

ΔΙΑΓΕΝΕΣΗ ΟΣΤΩΝ: ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΠΑΛΑΙΟΝΤΟΛΟΓΙΑ*

Ε. Σταθοπούλου¹

¹Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος, Τομέας Ιστορικής Γεωλογίας - Παλαιοντολογίας, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου
estathop@geol.uoa.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος αυτής της εργασίας είναι η παρουσίαση των διεργασιών της διαγένεσης οστών, των παραγόντων από τους οποίους εξαρτάται και της συμβολής της στην Παλαιοντολογία, ως ένα σύγχρονο εργαλείο πολλαπλών εφαρμογών. Συνοψίζονται επίσης, οι σημαντικότερες αναλυτικές μέθοδοι και τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη μελέτη της διαγένεσης.

ABSTRACT

The objective of this paper is to present bone diagenesis, the diagenetic alterations that occur in bones, the parameters that affect it as well as its importance to Palaeontology, as a modern tool with numerous applications. The most important analytical techniques and methods used today to study bone diagenesis are also presented.

1. Εισαγωγή

Οι μεταβολές που συμβαίνουν στα οστά των ζώων μετά το θάνατο είναι πολύ σημαντικές γιατί καθορίζουν αν θα απολιθωθούν αλλά και ποιες πληροφορίες θα διατηρηθούν για την αρχική βιολογία του οργανισμού. Είναι λοιπόν πολύ σημαντική η γνώση των ακριβών διεργασιών που οδηγούν στις μεταβολές αυτές, καθώς και των παραγόντων από τους οποίους εξαρτώνται. Το σύνολο των φυσικοχημικών διαδικασιών που επιδρούν σε ένα σκελετικό στοιχείο, οδηγώντας στη διατήρηση

της μορφολογίας του μέσα στο χρόνο και στην απολίθωση του ορίζεται ως διαγένεση. Η διαγένεση σκελετικών στοιχείων είναι ένας όρος που εισήχθη τις δύο τελευταίες δεκαετίες για να περιγραφεί καλύτερα η διαδικασία απολίθωσης των οστών και οδόντων, η οποία διαφοροποιείται σημαντικά από άλλα είδη απολίθωσης. Θεωρείται ίσως η πιο δυσνόητη διεργασία απολίθωσης, καθώς περιλαμβάνει πλήθος πολύπλοκων διεργασιών που οδηγούν στην ανακατανομή των υπάρχοντων συστατικών τους, υπό μορφή ταυτόχρονης

*BONE DIAGENESIS: METHODS OF STUDY AND ANALYSIS, AND ITS CONTRIBUTION TO PALEONTOLOGY

E. Stathopoulou

National & Kapodistrian University of Athens, Faculty of Geology & Geoenvironment, Dept. Historical Geology-Paleontology, Panepistimiopolis Zografou

πρόσληψης και απόπλυσης χημικών στοιχείων και δευτερογενών φάσεων. Η μελέτη της διαγένεσης των σκελετικών στοιχείων αποτελεί τομέα της επιστήμης της Ταφονομίας, η οποία μελετά τις διεργασίες που οδηγούν τα οργανικά υπολείμματα από τη βιόσφαιρα στη λιθόσφαιρα. Αφορά στις διαδικασίες που υπόκεινται τα υπολείμματα ενός οργανισμού κατά το τρίτο και τελευταίο στάδιο της πορείας των σκελετικών στοιχείων του μετά το θάνατο.

Οι επιστήμονες που ασχολούνται σήμερα με την απολίθωση προέρχονται από πολύ διαφορετικούς χώρους, και συνεργαζόμενοι μεταξύ τους έχουν φτάσει σε ιδιαίτερα αξιόλογα συμπεράσματα. Οι δυσκολίες όμως και τα ερωτηματικά παραμένουν πολλά, αφού ακόμη και σήμερα οι διαδικασίες της διαγένεσης δεν μπορούν να καθοριστούν χρονικά αλλά ούτε και να αποκρυπτογραφηθούν με βεβαιότητα.

2. Το Οστό

Το οστό σε ζώντες οργανισμούς είναι ένας πολύπλοκος και καλά οργανωμένος ιστός που αποτελείται από μείγμα οργανικών και ανόργανων συστατικών. Η σκληρότητα, η ακαμψία και η ισχύς του οστού, που απαιτούνται για τη στήριξη και κίνηση του οργανισμού, οφείλονται στη σύσταση του. Συγκεκριμένα, ο οστίτης ιστός συνίσταται από πυκνό δίκτυο οργανωμένων ιών κολλαγόνου, που συνδέονται με μια κρυσταλλική φάση. Η ορυκτή αυτή φάση έχει δύο λειτουργίες. Πρώτον, προσδίδει σταθερότητα στο σκελετό, και δεύτερον δρα αποθηκευτικά ως προς το ασβέστιο, νάτριο, μαγνήσιο, την ανθρακική ρίζα και άλλα ιόντα (Posner, 1985). Το οργανικό υλικό αποτελεί περίπου το 20-25% του ξηρού βάρους του

οστού, με το υπόλοιπο να αντιστοιχεί στα ανόργανα συστατικά (60-70%) και το νερό 9%. Το 90% του οργανικού υλικού του οστού αντιπροσωπεύεται από κολλαγόνες πρωτεΐνες ενώ το υπόλοιπο 10% από περίπου δεκαπέντε μη-κολλαγόνες πρωτεΐνες (Halstead, 1974). Το ανόργανο τμήμα του οστού, αποτελείται από φάση που αντιστοιχεί σε πτωχά κρυσταλλωμένο ανάλογο του υδροξυλαπατίτη ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Πρόκειται για έναν βιολογικό απατίτη, μια μικροκρυσταλλική, μη-στοιχειομετρική δομικά, ατελή φάση, που περιέχει όμως σημαντικές ποσότητες ανθρακικών και αντιστοιχεί στο ορυκτό που ήταν γνωστό στο παρελθόν και ως δαλλίτης (dahllite=carbonate-hydroxylapatite).

Η ορυκτή φάση του οστού αποτελείται από τους μικρότερους κρυστάλλους που μπορούν να σχηματιστούν βιολογικά από έναν οργανισμό, με αποτέλεσμα αυτοί να χαρακτηρίζονται από πολύ μεγάλη επιφάνεια και πιο εύκολη ανταλλαγή ιόντων, έτσι ώστε να διαφοροποιείται κατά πολύ η ιδανική σύσταση του υδροξυλαπατίτη.

Πολλοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με το μέγεθος και το σχήμα των κρυστάλλων του βιολογικού απατίτη. Το μήκος τους φαίνεται να κυμαίνεται πολύ, ενώ οι μέσες διαστάσεις τους είναι περίπου $4 \times 10^{-6} \text{m} \times 2-3,5 \times 10^{-6} \text{m} \times 2,5-5 \times 10^{-7} \text{m}$. Οι δύο επικρατούσες απόψεις σχετικά με το σχήμα τους είναι αυτή των βελονών και αυτή των πλακών. Η πλέον αποδεκτή θεωρία για τους βελονοειδείς κρυστάλλους, είναι ότι αποτελούν ουσιαστικά πλάγιες όψεις των πλακοειδών (Boskey & Posner, 1976, Weiner & Price, 1986).

