



**Datación por análisis de racemización de aminoácidos:
su aplicación en la Península Ibérica**

*Amino acid racemization dating:
its application to the Iberian Peninsula*

Torres, T. ⁽¹⁾; Ortiz, J.E. ⁽¹⁾; Sánchez-Palencia, Y ⁽¹⁾; López-Cilla, I. ⁽¹⁾

(1) Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas y Energía, Universidad Politécnica de Madrid. Ríos Rosas 21 E28003 Madrid, España. trinidad.torres@upm.es, joseeugenio.ortiz@upm.es, yolanda.sanchezpalencia@upm.es, i.lopezcilla@upm.es

Resumen

Se presentan algunos resultados publicados de campañas de datación por racemización de aminoácidos (AAR) del Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular (LEB) de la Escuela de Minas y Energía de la Universidad Politécnica de Madrid, en localidades de la Península Ibérica, que se han seleccionado para mostrar la aplicabilidad del método a muestras de origen biológico muy diverso, foraminíferos, moluscos, crustáceos y mamíferos de diferentes medios geológicos: largos registros de cuenca, terrazas marinas y fluviales, depósitos eólicos y yacimientos en cuevas. Obviamente, no se citan dataciones singulares en muchas localidades. Cerca de veinte mil análisis validan el uso de este método. El método cubre un amplio rango temporal: desde subactual hasta 1.3 Ma; junto con la pequeña cantidad de muestra precisa para los análisis, permite replicar los mismos incluso sobre muestras valiosas de museos u otras instituciones. Asimismo, se puede emplear en determinaciones forenses. Cabe destacar que la pequeña cantidad de muestra necesaria para la realización de un análisis permite emplear un número representativo de muestras de cada nivel objeto de estudio, obteniendo información suficiente para que, mediante un análisis estadístico elemental, se puedan desechar valores anómalos.

Palabras clave: aminoácidos, racemización, 1.3 Ma, restos paleobiológicos.

Abstract

We present some published results of different amino acid racemization (AAR) dating campaigns performed by the Biomolecular Stratigraphy Laboratory of the Madrid School of Mines and Energy (Polytechnical University of Madrid) in many Spanish localities. The aim of this selection is to demonstrate the applicability



of this method to different types of samples, such as foraminifers, mollusks, crustacean, and mammals from different geological environments: long stratigraphical records, marine and fluvial terraces, eolian and cave deposits. Obviously, it seems impossible to mention single, or almost single samples of different localities. Near twenty thousand analysis validate this dating method. This method covers a wide time span: from sub-recent to 1.3 million years. The small sample weight necessary for a single analysis allows to replicate it even in highly valuable material from museums or other institutions. It can also be used in forensic determinations. It should be noted that the small amount of sample required to carry out an analysis allows the use of a representative number of samples of each level, being able to discard anomalous values through elementary statistical analysis.

Key words: amino acids, racemization, 1.3 Ma, palaeobiological remains.

1. Introducción

En los seres vivos los aminoácidos (concretamente los α -aminoácidos, que químicamente son los naturales) están presentes en todos los tejidos como aminoácidos libres, péptidos de cadena corta y larga o en forma de proteínas, como por ejemplo el colágeno. Usualmente se trata de L-aminoácidos (levógiros), es decir, presentan el grupo amino situado a la izquierda de la molécula espacial. La renovación celular mantiene esta forma (L) durante su vida. Tras la muerte del individuo, se produce el fenómeno conocido como racemización: el grupo amino de los L-aminoácidos va cambiando de posición y aparecen D-aminoácidos (dextrógiros). Este fenómeno es una reacción química reversible de primer orden que alcanza el equilibrio cuando la relación D/L alcanza la unidad. El grado de racemización se mide por la proporción de isómeros D/L que aumenta en función de la edad (y la temperatura), y, por consiguiente, puede usarse para determinar la geocronología. Una excepción la constituyen la dentina y el cristalino en los que esta renovación no se produce y hay racemización *in vivo*, lo que permite su aplicación forense (Ohtani y Yamamoto, 1991, 1992; Ohtani, 1995; Ohtani *et al.*, 2003).

La datación por análisis de racemización de aminoácidos (AAR en adelante), muestra cierto paralelismo con las dataciones radiométricas en el sentido de que hay un contenido inicial y un contenido final, cuya relación permite el establecimiento de una edad. Di-

cha edad, a la que se llega tras unos cálculos matemáticos en los que se realizan diversas correcciones, está bien lejos de ser una *edad absoluta*, siendo mucho más apropiado el término **edad numérica**. Incluso algunos autores (Taylor y Bar-Josef, 2014) definen las edades radiométricas como resultado de una convención.

De acuerdo con Murray-Wallace (1995) las incertidumbres o errores que afectan al resultado de AAR son (Fig. 1): error de laboratorio, error de la muestra y error tafonómico.

- El error de laboratorio: suele estar perfectamente acotado si se le supone al mismo un modus operandi bien establecido. No obstante, se han detectado errores garrafales en pretratamiento de muestras de *H. neanderthalensis* de la Cueva del Sidrón (Asturias) para su datación por C-14, que la racemización de aminoácidos y posteriores dataciones por C-14 corrigieron (Torres *et al.*, 2010).
- Error de la muestra: en el caso de la AAR tiene mucha importancia ya que la velocidad de racemización depende del género, incluso la especie, de la que proviene. También se incluyen en este apartado procesos de mezcla de carácter sin sedimentario o cuasi. Un caso típico está relacionado con la actividad bioturbadora de muchos organismos. Valga como ejemplo el que producen los ejemplares adultos de berberecho (*Cerastoderma*

sp.) que bioturban los 3 cm superiores de sedimento (Flach, 1996), comprometiéndolo el significado de muestreo de alta resolución. Para datación AAR se suelen escoger taxones que sean abundantes en las localidades de estudio para poder establecer cronologías comparables y fiables (p.ej. el bivalvo *Glycymeris nummaria* en depósitos marinos levantados del Mediterráneo). Cuando estos taxones no están disponibles y se analizan otros, se recurre a la **racemización equivalente** comparando los valores de racemización con los obtenidos en estaciones en las que ambos taxones aparecen de forma conjunta. Para sedimentos terrestres se suele trabajar a nivel de familia (Helicidae) y en el caso de mamíferos se considera, es una simplificación, que el colágeno tiene características comunes para las diferentes especies.

