

Técnicas aplicadas en la preparación de un cráneo cuaternario de *Panthera pardus* (Linneo, 1758) de Ataun (cueva Allekoaitze, Guipúzcoa, España)

J. C. Corral

Biogearium S.C. – Museo de Ciencias Naturales de Álava. Siervas de Jesús, 24. 01001 Vitoria–Gasteiz.
corral.arroyo@gmail.com

RESUMEN

Se han aplicado diversas técnicas de preparación paleontológica para la conservación de un cráneo cuaternario de *Panthera pardus*, hallado en la cueva Allekoaitze (Ataun, Guipúzcoa, España). El tratamiento, que ha permitido eliminar recubrimientos carbonatados de roca y otros sedimentos adheridos a la superficie del fósil, consistió en una limpieza química inicial con hexametáfosfato sódico ((NaPO₃)₆), seguido de una preparación mecánica controlada y el uso de concentraciones bajas de ácido acético (CH₃COOH). Además de poner al descubierto importantes caracteres craneales, la preparación ha permitido la separación de la mandíbula que estaba unida al resto del cráneo por cemento carbonatado. La estabilización final, junto con las recomendaciones de manipulación y conservación del ejemplar fósil, ha permitido poner en manos de los investigadores este elemento patrimonial del Cuaternario guipuzcoano.

Palabras clave: Cuaternario, cueva, Guipúzcoa, paleontología, técnicas de limpieza y preparación

Techniques used in the preparation of a Quaternary skull of *Panthera pardus* (Linnaeus, 1758) from the Allekoaitze cave at Ataun (Guipúzcoa, Spain)

ABSTRACT

A combination of palaeotechniques was used for the conservation of a Quaternary skull of *Panthera pardus* found in the Allekoaitze cave at Ataun (Guipúzcoa, Spain). The treatment, which allowed the removal of calcium carbonate encrustations and cave soils from the bone surface, included an initial chemical cleaning with sodium hexametaphosphate ((NaPO₃)₆) followed by mechanical preparation and immersion in weak solutions of acetic acid (CH₃COOH). In addition to revealing important skull characters the preparation permitted the successful separation of the jaw, which was attached to the skull by a layer of carbonate cement. The final stabilization of the specimen, together with specific recommendations for its management and conservation, has provided researchers with access to this valuable Quaternary fossil from the province of Guipúzcoa.

Key words: cave, Guipúzcoa, palaeo-techniques, paleontology, Quaternary

ABRIDGED ENGLISH VERSION

Introduction

When preservers and restorers opt for any type of fossil preparation or invasive treatment they are seeking to stabilize the specimen and make it available for research or display without endangering either its physical integrity or scientific value. Moreover, they fully document the details of the techniques and materials used on the specimen (Fitzgerald, 1988).

Biostratigraphic and fossil-diagenetic processes such as disarticulation, fragmentation, transport and carbonate cementation, to name but a few, affect bone accumulations in caves and leave signatures, as may be seen in this specimen of *Panthera pardus*.

The most significant deterioration problems in Quaternary fossils derive from the bone material itself as the preserved collagen in fossils is highly reactive to fluctuations in temperature and humidity. Modern dried bones contain up to 25% collagen by weight, but in archaeological bone the amount is less, or even negligible in post-Pleistocene specimens (Hare, 1980). In addition to their collagen content, both biotic and abiotic factors affect bone conservation. Cave environments normally protect bones from decay, but when they are transferred to the surface the new ambient conditions can trigger different processes of degradation (López Mata, 2003).

We have used some techniques to shorten the preparation process and thus minimize the risk of damage during the restoration process. Conservation and handling guidelines are also given.

Materials and Methods

This exceptional fossil of *Panthera pardus* was collected from the surface within the Allekoaitze cave, near Ataun (Gipuzkoa, Spain). The location was written on the parietal bone and on the left jawbone (Figs 1A–B, 2A, H). The cave, which was formed in Lower-Cretaceous reef

limestones, functioned as a karst spring during the Quaternary, as witnessed by its speleothems and terrigenous deposits. Other fossils found in the cave include *Bos* sp., *Ovis aries*, *Capra pirenaica*, *Canis lupus* and scarce human remains (Altuna et al., 1995). The specimen in question is catalogued under accession number Allek (s/n), and is deposited in the Centro de Custodia de Materiales Arqueológicos y Paleontológicos de Gipuzkoa, Gobierno Vasco, Donostia – San Sebastián (Guipúzcoa, Spain).

As can be seen in Figure 2, the specimen was in quite good condition, although after careful examination some conservation problems were identified.

The technique

The condition of the fossil skull was good enough to allow initial wet chemical cleaning. Soil and loose sediment attached to the fossil were removed with water and a soft brush. The specimen was then immersed for a few minutes in an aqueous solution of sodium hexametaphosphate (2% w/v) to soften the hardened clay. Caliche and loose carbonate concretions were removed under a stereomicroscope using bamboo skewers, pin vices and scalpels. Finally the fossil was rinsed in abundant tap water.

Previous mechanical preparation shortens the number of acid immersions and therefore most of the hard matrix was mechanically removed either with a pneumatic air scribe or a miniature drill and diamond circular-saw blades. As these tools may damage the fossil easily, the work was done under a stereomicroscope and a padding support was used to prevent the formation of new cracks or the opening of pre-existing ones.

Subsequently the specimen was immersed in a 5% aqueous solution of acetic acid (CH_3COOH) (see Jeppsson et al., 1985), to which 0.1% w/v of tricalcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) was then added. For posterior immersions the acid concentration was changed to 10% v/v to accelerate the process. Before starting the acid treatment, the fragile areas around the incisors, the sectioned right canine and a longitudinal crack in the left canine were sealed with dental silicone to avoid any fragments being detached during preparation. After an initial four-hour bath the acid was neutralized by immersing the fossil in a 5% ammonium hydroxide (NH_4OH) solution and then rinsing it with tap water. Drying and the mechanical removal of loose rock fragments were required between each of the three acid baths. After each drying, a layer of Bedacril 122x (methyl methacrylate polymer) was applied to any newly exposed bone areas to protect them during subsequent acid baths.

Soluble salts (calcium acetate) may cause damage over time if the specimen is not kept in a suitable environment. Thus the fossil was desalinated by washing it in running tap water for 6 hours and then immersing it in three successive baths of deionized water for 48 hours each. It was then dried in four successive baths of water/ethanol 96%, progressively increasing the ethanol content.

The inorganic residue, which was deposited in the container of acid solution was screened in search of any detached bones and in this way we recovered the right molar M^1 .