Ο βιολογικός απατίτης χαρακτηρίζεται ακόμη από 40% ανεπάρκεια σε OH, 5-10% ανεπάρκεια σε Ca και άρα ένα μειωμένο λόγο Ca/P, σε σχέση με το

αντίστοιχο ορυκτό. Η ανθρακική ρίζα είναι το τρίτο σε ποσότητα συστατικό του οστού και κυμαίνεται γύρω στο 4-6 wt%, διανεμημένο μεταξύ δύο θέσεων. Το οστό περιλαμβάνει επίσης 5-10 wt% νερό, από το οποίο τουλάχιστον το μισό είναι ενσωματωμένο ως μοριακό νερό. Περιέχονται ακόμη, μέχρι και 10 wt% όξινη φωσφορική ρίζα (HPO_4^{-2}), μερικά δέκατα wt% το καθένα από Cl, F, Na, Mg, K και ίχνη άλλων ιόντων καθώς και μια μεγάλη ποικιλία από δευτερεύοντα συστατικά (Glimcher *et al.*, 1981). Αξίζει να σημειωθεί, ότι η ύπαρξη φθορίου στη θέση του υδροξυλίου, οδηγεί σε μεγέθυνση των κρυστάλλων και μείωση της διαλυτότητας.

Ο απατίτης των οστών χαρακτηρίζεται επίσης από έλλειψη στοιχειομετρίας και εσωτερικής οργάνωσης των κρυστάλλων του. Ένα άλλο χαρακτηριστικό που δυσχεραίνει τη μελέτη του, είναι η ποικιλία και η ετερογένεια του. Σε όλα τα οστά και ανεξαρτήτως οντογενετικής ηλικίας, λαμβάνουν ταυτόχρονα χώρα δημιουργία και καταστροφή οστού, με αποτέλεσμα να περιέχουν ιστό από ένα εύρος ηλικιών και η ηλικία του ορυκτού που αποτελεί το οστό να μη συμπίπτει με την ηλικία του ζώου, στο οποίο ανήκει (Glimcher *et al.*, 1981).

3. Διαγενετικοί Παράγοντες

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποσύνθεση κατά τη διαγένεση των σκελετικών στοιχείων είναι οι γεωχημικές συνθήκες του τόπου ταφής και συγκεκριμένα:

-Η υγρασία του περιβάλλοντος μέσου.

Σε περιοχές με χαμηλές βροχοπτώσεις και υψηλή εξατμισιοδιαπνοή, υπάρχει πληθώρα ευδιάλυτων αλάτων των Ca, Na, Mg, K, τα οποία μπορούν να εισέλθουν στα απολιθώματα (Pate *et al.*, 1989).

-Το pH. Η διατήρηση των απολιθω-

μάτων ευνοείται σε ουδέτερα και αλκαλικά περιβάλλοντα ενώ σε όξινα διαλύονται (Bryda Szpunar, *et al.*, 1978, Child, 1995).

-Το δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh). Ορίζει την κινητικότητα, τη διαλυτότητα και την κατανομή των χημικών στοιχείων εντός του οστού, αλλά και τη βακτηριδιακή δράση.

-Το ποσοστό του οργανικού υλικού. Η ύπαρξη χουμικών και άλλων οξέων κατά την αποσύνθεση του οργανικού υλικού, επηρεάζουν το pH και τη διάλυση των οστών.

-Η ορυκτολογία και η υφή του περιβάλλοντος ιζήματος. Παρατηρείται διαφορετική διατήρηση των οστών μεταξύ διαφορετικών θέσεων, αλλά και μεταξύ οριζόντων της ίδιας θέσης. Ιζήματα φτωχά σε φώσφορο οδηγούν στη διάλυση του οστού, ενώ ο εμπλουτισμός τους σε αυτόν επιβραδύνει τη διαδικασία και οδηγεί σε απλή ανακρυστάλλωση (Quattrone *et al.*, 1999). Η σύσταση του ιζήματος ορίζει επίσης τη σύσταση των υδατικών διαλυμάτων που κυκλοφορούν και το είδος των διεισδύσεων και εγκλεισμάτων εντός του οστού.

-Η ευκολία μεταφοράς υλικού, που σχετίζεται με το μέγεθος των κόκκων, τον όγκο των πόρων και τη διαλυτότητα του υλικού του περιβάλλοντος μέσου. Σε περιβάλλοντα, όπου δεν ενδείκνυται η απόπλυση, ευνοείται η διατήρηση των οστών.

-Οι φυσικές πιέσεις. Αφορούν κυρίως στην πίεση λόγω βάρους του υπερκείμενου εδάφους.

-Το καθεστώς της θερμοκρασίας. Εξαρτάται από τη θερμοκρασία του αέρα και το βάθος ταφής. Επηρεάζει σημαντικά την ύπαρξη μικροοργανισμών (Child, 1995). Εναλλαγές της θερμοκρασίας οδηγούν σε διαστολής-συστολής και άρα θραύση του οστού.

Η καύση των οστών προκαλεί επίσης σημαντικές μεταβολές (Von Endt & Ortner, 1984).

-Η τοπική κίνηση του υπόγειου νερού.

Το υπόγειο νερό συμμετέχει σε πολλές από τις διεργασίες της διαγένεσης, όπως η διάλυση και η αύξηση της κρυσταλλικότητας του οστού και η προσρόφηση χημικών στοιχείων από αυτό (Hedges & Millard, 1995).

-Η προσφορά ιζημάτων. Αφορά την ταχύτητα ιζηματογένεσης και ταφής των οστών.

-Η μικροβιακή δράση. Συντελείται κυρίως στα πρώτα 500 περίπου χρόνια ταφής, ενώ μεταβάλλει σημαντικά την ιστολογία του οστού (Hedges & Millard, 1995).

-Η διάρκεια ταφής. Επηρεάζει σημαντικά τη διατήρηση τόσο των οργανικών, όσο και των ανόργανων συστατικών του οστού (Bartsiakos & Middleton, 1992).

-Η θέση των οστών, σε σχέση με τον υδροφόρο ορίζοντα. Οστά θαμμένα σε περιοχές μόνιμα καλυμμένες με νερό, εμφανίζουν συνήθως καλά διατηρημένη ιστολογία, ενώ αυτά σε περιοχές με εναλλαγές των υδρολογικών συνθηκών κακή (Hedges & Millard, 1995).

-Το βάθος στο οποίο βρίσκονται τα οστά (Nicholson, 1996). Καθορίζει τη λιθοστατική πίεση, την ύπαρξη οξυγόνου και τη θερμοκρασία, και άρα την ύπαρξη μικροοργανισμών.

4. Διαγενετικές Μεταβολές

Όταν, λοιπόν, ένας θαμμένος σκελετός ή κάποια μεμονωμένα σκελετικά στοιχεία του, βρεθούν σε συνθήκες ικανές να οδηγήσουν στην απολίθωση, θα αντιμετωπίσουν φυσικές και γεωχημικές διεργασίες που θα επιφέρουν μικρές ή μεγάλες μεταβολές στο οργανικό και το ανόργανο τμήμα τους, σε διάφορες κλίμακες:

-Μεταβολές λόγω συμπίεσης από το υπερκείμενο ίζημα. Αυτές εκφράζονται με τη μορφή ρωγμάτωσης και πλαστικής παραμόρφωσης των οστών.