- Error tafonómico: es el más complicado de establecer y se hace más grave cuanto más antigua es la muestra. Se puede

tratar de contaminación reciente de sedimentos antiguos, o procesos de re-sedimentación que transportan restos paleobiológicos a ambientes sedimentarios más modernos, lo que proporcionaría una edad incorrecta. Un caso típico se da en yacimientos en cueva en los que materiales se sitúan en posición derivada bien sea por transporte mecánico o acción animal; un buen ejemplo son las excavaciones de oseras. También en cuevas los procesos de calentamiento: hogares e incluso hornos de cal, dan como resultados cálculos de edad anómalos que no se corresponden a la edad real del material ya que la temperatura acelera el proceso.

Cabe resaltar que los primeros trabajos en los que la AAR se aplicó para datar localidades del Cuaternario se remontan a la década de 1970, destacando: Bada y Protsch (1973), Helfman y Bada (1976), Wehmiller (1984), Bada (1985) y Goodfriend y Meyer (1991) entre una multitud de trabajos publicados.

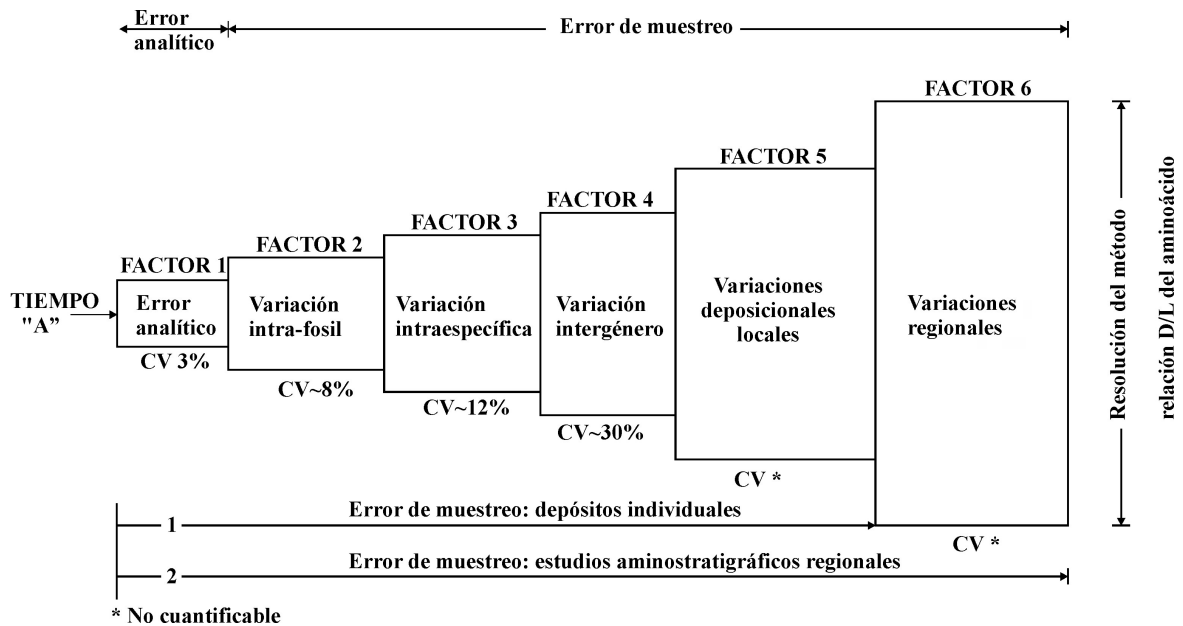


Figura 1. Factores de error que influyen en los resultados de los análisis de racemización de aminoácidos (modificado de Murray-Wallace, 1995).

Figure 1. Sources of error that have influence in the amino acid racemization results (modified from Murray-Wallace, 1995).

2. Metodología

2.1. Principios del método

Los aminoácidos más comunes son: ácido aspártico (**Asp**), alanina (**Ala**), arginina (**Arg**), cisteína (**Cys**), ácido glutámico (**Glu**), glicina (**Gly**), histidina (**His**), isoleucina (**Ile**), leucina (**Leu**), lisina (**Lys**) metionina (**Met**), fenilalanina (**Phe**), prolina (**Pro**), serina (**Ser**), treonina (**Trh**), triptófano (**Try**), tirosina (**Tyr**) y valina (**Val**). Se han resaltado **en negrita** aquellos con los que habitualmente determinamos en el Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular (LEB). Todos tienen un centro quiral, la isoleucina dos, en el que el grupo amino (NH_2) puede rotar en el proceso denominado racemización (epimerización en el caso de la isoleucina) que no es más que un proceso químico dependiente del tiempo y la temperatura, de aquí su empleo como herramienta geocronológica. No obstante, debido a su dependencia de la temperatura, solo son comparables los resultados de zonas con una historia térmica similar que se asume de su temperatura media anual.

Se trata de un método calibrado, es decir, que para definir los algoritmos de cálculo de edad se precisa disponer de edades independientes: ^{14}C , U/Th, ESR, TL, OSL, etc (Figs 2-4). La mala elección de estas dataciones de referencia puede llevar a que las edades AAR obtenidas resulten erróneas (García-Alonso *et al.*, 1996; Ortiz *et al.*, 2006b).

2.2. Toma de muestras en el campo.

No son precisas precauciones excesivas: bolsas de plástico bien etiquetadas donde se introducirán las muestras de macrofósiles o las de sedimento. En el caso de macrofósiles es conveniente preservarlos de contactos manuales excesivos, no consolidarlos y un proceso de limpieza somero ya que su estado *in situ* da buena información sobre las posibilidades de obtener un buen resultado. En el caso de muestras de sedimento es preferible, si se

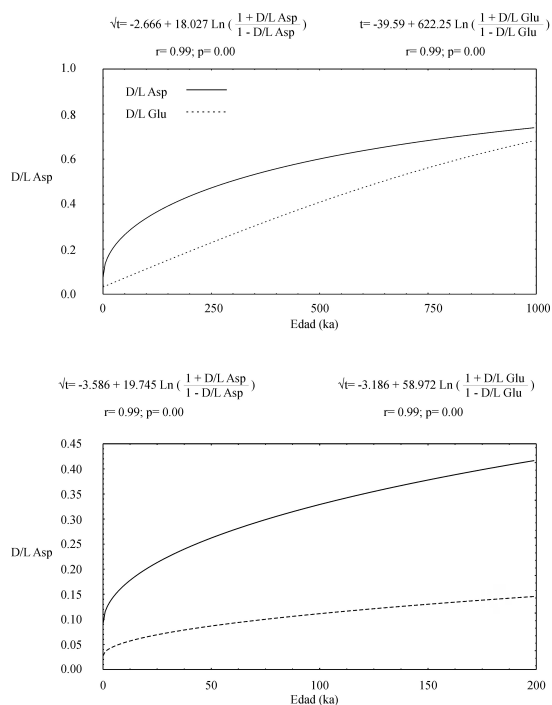


Figura 2. Algoritmos de cálculo de edad del Pleistoceno y de los últimos 200 ka para valores de racemización del ácido aspártico y glutámico de ostrácodos de la zona central y sur de la Península Ibérica (modificado de Ortiz *et al.*, 2004a).

