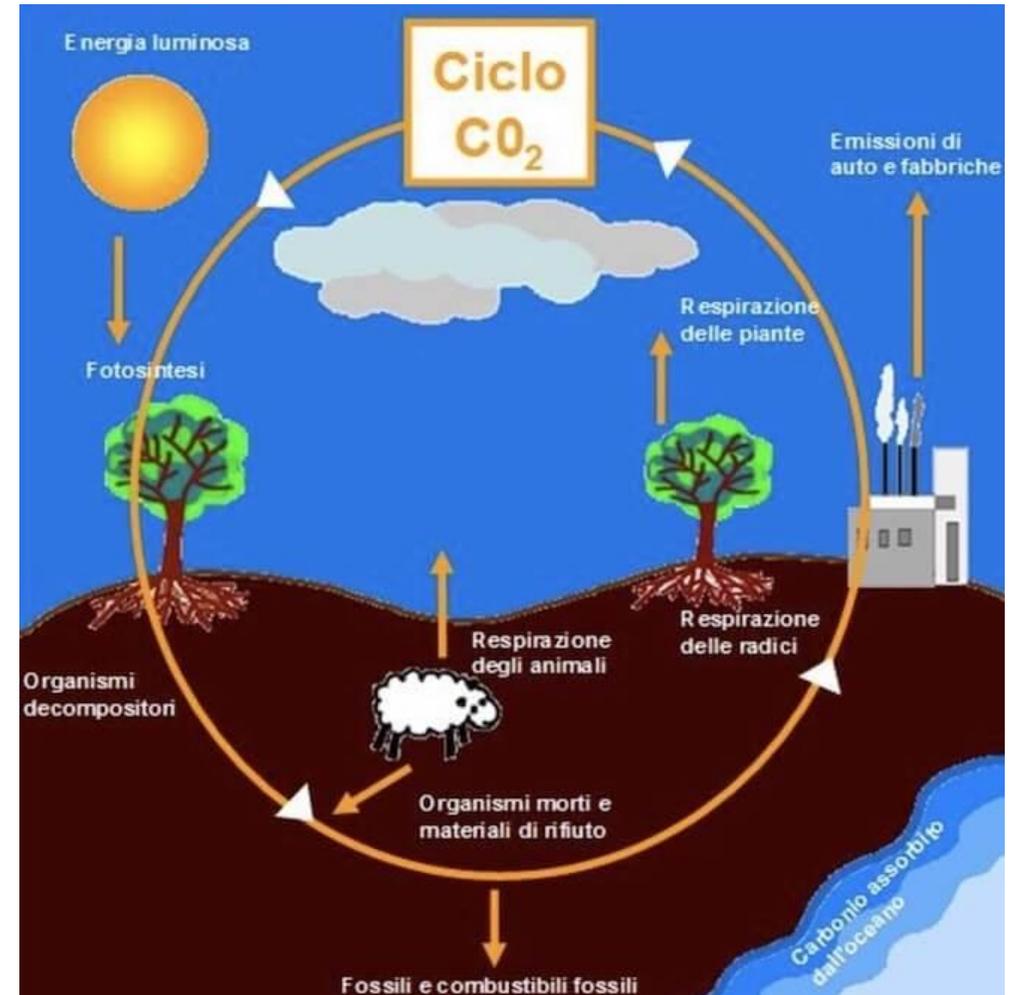
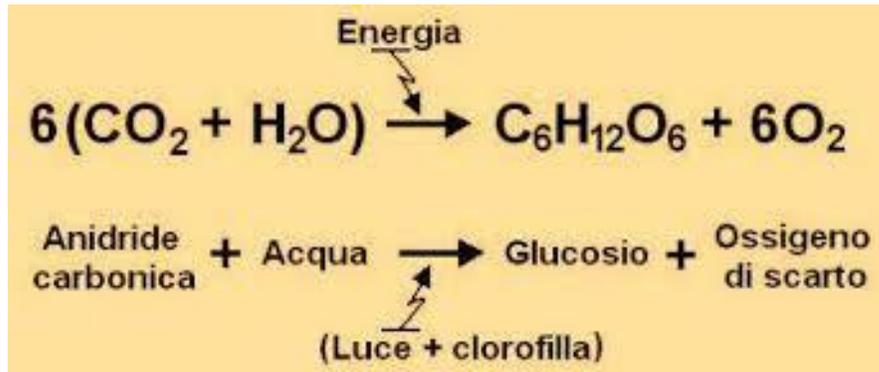
Azoto atmosferico.