Εξαρτώνται από την ταχύτητα απόθεσης του υπερκείμενου υλικού αλλά και το πάχος του (Shipman, 1981). Όσον αφορά στη ρωγμάτωση, είναι σημαντικό να διαχωριστεί αυτή που έχει προηγηθεί της ταφής ή και του θανάτου από τη διαγενετική. Ρωγμές πολύ μικρής κλίμακας που κατά τόπους οριοθετούν και αποκολλούν μεταξύ τους τα χαβερσιανά συστήματα (τα βασικά δομικά χαρακτηριστικά του οστού) προκύπτουν από ετεροϊοντική αντικατάσταση και ετερομορφική ανακρυστάλλωση.

Η πλαστική παραμόρφωση μακροσκοπικά οδηγεί σε μια συμπίεση και μεταβολή του σχήματος του οστού ενώ μικροσκοπικά οδηγεί σε μεταβολή του σχήματος και της συμμετρίας κάποιων δομικών στοιχείων τους, συχνά με τη μορφή επιμήκυνσης ή βράχυνσής τους (πλάτυση χαβερσιανών συστημάτων, επιμήκυνση κενών του σπογγώδους, κ.λ.π.).

-Μεταβολές της ιστολογίας (Hanson & Buikstra, 1987). Αυτή εμφανίζεται ως ολική ή μερική καταστροφή της εσωτερικής δομής τους. Συχνά οι αλλαγές στον ιστό των οστών, ταυτίζονται με την αύξηση της κρυσταλλικότητας του απατίτη, αλλά και τη μεταβολή της περιεκτικότητας των οστών σε πρωτεΐνες. Σπάνια δε, συνδέονται με τη διατήρηση του μικροπόρωδους του οστού. Η μακροσκοπική εικόνα ενός απολιθωμένου οστού μπορεί να μην έχει καμία σχέση με την ιστολογική του εικόνα, η οποία συχνά συσχετίζεται με το περιβάλλον ταφής και απολίθωσης. Απολιθωμένα οστά των οποίων έχει καταστραφεί ή μεταβληθεί η δομή τους, δεν μπορούν

να χρησιμοποιηθούν για βιολογική χρονολόγηση με κάποιες από τις εν χρήσει ιστολογικές μεθόδους. Συχνά η καταστροφή αυτή οφείλεται στη δράση βακτηρίων και μικροβίων (Hackett, 1981).

-Απώλεια οργανικού υλικού λόγω μικροβιακής και χημικής δράσης. Σε καλά αεριζόμενα εδάφη, η διάλυση του οργανικού υλικού είναι σχετικά γρήγορη. Επηρεάζεται σημαντικά από το pH του ιζήματος, το οποίο καθορίζει την ύπαρξη μικροοργανισμών ικανών να το αποσυνθέσουν (CHILD, 1995). Η δράση των μικροοργανισμών επιφέρει καταστρεπτικά αποτελέσματα και στη δομή του οστίτη ιστού (Hackett, 1981, Hanson & Buikstra, 1987), κυρίως λόγω των οξέων που παράγονται κατά τη μικροβιακή αποσύνθεση του κολλαγόνου (Pate *et al.*, 1989). Υπάρχουν ενδείξεις ότι πρόκειται για βακτήρια και μύκητες, τα περισσότερα από τα οποία είναι αερόβια. Δημιουργούν διάτρηση του ιστού και καταστροφή των κενών του, καθώς και καθίζηση ορυκτών φάσεων.

Εμφανίζονται με ποικιλία μορφών (οπές, σωλήνες κλπ) και μεγεθών (από 0,5- >20 μm), σε συστάδες ή και σε μεγαλύτερες εκτάσεις κλπ. Έχει οριστεί επίσης ο Δείκτης Ιστολογικής Καταστροφής με τον οποίο μπορεί κανείς να βαθμονομεί τα οστά σύμφωνα με την καταστροφή της ιστολογίας λόγω μικροβιακής δράσης (Hedges, 2002).

-Παρουσία εγκλεισμάτων και διεισδύσεων. Τα εγκλείσματα προέρχονται από το περιβάλλον ιζήμα και εντοπίζονται εντός χαβερσιανών σωλήνων, οστικών κοιλοτήτων, ρωγμών, οπών από μικροβιακή δράση κλπ ή ως επικαθίσεις σε επιφάνειες και ανάπτυξη ευμεγεθών κρυστάλλων στην εσωτερική κοιλότητα των οστών. Παρατηρούνται δύο τύποι εγκλεισμάτων, τα βιολογικά που είναι

τα διάφορα είδη βακτηριδίων κ.λ.π., και τα ορυκτολογικά που προκύπτουν από καθίζηση ευδιάλυτων αλάτων και διαφορετικών ορυκτών φάσεων όπως ο ασβεστίτης (CaCO_3) συχνά με ποσότητες Mn, Ba, Fe, ο χαλαζίας (SiO_2), τα αργιλικά ορυκτά, ο βαρύτης, τα οξειδία Fe, Mn (ως προσρόφηση στην εξωτερική περιοχή του οστού) και πολλά άλλα, συχνά σπάνια ορυκτά (Pierenbrink, 1989). Οι διεισδύσεις, αφορούν στην είσοδο χημικών στοιχείων στο οστό, μέσω ιοντικών ανταλλαγών μεταξύ διαλυμάτων του εδάφους και του πλέγματος του απατίτη των οστών (Williams, 1989). Οι κύριες αντικαταστάσεις που παρατηρούνται στα οστά είναι: Η φωσφορική ρίζα PO_{4-3} από CO_{3-2} , SiO_4 , AsO_{4-3} , τα υδροξύλια OH^- από CO_{3-2} , F-, Cl-, το Ca από Na, Mg, K, Ba, Sr, Zn, REE, U, Th. κλπ. " Διάλυση του απατίτη των ιστών και ισομορφική ή ετερομορφική ανακρυστάλλωση του, υπό μορφή περισσότερο σταθερή στις νέες γεωχημικές συνθήκες. Πρόκειται για την ωρίμανση των κρυστάλλων του μικροκρυσταλλικού βιολογικού υδροξυλαπατίτη και τη μετατροπή του σε έναν περισσότερο κρυσταλλικό απατίτη. Αυτή η διαδικασία συνδέεται με τη μείωση του πορώδους των οστών, καθώς πραγματοποιείται ανακατανομή του πορώδους, από μικρο- σε μακρο- πορώδες (Hedges & Millard, 1995).

-Η μεταβολή του στοιχειομετρικού λόγου Ca/P. Εμφανίζεται είτε αυξημένος λόγω εμπλουτισμού των οστών σε ασβέστιο και έλλειψης σοβαρής αποσάθρωσης (Price *et al.*, 1992, Quattronani *et al.*, 1999), είτε μειωμένος λόγω ισχυρής απόπλυσης του ασβεστίου αλλά και γενικής αποσάθρωσης του οστού.