Figure 2. Age calculation algorithms for Pleistocene and the last 200 ka of aspartic acid and glutamic acid racemization values in ostracode samples from central and southern Spain (modified from Ortiz *et al.*, 2004a).

trata de muestras de sondeos, envolverlos previamente en lámina de aluminio. Es fundamental anotar las coordenadas del sitio, referencia topográfica y nombre de la institución. Los materiales más favorables para la datación por AAR son: dientes, conchas de gasterópodos y bivalvos, valvas de ostrácodos y foraminíferos, y los ambientes sedimentarios son más propicios con cavidades kársticas, terrazas fluviales, terrazas de tobas calcáreas, sedimentos lacustres, de lagoon costero y de niveles marinos, entre otros.

2.3. Preparación física de las muestras

Las muestras de macrofósiles en el laboratorio se limpian primero con agua corriente y se dejan secar al aire protegidas del polvo. Si

tienen adherencias naturales: concreciones, organismos cementantes, etc., se eliminan usando una broca con corona de diamante. En algún caso puede ser preciso un ataque ácido (HCl) diluido más o menos prolongado y la eliminación de las capas más externas, periostraco, con una lijadora de diamante. De los moluscos se obtiene un disco de unos 4mm de diámetro en la zona del umbo en pelecípodos y en la última espira en gasterópodos.

Si la muestra corresponde a elementos dentarios u óseos, se extrae una pequeña muestra de polvo de hueso o dentina. La perforación realizada con una microfresa de diamante es casi imperceptible y no altera el valor científico del fósil. En la actualidad se está poniendo a punto realizar datación AAR en esmalte y, en este caso, la afección de la pieza es netamente mayor.

Si se trata de obtener microfósiles (p.ej. ostrácodos, foraminíferos, carofitas), una porción de la muestra de sedimento, una vez bien seca al aire, se dispersa en agua, en ocasiones se adiciona una pequeña cantidad de H_2O_2 , y se tamizan en húmedo a $63\mu m$. El rechazo del tamiz se seca y se guarda en cajitas de PVC convenientemente identificadas. El testigo de muestra sin lavar se archiva en la Litoteca informatizada del LEB por si se requiere su estudio posterior.

El residuo se mira a la lupa y con aguja emangada se van retirando los microfósiles, que de forma individual son sumergidos durante 3 horas en H_2O_2 .

2.4. Preparación química de las muestras

Una vez seleccionadas las muestras a analizar quedan registradas en el cuaderno de laboratorio, que también recoge cualquier incidencia durante el proceso analítico.

Las muestras se pesan (20 mg) en dentina hueso, (5-20 mg) en concha de molusco, una valva de ostrácodo o un foraminífero. Se les

añade HCl 7N y se las mantiene 20 horas en viales sellados con atmósfera de N_2 a $100^\circ C$. El objeto de este ataque es hidrolizar los péptidos, polipéptidos y proteínas para que liberen los aminoácidos. En el caso de diente/hueso se realiza una diálisis previa de la muestra a través de una membrana de 3500 Da de tamaño de poro con el fin eliminar aminoácidos libres y péptidos en los que los aminoácidos racemizan a una velocidad mayor que los que están en las moléculas de colágeno.

Una vez finalizada la hidrólisis, las muestras se evaporan y tras adicionar una pequeña cantidad de HCl se colocan en la bandeja del muestreador automático de un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) que automáticamente realiza el análisis que es posteriormente interpretado. En la primera instalación del LEB los análisis se realizaban en cromatógrafo de gases (5890 de Agilent) que requerían un engorroso paso previo de derivatización. Para una detallada descripción de la metodología analítica se remite a Ortiz *et al.* (2002, 2004a) y Torres *et al.* (2014a). El sistema de preparación de muestras está ampliamente certificado (el LEB está en la Red de Laboratorios de la CAM con número 292).

Algunos autores (Penkman *et al.*, 2008) preconizan el uso de una solución de NaOCl para el blanqueo previo de las muestras eliminando los aminoácidos intercrystalinos de la matriz orgánica del esqueleto, concha o esqueleto, y así uniformizar resultados.

3. Rango temporal de aplicación del método

Dado que la cinética de racemización sigue una curva parabólica, se han desarrollado diversos algoritmos de cálculo de edad calibrados para diferentes intervalos temporales.

Con el algoritmo general se alcanzan edades de hasta 1.3 Ma para la Península Ibérica (Torres *et al.*, 1997, 2020a; Ortiz *et al.*, 2004b, 2006a) (Fig. 2). Cabe resaltar que en zonas con una temperatura más bajas se pueden alcanzar edades más antiguas, como en sondeos

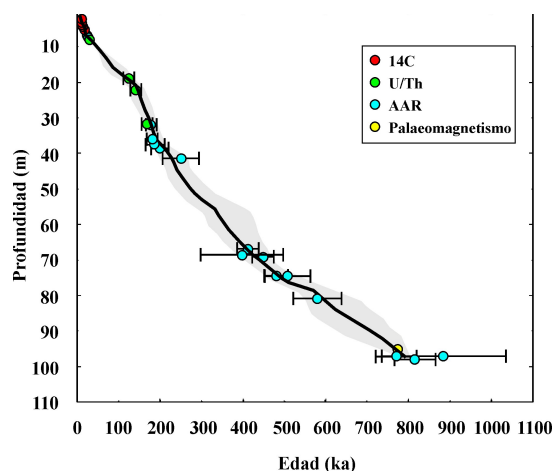


Figura 3. Modelos bayesianos edad-profundidad para el sondeo de Padul construido usando el paquete "Bacon 2.3.7" del software R (Blaauw and Christen, 2011). La línea oscura representa el ajuste óptimo del modelo y el área gris representa el 95% de intervalo de confianza (modificado de Ortiz *et al.*, 2004b; Torres *et al.*, 2020a).

