

Técnicas microscópicas y granos de almidón antiguos

Víctor F. Vásquez Sánchez¹ y Teresa Rosales Tham²

¹Centro de Investigaciones Arqueobiológicas y Paleoecológicas Andinas-"ARQUEOBIOS", Trujillo (Peru) Apartado Postal 595, Trujillo, E-mail: vivasa2401@yahoo.com; ² Director del Laboratorio de Arqueobiología de la Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad Nacional de Trujillo

El estudio de los granos de almidón antiguos que son aislados de diversos contextos arqueológicos, requiere de conocimientos relacionados a la composición bioquímica de los almidones y en especial del uso adecuado de diversas técnicas microscópicas.

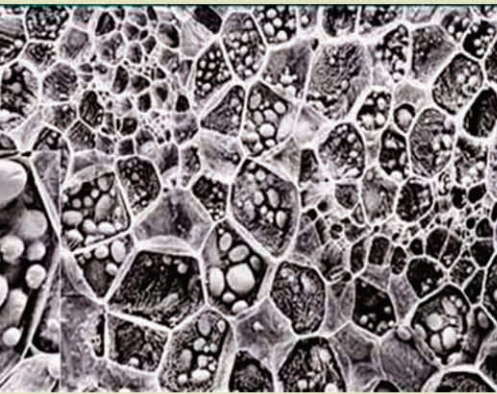
Nuestra experiencia con estos restos microbotánicos data desde 1999 a partir del estudio de una colección de fragmentos de cerámica -con sedimentos orgánicos adheridos del sitio Namanchugo, que viene investigando el Dr. John Topic (Trent University) lo cual nos ha permitido en los últimos 8 años aplicar diversas técnicas microscópicas, con la cual se ha rescatado valiosa información sobre el uso y la preparación de alimentos en base a tubérculos y cereales andinos en este importante sitio inca.

La aplicación y elección de algunas técnicas microscópicas está en relación al tipo de material que se analiza y los datos que necesitamos

extraer de ellos. Evidencias de granos de almidón antiguo han sido identificadas de tubérculos, raíces tuberosas deshidratadas y quemadas, adheridos en los intersticios de herramientas líticas, dentro de sedimentos orgánicos adheridos al interior de fragmentos de cerámica, dentro de coprolitos y también en suelos arqueológicos.

Los granos de almidón de plantas andinas como cereales y tuberosas, tienen tamaños que varían entre 100 y 10 micras. Estos según los contextos y estado en que son extraídos nos permiten evaluar el tipo de técnica microscópica a utilizar. También el grado de conservación del mismo grano de almidón, lleva a evaluar algunas técnicas de tinción y tipo de microscopio a usar.

Cuando se realiza análisis de restos adheridos al interior de fragmentos de cerámica (restos de ollas, tinajas) primero se realizan observaciones utilizando microscopio estereoscópico con magnificaciones que pueden oscilar entre 10X y



50X para ubicar los residuos que posiblemente contienen granos de almidón. Una vez aislados estos residuos, se pueden estudiar con un microscopio de luz transmitida o de

luz polarizada, con magnificaciones entre 100X y 400X.

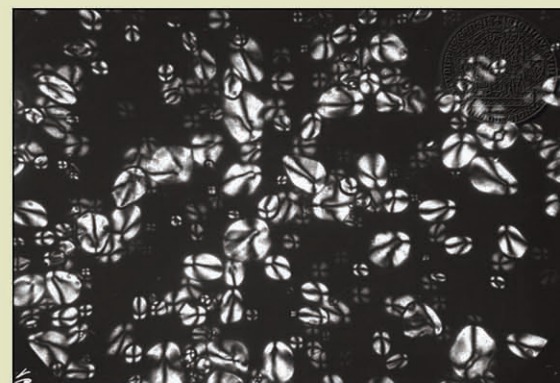
En el caso de aislar residuos adheridos a herramientas líticas que se sospecha fueron utilizados para el procesamiento de tubérculos, raíces tuberosas, cereales, es recomendable utilizar un microscopio estereoscopio con una mayor magnificación entre 50X y 100X, además de una fuente de luz fría con iluminación oblicua que permita reflejar luz al pasar a lo largo de la trayectoria, una para cada ojo y así proveer una imagen tridimensional de la muestra (Barton y Fullager 2006). Se recomienda uso de la luz fría para no alterar térmicamente a los residuos adheridos en las herramientas líticas. Nuevamente una vez aislados los residuos estos pueden ser observados con microscopía de luz transmitida, de polarización o microscopía confocal.