Οι μεταβολές που επιδέχεται ένα οστό κατά τη διαγένεση είναι τόσο πολλές

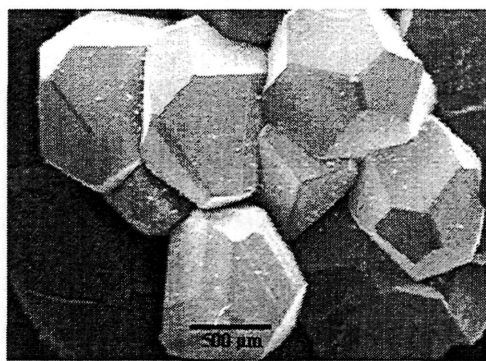
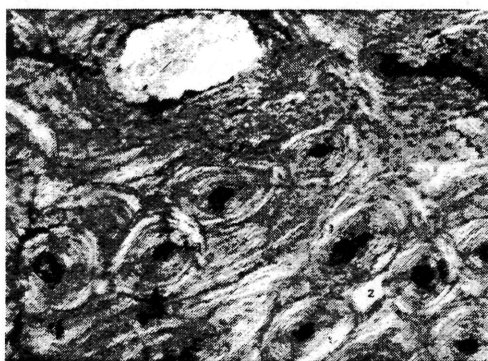
που είναι δύσκολο να αποφανθεί κανείς αν κάποιες από αυτές είναι πιο σημαντικές και πιο περιγραφικές. Οι μεταβολές αυτές θα μπορούσαν να συσχετιστούν με συγκεκριμένα διαγενετικά μοντέλα, και συγκρινόμενες με εκείνες που εμφανίζονται σε οστά διαφόρων περιοχών θα έδιναν στοιχεία και για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Οι περισσότερες διαγενετικές μεταβολές αυξάνουν ανάλογα και παράλληλα με την πρόοδο της διαγένεσης. Παρ'όλα αυτά, οι λεπτομέρειες της συσχέτισής τους εξαρτώνται από τις τοπικές συνθήκες και είναι σημαντικό να μελετώνται συνεχώς νέες θέσεις, ώστε να αποκωδικοποιηθεί κάποια στιγμή αυτή η αλληλεπίδραση.

5. Μέθοδοι Μελέτης & Ανάλυσης

Για τη μελέτη της διαγένεσης έχουν εφαρμοστεί στο παρελθόν διάφορες κλασσικές ή σύγχρονες τεχνικές, όπως η οπτική μικροσκοπία, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy-SEM) σε συνδυασμό με μικροαναλυτή ακτίνων-Χ (Energy Dispersive X-ray Analysis-EDXA) (Barker *et al.*, 1997), η περιθλασιμετρία ακτίνων -Χ (X-ray Diffraction-XRD)

(Balmain *et al.*, 1982), η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy-FTIR) (Surovell & Stiner, 2001), η φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής επαγωγικώς συζευγμένου πλάσματος (Induced Coupled Plasma Mass Spectroscopy-ICP-MS) (LEE *et al.*, 1999), η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (Atomic Absorption) (Bryda Szpunar *et al.*, 1978), η ηλεκτρονική μικροανάλυση (Electron Microprobe analysis) (Lambert *et al.*, 1983), η μέθοδος συντονισμού της ηλεκτρονικής στροφορμής (Electron Spin Resonance Spectroscopy-ESR) (Schawrcz & Grun, 1989), κ.α.

Στα πλαίσια του δικού μας πεδίου μελέτης, η οποία περιλαμβάνει οστά, οδοντίνες και αδαμαντίνες από διάφορα σπονδυλόζωα, χρησιμοποιούνται τόσο το οπτικό πολωτικό μικροσκόπιο, όσο και το SEM. Στόχος μας, η παρατήρηση της διατήρησης της δομής του υλικού (της ιστολογίας), η αναγνώριση ενδείξεων μικροβιακής δράσης και η ταξινόμηση τους (MFD), ο εντοπισμός, η αναγνώριση και η περιγραφή εγκλεισμάτων εντός των οπών του, η παρατήρηση και περιγραφή των μικρο-



Εικόνα 1, 2. Λεπτομέρεια ιστολογίας οστού, όπου διακρίνονται όλα τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του (χαβερσιανά συστήματα, χαβερσιανοί σωλήνες, ελάσματα κλι) (εικόνα οπτικού μικροσκοπίου). Εντός των σωλήνων έχουν εγκλειστεί οξειδία του Fe και του Mn, προσδίδοντας ένα μαύρο χρώμα. 2. Κρύσταλλοι ασβεστίτη εντός της εσωτερικής κοιλότητας οστού (εικόνα SEM).

διακλάσεων (the cracking index)-σε επίπεδο οστεώνων λόγω ανακρυστάλλωσης και διεισδύσεων- και η παρατήρηση της έντασης της διπλοθλαστικότητας του απατίτη, που φαίνεται να είναι ανάλογη της διατήρησης του ιστού.

Το SEM, σε συνδυασμό με μικροαναλυτή ακτίνων Χ, επιτρέπει τη χημική σημειακή ανάλυση συγκεκριμένων περιοχών ενδιαφέροντος του οστού με παράλληλη παρατήρηση, καθώς και τη γραμμική κατανομή και χαρτογράφηση χημικών στοιχείων εντός της δομής του.

Λόγω του πολύ μικρού μεγέθους των κρυσταλλινών του οστού, η παρατήρηση τους απαιτεί τη χρήση της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Διέλευσης (Transmission Electron Microscopy-TEM). Σε υλικά όπως οι βιολογικοί απατίτες έχουν υπάρξει ελάχιστες εφαρμογές της μεθόδου μέχρι σήμερα, αλλά μέσω αυτών έχει αναδειχθεί η αξία της και όλο και περισσότεροι ερευνητές διερευνούν τις δυνατότητες της (Weiner, 1999, Psycharis *et al.*, 2001, Cressey & Cressey, 2003). Η τεχνική εφαρμόζεται σε σκελετικά στοιχεία με κύριους στόχους τη μελέτη της κρυσταλλικής δομής τους, μέσω παρατήρησης σε πολύ μεγάλες μεγεθύνσεις (υπολογισμός διαστάσεων και καθορισμός σχήματος κρυσταλλινών του οστού), τη δυνατότητα παρατήρησης προσανατολισμού των κρυστάλλων και της ύπαρξης κολλαγόνου, της ύπαρξης ανακρυστάλλωσης, καθώς και της συνύπαρξης αρχικού και διαγενετικού οστού. Υπάρχει ακόμη η δυνατότητα ταυτόχρονης χημικής ανάλυσης του υλικού (με EDS συνδεδεμένο με το μικροσκόπιο). Η χρήση του XRD, και συγκεκριμένα η εφαρμογή της μεθόδου Rietveld, μας δίνει σημαντικές πληροφορίες για

δομικές παραμέτρους της κυψελίδας, όπως οι τιμές των αξόνων *a* και *c* και του όγκου της, το μέγεθος του κόκκου καθώς και ποσοτική ορυκτολογική ανάλυση των δειγμάτων. Ακόμη, το XRD χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της κρυσταλλικότητας του υπό μελέτη υλικού (Bartsiokas & Middleton, 1992, Person *et al.*, 1995).