Figure 3. Bayesian age-depth model established for the Padul record constructed using the software R-code package "Bacon 2.3.7" (Blaauw and Christen 2011). The black line indicates the single best model based on the weighted mean age for each depth, and the grey area shows 95% confidence intervals (modified from Ortiz *et al.*, 2004b; Torres *et al.*, 2020a).

perforados en el fondo del mar o en Alaska (Kaufman, 1992; Kaufman *et al.*, 2003; West *et al.*, 2019). Sin embargo, en zonas con una historia térmica más alta, el límite del método es más bajo, como en las Islas Canarias (Ortiz *et al.*, 2006b). En series largas, el análisis bayesiano de las edades ha resultado de inmensa utilidad (Fig. 3) (Ortiz *et al.*, 2004b; Torres *et al.* 2020a).

Para muestras de edades intermedias, el algoritmo funciona perfectamente, aunque en muestras marinas es complicado discriminar a nivel sub-estadios isotópicos marinos (MIS).

Para muestras del Holoceno- Pleistoceno final, se han desarrollado algoritmos específicos para zonas concretas calibradas con algunas dataciones por ^{14}C (Ortiz *et al.*, 2009a, 2015). Este sistema tiene la ventaja de poder discriminar edades radiométricas "fantasma" (*ghost ages*), es decir, que no se correspon-

den con la edad de la serie estratigráfica datada o el nivel cultural. En cualquier caso, las dataciones sistemáticas AAR permite revelar cambios en la velocidad de sedimentación o la presencia de inconformidades o hiatos (Torres *et al.* 2020a, Ortiz *et al.* 2021) (Fig. 4). Las edades más recientes que se han llegado a determinar con moluscos y ostrácodos con este método son del último milenio.

Por otro lado, dado que la dentina no se renueva en la vida de un individuo, se produce racemización *in vivo* el análisis de las tasas de racemización del ácido aspártico, ha permitido conocer edades de muerte y aplicarlo en determinaciones forenses (Fernández *et al.*, 2009).

4. Ejemplos en el territorio ibérico

Registros largos. Bajo este epígrafe se agrupan series estratigráficas que cubren un intervalo temporal importante. En ellas las dataciones AAR se han realizado sobre muestras de ostrácodos. Como ejemplo se incluyen las series de la turbera de Padul (Fig. 3; Or-

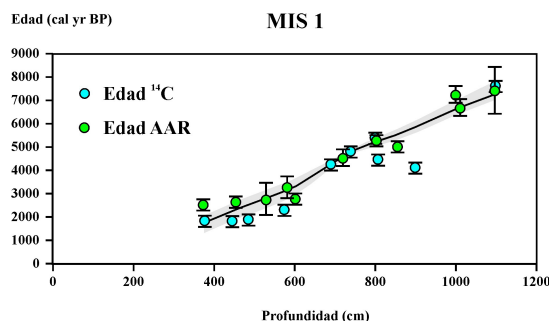


Figura 4. Modelo bayesiano edad-profundidad para el registro Holoceno de Cartagena construido usando el paquete "Bacon 2.3.7" del software R (Blaauw and Christen, 2011). La línea oscura representa el ajuste óptimo del modelo y el área gris representa el 95% de intervalo de confianza (modificado de Ortiz *et al.*, 2021).

Figure 4. Bayesian age-depth model established for the Holocene record of Cartagena constructed using the software R-code package "Bacon 2.3.7" (Blaauw and Christen 2011). The black line indicates the single best model based on the weighted mean age for each depth, and the grey area shows 95% confidence intervals (modified from Ortiz *et al.*, 2021).

tiz *et al.*, 2004b; Torres *et al.*, 2020a), de la Depresión de Guadix-Baza (Fig. 5; Ortiz *et al.*, 2004a, 2006a) y de la marjal de Pegó (Torres *et al.* 2014b).

Registros largos discontinuos. Fundamentalmente se trata de depósitos en terrazas diversas:

- Terrazas marinas de la costa mediterránea de España, Italia, Francia, Marruecos, Túnez y Creta (Hearty *et al.*, 1986; Hearty, 1987; Torres *et al.*, 2000a, 2016; De Santis *et al.*, 2018) datadas a partir de muestras de *Glycymeris*, aunque se dispone de una amplia “amino biblioteca” de otras especies a las que hay que recurrir para datación cuando no hay *Glycymeris*. En estas localidades se recurrió para el calibrado a dataciones U/Th en corales y alguna de ^{14}C en moluscos para edades recientes.
- Terrazas fluviales de la cuenca del Tajo (Panera *et al.*, 2011, 2014). Estos depósitos han sido siempre conflictivos y sus edades se atribuyeron a través de la geomorfología o la arqueología. Aunque en terrazas con sedimentos gruesos de naturaleza cuarzosa, la búsqueda de ostrácodos en niveles fangosos puede llegar a ser fructífera, aunque trabajosa por su escasez. En algún caso se han datado restos de vertebrados.

- Terrazas fluviales con niveles de tobas calcáreas o travertinos (Fig. 6; Torres *et al.*, 1994, 2005; Ortiz *et al.*, 2009b; Sancho *et al.*, 2015). Poseen niveles fangosos con extrema abundancia de restos de fauna: moluscos y vertebrados. Las edades AAR de terrazas de la zona central de la Península Ibérica (ríos Trabaque, Escabas, Guadiela, Henares, Dulce) se calibraron a partir de dataciones radiométricas ^{14}C y U/Th comprendidas entre 10 ka y 300 ka (Torres *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2009b).

- Depósitos eólicos (Ortiz *et al.*, 2006b; Yanes *et al.*, 2007). Son frecuentes los gasterópodos terrestres susceptibles de datar mediante AAR, permitiendo la correla-

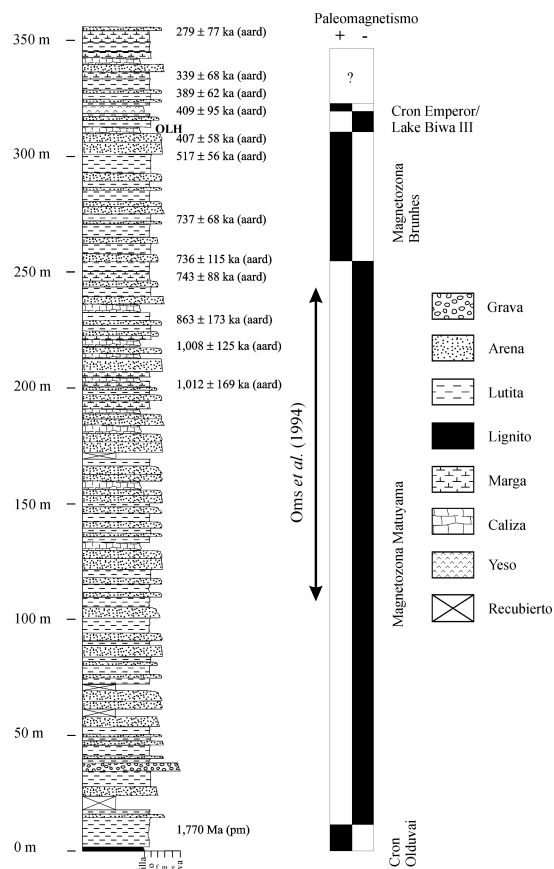


Figura 5. Secuencia estratigráfica tipo del Pleistoceno inferior y medio de la Cuenca de Guadix-Baza con la cronología (modificado de Ortiz *et al.*, 2004a, 2006a).