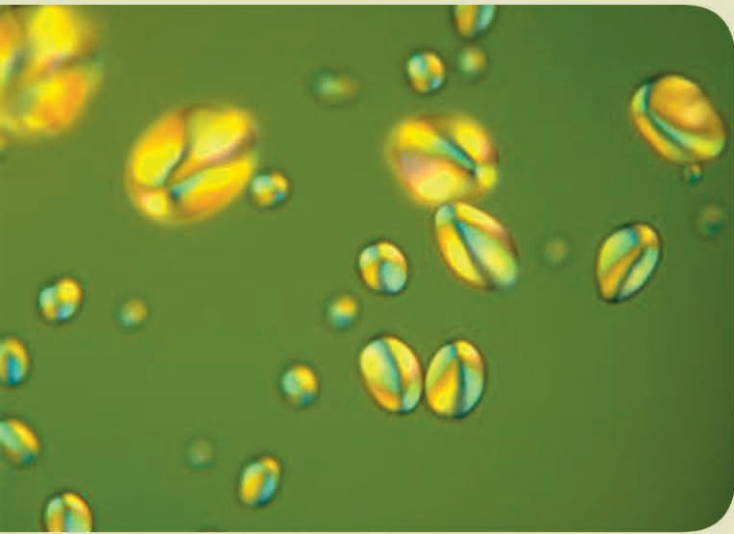
En nuestra experiencia el uso de un microscopio de luz transmitida, con un manejo adecuado del condensador y lentes, permite obtener buenos resultados para identificar granos de almidón antiguos aislados de residuos adheridos a fragmentos de cerámica, herramientas líticas y también de macrorestos disecados. Sin embargo los especialistas recomiendan asegurar que la muestra tenga una buena iluminación para mejorar la resolución y contraste de la imagen, en este caso recomiendan utilizar un microscopio que contenga iluminación Köhler. La función de iluminación Köhler es asegurar que el espécimen sea iluminado con un campo uniforme de luz y así poder estudiar las características de las lamelas y el hilum del almidón antiguo (Barton y Fullager 2006).

Otra técnica microscópica muy útil para el estudio de granos de almidón antiguos, lo constituye la microscopía de luz polarizada. Los filtros de luz polarizada son también necesarios para inducir contraste en los especímenes. Dolores Piperno en un reciente trabajo indica que la forma del grano en sus tres dimensiones, contorno, características de superficie, forma y posición del hilum (céntrico o excéntrico), número y características de facetas, presencia y características de fisuras, y también tamaño y morfología de los brazos que forman la cruz con la polarización, son los criterios a tomar en cuenta para la identificación de granos de almidón antiguos (Piperno, 2006).

Una característica de los granos de almidón bajo luz polarizada es que ellos presentan dos bandas oscuras, las cuales forman una cruz en varias orientaciones de su superficie. Este patrón es referido como una polarización cruzada. El resultado de estas formas observadas bajo luz polarizada, es que las moléculas están arregladas perpendicular a su superficie, entonces cuando la luz atraviesa un filtro de polarización en un ángulo de 90°, los granos de almidón producen una cruz oscura de polarización. Esta propiedad de los almidones para causar birrefringencia y polarización cruzada es el elevado orden de la estructura molecular de las capas de amilosa y amilopectina dentro de los gránulos. Por lo tanto el uso de este tipo de microscopía resulta importante para identificar si estamos frente a un grano de almidón, un artefacto, y luego por la posición del hilum, identificar la especie vegetal correspondiente.

En nuestra experiencia, la luz polarizada también permite observar el grado de daño que ha sufrido el grano de almidón en sus capas de amilosa y amilopectina, lo cual abre la posibilidad para interpretar si estos fueron alterados por



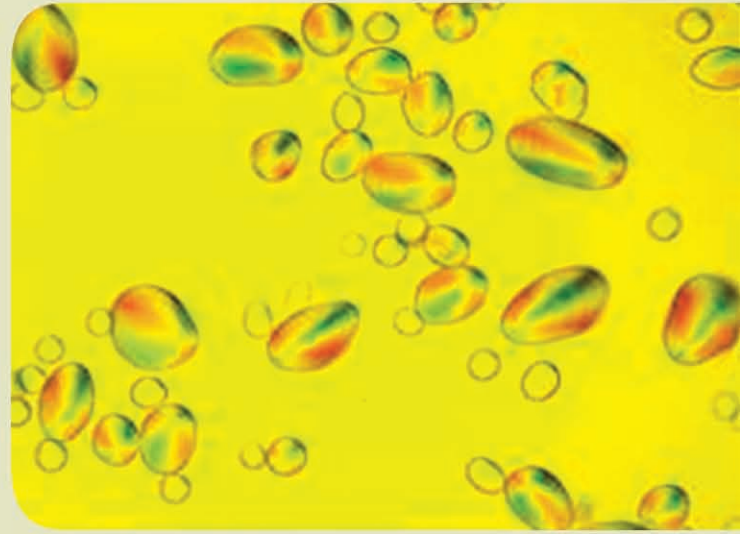


temperatura, procesos hidrolíticos o de fermentación enzimática.

Las técnicas de microscopía de luz transmitida y de polarización no implican necesariamente el uso de métodos de tinción para los granos de almidón antiguos, pero en el caso de la Microscopía Confocal, es necesario utilizar un colorante o un fluorocromo para poder observar especialmente granos de almidón dañados y localizar esferas proteicas.