Πρέπει να σημειωθεί, ότι προκειμένου να ληφθεί μια πιο πλήρης εικόνα των διαγενετικών μεταβολών που εμφανίζουν τα υπό μελέτη δείγματα, χρησιμοποιούνται συνήθως και δείγματα αναφοράς που περιλαμβάνουν δείγματα αρτίγονου οστού, δείγματα διαφόρων ειδών απατίτη κλπ.

Η μοριακή δομή του υλικού μελετάται με τη Φασματοσκοπία Υπερύθρου. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό του είδους των ορυκτών που περιέχει ένα δείγμα, καθώς και στον προσδιορισμό διαφόρων δομικών χαρακτηριστικών αυτών. Η Φασματοσκοπία Υπερύθρου έχει ξεκινήσει να χρησιμοποιείται την τελευταία δεκαετία για τη μελέτη υλικών όπως τα οστά, αλλά με πολύ περιορισμένες εφαρμογές. Ως τώρα είχε χρησιμοποιηθεί μόνο η φασματοσκοπία στο μέσο υπέρυθρο, με παρασκευάσματα υπό μορφή πελεττών αναμειγμένου κονιοποιημένου δείγματος με KBr και χρήση φασμάτων εκπομπής ή απορρόφησης. Στα πλαίσια της δικής μας μελέτης της διαγένεσης των οστών, και για πρώτη φορά απ'ότι είναι δυνατόν να γνωρίζουμε εφαρμόζεται σε βιολογικούς απατίτες, συλλογή δεδομένων με τη μέθοδο της Αποσβεννύμενης Ολικής Ανάκλασης (ATR-Attenuated Total Reflectance) στο μέσο υπέρυθρο, καθώς και η φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου (Near Infrared Spectroscopy-NIR).

Χρησιμοποιείται κυρίως ανάλυση

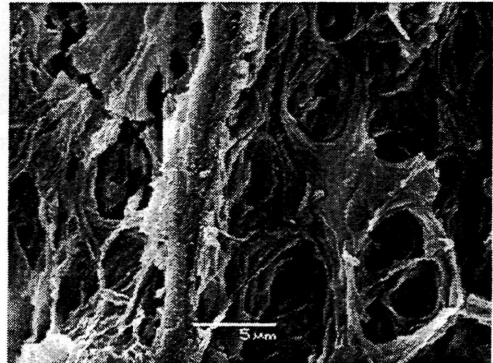
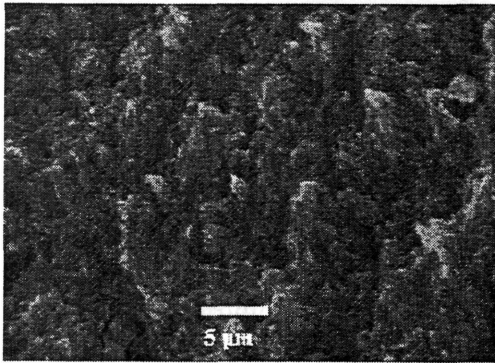
2ης παραγώγου των φασμάτων, σε δείγματα υπό μορφή πούδρας χωρίς προσθήκη άλλης χημικής ένωσης και κατασκευή δισκίων, ενώ πραγματοποιούνται και μετρήσεις σε εγκάρσιες τομές ολόκληρων δειγμάτων για διερεύνηση χωρικής μεταβολής των φασμάτων εντός των δειγμάτων.

Με το MID-IR μελετώνται μεταξύ άλλων, οι αντικαταστάσεις του OH- από F, Cl ή / και CO_3^{-2} και του PO_4^{-3} από CO_3^{-2} .

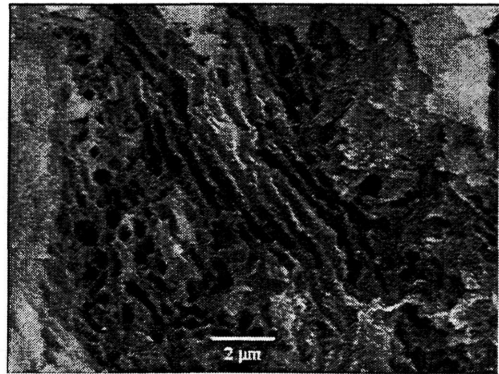
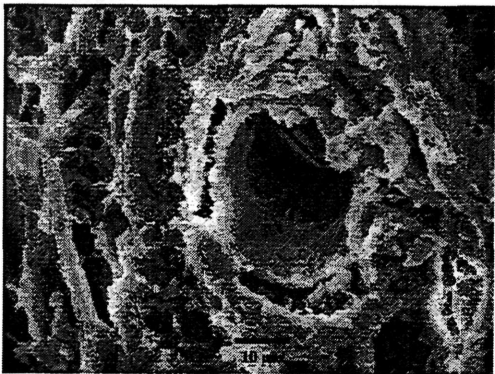
Με το NIR μελετώνται οι θέσεις που καταλαμβάνονται από OH- ή H_2O , καθώς και οι ταινίες που οφείλονται στην παρουσία οργανικού υλικού.

Για τη χημική ανάλυση των οστών, χρησιμοποιούνται η Ηλεκτρονική

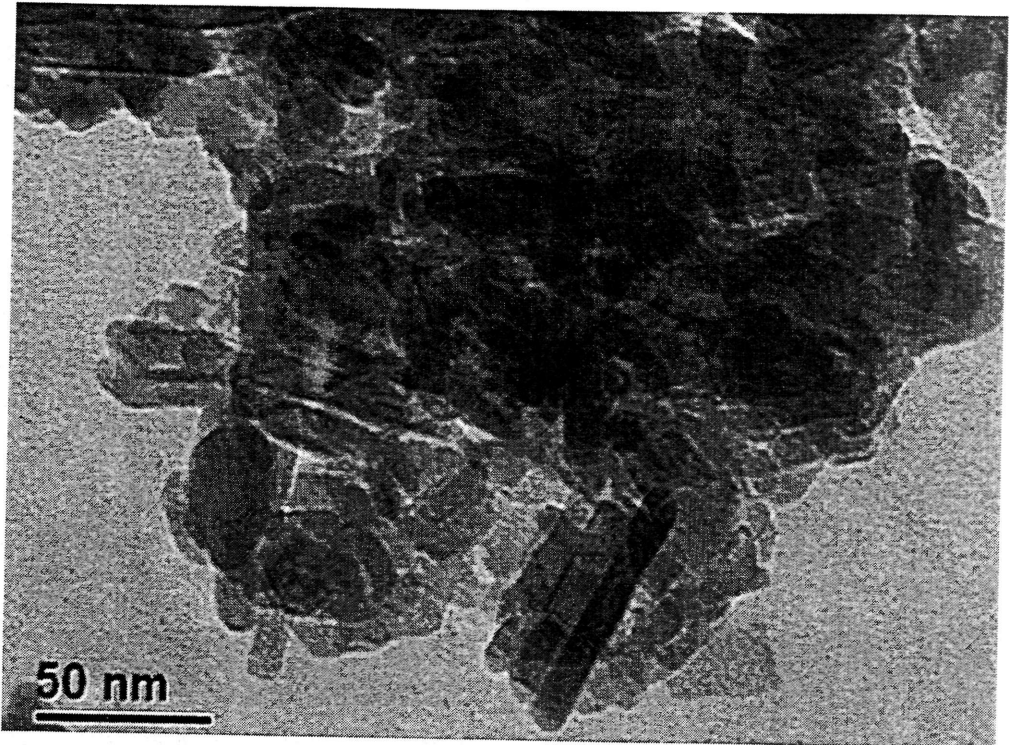
Μικροανάλυση (Electron Microprobe Analysis-EPMA) και τεχνικές της Φασματοσκοπίας εκπομπής με διέγερση πλάσματος (Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry LA-ICP-MS & Induced Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy-ICP-AES). Με αυτές τις τεχνικές δίνεται δυνατότητα αναλύσεων της μέσης χημικής σύστασης των οστών (bulk analysis) καθώς και σημειακών χημικών αναλύσεων, μέτρησης σημαντικών κύριων στοιχείων, ολιγοστοιχείων και ιχνοστοιχείων για τη διαγένεση όπως F, Cl, Ba, Sr, Fe, Mn, REE., μελέτης κατανομής στοιχείων και σχεδιασμού προφίλ για τις Σπάνιες Γαίες (χωρική



