



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

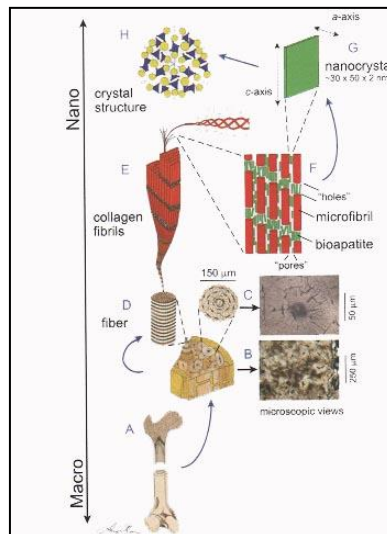
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΓΕΩΛΟΓΙΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ορυκτοχημεία και Ταφονομικά Χαρακτηριστικά Βιο-ορυκτών από το Νεογενές του Sahabi της Λιβύης



Ειρήνη Σ. Μαργαρίτη

Επιβλέπων: Αθανάσιος Γκοντελίτσας, Επίκουρος Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ,

ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2014

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ορυκτοχημεία και Ταφονομικά Χαρακτηριστικά Βιο-ορυκτών από το Νεογενές του Sahabi της Λιβύης

Ειρήνη Σ. Μαργαρίτη
Α.Μ. 21116

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Αθανάσιος Γκοντελίτσας, Επίκουρος Καθηγητής

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: Αθανάσιος Γκοντελίτσας, Επίκουρος Καθηγητής

Πάρις Παυλάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής

Παναγιώτης Βουδούρης, Επίκουρος Καθηγητής

Δεκέμβριος 2014

M.Sc. THESIS

Mineral Chemistry and Taphonomic Characteristics of Biominerals from the Neogene Site of
Sahabi, Libya

Eirini S. Margariti
Matriculation No: 21116

SUPERVISOR: Athanasios Godelitsas, Assistant Professor

EXAMINING COMMITTEE: Athanasios Godelitsas, Assistant Professor

Paris Pavlakis, Associate Professor

Panagiotis Voudouris, Assistant Professor

December 2014

© 2014

ΕΙΡΗΝΗ Σ. ΜΑΡΓΑΡΙΤΗ

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

*Σε όλους εκείνους
που αγωνίζονται για τα όνειρά τους...*

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	8
Περίληψη.....	9
Abstract	10
Κατάλογος Εικόνων	12
Κατάλογος Πινάκων	19
Κεφάλαιο 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	21
1.1 Εισαγωγικά Στοιχεία.....	21
1.2 Οστό.....	22
1.2.1 Γενικά	22
1.2.2 Χημική Σύσταση: Βιοαπατίτης-Κολλαγόνο	23
1.2.3 Δομικά Χαρακτηριστικά	29
1.2.4 Διαγένεση	32
1.2.5 Ολιγοστοιχεία και Ιχνοστοιχεία στα απολιθωμένα οστά	35
Κεφάλαιο 2: ΘΕΣΗ-ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ	37
2.1 Απολιθωματοφόρος Θέση	37
2.1.1 Γεωγραφική Θέση και Τεκτονική	37
2.1.2 Ιστορικό των ανασκαφών.....	38
2.1.3 Σπουδαιότητα της απολιθωματοφόρου θέσης	40
2.1.4 Περιγραφή της στρωματογραφίας της περιοχής.....	41
2.1.6 Βιοχρονολογία- Απολιθωμένη πανίδα σπονδυλωτών.....	46
2.1.7 Παλαοπεριβαλλοντική αναπαράσταση	49
2.2 Υλικό	53
2.3 Μεθοδολογία	61
2.3.1 Γενικά.....	61
2.3.2 Χρήση των Δεσμών e ⁻ στη Μελέτη Γεωϋλικών	61
2.3.2.1. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)- Μικροανάλυση Ακτίνων -X (EDS)	61
2.3.2.2 Ηλεκτρονική Μικροανάλυση (EPMA)	68
2.3.3 Περιθλασιμετρία Ακτίνων -X (XRD)-Μέθοδος Rietveld	70
2.3.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)	74
2.3.5 Φασματοσκοπία Moessbauer	78
Κεφάλαιο 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	81
3.1 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)- Μικροανάλυση Ακτίνων-X (EDS)	81
3.1.1 Ποιοτική παρατήρηση δειγμάτων - Βασικά Ιστολογικά Χαρακτηριστικά και Μικροβιακή Δράση	81