Figure 5. Stratigraphic section of lower and middle Pleistocene of the Guadix-Baza Basin with the chronological scale (modified from Ortiz *et al.*, 2004a, 2006a).

ción de depósitos distantes y sin conexión estratigráfica.

Registros cortos. se tratan, fundamentalmente, de dataciones de sondeos que reconocen los registros holocenos de Almenara (Castellón), Cartagena y Mazarrón (Fig. 4) (Blázquez *et al.*, 2017; Ortiz *et al.*, 2015, 2020; Torres *et al.* 2018, 2020b, 2022). Fundamentalmente se trata de rellenos de lagoón costeros, explorados mediante sondeos cortos. El calibrado se realizó mediante dataciones radiométricas comprendidas entre 27 ka y actuales de Padul, Cartagena y Bañolas (Ortiz *et al.*, 2015).

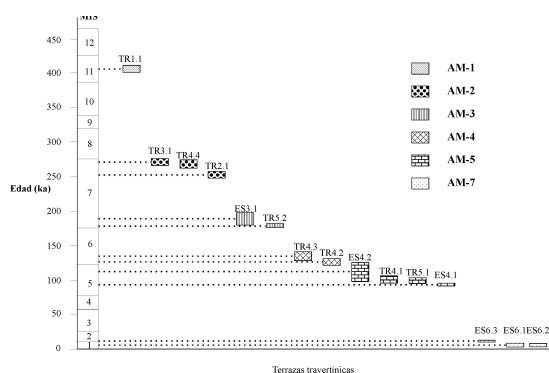


Figura 6. Aminoestratigrafía y aminocronología de terrazas travertínicas depositadas en la zona de Priego (España central) a partir del análisis de valvas de ostrácodo *Herpetocypris reptans* (modificado de Ortiz *et al.*, 2009b).

Figura 6. Aminostratigraphy and aminochronology of tufa fluvial deposits near Priego (Central Spain) based on datings of ostracode valves belonging to *Herpetocypris reptans* (modified from Ortiz *et al.*, 2009b).

Registros en cuevas. Los registros en cuevas, fundamentalmente de vertebrados (Fig. 7) (Torres *et al.*, 2000b, 2010, 2014a; Canoira, 2003; Daura *et al.*, 2015) y concheros de moluscos del norte de la Península Ibérica (Ortiz *et al.*, 2009a, 2015) suelen aparecer sin contexto estratigráfico, o al menos dudoso debido a procesos de relleno/excavación, di-

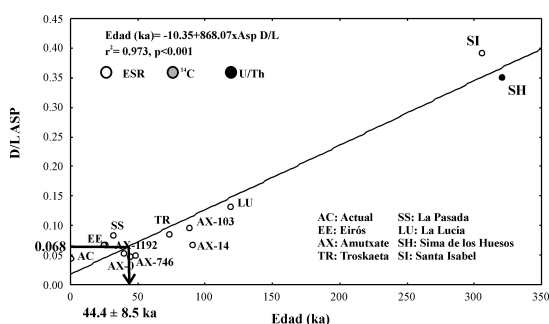


Figura 7. Algoritmo de cálculo de edades de muestras de dentina aplicable al colágeno de dientes vertebrados fósiles con la edad de los restos de *H. neanderthalensis* de la Cueva de El Sidrón (modificado de Torres *et al.*, 2010, 2014b).

Figure 7. Age-calculation algorithm of dentine samples applied to collagen of fossil teeth, showing the age of *H. neanderthalensis* remains from El Sidrón Cave (modificado de Torres *et al.*, 2010, 2014b).

fíciles de dilucidar. Las dataciones AAR sobre dentina han permitido establecer cronologías fiables como en la Sima de los Huesos (Atapuerca, Burgos), El Sidrón (Asturias) o Pinilla del Valle (Madrid) (Torres *et al.*, 2014a).

5. Resumen y Conclusiones

Se puede concluir que la Datación por Race-mización de Aminoácidos es una técnica bien establecida, fiable y ampliamente demandada. Cubre un rango temporal de 1,3 Ma para la Península Ibérica, y zonas allende fronteras con similares historias térmicas, proporcionando información cronológica en depósitos difícilmente datables por otros métodos. No obstante, el rango preferente (con menor indeterminación) de datación en la Península Ibérica se sitúa entre 1,3 Ma y 500 años mientras que en las Islas Canarias el límite estaría en ca. 350 ka. Las comparativas son válidas para zonas que sufrieron similares oscilaciones de temperatura a lo largo del Pleistoceno, estimándose la similitud mediante la temperatura media actual (*Current mean annual temperatura-CMAT*). Así historias térmicas muy distintas o algunos procesos, especialmente el calentamiento artificial de las muestras (hogares fuegos, etc.), dan lugar a edades fuertemente anómalas.

Este método admite una enorme variedad de tipos de muestras biológicas fósiles y existen posibilidades poco exploradas: foraminíferos y depósitos estalagmíticos. En el caso de las muestras biológicas se datan los aminoácidos que forman parte de la matriz orgánico-mineral como proteínas, péptidos y aminoácidos libres, mientras que en los depósitos litogénicos en cuevas (estalactitas, estalagmitas y coladas) se analizan los aminoácidos procedentes de la rizosfera.

Como ventajas importantes de este método de datación, es que (a) el pequeño tamaño de las muestras que se requiere permite datar ejemplares valiosos con un deterioro mínimo; y (b) los análisis automatizados en HPLC permiten la repetitividad de resultados. Por últi-

mo, la determinación y cuantificación de todos los aminoácidos de las muestras permite detectar si existe contaminación por aminoácidos recientes (p.ej. la presencia de elevados contenidos de serina).