Nella maggior parte degli organismi i valori di $\delta^{15}\text{N}$ sono più alti di quello dello standard e di conseguenza positivi.

IL CARBONIO

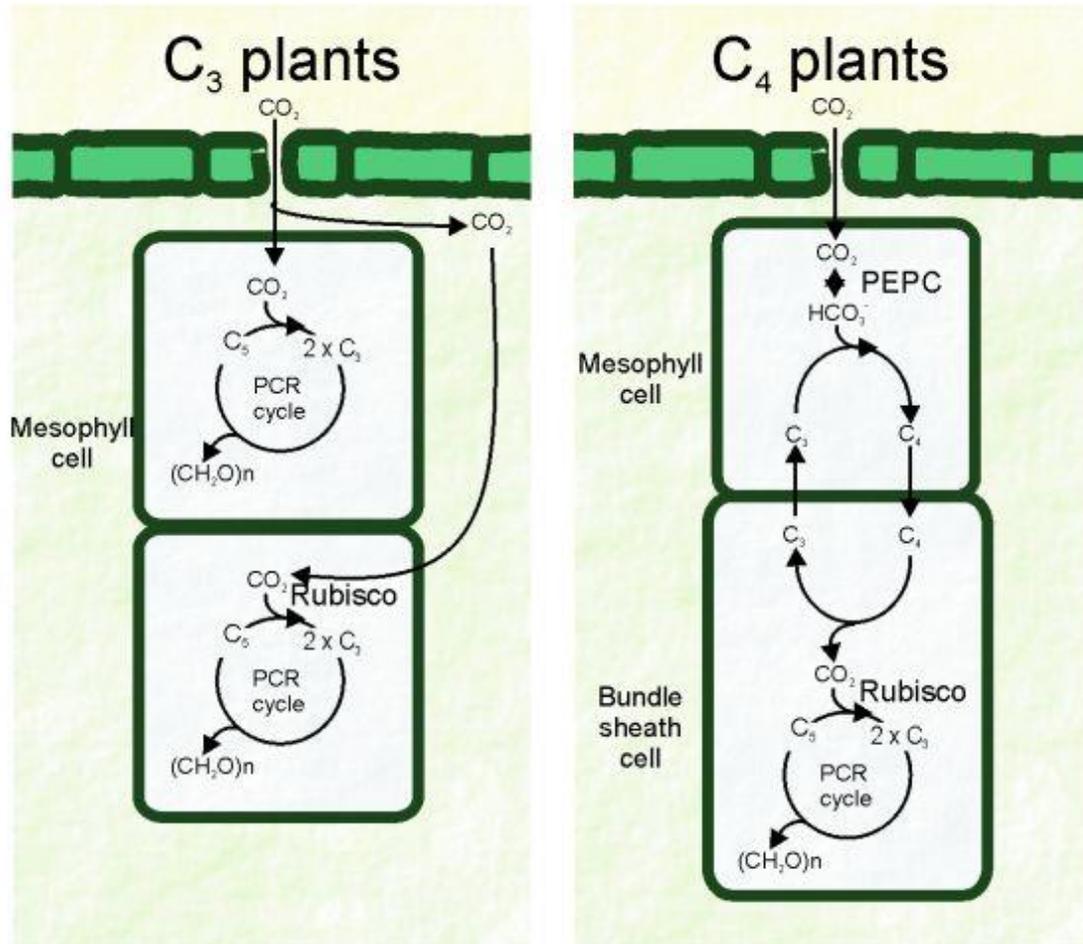
- Il **carbonio** è un elemento non metallico presente in molti composti in natura con due isotopi stabili: ^{12}C , più abbondante (98,9%) e il meno diffuso ^{13}C (1,1%).