Εικ. 3, 4. Υγιές οστό, 4: Οστό κατεστραμμένο από μικροβιακή δράση και διάλυση.



Εικ. 5, 6. Μικροβιακή δράση εντός οστού (εικόνα SEM).



Εικ. 7. Κρυσταλλίτες του οστού, έτσι όπως παρατηρούνται με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης (TEM).

μεταβολή κατά μήκος συγκεκριμένων διευθύνσεων). Επίσης είναι εφικτή η μελέτη κατανομής του ουρανίου μέσα στα δείγματα, ο υπολογισμός σημαντικών λόγων μεταξύ στοιχείων (π.χ. Ca/Sr) και η μελέτη της μεταβολής τους εντός των δειγμάτων. Για τον προσδιορισμό φθορίου και χλωρίου, εφαρμόζεται η Ιοντική Χρωματογραφία (Ion Chromatography). Πολύ σημαντικός στη μελέτη της διαγένεσης οστών έχει αποδειχθεί ο συνδυασμός των αποτελεσμάτων της περιθλασιμετρίας ακτίνων -X, της φασματοσκοπίας υπερύθρου και της χημικής ανάλυσης των δειγμάτων, που μας επιτρέπει να αναδείξουμε τις μεταβολές που επιφέρει η διαγένεση στο βιολογικό απατίτη σε επίπεδο κυψελίδας των κρυστάλλων του, λόγω αντικαταστά-

σεων στη δομή τους (Stathopoulou *et al.*, 2005). Η μελέτη επιβεβαιώνει τη θεωρία ότι οι πιο σημαντικοί διαγενετικοί παράγοντες είναι οι τοπικές γεωχημικές συνθήκες και λιγότερο ο χρόνος και η ηλικία των δειγμάτων. Επίσης, χημικές και βιοχημικές τεχνικές που στηρίζονται στα συστατικά του οστού για χρονολογήσεις κλπ, μπορεί να δώσουν λανθασμένα στοιχεία αν δεν ληφθεί υπόψιν η διαγένεση των οστών.

6. Συμβολή της Μελέτης της Διαγένεσης Οστών στην Παλαιοντολογία

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να επισημανθεί η σημασία της γνώσης των διαγενετικών διεργασιών και της επίδρασης τους πάνω σε σκελετικό

υλικό, καθώς και της εφαρμογής της στην Παλαιοντολογία. Πέρα από την επιθυμία να οριστούν οι διεργασίες διαγένεσης των σκελετικών στοιχείων, είναι γεγονός ότι η κατανόηση τους μπορεί να οδηγήσει στην επίλυση πολλών άλλων παλαιοντολογικών προβλημάτων. Μελέτες όπως η χρονολόγηση του κολλαγόνου με άνθρακα 14, η ανάλυση της παλαιοδιατροφής βάσει ισωτόπων και ιχνοστοιχείων, η χρονολόγηση οστών και δοντιών με τη μέθοδο των ισωτόπων Ουρανίου και τη μέθοδο ESR και η μελέτη της συσσώρευσης ουρανίου και άλλων ιχνοστοιχείων από τα σκελετικά στοιχεία, είχαν ήδη δρομολογηθεί σχετικά νωρίς. Κάποια στιγμή όμως οι ερευνητές συνειδητοποίησαν ότι τα αποτελέσματα και η ερμηνεία τους επηρεάζονται σημαντικά από έναν παράγοντα που δεν μπορούσαν να αγνοήσουν. Αυτός δεν ήταν άλλος από την απολίθωση. Έτσι λοιπόν, ξεκίνησε το ενδιαφέρον για τη μελέτη της.

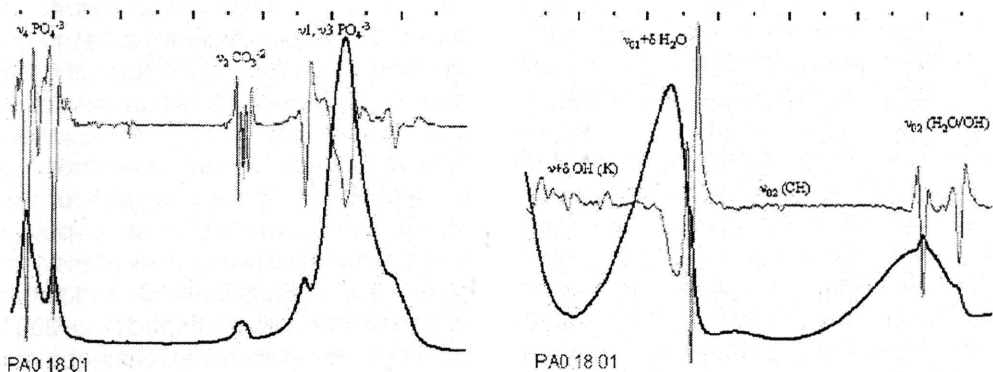
Η γνώση του αρχικού βιογενούς σήματος ενός σκελετικού στοιχείου και ο καθορισμός των χαρακτηριστικών του που οφείλονται στη διαγένεση

και όχι στην αρχική του κατάσταση, βοηθά σημαντικά στην ολοκληρωμένη μελέτη της Ταφονομίας μιας θέσης, τη κατάλληλη επιλογή δειγμάτων για χρονολόγηση σκελετικών στοιχείων καθώς και στη γνώση της αξιοπιστίας συγκεκριμένων τεχνικών και μεθόδων που βασίζονται σε χαρακτηριστικά του οστού που πιθανόν να επηρεάζονται από τη διαγένεση.

Επίσης, η μελέτη της διαγένεσης των οστών είναι ουσιαστικά το θεμέλιο, πάνω στο οποίο στηρίζονται όλες οι γεωχημικές μελέτες οστών και οδόντων.