El microscopio confocal, es un microscopio óptico que incorpora dos diafragmas: un diafragma de iluminación localizado tras la fuente luminosa denominado Pinhole de Excitación, cuya utilidad es eliminar la luz proveniente de planos superiores e inferiores al plano confocal, aumentando con ello la claridad y resolución de la imagen; y un diafragma de detección, de tamaño variable situado delante del fotodetector, denominado Pinhole de Emisión. Así, este tipo de microscopía nos permite alta precisión, velocidad de barrido, resolución de hasta 2048 por 2048 píxeles, amplificación, filtros, disminución del ruido y escaneos seriados para la realización del objeto en 3D.

Su utilidad para estudiar los granos de almidón antiguos, radica en identificar granos dañados por los procesos de molienda y cocción, así por ejemplo utilizando el fluorocromo 3-(4-carboxibenzoil) quinolina-2-carboxaldehído, se puede observar esferas de proteínas en granos de



almidón de *Solanum tuberosum* (papa o patata) y en *Zea mays* (maíz) (Han y Hamaker 2002). Otra técnica microscópica de alta resolución, es la Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Se trata de un microscopio que utiliza electrones que son bombardeados sobre la muestra para formar una imagen de alta resolución, lo que significa que características espacialmente cercanas en la muestra, pueden ser observadas a una alta magnificación. Las muestras adecuadas para utilizar este tipo de microscopía lo constituyen fragmentos de semillas de maíz, tubérculos y raíces tuberosas disecadas y carbonizadas, y en general todo tipo de macroresto que contenga una buena cantidad de almidones. En este caso solo es necesaria una pequeña fracción de la muestra, la cual es recubierta con una capa de oro (Au), en condiciones de vacío. La muestra teñida es barrida con electrones enviados desde un cañón, y un detector mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones. Además los microscopios electrónicos de barrido, llevan incorporados un detector EDAX (Analizador de Energía Dispersiva por Rayos X) que realiza microanálisis químicos de las muestras bajo MEB, descartando la presencia de artefactos, cuando se analiza muestras de sedimentos al interior de fragmentos de cerámica para identificar almidones.

Las técnicas anteriormente descritas han permitido rescatar información valiosa como es el caso de la identificación de tubérculos deshidratados en sitios

formativos del valle de Casma, donde la utilización de MEB fue muy importante para la identificación de los macrorestos a partir de sus granos de tubérculos deshidratados en sitios formativos del valle de Casma, donde la utilización de MEB fue muy importante para la identificación de los macrorestos a partir de sus granos de almidón (Ugent et al, 1982).

Recientemente y mediante el estudio de los granos de almidón antiguos, se reporta el evento de domesticación y dispersión de *Capsicum* spp. L. Los almidones antiguos fueron encontrados en siete sitios que datan de 6000 años antes del presente y tienen un rango desde las Bahamas al sur de Perú, demostrándose que el maíz y el ají se dispersaron juntos como un complejo de plantas alimenticias Neotropicales (Perry et al, 2007).

En el año 2006 hemos analizado una valiosa colección de fragmentos de cerámica del formativo temprano, medio y tardío de la costa norte. Estos fragmentos contenían sedimentos orgánicos que albergaban diversos granos de almidón de plantas cultivadas. Los resultados obtenidos utilizando tres técnicas microscópicas, están siendo evaluados y próximamente se harán las publicaciones respectivas con datos que renovaran y actualizaran el conocimiento del consumo de las plantas cultivadas por las primeras culturas con cerámica de la costa norte.

Agradecimientos: Esta nota queremos dedicarla íntegramente al Dr. John Topic (Trent University) por su gran interés y apoyo para los análisis de granos de almidón antiguo de una valiosa colección de fragmentos de cerámica de Namanchugo, Palco, Cerro Icchal y Chulite, de sus investigaciones durante los últimos ocho años en el Oráculo Inca de Catequil, San José de Porcón.

Referencias Bibliográficas:

- Barton H, Fullagar R (2006): Microscopy. In: Ancient Starch Research Edited by Robin Torrence and Huw Barton, Chapter 3, Pp. 47-52.
- Han XZ, Hamaker BR (2002): Location of Starch Granule-associated Proteins Revealed by Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Cereal Science* 35:109–116.
- Piperno DR (2006): Identifying Manioc (*Manihot esculenta*

Crantz) and other crops in Pre-Columbian Tropical America through Starch Grain Analysis: A Case Study from Central Panama. In: Documenting Domestication New Genetic and Archaeological Paradigms Edited by Melinda A. Zeder, Daniel G. Bradley, Eve Emshwiller, and Bruce D. Smith. Chapter 5, Pp. 46-67.

- Ugent D, Pozorski S, Pozorski T (1982): Archaeological potato tuber remains from the Casma Valley of Peru. *Economic Botany* 36. 182-192 pp.
- Perry L, Dickau R, Zarrillo S, Holst I, Pearsall D, Piperno D, Berman MJ, Cooke R, Rademaker K, Ranere AJ, Raymond JS, Sandweiss D, Scaramelli F, Tarble K, Zeidler JA (2007): Starch Fossils and the Domestication and Dispersal of Chili Peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315:986-988.