6. Agradecimientos

El Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas, fue creado en 1992 a partir de fondos generados por una serie de Proyectos Europeos (BIOCLIM y PADAMOT) y de la Empresa Nacional de Residuos Radiactivos S.A (ENRESA) con la misión de darles soporte cronoestratigráfico. También se ha financiado con proyectos del Plan Nacional de Investigación recibió a calificación de Laboratorio Reconocido de la Comunidad de Madrid (Red-Lab 232) y está incluido en una red internacional de laboratorios que realizan continuos ejercicios de intercalibrado de sus métodos y sistemas analíticos. Los autores agradecen los valiosos comentarios de los Profs. Policarp Hortolà y M^a Angeles Perucha.

7. Referencias

- Bada, J.L. (1985). Amino acid racemization dating of fossil bones. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 13, 241-268. <https://doi.org/10.1146/annurev.ea.13.050185.001325>
- Bada, J. L., Protsch, R. (1973). Racemization reaction of aspartic acid and its use in dating fossil bones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(5), 1331-1334. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.5.1331>
- Blaauw, M., Christen, J.A. (2011). Flexible paleoclimate age-depth models using an autoregressive gamma process. *Bayesian Anal.* 6, 457-474. <https://doi.org/10.1214/11-BA618>.
- Blázquez, A. M., Rodríguez-Pérez, A., Torres, T., Ortiz, J. E. (2017). Evidence for Holocene sea level and climate change from Almenara marsh (western Mediterranean). *Quaternary Research*, 88, 206-222. <https://doi.org/10.1017/qua.2017.47>
- Canoira, L., García-Martínez, M.J., Llamas, F.J., Ortiz, J.E., Torres, T. (2003). Kinetics of Amino Acid racemization (epimerisation) in the dentine of fossil and modern bear teeth. *International Journal of Chemical Kinetics*, 35(11), 576-591. <https://doi.org/10.1002/kin.10153>
- Daura, J., Sanz, M., Julià, R., García-Fernández, D., Fornós, J.J., Vaquero, M., Allué, E., López-García, J.M., Blain, H.A., Ortiz, J.E., Torres, T., Albert, R.M., Rodríguez-Cintas, A., Sánchez-Marco, A., Cerdeño, E., Skinner, A.R., Asmeron, Y., Polyak, V.J., Garcés, M., Arnold, L.J., Demuro, M., Pike, A.W.G., Euba, I., Rodríguez, R.F., Yagüe, A., Villaescusa, L., Gómez, S., Rubio, A., Pedro, M., Fullola, J.M., Zilhão, J. (2015). Cova del Rinoceront (Castelldefels, Barcelona): a terrestrial record for the Last Interglacial period (MIS 5) in the Mediterranean coast of the Iberian Peninsula. *Quaternary Science Reviews*, 114, 203- 227. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2015.02.014>
- De Santis, V., Caldara, M., Torres T., Ortiz, J.E., Sánchez-Palencia, Y. (2018). A review of MIS 7 and MIS 5 terrace deposits along the Gulf of Taranto based on new stratigraphic and chronological data. *Italian Journal of Geosciences*, 137, 349-368. <https://doi.org/10.3301/IJG.2018.02>
- Fernández, E., Ortiz, J.E., Pérez-Pérez, A., Prats, E., Turbón, D., Torres, T., Arroyo-Pardo, E. (2009). Aspartic acid racemization variability in ancient human remains: implications in the prediction of ancient DNA recovery. *Journal of Archaeological Science*, 36, 965-972. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2008.11.009>
- Fernández, E., Ortiz, J.E., Torres, T., Pérez-Pérez, A., Gamba, C., Tirado, M., Baeza, C., López-Parra, A.M., Turbón, D., Anfruns, J., Molist, M., Arroyo-Pardo, E. (2008). Mitochondrial DNA genetic relationships at the ancient Neolithic site of Tell Halula. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1, 271-273. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2007.10.009>
- Flach, E. C. (1996). The influence of the cockle, *Cerastoderma edule*, on the macrozoobenthic community of tidal flats in the Wadden Sea. *Marine Ecology*, 17 (1-3), 87-98. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1996.tb00492.x>
- García-Alonso, P. Hoyos, M. Llamas, J. Soler, V., Torres, T. (1996). Aminocronoestratigrafía e historia térmica de los depósitos cuaternarios de las Islas Canarias (España). Resultados preliminares de la Isla de Lanzarote. *Geogaceta*, 20, 502-505.
- Goodfriend, G.A., Meyer, V. R. (1991). A comparative study of the kinetics of amino acid racemization/epimerization in fossil and modern mollusk shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55, 3355-3367. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(91\)90493-0](https://doi.org/10.1016/0016-7037(91)90493-0)