3.1.2 Δευτερογενείς Ορυκτές Φάσεις.....	87
3.1.3 Ημιποσοτική σημειακή χημική ανάλυση.....	91
3.2 Ηλεκτρονική Μικροανάλυση (Electron Probe Microanalysis- EPMA).....	96
3.2.1 Αποτελέσματα αναλύσεων.....	96
3.2.2 Λόγοι Ca/P.....	97
3.3. Περιθλασιμετρία Ακτίνων-Χ (XRD)-Μέθοδος RIETVELD.....	105
3.3.1 Φαινομενολογική παρουσίαση των διαγραμμάτων περίθλασης.....	105
3.3.2 Δείκτης Κρυστάλλωσης (C.I.).....	112
3.3.3 Ανάλυση Rietveld.....	112
3.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR).....	120
3.4.1 Φαινομενολογική παρουσίαση των φασμάτων μέσου υπερύθρου (MIR).....	120
3.4.2 Φάσματα δεύτερης παραγώγου.....	126
3.4.3 Φαινομενολογική παρουσίαση των φασμάτων μέσου υπερύθρου των υπό μελέτη δειγμάτων επιφανειακής κρούστας και ιζήματος.....	129
3.4.4 Φασματοσκοπικοί Δείκτες.....	130
3.5 Φασματοσκοπία Moessbauer.....	132
Κεφάλαιο 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	135
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	139

Ευχαριστίες

Η εκπόνηση μίας εργασίας ειδίκευσης δε θα μπορούσε παρά να αποτελεί έργο συλλογικό. Στην προσπάθεια αυτή στάθηκα τυχερή λόγω της συνεργασίας μου με όλους εκείνους που με βοήθησαν και τους οποίους νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω.

Αρχικά θερμές ευχαριστίες οφείλω στα μέλη της τριμελούς μου επιτροπής. Συγκεκριμένα, στον επιβλέποντα μου, Επίκουρο Καθηγητή Αθανάσιο Γκοντελίτσα, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συνδυάσω την επιστήμη της Παλαιοντολογίας, που τόσο αγαπώ, με το σύγχρονο τομέα της βιο-ορυκτολογίας. Επίσης, για την προσφορά των πλούσιων γνώσεων του και την αμέριστη υποστήριξη. Στη συνέχεια, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Πάρι Παυλάκη για την παροχή του υπό μελέτη υλικού, τις πολύτιμες συμβουλές του και την ακέραια κριτική του ματιά, που πηγάζει από τη σημαντική εμπειρία του τόσο για την υπό μελέτη απολιθωματοφόρο θέση όσο και γενικότερα για θέματα παλαιοντολογίας σπονδυλωτών και ταφονομίας. Ακόμη, τον Επίκουρο Καθηγητή Παναγιώτη Βουδούρη για τις χρήσιμες υποδείξεις του και την πρόθυμη πάντα συμβολή του.

Συνεχίζοντας, ανεκτίμητη για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας υπήρξε η συμβολή της Δρ. Ελίζαμπεθ Σταθοπούλου, όχι μόνο λόγω του οικείου αντικειμένου μελέτης και του βάθους στο οποίο το προσεγγίζει και το μελετά αλλά επίσης χάρη στην ανιδιοτελή μετάδοση των γνώσεών της και τις επιστημονικές αλλά και φιλικές της συμβουλές όποτε τις χρειάστηκα.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Χημείας Ερμόλαο Ιατρού για τη βοήθεια του στην εξοικείωση μου με τη φασματοσκοπία υπερέθρου. Για την προσεκτική επιλογή των υπό μελέτη δειγμάτων ευχαριστώ τον Δρ. Δημήτρη Μιχαηλίδη. Επιπροσθέτως, ευχαριστώ τον Δρ. Ζαχαρία Ουρανό για τη βοήθειά του με την περιθλασιμετρία ακτίνων- X. Μία ακόμη συνεργασία ήταν αυτή με το εργαστήριο φασματοσκοπίας Moessbauer του Ι.Ε.Υ. του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος και συγκεκριμένα με τον Δρ. Ιωάννη Σανάκη, τον οποίο ευχαριστώ θερμά.