FOTOSINTESI CLOROFILLIANA



LA FOTOSINTESI: PIANTE C₃ E C₄

La fotosintesi è un processo complesso che dipende anche dal clima.



- Le piante presenti in **zone temperate** e in particolare **cereali come il grano, l'orzo o l'avena** utilizzano il processo fotosintetico detto **C₃ o di Calvin**. L'anidride carbonica atmosferica è fissata dando legami intermedi con **una catena a tre atomi di carbonio**. Il rapporto tra ¹³C e ¹²C, definito $\delta^{13}\text{C}$, delle piante C₃ ha valori maggiormente negativi, essendo compreso tra -17 e -40 ‰.
- Piante di **climi caldi e aridi** come il **mais, miglio, e sorgo** hanno un altro tipo di fotosintesi detta **C₄ o di Hatch-Slack**. L'anidride carbonica è fissata dando legami intermedi con **una catena a 4 atomi di carbonio**. Esse hanno un $\delta^{13}\text{C}$ meno negativo, che varia tra i -18 e -4 ‰.

Le piante C₃ contengono meno ¹³C rispetto alle piante C₄.

LE RETI TROFICHE

La composizione chimica dei tessuti animali è connessa alle risorse alimentari che essi assimilano e pertanto i tessuti riflettono la composizione isotopica della dieta.

L'arricchimento tra i produttori e i consumatori primari (erbivori) è stato stimato intorno al 5‰ mentre andando ai livelli successivi della catena trofica l'arricchimento risulta meno marcato 1‰ (Tykot, 2004).

In generale il collagene delle ossa di un erbivoro mostrerà un $\delta^{13}\text{C}$ meno negativo di quello delle piante. E il collagene dei carnivori avrà $\delta^{13}\text{C}$ ancora meno negativo di quello di un erbivoro.

Quindi il valore isotopico rilevato nei tessuti di un organismo può essere utilizzato come indicatore della sua posizione trofica.

Attraverso l'analisi degli isotopi stabili del carbonio è possibile anche **differenziare le reti trofiche terrestri da quelle marine**: le piante acquatiche e gli organismi che si nutrono di esse avranno un $\delta^{13}\text{C}$ meno negativo rispetto agli organismi terrestri.

Attenzione! Esiste un margine di sovrapposibilità tra i valori $\delta^{13}\text{C}$ di piante di tipo C_4 e organismi marini.