Figures 3 and 4 show the specimen's appearance after preparation. As a result of this the jaw could be removed (Fig. 3G) to facilitate further anatomical studies. Hard matrix still remains inside the nostrils (Fig. 4), but its presence does not preclude the study of the fossil; on the contrary, it gives additional strength to the skull.

The bone surface of the Allekoaitze skull was consolidated with 5% w/v Paraloid B72 in toluene ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$) applied with a brush. In brittle zones such as the parietal area, alveoli, choanae and canines the proportion of dissolved solid was 10% w/v. Teeth and small skull fragments removed during the preparation process were re-adhered with Paraloid B72 adhesive.

Discussion on preparation treatments

Modern conservation practices advocate non-invasive procedures. Nevertheless, the minimum-intervention principle often finds itself in conflict with researchers' needs since both scientific and cultural values rest upon a thorough paleontological preparation. When biomolecular studies are planned in the future, however, non-invasive imaging techniques (X-ray CT) and minimal chemical intervention will be the watchword (Cnudde et al., 2006; Johnson, 1994; López Mata, 2003; Sutton, 2008).

Chemical treatments used to remove loose matrix from vertebrate fossils usually start with controlled cleaning, either with water, solvents (ethanol or acetone) or deflocculants such as sodium hexametaphosphate. When dealing with a hard carbonate matrix, on the other hand, preparation with organic acids becomes necessary. Both acetic and formic acids are weak acids that have been used in palaeontological laboratories for many years (Toombs and Rixon, 1959; Rixon, 1976; Jeppsson et al., 1985; Lindsay, 1987, 1995; Rutzky et al., 1994). At concentrations of 5–10% v/v aqueous acetic-acid solutions selectively dissolve the matrix and respect the phosphate bone microstructure, revealing delicate anatomical details of great importance for palaeobiological studies.

Rutzky et al. (1994) used an aqueous solution of formic acid (5% v/v) since it has greater capacity to dissolve carbonate, and fossil hydroxyapatite attack is prevented by saturating the solution with tricalcium diphosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (approximately 1 g/l of solution). Braillon (1973) also recommended the addition of tricalcium diphosphate (2.7 g/l) in aqueous acetic-acid solutions at a concentration of 15% v/v.

Both acid-treated specimens and fossils transferred from site to laboratory require the use of consolidants to strength and stabilize them. Among the requirements for consolidants and adhesives used for conservation are that they be harmless to the specimen, chemically stable, non-toxic to the user, of suitable mechanical strength, have a suitable glass-transition temperature (T_g) and be readily reversible (Keene, 1987). When dealing with dry fossil specimens, thermoplastic acrylic resins are regarded as the best option. A very stable resin for use in conservation is the co-polymer of ethyl methacrylate–methyl acrylate, known either as Paraloid B72 or Acryloid B72, which is readily soluble in toluene or acetone. Because of its excellent mechanical qualities, chemical resistance to atmospheric agents, T_g of approximately 40° C and low tendency to cross-link (i.e. good reversibility), this resin was chosen to consolidate the Quaternary fossil of *Panthera pardus*.

Conservation and handling guidelines

Due to their structure and mineral composition fossil teeth are particularly fragile and often develop cracks and enamel flaking when exposed to a sudden change in temperature (thermal shock).

Basic guidelines for curating geological collections recommend suitable storage conditions. Quaternary vertebrates require constant ambient conditions: temperature within a range of 16° – 22° C and relative humidity (RH) not below 40%, and when collagen is present 50% RH is recommended (Museums & Galleries Commission, 1993).

For this specimen the construction of a custom-made cradle support is also advisable to avoid contact between the upper and lower teeth series of the skull. The transmission of loads will lead once more to the breakage of incisor P₁, which lies in contact with the lower left canine C (see Fig. 4).

Conclusions

A suitable treatment of cleaning, preparation and consolidation, together with professional documentation practices, is a prerequisite to ensuring the stabilization and curation of fossil material.

The rapid, safe removal of Quaternary carbonate overgrowths from fossil specimens from caves is achieved by alternating mechanical and chemical preparation techniques. The addition of 0.1% w/v of tricalcium phosphate to aqueous solutions of acetic acid, such as those used by Jeppsson et al. (1985), ensures that fossil specimens will be less affected during immersion in acid. No conservation problems have been reported since the preparation of this specimen in 2005.

Introducción

Cada extracción de un resto fósil en una excavación paleontológica es el comienzo de un nuevo reto para el conservador-restaurador. El tipo de limpieza o preparación, y en qué grado se aplicará al espécimen, ha de sopesarse muy bien para adquirir la máxima información anatómica y a la vez posibilitar un uso seguro que no comprometa su conservación.

Los procesos biostratinómicos y fosildiagenéticos que han podido afectar a los elementos paleontológicos acumulados en cuevas son numerosos: desarticulación esquelética, el transporte por corrientes de agua, la fragmentación, la afección por recrecimientos carbonatados formados durante la generación de espeleotemas o el enterramiento en series detríticas, entre otros. En el cráneo de *Panthera pardus* aquí tratado, se observan el resultado de alguno de esos procesos.

Muchos de los principales problemas de deterioro de los fósiles cuaternarios vienen derivados de la propia naturaleza del material óseo; y su traslado desde un ambiente subterráneo a uno exterior puede desencadenar procesos de degradación, causados principalmente por variaciones en la humedad relativa y temperatura (López Mata, 2003). El contenido en materia orgánica preservada en los fósiles (principalmente colágeno) afecta a su conservación. En los vertebrados vivos, los huesos están compuestos en su mayor parte por una fase mineral rígida (75–80% del peso) formada por un conjunto de pequeños cristales de hidroxapatito, un entramado de fibras de colágeno, que proporcionan flexibilidad y resistencia al hueso, y una mezcla menor de compuestos orgánicos (Hare, 1980). El soporte estructural que proporciona el colágeno en los huesos secos actuales puede ser menor en restos arqueológicos o prácticamente inexistente en los denominados subfósiles (*sensu* Shelton y Johnson, 1995). En huesos fósiles más antiguos (anteriores al Pleistoceno) la microestructura del hueso está reforzada, o reemplaza-

zada, por minerales formados durante la diagénesis, y por ello la presencia de compuestos orgánicos es mucho menor o está completamente ausente (Hare, 1980).

También factores bióticos y abióticos afectan a la conservación de un resto óseo. El ambiente de depósito, la composición y textura mineral del depósito, procesos de compactación y fracturación, disolución de la fracción mineral, sustituciones mineralógicas, depósitos minerales, captación de sales presentes en el terreno, degradación biológica por microorganismos o raíces de plantas superiores, factores ambientales (humedad relativa y temperatura), el pH y el potencial redox (Eh) son determinantes para su conservación (Hare, 1980; López Mata, 2003).