Για παράδειγμα, διάφορες μέθοδοι χρονολόγησης στηρίζονται στη μετά θάνατον συσσώρευση ιχνοστοιχείων στα σκελετικά στοιχεία, οπότε η ακρίβεια τους απαιτεί την κατανόηση της διαγένεσης. Οι μέθοδοι αυτές παραμένουν ανεπαρκείς αυτή τη στιγμή, κυρίως επειδή η διαγενετική απορρόφηση ιχνοστοιχείων δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή.

Η μελέτη της διαγένεσης συμβάλλει επίσης στη μελέτη του απολιθωμένου DNA, καθώς είναι αυτή που ορίζει τη διατήρηση ή μη του οργανικού



Εικ. 8. φάσμα απολιθωμένου οστού με *atr* (αριστερά) και *nir* (δεξιά). ανάλυση 2ης παραγώγου για αύξηση της διακριτικής ικανότητας και εξάλειψης των ευρέων περιοχών (κόκκινα φάσματα) και τυπικά φάσματα απορρόφησης (μπλέ φάσματα)

τμήματος των οστών και άρα τη δυνατότητα χρήσης του σε σχετικές μελέτες.

Η χημεία των βιογενών ορυκτών προσφέρει τη δυνατότητα της άμεσης διερεύνησης της διαίτας, της προέλευσης και της κινητικότητας-μετανάστευσης των σπονδυλοζώνων. Αυτό όμως, γίνεται εφικτό, μόνο αν αφαιρεθούν από την τελική εικόνα των σκελετικών στοιχείων οι διαγενετικές μεταβολές και ανακτηθούν τα αυτούσια βιογενή σήματα. Μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει ακόμη κατανοητό το πότε και πως αυτά τα σήματα δύνανται να καλυφθούν, οπότε καμία από τις προαναφερθείσες τεχνικές δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια. Η μελέτη της διαγένεσης βοηθά και στη μελέτη των ισotόπων ή συγκεκριμένων χημικών στοιχείων που μας δίνουν πληροφορίες για την παλαιοδιατροφή (π.χ. Sr/Ca), την παλαιοθερμοκρασία-παλαιοκλιματολογία, κλπ (Price *et al.*, 1992; Hedges & Millard, 1995).

Εκτός των ανωτέρω, η μελέτη της διαγένεσης οστών μπορεί να οδηγήσει στη γνώση των διαγενετικών προφίλ συγκεκριμένων απολιθωματοφόρων θέσεων, ώστε να είναι δυνατόν να εξακριβωθεί πιθανή προέλευση δειγμάτων από συλλογές κλπ. Αυτό σημαίνει ότι αποκτώνται πληροφορίες που αφορούν χαρακτηριστικά του παλαιο-μικρο-περιβάλλοντος ταφής, όπως το pH, το Eh, η θερμοκρασία, οι συνθήκες υγρασίας κλπ., δηλαδή πληροφορίες που σε συνδυασμό με άλλες, μπορούν να οδηγήσουν σε γενικότερα συμπεράσματα που αφορούν το παλαιοπεριβάλλον των υπό μελέτη θέσεων.

Επιπρόσθετα, τίθενται και θέματα όπως η καύση οστών, που μπορούν να βοηθήσουν τους αρχαιολόγους στο έργο τους αλλά και τους παλαιοντολόγους όσον αφορά τη συνύπαρξη ή μη των

υπό μελέτη πανίδων και του ανθρώπου (Stathopoulou *et al.*, 2004). Αυτό αφορά κυρίως στη διάκριση της καύσης υλικού και της κηλίδωσης απολιθωμάτων από οξειδία.

Σημαντική είναι επίσης η συμβολή της γνώσης των μεταβολών που έχει υποστεί ένα οστό και στη συντήρησή του, καθώς έτσι καθίσταται δυνατή η επιλογή των πλέον αποτελεσματικών τρόπων συντήρησης αλλά και μουσειακής έκθεσης του αργότερα.

Τέλος, είναι δυνατόν η παρουσία διαγενετικών ή/και ιστολογικών χαρακτηριστικών σε αντικείμενα, να επιβεβαιώσει την παράνομη χρήση ή μη, καθώς και το εμπόριο απολιθωμένων και σπάνιων υλικών (π.χ. χαυλιόδοντες, κλπ.).

Η διαγένεση σκελετικών στοιχείων παραμένει ως σήμερα ένα σχετικά άλυτο μυστήριο, έχοντας απασχολήσει ολοένα και περισσότερο τις τελευταίες δεκαετίες πληθώρα ερευνητών από πολλούς διαφορετικούς τομείς και αποτελώντας ένα από τα πιο σύγχρονα και πολλά υποσχόμενα θέματα πολυδιάστατης έρευνας. Από τις πρώτες συστηματικές μελέτες σχετικά με τις φυσικές και χημικές αλλαγές κατά την απολίθωση, είναι αυτή του Wyckoff (1972), ο οποίος μπορεί να θεωρηθεί ως ένας από τους πρωτεργάτες σε αυτόν το χώρο. Ακολουθεί πληθώρα σχετικών μελετών και δημοσιεύσεων, που όμως προέρχονται αποκλειστικά από ξένους ερευνητές. Οι Έλληνες ερευνητές που έχουν ασχοληθεί με σχετικά θέματα, όπως η μικροδομή των οστών και η κατανομή του ουρανίου εντός αυτών είναι πολύ λίγοι (Bassiakos *et al.*, 1992; Bartsiakos & Middleton, 1992; Stathopoulou & Theodorou, 2001; Stathopoulou *et al.*, 2004; Stathopoulou 2005, Stathopoulou *et al.*, 2005).

Το θέμα της διαγένεσης σκελετικών στοιχείων δεν μελετάται δυστυχώς

ακόμη στη χώρα μας εντατικά. Ευελπιστούμε η προσπάθεια αυτή, να βοηθήσει στην καθιέρωση της μελέτης της διαγένεσης στο χώρο της Παλαιοντολογίας όσον αφορά στην ελληνική πραγματικότητα και να είναι η αρχή μιας συστηματικής και αποτελεσματικής έρευνας στο μέλλον.

7. Ευχαριστίες

Ευχαριστίες οφείλονται στον Αν. Καθ. Γ. Θεοδώρου (Πανεπιστήμιο Αθηνών) και τον Δρ. Γ. Μπασιάκο (Ε.ΚΕ.Φ.Ε. "Δημόκριτος") για τη βοήθεια και στήριξη τους κατά τη μελέτη της διαγένεσης οστών τα τελευταία χρόνια. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους Δρ. Β. Ψυχάρη από το Ε.ΚΕ.Φ.Ε. "Δημόκριτος" και τους Δρ. Γ. Χρυσικό και Δρ. Β. Γκιώνη από το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών για τη συμβολή τους στη μελέτη με τις τεχνικές της περιθλασιμετρίας ακτίνων -X και της φασματοσκοπίας Υπερύθρου. Ακόμη, τους Κ. Μπάρλα και Ε. Μιχαηλίδη από τον Τομέα Γεωχημείας - Οικονομικής Γεωλογίας του ΕΚΠΑ για τη βοήθεια τους κατά τη χρήση του SEM-EDS. Επίσης, το Υπουργείο Αιγαίου, τη Γ.Γ.Ε.Τ και τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Πανεπιστημίου Αθηνών για τη χρηματοδότηση των προγραμμάτων σταπλάισια των οποίων προέκυψε μέρος του υλικού που έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των διεργασιών της διαγένεσης οστών.