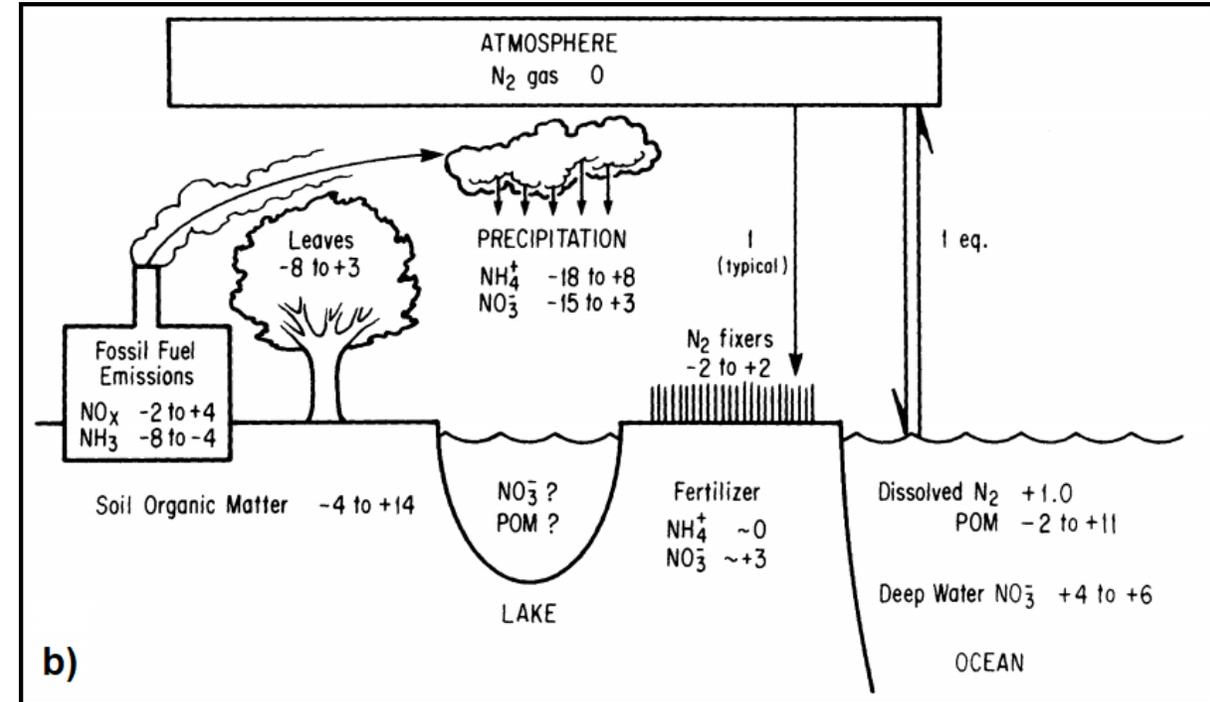
L'AZOTO

Oltre il 99% dell'**azoto** presente nell'ecosistema è rappresentato dal N_2 atmosferico o disciolto nell'oceano. Anche l'azoto ha due isotopi stabili, il più diffuso ^{14}N (99,63%) e il più raro ^{15}N (0,37%).

Le piante che acquisiscono l'azoto direttamente dall'atmosfera avranno un rapporto isotopico $^{15}N/^{14}N$ relativamente basso, vicino ai valori di azoto dell'aria, che si aggira intorno a +1‰.

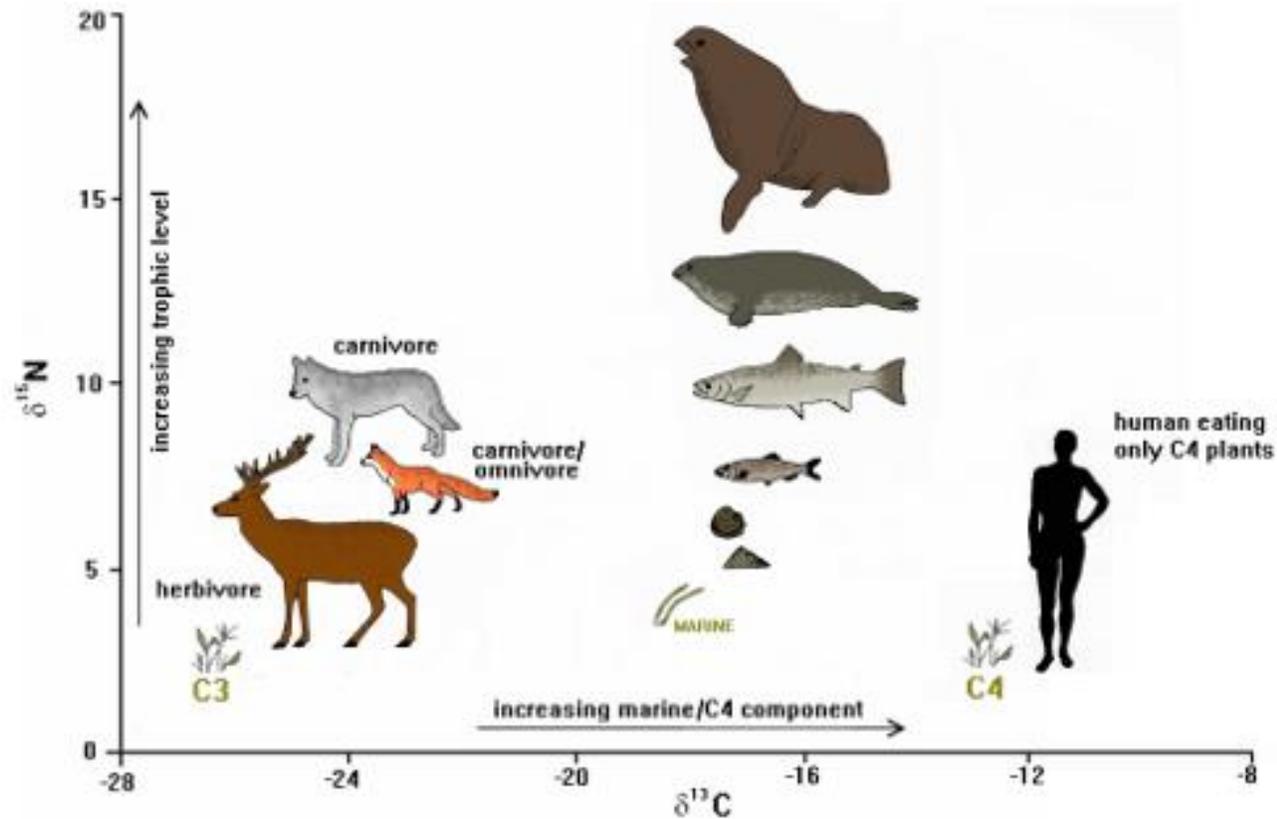
Le piante che fissano l'azoto dai nitrati del suolo e da ioni di ammonio, mostrano valori di $\delta^{15}N$ che variano tra 0 e +6‰.