Los tratamientos interventivos aplicados a un espécimen fósil están encaminados a prolongar su integridad física y funcional, y deben quedar completamente documentados, incluyendo las técnicas y materiales utilizados (Fitzgerald, 1988). La importancia de un registro de esta naturaleza, con imágenes previas y posteriores a la intervención, es grande si en un futuro fuera preciso hacer nuevos tratamientos o análisis biomoleculares.

La publicación de trabajos sobre técnicas de preparación paleontológica aplicadas a un espécimen concreto es poco frecuente en la literatura paleontológica. Aquí se describe e ilustra un flujo de técnicas que permite acortar el proceso de preparación, y por tanto se reduce el riesgo de deterioro que podría darse con tratamientos químicos prolongados. También se dan recomendaciones para su conservación.

Material y métodos

El excepcional fósil de *Panthera pardus* fue hallado en superficie en el interior de la cueva Allekoaitze. Esta pequeña cavidad, situada en el barrio de Lizarrusti de la localidad de Ataun (Gipuzkoa), es una de las numerosas cuevas existentes al pie del

monte Allekopikoa, en el sector guipuzcoano de la Sierra de Aralar (Etxeberria y Astigarraga, 1980; Altuna *et al.*, 1982). Sobre este macizo rocoso formado principalmente por barras de calizas arrecifales urgonianas del Cretácico Inferior, se ha desarrollado un importante modelado kárstico, incluyendo lapiazes y dolinas. Según Etxeberria y Astigarraga (1980), algunas de las cuevas allí existentes funcionaron como antiguas surgencias en tiempos pasados y, concretamente en Allekoaitze, son visibles distintas generaciones de espeleotemas con bastante arcilla en paredes y suelo. De esta cueva también procede un conjunto de restos fósiles de mamíferos (*Bos sp.*, *Ovis aries*, *Capra pyrenaica* y *Canis lupus*) y algunos restos humanos que fueron rescatados cerca de la entrada en una posterior excavación (Altuna *et al.*, 1995).

El espécimen fósil de *Panthera pardus*, catalogado como Allek (s/n), se encuentra depositado en el Centro de Custodia de Materiales Arqueológicos y Paleontológicos de Gipuzkoa, Gobierno Vasco, Donostia – San Sebastián (Guipúzcoa, España).

La técnica de preparación mecánica en fósiles ha sido tratada con detalle por Chaney (1989), Amaral (1994), May *et al.* (1994) y Wilson (1995). Para la preparación de este ejemplar se han utilizado equipos y herramientas manuales como cepillos suaves, agujas enmangadas, bisturíes, sierras circulares de diamante, un micropercutor neumático, un estereomicroscopio Olympus SZ30 con sistema óptico zoom, así como equipación de protección individual. Los tratamientos químicos utilizados para la eliminación de la matriz carbonatada y los depósitos minerales ajenos a la naturaleza del fósil han sido la limpieza controlada, en primer lugar, y después la preparación con ácidos orgánicos.

Cualquier proceso de limpieza comienza generalmente con la utilización controlada de agua y agentes tensioactivos, disolventes como alcohol etílico ($\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{OH}$), acetona ($\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_3$) o defloculantes. También se han empleado bajas concentraciones de ácidos orgánicos, como el ácido acético (CH_3COOH) o el ácido fórmico (HCOOH), para la eliminación de la roca matriz o de concreciones calcáreas superficiales sobre huesos fósiles (Lindsay, 1987; Rutzky *et al.*, 1994). Aunque este tipo de preparación exige un seguimiento controlado, los resultados obtenidos son muy buenos, ya que con concentraciones ácidas tamponadas del 5–10% (v/v) se produce una preparación selectiva que disuelve la matriz y respeta la microestructura fosfática del tejido óseo, revelando así delicados detalles anatómicos de gran importancia para estudios paleobiológicos posteriores.

Documentación sobre la condición inicial del espécimen

Previamente al comienzo de la preparación fue necesario recabar información destinada a identificar el ejemplar fósil y documentar su estado de conservación. Además se realizó un completo estudio diagnóstico, a simple vista y con el estereomicroscopio, para estimar las características físicas y condición del fósil, prestando atención a la suciedad, fracturas y grietas, posibles zonas de debilidad, partes ausentes, etc. Se desconocía si el espécimen había sido tratado anteriormente, aunque es muy posible que hubiera sido sometido a una limpieza previa tras su extracción del yacimiento.

El cráneo conservaba la mandíbula ubicada en posición normal, unida al resto del cráneo por un depósito centimétrico de roca de naturaleza carbonatada. Sobre la zona parietal del hueso aparecía escrito con tinta china “(Lizarrusti) Allek.” (Figs. 1A, 2A) y también estaba manuscrito el término “Lizarrusti” en la base de la hemimandíbula izquierda (Figs. 1B, 2H). Al considerar estas inscripciones carentes de valor histórico especial, no se adoptaron medidas especiales para su preservación durante la preparación. Como se aprecia en las fotos tomadas a la llegada al

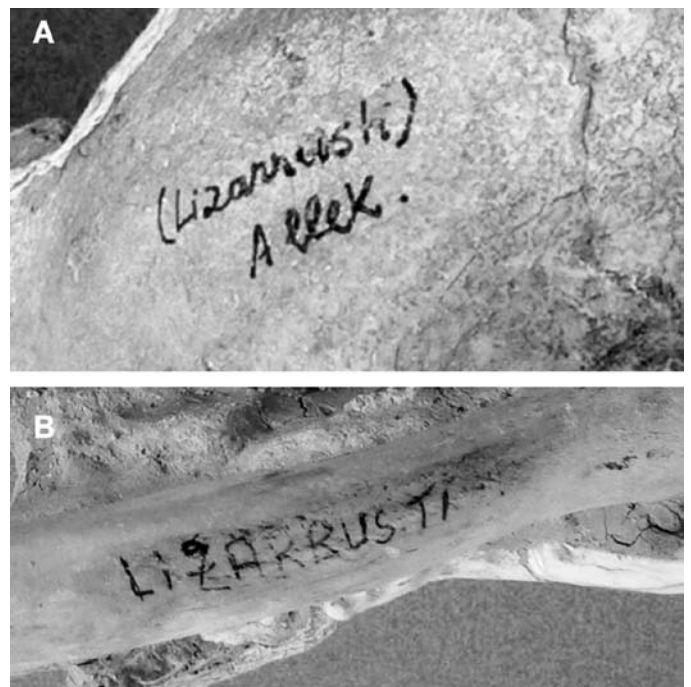


Figura 1. A–B, Siglas manuscritas escritas con tinta china sobre el hueso indicando su lugar de procedencia. A, sobre el parietal derecho; B, en la base de la mandíbula.