- Hearty, P.J., 1987. New data on the Pleistocene of Mallorca. *Quaternary Science Reviews*, 6, 245-257. [https://doi.org/10.1016/0277-3791\(87\)90007-2](https://doi.org/10.1016/0277-3791(87)90007-2)
- Hearty, P.J., Miller, G., Stearns, C., Szabo, B.J., 1986. Aminostratigraphy of Quaternary shorelines in the Mediterranean basin. *Geological Society of America Bulletin*, 97, 850-858. [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(1986\)97<850:AOQSIT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1130/0016-7606(1986)97<850:AOQSIT>2.0.CO;2)
- Helfman P., Bada, J. L. (1976). Aspartic acid racemisation in dentine as a measure of ageing. *Nature*, 262, 279-281. <https://doi.org/10.1038/262279b0>
- Kaufman, D.S. (1992). Aminostratigraphy of Pliocene-Pleistocene high-sea-level deposits, Nome coastal plain and adjacent nearshore area, Alaska. *Geological Society of America Bulletin*, 104, 40-52. [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(1992\)104<0040:AOPPHS>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0016-7606(1992)104<0040:AOPPHS>2.3.CO;2)
- Kaufman, D.S., Cooper, K., Behl, R., Billups, K., Bright, J., Gardner, K., Hearty, P., Jokobbson, M., Mendes, I., O'Leary, M., Polyak, L., Rasmussen, T., Rosa, F., Schmidt, M. (2013). Amino acid racemization in mono-specific foraminifera from Quaternary deep-sea sediments. *Quaternary Geochronology*, 16, 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2012.07.006>
- Murray-Wallace, C. V. (1995). Aminostratigraphy of Quaternary coastal sequences in southern Australia—an overview. *Quaternary International*, 26, 69-86. [https://doi.org/10.1016/1040-6182\(94\)00048-A](https://doi.org/10.1016/1040-6182(94)00048-A)
- Ortiz, J.E., Torres, T., Delgado, A., Valle, M., Soler, V., Araujo, R., Rivas, M.R., Julià, R., Sánchez-Palencia, Y., Vega-Panizo, R. (2021). Bulk and compound-specific $\delta^{13}C$ and n-alkane indices in a palustrine intermontane record for assessing environmental changes over the past 320 ka: the Padul Basin (Southwestern Mediterranean realm). *Journal of Iberian Geology*, 47, 625-639. <https://doi.org/10.1007/s41513-021-00175-y>
- Ortiz, J.E., Gutiérrez-Zugasti, I., Torres, T., González-Morales, M., Sánchez-Palencia, Y. (2015). Protein diagenesis in *Patella* shells: implications for amino acid racemisation dating. *Quaternary Geochronology*, 27, 105-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.quageo.2015.02.008>
- Ortiz J.E., Torres, T., Delgado, A., Julià, R., Lucini, M., Llamas, F.J., Reyes, E., Soler, V., Valle, M. (2004b). The palaeoenvironmental and palaeohydrological evolution of Padul Peat Bog (Granada, Spain) over one million years, from elemental, isotopic, and molecular organic geochemical proxies. *Organic Geochemistry*, 35, 1243-1260. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2004.05.013>
- Ortiz, J.E., Torres, T., Delgado, A., Reyes, E., Díaz-Bautista, A. (2009b). A review of the Tagus river tufa deposits (central Spain): age and palaeoenvironmental record. *Quaternary Science Reviews*, 28, 947-963. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.12.007>
- Ortiz, J.E., Torres, T., Delgado, A., Reyes, E., Llamas, J.F., Soler, V., Raya, J. (2006a). Pleistocene palaeoenvironmental evolution at continental middle latitudes inferred from carbon and oxygen stable isotope analysis of ostracodes from the Guadix-Baza Basin (Granada, SE Spain). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 240, 535-561. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2006.03.008>
- Ortiz, J.E., Torres, T., González-Morales, M.R., Abad, J., Arribas, I., Fortea, F.J., García-Belenguier, F., y Gutiérrez-Zugasti, I. (2009a). The amino chronology of man-induced Shell middens in caves in Northern Spain. *Archaeometry*, 51, 123-139. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2008.00383.x>
- Ortiz, J.E., Torres, T., Julià, R., Delgado, A., Llamas, F.J., Soler, V., Delgado, J. (2004a). Numerical dating algorithms of amino acid racemization ratios from continental ostracodes. Application to Guadix-Baza basin (southern Spain). *Quaternary Science Reviews*, 23, 717-730. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2003.06.001>
- Ortiz, J.E., Torres, T., Llamas, F.J. (2002). Cross-calibrations of the racemization rates of leucine and phenylalanine and epimerization rates of isoleucine between ostracodes and gastropods over the Pleistocene in southern Spain. *Organic Geochemistry*, 33, 691- 699. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00041-4](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00041-4)
- Ortiz, J.E., Torres, T., Sánchez-Palencia, Y., Ros, M., Navarro, F., López-Cilla, I., Galán, L.A., Ramallo, S., Rodríguez-Estrella, T., Blázquez, A. (2020). Biomarkers in coastal marshlands: Environmental characteristics of the Mazarrón Basin during the Middle Pleistocene (MIS 7) and Holocene (MIS 1). *Organic Geochemistry*, 149, 104-117. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2020.104117>
- Ortiz, J.E., Torres, T., Sánchez-Palencia, Y., Ros, M., Ramallo, S., López-Cilla, I., Galán, L.A., Manteca, I., Rodríguez-Estrella, T., Blázquez, A., Gómez-Borrego, A., Ruiz-Zapata, B., Gil, M.J. (2022). Lipid biomarkers and metal pollution in the Holocene record of Cartagená Bay (SE Spain): Coupled natural and hu-