L'azoto atmosferico ha valori estremamente bassi, quindi quasi tutti i composti risulteranno avere valori di $\delta^{15}N$ positivi.



Il rapporto isotopico dell'azoto fornisce informazioni sulla catena alimentare e distingue tra dieta terrestre e marina. Le risorse marine hanno un $\delta^{15}N$ più elevato.

VALORI MEDI DI $\delta^{13}\text{C}$ E $\delta^{15}\text{N}$ IN ORGANISMI MARINI E TERRESTRI



IMPORTANTE! E' requisito essenziale la misurazione del rapporto isotopico in specie animali e vegetali trovate in associazione ai reperti. Questo garantisce di definire una baseline del quadro ambientale di riferimento e meglio comprendere il consumo relativo delle specie animali e vegetali disponibili.

ULTERIORI APPLICAZIONI DEGLI ISOTOPI STABILI

- Informazioni sull'economia delle popolazioni;
- Informazioni sull'organizzazione sociale;
- Informazioni sui comportamenti (eventuali differenze legate al sesso o all'età);
- Ricostruzione del paleoambiente;
- Informazioni su contatti con altre popolazioni e spostamenti (isotopi stabili dello Stronzio).

STRONZIO: STUDIO DELLA MOBILITA' DELLE POPOLAZIONI

- L'unico isotopo naturale radiogenico dello Stronzio lo ^{87}Sr si forma per decadimento dell'isotopo instabile del rubidio ^{87}Rb , abbondante nel manto terrestre e legato all'età e alle caratteristiche delle rocce.
- Il rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ è indicativo della geologia di un luogo, infatti il cibo e l'acqua ingeriti dagli umani e dagli animali in esso residenti ne riflettono le caratteristiche.
- Lo Sr non è soggetto a frazionamento isotopico.
- La mobilità di un soggetto si analizza attraverso il rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dello **smalto dentario** che si forma durante i primi anni di vita, e delle **ossa** soggette invece a turnover chimico continuo. **In questo modo si ottengono informazioni di due momenti distinti della vita di un soggetto adulto: l'età di accrescimento e gli ultimi 5-10 anni di vita.** Il rapporto $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ omogeneo tra i due tessuti è indicativo di stanzialità, mentre una differenza nel segnale potrebbe rivelare lo spostamento tra due ambienti geochimici diversi.