Figure 1. A–B, Names handwritten on the bone with Indian ink indicating the location of the fossil: A, on the right parietal; B, on the base of the jaw.

laboratorio (Fig. 2), el espécimen poseía en general un aspecto bastante sólido, aunque presentaba algunas grietas en algunos lugares donde el espesor del hueso era pequeño.

Además de unos depósitos superficiales de arcillas pardas, que al secar habían desarrollado grietas de retracción, tres tipos de depósitos pétreos recubrían la naturaleza ósea del cráneo. En primer lugar, presentaba una primera generación de carbonato cálcico duro, principalmente en el interior de la mandíbula y parte de las series dentales (espeleotema de hasta 1,5 cm de espesor). En algunos puntos sellaba fracturas, como en las zonas de unión del maxilar con el arco cigomático. El segundo tipo de depósito era una arenisca de grano fino y color beige con cemento carbonatado que recubría parte del anterior espeleotema. Esta arenisca recubría zonas exteriores del cráneo y había rellenado también cavidades internas del mismo (observable a través del foramen magnum, fosas nasales y las coanas). Además, había delgados depósitos de caliche sobre los dos depósitos descritos anteriormente que se extendían también sobre hueso limpio (por ej., maxilar derecho).

El estado general de conservación del resto fósil tras su extracción de la cueva era bastante bueno, aunque se observaban los siguientes desperfectos (ver Fig. 2):

- No conservaba ninguno de los arcos cigomáticos (Figs. 2A, B, F),
- la cresta sagital estaba rota en la parte occipital, posiblemente al retirar algún tipo de costra rocosa que la recubría (Figs. 2A, F),
- el proceso postorbital izquierdo estaba roto, observándose el relleno interno de arenisca (Figs. 2B, F),
- el hueso frontal izquierdo estaba perforado en varios puntos (Fig. 2B),
- la bulla timpánica derecha estaba agrietada y perforada (Figs. 2D, H),
- el canino superior derecho había sufrido una rotura reciente, conservándose la parte basal (Figs. 2A, C),
- el canino inferior derecho presentaba una rotura con signos de desgaste (Fig. 2E),
- el maxilar izquierdo presentaba una grieta en la zona alveolar del canino superior izquierdo (Figs. 2B, E, G),
- los incisivos presentaban fracturas longitudinales y transversales, algunas de las cuales estaban abiertas (Fig. 2E), y
- las ramas verticales de las mandíbulas (apófisis coronoides) estaban rotas en su parte superior y no se conservaban (Figs. 2A-B).

Técnica

El estado de conservación del material fósil del cráneo era lo suficientemente bueno como para permitir una limpieza química inicial por vía húmeda. Los restos de suciedad y el sedimento suelto adherido al hueso fósil se eliminaron con un cepillo de pelo blando en una cubeta con agua. Posteriormente, el espécimen se sumergió durante unos pocos minutos en una disolución desfloculante (hexametáfosfato sódico al 2% p/v) para eliminar las arcillas endurecidas. El caliche suelto y las concreciones carbonatadas no cementadas al hueso se retiraron por picado con ayuda de palillos de bambú, agujas de acero emangadas y un bisturí, controlando el proceso a través del estereomicroscopio. Este proceso de limpieza inicial se dio por concluido después de enjuagar el fósil con abundante agua de grifo.

Preparación mecánica y química combinada

La eliminación de la matriz se realizó por procedimientos mecánicos y químicos, siempre teniendo presente provocar la mínima afección al espécimen. Gran parte de la roca se arrancó mecánicamente con un percutor neumático, o en ocasiones con una pequeña sierra circular de diamante acoplada a un minitaladro. Con el fin de evitar la generación de nuevas grietas, o apertura de las preexistentes, se colocaron bases absorbentes (bolsas de arena y planchas de espuma de polietileno) debajo del fósil. Se usó el micropercutor de forma controlada, vigilando su avance con la ayuda del estereomicroscopio para evitar hacer marcas o ralladuras sobre el fósil. Toda esta actuación permitió acortar el número y tiempo de inmersiones en ácido durante la preparación química, que como ya se ha adelantado, presenta algunas ventajas respecto a una preparación únicamente mecánica.

Para la preparación química se utilizó inicialmente una disolución en agua de ácido acético al 5% v/v (ver Jeppsson *et al.*, 1985), tamponada en este caso con 0,1% p/v de difosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). En posteriores inmersiones solo se varió la concentración ácida (aumentándola al 10% v/v) para acelerar el proceso. Antes de introducir el fósil en la cubeta de preparación, se sellaron con silicona dental de molde las zonas consideradas frágiles (esto es, alrededor de los incisivos, el canino derecho seccionado y una grieta longitudinal en el canino izquierdo) para evitar posibles desprendimientos. Después de la primera inmersión de cuatro horas, se neutralizó el ácido sumergiendo el fósil en una disolución al 5% de amonio hidróxido (NH_4OH) en agua, y se aclaró después



Figura 2. A–H, Condición del cráneo de *Panthera pardus*, Allek s/n, antes de la preparación. A, vista lateral derecha; se señalan los daños observados en la cresta sagital, el frontal, el incisivo superior y la rama superior de la mandíbula. B, vista lateral izquierda; se señalan los daños observados en el proceso postorbital, el maxilar y la rama superior de la mandíbula. C, detalle de los caninos inferior y superior derechos; se señala la fractura del canino superior. D, detalle de las coanas; se señala la fractura y pérdida ósea en la coana derecha. E, vista anterior; se señala la fractura abierta en el maxilar, la fractura del canino inferior y una grieta en el tercer incisivo inferior. F, vista dorsal; se señalan los daños observados en el proceso postorbital izquierdo, la cresta sagital, y se resalta la ausencia de ambos arcos cigomáticos. G, detalle de los caninos izquierdos; se señala la fractura en el maxilar. H, Vista ventral; se señala la fractura y pérdida ósea en la coana derecha. Escalas en cm.