Στο πλαίσιο του προγράμματος Erasmus μου δόθηκε η δυνατότητα να εκπονήσω μέρος της εν λόγω εργασίας στο Ινστιτούτο Ορυκτολογίας του Παν/μίου Westfälische Wilhelms - Universität στο Μίνστερ της Γερμανίας. Εργάστηκα υπό την επίβλεψη του Prof. Andrew Putnis και επιμέρους συνεργάστηκα με: τους Dr. Christine Putnis και Dr. Joern Hovelmann (SEM-EDS), Dr. Peter Schmidt - Beurmann (XRD- Rietveld) και Dr. Jasper Berndt και Beate Schmitte (EPMA). Οφείλω ένα ειλικρινές ευχαριστώ σε όλους για την ισότιμη με τους υπόλοιπους φοιτητές αντιμετώπιση και την αμέριστη βοήθεια.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω το τμήμα Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος και το τμήμα Χημείας του ΕΚΠΑ για τον εργαστηριακό εξοπλισμό που χρησιμοποίησα, το Institut für Mineralogie και το WWU για την τετράμηνη φιλοξενία, το Ι.Ε.Υ. του Δημόκριτου καθώς και το Παν/μιο Garyounis στη Λιβύη, στο οποίο ανήκει το υπό μελέτη απολιθωματικό υλικό. Επιπλέον, το Μουσείο Παλαιοντολογίας του ΕΚΠΑ και τους φοιτητές που εργάζονται σε αυτό για όλη τη βοήθεια την ημέρα παρουσίασης της εργασίας μου.

Τελειώνοντας, ευχαριστώ από καρδιάς την οικογένεια μου για την αγάπη και την υπομονή όλα αυτά τα χρόνια καθώς και τους φίλους μου για την υποστήριξη.

Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία ειδίκευσης αφορά τη μελέτη των διαγενετικών μεταβολών σε δεκαπέντε απολιθωμένα σκελετικά θραύσματα αρτιοδαχτύλων, ως επί το πλείστον, θηλαστικών (κυρίως Bovidae, Hippopotamidae, Giraffidae και μεμονωμένα δείγματα Carnivora, Osteichthyes) από την απολιθωματοφόρο θέση Sahabi στη ΒΑ Λιβύη, νεογενούς ηλικίας. Με τον όρο διαγενετικές διεργασίες περιγράφονται οι ιστολογικές, ορυκτολογικές, χημικές, φασματικές και δομικές μεταβολές των χαρακτηριστικών του βιογενούς απατίτη - που συνιστά το ανόργανο τμήμα του οστού - και του οστίτη ιστού ως σύνολο. Επιπλέον στόχο της μελέτης μας αποτελεί η εξαγωγή πληροφοριών για το τοπικό γεωχημικό μικρο-περιβάλλον ταφής, δεδομένης της πληθώρας επιτρεπτών αντικαταστάσεων εντός της κρυσταλλικής δομής του βιοαπατίτη και της παρουσίας των διαθέσιμων προς ‘‘ανταλλαγή’’ στοιχείων στα ιζήματα της περιοχής μελέτης και τα κυκλοφορούντα υδατικά διαλύματα. Η πραγματοποίηση ορυκτοχημικών αναλύσεων σε απολιθωμένα οστά από το Sahabi γίνεται για πρώτη φορά από όσο είναι δυνατό να γνωρίζουμε. Μελετώνται, επίσης, τέσσερα δείγματα από κρούστες που παρατηρούνται μακροσκοπικά στην επιφάνεια δειγμάτων και ένα ίζημα, που εντοπίστηκε στο εσωτερικό τμήματος ενός δείγματος σπονδύλου.

Οι τεχνικές που εφαρμόζονται είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης σε συνδυασμό με μικροανάλυση ακτίνων-X (SEM-EDS), η ηλεκτρονική μικροανάλυση (EPMA), η περιθλασιμετρία ακτίνων-X (XRD) και η μέθοδος Rietveld, η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier στο μέσο υπέρυθρο (FTIR) και η φασματοσκοπία Moessbauer.

Από τα αποτελέσματα της εργασίας μας προκύπτει η έντονη παρουσία φθορίου και ανθρακικών τύπου-B ως διεισδύσεις, αντικαθιστώντας τα OH και τη φωσφορική ρίζα στη δομή του βιοαπατίτη αντίστοιχα. Ειδικότερα, ξεκινώντας από έναν βιογενή ανθρακικό υδροξυλαπατίτη με ουσιαστικές διαφορές από τον ορυκτό υδροξυλαπατίτη, σημειώνεται μετατροπή του σε ανθρακικό φθοριοαπατίτη με επιπλέον παρουσία μορίων νερού, προσροφημένων ή ακόμη και δυνητικά ενσωματωμένων στη δομή σύμφωνα με πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν ακόμη οι υψηλές συγκεντρώσεις θείου στα υπό μελέτη δείγματα. Ακόμη, καταγράφεται η παρουσία χαλαζία και γύψου ως κυριότερες δευτερογενείς ορυκτές φάσεις υπό μορφή εγκλεισμάτων στο εσωτερικών των ιστολογικών κοιλοτήτων του οστού. Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων μας εμφανίζουν μέτρια διατήρηση με περιοχές όμως εντός των δειγμάτων που επιτρέπουν την πλήρη παρατήρηση των λεπτομερειών της εσωτερικής μικροδομής. Πληροφορίες για το τοπικό γεωχημικό περιβάλλον παρέχει η περιορισμένη σε έκταση μικροβιακή δράση.