EFFETTI DIAGENETICI

Conservazione della componente organica dell'osso



Collagene

è una proteina fibrosa costituita da catene polipeptidiche disposte fianco a fianco in lunghi filamenti.



Gli effetti diagenetici sul collagene preservato nei resti antichi sono tendenzialmente ridotti purchè la percentuale di collagene conservato superi il 5%, il rapporto isotopico biogenico nei tessuti tende a rimanere invariato.

Struttura del collagene

Proteina fibrosa

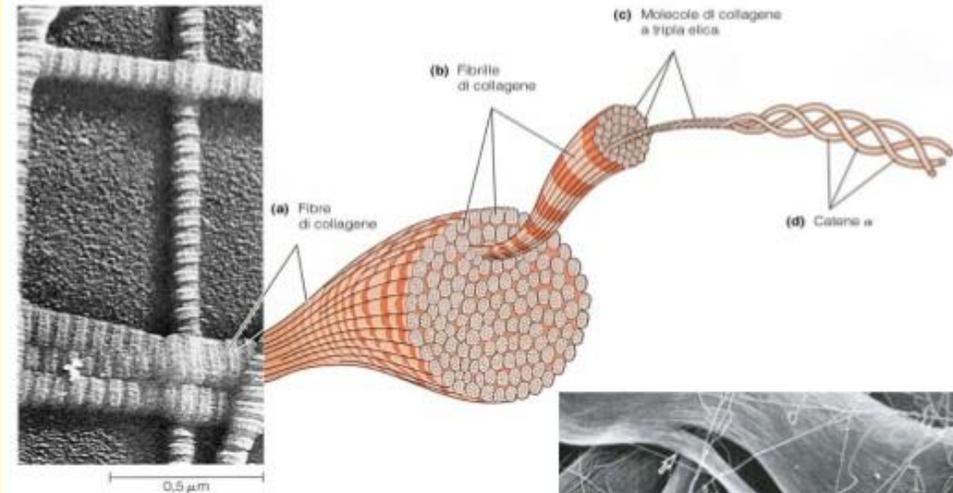
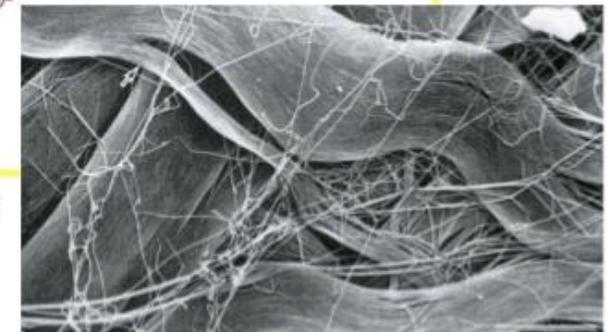


Figura 11-2

Il collagene, una proteina fibrosa, è prodotto da diversi tipi cellulari ma principalmente dai fibroblasti, dalle cellule muscolari e dalle cellule epiteliali. Si trova nella matrice extracellulare dei tessuti connettivi.



PREPARAZIONE DEL CAMPIONE E TECNICHE DI ANALISI

METODO DI ESTRAZIONE DEL COLLAGENE DALLE OSSA

1. Pulizia superficiale e rimozione del terreno;
2. Polverizzazione (per favorire il processo di digestione acida);
3. Digestione acida: i campioni vengono trattati con HCl e centrifugati (steps ripetuti più volte);
4. Essiccazione;
5. Pirolisi (per consentire il processo di cracking termico);
6. L'analisi isotopica si effettua su campioni gassosi, perciò il carbonio e l'azoto presenti nel collagene vengono trasformati in CO₂ e N₂ mediante apposite linee di combustione;
7. Infine i gas vengono analizzati da uno spettrometro di massa. I segnali elettrici prodotti dagli ioni vengono elaborati ottenendo uno spettro di massa.

Grazie
per
l'attenzione