Figure 2. A–H, Condition of the skull of *Panthera pardus*, Allek s/n before preparation. A, right lateral view; the damage observed in the sagittal crest, the frontal bone, the upper incisor and the ramus of the jaw is indicated. B, left lateral view; the damage observed in the post-orbital process, the maxilla and the ramus of the jaw is indicated. C, detail of the upper and lower right canines; the fracture of the upper canine is indicated. D, detail of the choanae; a fracture and loss of bone in the right choana is indicated. E, anterior view; the open fracture of the maxilla, the fracture of the lower canine and a crack in the third incisor are indicated. F, dorsal view; the damage observed in the left post-orbital process and the sagittal crest is indicated, and the absence of both zygomatic arches are highlighted. G, detail of left canines; the fracture in the maxilla is indicated. H, ventral view; the fracture and loss of bone in the right choana are indicated. Scales in cm.

con agua de grifo. Posteriormente, se llevó a cabo un proceso de desalación para evitar que el crecimiento de sales en la disolución (por ej., acetato cálcico en forma de eflorescencias) provocase posibles descalcificaciones en la superficie del hueso durante el secado. Este proceso comenzó con un baño dinámico, dejando el resto fósil durante 6 horas en una cubeta con una corriente forzada de agua de grifo, y se completó posteriormente con tres baños estáticos sucesivos en agua desmineralizada de 48 horas cada uno.

El secado entre periodos de inmersión en la cubeta de ácido se realizó aplicando cuatro baños sucesivos de agua/etanol, incrementando cada vez el contenido de este último hasta acabar aclarándolo con etanol de 96°. Previamente se había valorado la posible afectación de la deshidratación causada por el alcohol sobre el hueso fósil, sin embargo, no se observaron daños inducidos por este tratamiento.

Antes de proseguir con la preparación química, se aplicó una capa de protección de Bedacril 122X (polímero de metacrilato de metilo) sobre el hueso descubierto por la solución ácida y en las zonas más frágiles. Acabado el ataque ácido, el espécimen se aclaró y volvió a secar con sucesivos baños de agua/etanol como anteriormente se ha descrito.

El residuo inorgánico depositado dentro de la cubeta de preparación fue revisado durante todo el proceso, tamizándose al final para coleccionar posibles restos óseos desprendidos. Así se recuperó el molar M¹ derecho que debía estar inicialmente recubierto por la matriz, o ligeramente insertado en su correspondiente alveolo, ya que su correspondiente zona alveolar se había preservado parcialmente e inicialmente estaba rellena de matriz. En total fue necesario aplicar tres baños ácidos, con los correspondientes episodios de secado y eliminación mecánica de fragmentos de roca suelta, para acabar de eliminar la mayor parte de matriz.

En las figuras 3 y 4 se puede ver el estado del espécimen después de la preparación. Como resultado de este proceso, la mandíbula pudo ser desarticulada del resto del cráneo (Fig. 3G), lo cual puede facilitar posteriores estudios anatómicos del ejemplar. En algunos lugares internos del cráneo, como las fosas nasales, aún han quedado restos de matriz (Fig. 4), pero su presencia no impide el estudio del fósil. Además, se ha considerado que contribuye a dar mayor solidez del conjunto.

Uso de consolidantes y adhesivos

El cráneo de Allekoaitze fue consolidado en su totalidad con Paraloid B72 (copolímero de etil-metacrilato y metil-acrilato: 70/30%) disuelto al 5% p/v en tolueno (C₆H₅CH₃). La aplicación fue realizada

con brocha, manipulando el fósil con cuidado, ya que generalmente la estructura queda debilitada después de una preparación con ácido. En aquellas zonas donde la apariencia del hueso fósil parecía más frágil (por ej., zona parietal, alvéolos, coanas y caninos) se aumentó la proporción de resina disuelta al 10% p/v.

Tres piezas dentarias y algunos pequeños fragmentos del cráneo se desprendieron durante el proceso de preparación, siendo recolocadas de nuevo con adhesivo Paraloid B-72. El registro detallado de la reconstrucción es el siguiente:

- *Canino inferior izquierdo C_i*; fue pegado por la grieta medial desarrollada durante la preparación. Se añadieron también unos pequeños rellenos pigmentados de masilla epoxi en la cara interna para reforzar estructuralmente el diente (Fig. 4),
- *incisivo superior izquierdo I³*: rotura limpia, fue unido por la raíz (Fig. 4),
- *molar inferior derecho M_i*; rotura limpia, fue unido por la raíz, y
- *pequeño fragmento desprendido de la bulla timpánica derecha*: zona muy frágil, fue colocado en su lugar original.

Discusión sobre los tratamientos de preparación en Paleontología

Los estándares modernos de conservación en paleontología abogan cada vez más por el principio de mínima intervención, especialmente en ejemplares cuyo valor científico es elevado, o de los cuales se prevé hacer estudios biomoleculares en el futuro (Johnson, 1994; López Mata, 2003). Sin embargo, este principio se enfrenta a menudo a las lógicas necesidades de los investigadores, ya que la preparación paleontológica sigue siendo una importante faceta científica de puesta en valor del espécimen fósil.

Tanto las técnicas de preparación como el uso de adhesivos, consolidantes, disolventes ácidos y otros reactivos químicos dejan inevitablemente una huella en los fósiles, especialmente en los restos fosilizados de vertebrados cuaternarios (Eklund y Thomas, 2010). El objetivo final es aplicar, en la manera de lo posible, técnicas mínimamente invasivas y documentar los productos químicos utilizados. En algunas ocasiones, el acceso a detalles esqueléticos ocultos en vertebrados fósiles ha obligado a realizar "traumáticas" preparaciones mecánicas (Laza, 1991, 1992). En la actualidad van ganando espacio en los estudios paleobiológicos técnicas alternativas no destructivas de obtención de imágenes, como la microtomografía computarizada de rayos X (Cnudde *et al.*, 2006; Sutton, 2008).



Figura 3. A–H, Estado del cráneo de *Panthera pardus*, Allek s/n, después de la preparación. A, vista lateral derecha. B, vista lateral izquierda. C, detalle del paladar y dientes. D, vista de las series dentales izquierdas. E, vista anterior. F, vista dorsal. G, vista superior de la mandíbula. H, vista ventral. Escalas en cm.

Figure 3. A–H, Condition of the skull of *Panthera pardus*, Allek s/n after preparation. A, right lateral view. B, left lateral view. C, detail of the palate and teeth. D, view of the left dental series. E, frontal view. F, dorsal view. G, dorsal view of the jaw. H, ventral view. Scales in cm.