- man induced environmental history in Punic and Roman times. *Environmental Pollution*, 297, 118775. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118775>
- Ortiz, J. E., Torres, T., Yanes, Y., Castillo, C., Nuez, J. D. L., Ibáñez, M., Alonso, M. R. (2006b). Climatic cycles inferred from the aminostratigraphy and aminochemistry of Quaternary dunes and palaeosols from the eastern islands of the Canary Archipelago. *Journal of Quaternary Science: Published for the Quaternary Research Association*, 21, 287-306. <https://doi.org/10.1002/jqs.962>
- Ohtani, S., Yamamoto, K. (1991). Age estimation by measuring the racemization of amino acid in human dentin. *Journal of Forensic Science*, 36, 792-800. <https://doi.org/10.1520/JFS13089J>
- Ohtani, S., Yamamoto, K. (1992). Estimation of age from a tooth by means of racemization of an amino acid, especially aspartic acid-comparison of enamel and dentin. *Journal of Forensic Science*, 37, 1061-1067. <https://doi.org/10.1520/JFS13292J>
- Ohtani, S. (1995). Estimation of age from the teeth on unidentified corpses using the amino acid racemization method with reference to actual cases. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 16, 238-242. <https://doi.org/10.1097/0000433-199509000-00010>
- Ohtani, S., Ito, R., Yamamoto, T. (2003). Differences in the D/L aspartic acid ratios in dentin among different types of teeth from the same individual and estimated age. *International Journal of Legal Medicine*, 117, 149-152. <https://doi.org/10.1007/s00414-003-0365-8>
- Panera, J., Rubio-Jara, S., Sesé, C., Soto, E., Arnold, L.J., Duval, M., Demuro, M., Ortiz, J.E., Torres, T., Mercier, N., Barba, R., Yravedra J. (2014). The Middle Paleolithic site of Cuesta de la Bajada (Teruel, Spain): a perspective on the Acheulean and Middle Paleolithic technocomplexes in Europe. *Journal of Archaeological Science* 49, 556-571. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2014.06.003>
- Panera, J., Torres, T., Pérez-González, A., Ortiz, J. E., Rubio-Jara, S., Uribelarrea del Val, D. (2011). Geocronología de la Terraza Compleja de Arganda en el valle del río Jarama (Madrid, España). *Estudios geológicos*, 67, 495-504. <https://doi.org/10.3989/egeol.40550.204>
- Penkman, K. E. H., Kaufman, D. S., Maddy, D., Collins, M. J. (2008). Closed-system behaviour of the intra-crystalline fraction of amino acids in mollusc shells. *Quaternary Geochronology*, 3(1-2), 2-25. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2007.07.001>
- Sancho C., Arenas, C., Vázquez-Urbez M. Pardo G. Lozano, M.V., Peña-Monné J.L. Hellstrom, J., Ortiz, J.E., Osácar, M.C. Auqué, L., Torres, T. (2015). Climatic implications of the Quaternary fluvial tufa record in the NE Iberian Peninsula over the last 500 ka. *Quaternary Research*, 84 398-414. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2015.08.003>
- Taylor, R.E., Bar-Yosef, O. (2014). Radiocarbon Dating: An Archaeological Perspective (2nd ed.). Routledge. <https://doi.org/10.4324/9781315421216>
- Torres, T., Canoira, L., Cobo, R., Coello, F.J., García, P. García Cortés, A., Juliá, R., Llamas, J., Hoyos, M., Meyer, V. (1994). Aminoestratigrafía y aminozonación de los travertinos fluviales de Priego (Cuenca, España Central). *Geogaceta*, 16, 102-105.
- Torres, T. García-Alonso, P. Canoira, L. Llamas, J.F. (2000b). Aspartic Acid Racemization and Protein Preservation in the Dentine of European Bear Teeth in Perspectives in Amino Acids and Protein Geochemistry (Eds. G.A: Goodfriend, M.J. Collins, M.L. Fogel, S.A. Macko and J.F. Wehmiller) Oxford University Press N.Y. 349-355.
- Torres, T., García-Alonso, P., Canoira, L., Llamas, J.F., Ortiz, J.E. (2000a). Aminostratigraphy of two Pleistocene Marine Sequences from the Mediterranean Coast of Spain: Cabo de Huer-tas (Alicante) and Garrucha (Almería). In Perspectives in Amino Acids and Protein Geochemistry (Eds. G.A: Goodfriend, M.J. Collins, M.L. Fogel, S.A. Macko and J.F. Wehmiller) Oxford University Press N.Y. 263-278.
- Torres, T., Llamas, J. F., Canoira, L. García-Alonso, P., García-Cortés, A., Mansilla, H. (1997). Amino Chronology of the Lower Pleistocene deposits of Venta Micena (Orce, Granada, Andalusie, Spain). *Organic Geochemistry*, 26, 85-97. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(96\)00131-3](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(96)00131-3)
- Torres, T., Ortiz, J.E., Fernández, E., Arroyo-Pardo, E., Grün, R., Pérez-González, A. (2014a). Aspartic acid racemization as a dating tool for dentine: A reality. *Quaternary Geochronology*, 22, 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2014.02.004>
- Torres, T., Ortiz, J.E., García de la Morena, M.A., Llamas, J.F., Goodfriend, G. 2005. Ostracode-based aminostratigraphy and aminochemistry of a tufa system in central Spain. *Quaternary International*, 135, 21-33. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2004.10.021>

- Torres, T., Ortiz, J.E., Grün, R., Eggins, S., Valladas, H., Mercier, N., Tisnérat-Laborde, N., Juliá, R., Soler, V., Martínez, E., Sánchez-Moral, S., Cañaveras, J.C., Lario, J., Badal, E., Lalueza-Fox, C., Rosas, A., Santamaría, D., de la Rasilla, M., Fortea, J. (2010). Dating of the hominid (*Homo neanderthalensis*) remains accumulation from El Sidrón Cave (Piloña, Asturias, North Spain): an example of a multi-methodological approach to the dating of Upper Pleistocene sites. *Archaeometry*, 52, 680-705. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1475-4754.2009.00491.x>
- Torres, T., Ortiz, J. E., Martín-Sánchez, D., Arribas, I., Moreno, L., Ballesteros, B., Blázquez, A., Domínguez, A., Rodríguez-Estrella, T. (2014b). The long Pleistocene record from the Pego-Oliva marshland (Alicante-Valencia, Spain). *Geological Society, London, Special Publications*, 388, 429-452. <https://doi.org/10.1144/SP388.2>
- Torres, T., Ortiz, J. E., Sánchez-Palencia, Y. (2016). Amino acid epimerization dating between Aguas and Antas Rivers' mouths. *Comptes Rendus Geoscience*, 348(5), 398-407. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2015.12.004>
- Torres, T., Ramallo, S., Sánchez-Palencia, Y., Ros, M., Ortiz, J. E., Navarro, F., Cerezo, F., Rodríguez-Estrella, T., Manteca, I. (2018). Reconstructing human-landscape interactions in the ancient Mediterranean harbour of Cartagena (Spain). *The Holocene*, 28(6), 879-894. <https://doi.org/10.1177%2F0959683617752838>
- Torres, T., Ortiz, J. E., Sánchez-Palencia, Y., Ros, M., Navarro, F., López-Cilla, I., Galán, L.A., Ramallo, S.F., Rodríguez-Estrella, T., Blázquez, A. (2020b). The Pleistocene and Holocene records of the Mazarrón Basin (SE Spain). *Quaternary International*, 566, 256-270. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2020.03.019>
- Torres, T., Valle, M., Ortiz, J. E., Soler, V., Araujo, R., Rivas, M.R., Delgado, A., Julià, R., Sanchez-Palencia, Y. (2020a). 800 ka of Palaeoenvironmental changes in the Southwestern Mediterranean realm. *Journal of Iberian Geology*, 46(2), 117-144. <https://doi.org/10.1007/s41513-020-00123-2>
- Wehmiller, J. F. (1984). Relative and absolute dating of Quaternary mollusks with amino acid racemization: Evaluation, applications and questions. In *Developments in Palaeontology and Stratigraphy* (Vol. 7, pp. 171-193). [https://doi.org/10.1016/S0920-5446\(08\)70071-2](https://doi.org/10.1016/S0920-5446(08)70071-2)
- West, G., Kaufman, D.S., Muschitiello, F., Forwick, M., Matthiansen, J., Wollenburg, J., O'Regan, M. (2019). Amino acid racemization in Quaternary foraminifera from the Yermak Plateau, Arctic Ocean. *Geochronology*, 1, 53-67. <https://doi.org/10.5194/gchron-1-53-2019>
- Yanes, Y., Kowalewski, M., Ortiz, J.E., Castillo, C., Torres, T., de la Nuez, J. (2007). Scale and structure of time-averaging (age mixing) in terrestrial gastropod assemblages from Quaternary eolian deposits of the eastern Canary Islands. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 251 (2), 283-299. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2007.04.002>

Recibido el 23 de mayo de 2022
 Aceptado el 21 de septiembre de 2022