Λέξεις - κλειδιά: απολιθωμένα οστά, διαγένεση, Sahabi, Λιβύη, βιοαπατίτης

Abstract

The objective of the present thesis is to study the diagenetic processes that led to the preservation through geological time of fifteen postcranial skeletal fragments from the Neogene site of Sahabi in NE Libya. The studied samples belong mainly to artiodactyl mammals and specifically to the taxonomic families of: Bovidae, Hippopotamidae and Giraffidae. Individual samples of Carnivora and Osteichthyes are also included. A more particular goal of our work derives from the differences in colorization that our samples demonstrate macroscopically. As a result, our material is categorized into four groups from now on referred to as phases: 1) the white phase, 2) the grey phase, 3) the grey-brown phase and 4) the brown phase, in order to test the hypothesis that the samples of each phase are possibly associated with distinct diagenetic changes. In addition, we analyzed the crusts formed on the surface of three samples as well as the sediment found inside a foramen of a vertebra.

Diagenesis refers to all the histological, mineralogical, chemical, structural and spectroscopic changes that biogenic apatite goes through from the time of the burial of an animal's carcass until its excavation. The most common chemical alterations are the ionic substitutions inside the crystallographic sites of the crystal lattice (e.g. F^- for OH^- , CO_3^{2-} for PO_4^{3-} or OH^-) and the changes in crystallinity (larger crystals). The diagenetic changes as a whole are related to the local geochemical burial environment. Bone is a composite, hierarchical structure, consisting of bioapatite nanocrystals and collagen fibrils. The inorganic part of bone could better be described as the biogenic analog of the geologic carbonated hydroxylapatite, presenting however noted differences from it such as: poor crystallization, smaller crystal size, substitutions in its lattice, lack of internal arrangement and water presence.

Our samples are examined through Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Microanalysis (EDS), Electron Probe Microanalysis (EPMA), X-ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Moessbauer Spectroscopy carried out at the Departments of Geology and Geoenvironment and Chemistry of University of Athens, at the Institute of Mineralogy of WWU Münster (Germany) and the Materials' Science Institute of the N.C.S.R. Demokritos.

On the basis of the results of this thesis, it can be concluded that the mineral part of our samples is preserved as carbonated fluorapatite after the substitution of F^- for OH^- and CO_3^{2-} for PO_4^{3-} (B-type substitution). Moreover, CO_3^{2-} substitute for OH^- (A-type substitution) and a labile carbonate species common for biogenic apatites is present as well. Noted are the high wt% concentrations of sulfur that need to be further examined possibly with the X-ray Absorption Spectroscopy (XANES). Furthermore, quartz, gypsum and calcite were identified as the most important secondary mineral phases in the form of inclusions inside bone cavities. Additionally, goethite nano-inclusions are possibly present. The qualitative observation of our material by means of SEM yielded a relatively good preservation of the internal bone morphology with restricted microbial activity, which implied a low temperature or a dry or humid anoxic environment. However, the outcome of our work does not support our initial hypothesis that there is a correlation between the colour of the samples and a change in diagenetic processes. While through our study we realized the complication of diagenesis as

well as the contribution of the diagenetic signature in isotopic and geochronologic studies, recommendations for further study include the application of Transmission Electron Microscopy, XANES, Infrared Spectroscopy in the Near IR region and a bulk quantitative chemical analysis. In conclusion, this study is the first known to deal with the mineral chemistry of vertebrate remains in the area of Sahabi and underlines the need for a multidisciplinary approach so that a more complete diagenetic profile for the studied site can be formed.

Key - Words: fossilized bones, diagenesis, Sahabi, Libya, bioapatite

Κατάλογος Εικόνων

Κεφάλαιο 1

Εικόνα 1.1: Οι στήλες που σχηματίζουν τα άτομα Ca-I (a) και η σύνδεση αυτών μεταξύ τους με τη βοήθεια της φωσφορικής ρίζας (b) (Elliott et al., 2002).

Εικόνα 1.2: Οι κρυσταλλογραφικές θέσεις των ατόμων Ca-II και των φωσφορικών τετραέδρων στη δομή του απατίτη (Jiangling Li, 2009).