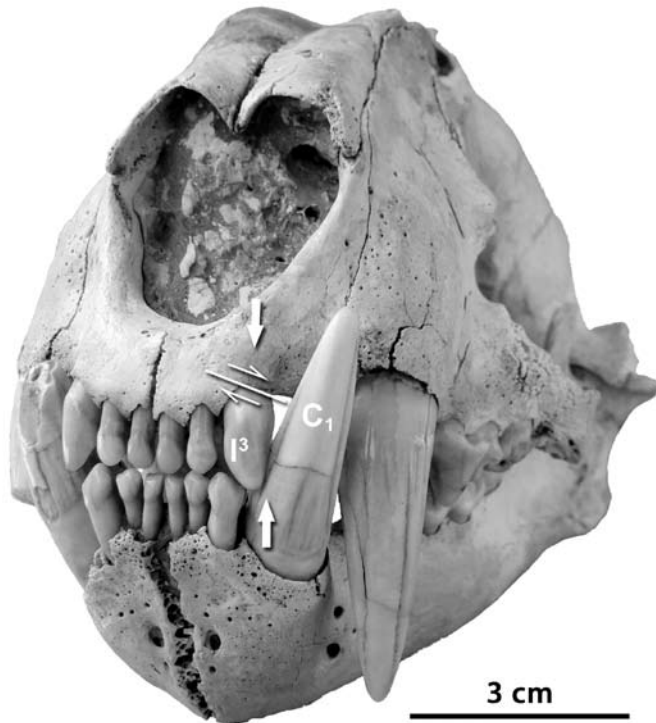


Figura 4. Vista anterior oblicua derecha del cráneo de *Panthera pardus*, Allek s/n. Se indica el esquema de fuerzas que actúan entre canino inferior izquierdo (C_1) y el incisivo superior izquierdo (I^3), y que provocaron la rotura del último.

Figure 4. Right anterior oblique view of the skull of *Panthera pardus*, Allek s/n. The photograph shows the scheme of forces acting between the lower left canine (C_1) and the upper left incisor (I^3), which caused the latter to break off.

López Mata (2003) indica que las concreciones carbonatadas sobre hueso fósil no suelen retirarse por medios mecánicos por el alto riesgo de deteriorar la superficie del mismo. Sin embargo, cuando existe una fina capa arcillosa entre el hueso fósil y la roca, que actúa como nivel de despegue o "capa de intervención" natural, los depósitos carbonatados pueden eliminarse mecánicamente de forma fácil. En estos casos, una primera limpieza química ayuda a eliminar o reblandecer dicha capa arcillosa, facilitando la preparación mecánica.

Por otra parte, los tratamientos químicos utilizados en la preparación de vertebrados fósiles generalmente comienzan con una limpieza controlada a base de agua y agentes tensioactivos o de disolventes, como alcohol etílico ($CH_3 - CH_2 - OH$) o acetona ($CH_3 - CO - CH_3$). El agente desfloculante inorgánico hexametafosfato sódico ($(NaPO_3)_6$), que actúa sobre los agregados de arcilla y limo separándolos y dispersándolos por la disolución acuosa, ha sido utilizado para procesar cerámicas y materiales líticos procedentes de yacimientos arqueológicos (Neumann y Sanford, 1998), así como para tratar huesos de dinosaurio y ejemplares fósiles procedentes de cuevas (Rixon, 1976). En se-

gundo lugar, hablar de tratamientos con ácidos puede ser causa de preocupación para muchos conservadores de colecciones paleontológicas, ya que se precisa controlar aspectos relativos a la seguridad e higiene laboral y obliga también a establecer un estricto seguimiento durante todo el proceso para evitar dañar el espécimen. Además, exige neutralizar la reacción química y eliminar adecuadamente las sales de calcio generadas en el proceso para evitar problemas de conservación en el futuro (Toombs y Rixon, 1959).

A pesar de que el hidroxiapatito ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) es químicamente bastante estable, los restos óseos enterrados en condiciones ácidas prolongadas (pH 5 o menor) y sujetos a un alto grado de lixiviado por aguas freáticas, son susceptibles de degradación y disolución, especialmente en suelos con bajos niveles de fósforo (O'Connor, 1987). Sin embargo, esas condiciones no son equiparables cuando se utilizan ácidos débiles como el ácido acético o el fórmico. El uso de estos ácidos orgánicos para eliminar matrices carbonatadas tiene una larga historia de éxitos en los laboratorios de Paleontología (Toombs y Rixon, 1959; Rixon, 1976; Lindsay, 1987, 1995; Rutzky *et al.*, 1994) y se han convertido en un potente y útil recurso, ya que permite eliminar matriz carbonatada de determinadas zonas donde las herramientas mecánicas no pueden llegar, descubren delicadas estructuras anatómicas ocultas por la matriz y actúan selectivamente al eliminar de determinados componentes minerales de la matriz (Lindsay, 1987).

En disoluciones acuosas, tanto el ácido acético como el fórmico se disocian ligeramente, debido a que ceden una pequeña concentración de cationes H^+ para formar iones hidronio (H_3O^+), y estos a su vez fácilmente donan un protón que permite regenerar sus bases conjugadas. El bajo poder de disociación de estos ácidos reduce la solubilidad del fosfato cálcico de dientes y huesos fósiles, que incluso es menor con la disolución de la matriz carbonatada (Lindsay, 1987, 1995). Jeppson *et al.* (1985) han realizado diversos experimentos con microfósiles fosfáticos, como los conodontos, para conocer el efecto del ácido acético sobre los mismos durante su extracción de rocas carbonatadas. Según estos autores, en concentraciones ácidas del 5%, 10% y 15% en volumen, se producen diversos grados de corrosión y disolución (menor a mayor concentración). Sin embargo, al añadir carbonato cálcico ($CaCO_3$) a la disolución se forma una "sopa acética" que ayuda a elevar ligeramente el pH y libera iones Ca^{++} previniendo la disolución del hidroxiapatito.

Aunque Lindsay (1987) indica que la solubilidad del fosfato cálcico (o hidroxiapatito) es mucho mayor en ácido fórmico que en ácido acético, especialmente cuando los tiempos de inmersión son prolongados,

hay autores que prefieren utilizar el ácido fórmico en concentraciones del 5% v/v como norma general (ver Rutzky *et al.*, 1994). Según estos autores, el ácido fórmico tiene mayor capacidad de disolución de matrices carbonatadas y emite gases menos irritantes, pero avisan que se debe sobresaturar la solución con difosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (aproximadamente 1 g por cada litro de solución), para que el ácido ataque principalmente el fosfato libre disuelto en lugar del hidroxapatito del fósil. La adición de difosfato tricálcico ha sido también recomendada por Braillon (1973), en concreto 2,7 g por litro en disoluciones de ácido acético con una concentración del 15% v/v.