8. Βιβλιογραφία

Balmain, N., Legros, R., and Bonel, G., 1982. X-Ray diffraction of calcined bone tissue: a reliable method for the determination of bone Ca/P molar ratio, *Calcified Tissue International*, 34 (2), S93-S98.

Barker, M. J., Clarke, J. B., and Martill, D. M., 1997. Mesozoic reptile bones as diagenetic windows, *Bull. Soc.*

Geol. France, 168 (5), 535-545.

Bartsiakos, A., and Middleton, A. P., 1992. Characterization and dating of recent and fossil bone by X-Ray Diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19, 63-72.

Bassiakos, Y., Athanassiou, A., Roussiakis, S., and Theodorou, G., 1992. Variation of U-Microdistribution in fossil Hipparion Teeth as a complicating factor in dating studies, *Journal of Radioanalytical and nuclear Chemistry*, 158 (2), 239-250.

Boskey, A., and Posner, A., 1976. Formation of Hydroxylapatite at low supersaturation, *The Journal of Physical Chemistry*, 80,40-45.

Bryda Szpunar, C., Lambert, J. B., and Buikstra, J. E., 1978. Analysis of Excavated bone by Atomic Absorption, *Am. Journal of Phys. Anthropology*, 48, 199-202.

Child, A. M., 1995. Microbial Taphonomy of Archaeological bone, *Studies in Conservation*, 40, 19-30.

Glimcher, M., Bonar, L., Grynepas, M., Landis, W. and Roufosse, A., 1981. Recent studies of bone mineral: is the amorphous calcium phosphate theory valid? *Journal of Crystal Growth*, 53, 100-119.

Cressey, B. A., & Cressey, G., 2003. A model for the composite nanostructure of bone suggested by high-resolution transmission electron microscopy, *Mineralogical Magazine*, 67(6), 1171-1182.

Hackett, C. J., 1981. Microscopical focal destruction (tunnels) in exhumed human bones, *Medicine, Science and the Law*, 21, 243-265.

Halstead, L. B., 1974. *Vertebrate Hard Tissues*, 1-179, London.

Hanson, D. B., and Buikstra, J. E., 1987. Histomorphological alteration in buried human bone from

- the Lower Illinois Valley: Implications for Palaeodietary Research, *Journal of Archaeological Science*, 14, 549-563.
- Hedges, E. M., and Millard, A. R., 1995. Measurements and relationships of diagenetic alteration of bone from three archaeological sites, *Journal of Archaeological Science*, 22, 201-209.
- Hedges, R. E. M., 2002. Bone diagenesis: an overview of processes, *Archaeometry*, 44(3), 319-328.
- Lambert, J., Vlasak Simpson, S., Buikstra, J. and Hanson, D., 1983. Electron Microprobe analysis of elemental distribution in excavated human femurs, *American Journal of Physical Anthropology*, 62, 409-423.
- Lee, K., Appleton, J., Cooke, M., Keenan, F. and Sawicka-Kapusta, K., 1999. Use of laser ablation Inductively coupled plasma mass spectrometry to provide element versus time profiles in teeth, *Analytica Chimica Acta*, 395, 179-185.
- Nicholson, R. A., 1996. Bone degradation, Burial Medium and Species Representation: Debunking the Myths, an experiment-based approach, *Journal of Archaeological Science*, 23, 513-533.
- Pate, F., Hutton, J., and Norrish, K., 1989. Ionic exchange between soil solution and bone: toward a predictive model, *Applied Geochemistry*, 4, 303-316.
- Person, A., Bocherens, H., Saliege, J. F., Paris, F., Zeitoun, V., and Gerard, M., 1995. Early diagenetic evolution of bone phosphate: an X-Ray Diffractometry analysis, *Journal of Archaeological Science*, 22, 211-221.
- Piepenbrink, H., 1989. Examples of chemical changes during fossilization, *Applied Geochemistry*, 4, 273-280.
- Posner, A., 1985. The mineral of Bone, *Clinical Orthopaedics*, 200, 87-99.
- Price, T., Blitz, J., Burton, J., and Ezzo, J., 1992. Diagenesis in prehistoric bone: Problems and solutions, *Journal of Archaeological Science*, 19, 513-529.
- Psycharis, V., Kalamakis, N., Boukos, N., Trapalis, C., Bourlinos, A., And Karakasides, M., 2001. *Chemical and X-ray diffraction peak broadening analysis, Electron Microscopy and IR studies of biological apatites*. Seventh European Powder Diffraction Conference EPDIC 7, Trans Tech Publications, Switzerland.
- Quattropiani, L., Charlet, L., De Lumley, H., and Menu, M., 1999. Early Palaeolithic bone Diagenesis in the Arago cave at Tautavel, France, *Mineralogical Magazine*, 63(6), 801-812.
- Schwarcz, H., and Grun, R., 1989. ESR dating of tooth enamel from prehistoric archaeological sites, *Applied Geochemistry*, 4, 329-330.
- Shipman, P., 1981. *Life History of a fossil - An introduction to Taphonomy and Palaeoecology*. Harvard University Press, pp. 222.
- Stathopoulou, E., 2005. First results on the fossilization of dwarf hippo skeletal remains from Aghia Napa, Cyprus, *Monographs of the Natural History Society of the Balearic Islands*, 12, 319-324.
- Stathopoulou, E., and Theodorou, G., 2001. Observations on the Diagenesis of Dwarf Elephant Skeletal Remains from the island of Tilos (Dodecanese, Greece), "The World of Elephants", *Proceedings of the 1st International Conference*, 557-562.
- Stathopoulou, E., Theodorou, G.,

- Panayides, I., and Bassiakos, Y., 2004. Diagenesis of bone and colouration: the example of Aghia Napa, Cyprus, *Proceedings of the 5th International Symposium on Eastern Mediterranean Geology*, Vol. 1, 347-350.
- Stathopoulou, E., Psycharis, V., Chryssikos, G., Gionis, V., and Theodorou, G., 2006 (in press). Bone diagenesis: New data from Infrared Spectroscopy and X-ray Diffraction, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*.
- Surovell, T. A., and Stiner, M. C., 2001, Standardizing Infra-red measures of bone mineral crystallinity: an experimental approach, *Journal of Archaeological science*, 28, 633-642.
- Von Endt, D., and Ortner, D., 1984. Experimental effects of bone size and temperature on bone diagenesis, *Journal of Archaeological Science*, 11, 247-253.
- Weiner, S., and Price, P. A. P., 1986. Dissagregation of bone into crystals, *Calcified Tissue International*, 39, 365-375.
- Weiner, S., W., Traub, Wagner, H.D., 1999. Lamellar Bone: Structure-Function Relations, *Journal of Structural Biology*, 126, 241-255.
- Williams, C. T., 1989. Trace elements in fossil bone, *Applied Geochemistry*, 4, 247-248.
- Wyckoff, R.W.G., 1972. The Biochemistry of Animal Fossils, *Sciencetechnica*.