La extracción y transferencia de restos fósiles, desde un yacimiento hasta el laboratorio, obliga en muchos casos a emplear sustancias consolidantes para una estabilización y manipulación segura posterior. Además, la aplicación de consolidantes está también indicada después de una preparación con ácidos, ya que ha disminuido gran parte del soporte estructural que ejercía el carbonato cálcico presente en la estructura porosa del hueso, llevando al fósil a una condición de debilitamiento mayor que en el estado previo a la preparación.

Los consolidantes y adhesivos empleados en la restauración de bienes patrimoniales deben poseer características particulares que no dañen al espécimen, sean estables químicamente, posean una resistencia mecánica apropiada al material, tengan una temperatura de transición vítrea (T_g) adecuada y sean fácilmente reversibles (Keene, 1987). Se utilizan dos grandes familias de polímeros en la consolidación de fósiles cuaternarios: el grupo de las resinas acrílicas y el grupo de los acetatos de vinilo. Cada uno de estos, además, pueden haber sido formulado como producto sólido en disolución o como emulsión. Las resinas vinílicas cuya formulación básica es el acetato de polivinilo (PVAC), y especialmente las emulsiones acuosas, se han utilizado durante muchos años para la conservación de restos cuaternarios (sub-fósiles) en los laboratorios de Paleontología (Doyle, 1987). El acetato de polivinilo (Mowilith DM5, DS5; Mowilith 20, 30) es bastante estable a la luz, resiste bien el envejecimiento y tiene buenas propiedades adhesivas. Sin embargo, plantea algunos problemas debido a su peor reversibilidad, una temperatura de transición vítrea (T_g) más baja y un pH bajo, principalmente en las formulaciones comerciales (Elder *et al.*, 1997). Además, durante el secado suele quedar en la superficie del espécimen, en forma de una delgada lámina traslúcida, que es preciso retirar con acetona para conseguir un acabado más natural y evitar que se adhieran a él partículas de suciedad.

De igual modo, las resinas acrílicas se comercializan como perlas sólidas para ser disueltas directamente en diversos disolventes orgánicos (hidrocarburos aromáticos o cetonas), o en forma de dispersiones o emulsiones. Los restos cuaternarios procedentes de yacimientos en cuevas poseen, a menudo, un alto contenido en humedad, y en estas condiciones no es apropiado el uso de disoluciones de polimetacrilatos, empleándose emulsiones o dispersiones acrílicas (por ej., Primal AC 33). Sin embargo, cuando los especímenes se encuentran secos, las disoluciones de polimetacrilatos son muy efectivas (Koob, 1986; Shelton y Chaney, 1994). La resina acrílica más utilizada en estos casos es el copolímero de etil-metacrilato y metilacrilato 70:30 (distribuido con los nombres comerciales Paraloid B72 y Acryloid B72), que posee excelentes propiedades mecánicas, es químicamente resistente a los agentes atmosféricos, tiene una temperatura de transición vítrea aproximada de 40° C y baja tendencia a la reticulación (esto es, buena reversibilidad). Estas características han hecho que Paraloid B72 haya sido la resina elegida para tratar el ejemplar cuaternario de *Panthera pardus*, después de comprobar que el cráneo se encontraba perfectamente seco.

Consideraciones finales para su conservación (usos y almacenamiento)

Es bien sabido que para la conservación efectiva de cualquier elemento de historia natural hay que establecer un apropiado control ambiental. Los principales factores que deben considerarse son la temperatura, la humedad relativa y los contaminantes presentes en el aire. Muchos de los restos fósiles cuaternarios retienen a menudo buena parte del colágeno original, que es muy reactivo a los cambios ambientales de humedad y temperatura. Por lo tanto, debiera existir un cierto grado de control ambiental en los lugares de ubicación final del espécimen (salas de exhibición, colecciones o estudio). Los dientes son especialmente frágiles, debido a su estructura y composición mineral. Con cierta frecuencia desarrollan grietas y desprendimientos en su parte esmaltada, provocados por cambios bruscos de temperatura (fenómeno conocido como choque térmico).

Los estándares de conservación geológica (Museums & Galleries Commission, 1993) recomiendan para vertebrados cuaternarios (subfósiles, dientes, etc.) una temperatura de almacenaje lo más estable posible, entre 16° y 22° C. El ambiente de ubicación no debe bajar nunca del 40% de humedad relativa (HR), siendo apropiada una HR del 50% cuando conserven colágeno.

Para este espécimen es además aconsejable construir un soporte estructural a medida, que evite el contacto entre dientes superiores e inferiores, si se decidiera exponer o almacenar el cráneo con su mandíbula articulada en su posición. Colocada la mandíbula en su posición respecto al resto del cráneo, los dos incisivos I³ se apoyan sobre los respectivos caninos inferiores. La transmisión de cargas del cráneo puede provocar de nuevo la rotura del incisivo I³, que se apoya sobre el canino inferior izquierdo C₁ (Fig. 4).

Conclusiones

Analizar la idoneidad de un tratamiento de limpieza, preparación y consolidación es requisito indispensable para garantizar un adecuado grado de estabilización del material fósil preparado. Además, los tratamientos aplicados han de quedar registrados y ser conservados para posibles futuras consultas, junto con el resto de documentación administrativa relativa al espécimen.

Alternando técnicas de preparación mecánica y el uso de concentraciones bajas de ácidos inorgánicos, en un modo alterno sucesivo, es posible acortar en gran medida el proceso de eliminación de recalcificados carbonatados en especímenes cuaternarios procedentes de cuevas. Al añadir 0,1% p/v de difosfato tricálcico a disoluciones ácidas como la empleada por Jeppsson *et al.* (1985) se asegura una menor afectación al hueso fósil durante el tiempo de inmersión en la cubeta de preparación.

Desde la preparación de este espécimen en 2005 hasta la actualidad no se han comunicado problemas de conservación.

Agradecimientos

Al conservador-restaurador Jesús Alonso López por ofrecerme la realización de este proyecto y a los arqueólogos Jesús Altuna y Koro Mariezkurrena, responsables del Centro de Custodia de Materiales Arqueológicos y Paleontológicos de Guipúzcoa, Gobierno Vasco por la información suministrada. Gracias también a Vicen Carrió (National Museums Scotland) y Eleuterio Baeza (Museo Geominero) por las valiosas y constructivas sugerencias realizadas en la revisión del manuscrito. Del mismo modo vaya mi gratitud al Departamento de Euskera, Cultura y Deportes de Arabako Foru Aldundia – Diputación Foral de Álava (Museos Bibat y de Ciencias Naturales de Álava) por las facilidades prestadas.

Referencias

- Altuna, J., Mariezkurrena, K., Armendariz, A., Barrio, L. del, Ugalde, T. y Peñalver, X. 1982. Carta Arqueológica de Guipúzcoa. *Munibe*, 34, 1-242.
- Altuna, J., Armendariz, A., Etxeberria, F., Mariezkurrena, K., Peñalver, X. y Zumalabe, F.J. 1995. Carta Arqueológica de Gipuzkoa. II: Cuevas. *Munibe, Suplemento*, 10, 121 fichas, 26 pp., 21 mapas.
- Amaral, W.W. 1994. Microscopic preparation. En: Leiggi, P. y May, P. (eds.), *Vertebrate Paleontological Techniques, Volume 1*. Cambridge University Press, Cambridge, 129-140.
- Braillon, J. 1973. Utilisation de techniques chimiques et physiques dans le dégagement et le triage des fossiles de vertébrés. *Bulletin du Museum national d'Histoire naturelle, 3ème série Sciences de la Terre*, 176, 141-166.
- Chaney, D.S. 1989. Hand-Held, Mechanical Preparation Tools. En: Feldmann, R.M., Chapman, R.E. y Hannibal, J.T. (eds.), *Paleotechniques. Paleontological Society Special Publication*, 4, 186-203.
- Cnudde, V., Masschaele, B., Dierick, M., Vlassenbroeck, J., van Hoorebeke, L., Jacobs, P. 2006. Recent progress in X-ray CT as a geosciences tool. *Applied Geochemistry*, 21, 826-832.
- Doyle, A.M. 1987. The conservation of sub-fossil bone. *Geological Curator*, 4(7), 463-465.
- Eklund, J.A. y Thomas, M.G. 2010. Assessing the effects of conservation treatments on short sequences of DNA in vitro. *Journal of Archaeological Science*, 37, 2831-2841.
- Elder, A., Madsen, S., Brown, G., Herbel, C., Collins, C., Whelan, S., Wenz, C., Alderson, S. y Kronthal, L. 1997. Adhesives and Consolidants in Geological and Paleontological Conservation: A Wall Chart. *Society for the Preservation of Natural History Collections Leaflets*, 1(2), 1-4.
- Etxeberria, F. y Astigarraga, J. 1980. Estudio de zonas kársticas de Guipúzcoa: El Urgoniano Sur de la Sierra de Aralar. *Munibe*, 32(3-4), 207-256.
- Fitzgerald, G.R. 1988. Documentation guidelines for the preparation and conservation of paleontological and geological specimens. *Collection Forum*, 4(2), 38-45.
- Hare, P.E. 1980. Organic geochemistry of bone and its relation to the survival of bone in the natural environment. En: Behrensmeier, A.K. y Hill, A.P. (eds.), *Fossils in the making, vertebrate taphonomy and paleoecology*. The University of Chicago Press, Chicago, 208-219.
- Jeppsson, J., Fredholm, D. y Mattiasson, B. 1985. Acetic acid and phosphatic fossil – a warning. *Journal of Paleontology*, 59, 952-956.
- Johnson, J.S. 1994. Consolidation of archaeological bone: a conservation perspective. *Journal of Field Archaeology*, 21, 221-233.
- Keene, S. 1987. Some adhesives and consolidants used in conservation. *The Geological Curator*, 4(7), 421-425.
- Koob, S. 1986. The Use of Paraloid B72 as an adhesive: its application for archaeological ceramics. *Studies in Conservation*, 31, 7-13.
- Laza, J.H. 1991. Sobre la desarticulación de cráneo y mandíbula en mamíferos fósiles pequeños. *Ameghiniana*, 28(3-4), 381-384.

- Laza, J.H. 1992. Sobre la utilización de herramientas de corte en la desarticulación y desmonte de restos vertebrados fósiles. *Ameghiniana*, 29(2), 111-114.
- Lindsay, W. 1987. The acid technique in vertebrate palaeontology: A review. *Geological Curator*, 4(7), 455-461.
- Lindsay, W. 1995. A review of the acid technique. En: Collins, C. (ed.), *The care and conservation of palaeontological material*. Butterworth-Heinemann, Oxford, 95-101.
- López Mata, L. 2003. Métodos de conservación de material óseo. En: Isidro, A. y Malgosa, A. (eds.), *Paleopatología, la enfermedad no escrita*. Masson, Barcelona, 25-32.
- May, P., Reser, P. y Leiggi, P. 1994. Laboratory preparation, macrovertebrate preparation. En: Leiggi, P. y May, P. (eds.), *Vertebrate Paleontological Techniques, Volume 1*. Cambridge University Press, Cambridge, 113-129.
- Museums & Galleries Commission, 1993. *Standards in the museum care of geological collections. 1993*. Museums & Galleries Commission, London, 57 pp.
- Neumann, T.W. y Sanford, R.M. 1998. Cleaning artifacts with Calgon. *American Antiquity*, 63, 157-60.
- O'Connor, T.P. 1987. On the structure, chemistry and decay of bone, antler and ivory. En: Starling, K. y Watkinson, D. (eds), *Archaeological bone, antler and ivory. The United Kingdom Institute for Conservation, Occasional papers*, 5, 6-8.
- Rutzky, I.S., Elvers, W.B., Maisey, J.G. y Kellner, A.W.A. 1994. Chemical Preparation Techniques. En: Leiggi, P. y May, P. (eds.), *Vertebrate Paleontological Techniques, Volume 1*. Cambridge University Press, Cambridge, 155-186.
- Rixon, A.E. 1976. *Fossil animal remains – their preparation and conservation*. The Athlone Press, London, 304 pp.
- Shelton, S.Y. y Chaney, D.S. 1994. An evaluation of adhesives and consolidants recommended for fossil vertebrates. En: Leiggi, P. y May, P. (eds.), *Vertebrate paleontological techniques, Volume 1*. Cambridge University Press, Cambridge, 35-45.
- Shelton, S.Y. y Johnson, J.S. 1995. The conservation of sub-fossil bone. En: Collins, C. (ed.), *The care and conservation of palaeontological material*. Butterworth-Heinemann, Oxford, 59-71.
- Sutton, M.D. 2008. Tomographic techniques for the study of exceptionally preserved fossils. *Proceedings of the Royal Society series B*, 275, 1587-1593.
- Toombs, H.A. y Rixon, A.E. 1959. The Use of Acids in the Preparation of Vertebrate Fossils. *Curator*, 2(4), 304-312.
- Wilson, J. 1995. Conservation and processing – cleaning and mechanical preparation. En: Collins, C. (ed.), *The Care and Conservation of Palaeontological Material*. Butterworth-Heinemann, Oxford, 89-94.

Recibido: septiembre 2011

Revisado: octubre 2011

Aceptado: noviembre 2011

Publicado: abril 2012