Εικόνα 1.3: Τα πολύεδρα σύνταξης για το άτομο Ca-I (αριστερά) και Ca-II (δεξιά). Με κόκκινο χρώμα σημειώνεται το άτομο Ca-I, με μωβ το Ca-II και με λευκό το άτομο H της υδροξυλικής ρίζας. Τα άτομα οξυγόνου συμβολίζονται ως εξής: O(1) με κίτρινο, O(2) με γαλάζιο αριστερά και πορτοκαλί δεξιά, O(3) με πορτοκαλί αριστερά και γαλάζιο δεξιά και O(4) με πράσινο (Σταθοπούλου, 2008).

Εικόνα 1.4: Κρύσταλλος βιοαπατίτη, σχήματος πλακιδίου (Pasteris et al., 2008).

Εικόνα 1.5: Δεξιά παρατηρείται η ανάπτυξη κρυστάλλων βιοαπατίτη στους κενούς χώρους μεταξύ ανώτερης και κατώτερης συστοιχίας μικροϊνών (holes) ή ανάμεσα σε παράλληλα διατεταγμένες ίνες (pores). Αριστερά, η μικρότερη δομική μονάδα των οργανικών συστατικών του οστού, η λεπτή ίνα κολλαγόνου, τριπλο-ελικοειδούς δομής (Pasteris et al., 2008).

Εικόνα 1.6: Εικόνα από το μικροσκόπιο TEM, όπου απεικονίζεται η παράλληλη διάταξη των πυκνών σε ηλεκτρόνια κρυστάλλων απατίτη (βλ. βέλη) με τις ίνες του κολλαγόνου (λευκές περιοχές) στα αρχικά στάδια σχηματισμού των κρυστάλλων (Boskey, 2007).

Εικόνα 1.7: Βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά του οστού (<https://courses.stu.qmul.ac.uk>).

Εικόνα 1.8: Οστικές κοιλότητες και μεταξύ τους σύνδεση με τους οστικούς σωλήνες (<http://www.siumed.edu/~dking2/ssb/NM036b.htm>).

Εικόνα 1.9: Τα επιμέρους στάδια που μελετά η ταφονομία (νεκρόλυση- βιοστρωματονομία- διαγένεση) (Grupe, 2007).

Εικόνα 1.10: Βασικοί διαγενετικοί παράγοντες και διαγενετικές μεταβολές (Grupe, 2007).

Κεφάλαιο 2

Εικόνα 2.1: Τμήμα του γεωλογικού χάρτη της Λιβύης σε κλίμακα 1:250.000 (φύλλα Ajdabiya και Sebkhath Ghuzayil) όπου φαίνεται η περιοχή μελέτης στα δυτικά της Sebkhath Al-Qunayyin (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

Εικόνα 2.2: Τεκτονικά στοιχεία στο κεντρικό και ανατολικό τμήμα της λεκάνης της Σύρτης. Με το νούμερο 1 σημειώνεται η Sebkhath Al-Qunayyin (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

Εικόνα 2.3: Οι σχηματισμοί M, P και τα μέλη T, U-1, U-D, U-2 του σχηματισμού

Sahabi όπως εκτίθενται στη θέση P 41 (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

Εικόνα 2.4: Γεωλογικός χάρτης της περιοχής μελέτης (Muftah et al., 2013).

Εικόνα 2.5: Επαφή των μελών U-1 και U-2 στη θέση P9, που αποτελεί στρώμα με υπολείμματα ψαριών. Η βάση του U-2 αντιπροσωπεύεται εδώ από ασβεστόλιθο με απολιθωμένα μαλάκια (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

Εικόνα 2.6: Ραχιαία (a) και κοιλιακή (b) όψη του πελεκύποδου *Cubitosrea digitalina* από το σχηματισμό M, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τη χρονολόγηση με τη μέθοδο των ισοτόπων Sr (Eichwald, 1830 in: du Bois de Montprieux, 1831, cited in El-Shawaihdi et al., 2014).

Εικόνα 2.7: Αποικία δώδεκα κελυφών του είδους *Balanus* sp. από το σχηματισμό M, ένα από τα οποία χρησιμοποιήθηκε για τη χρονολόγηση με τη μέθοδο των ισοτόπων Sr (in El-Shawaihdi et al., 2014).

Εικόνα 2.8: Καλλιτεχνική αναπαράσταση των παρατηρούμενων υδάτινων και χερσαίων οικολογικών θώκων στο Sahabi στην οποία προέβησε το ELNRP. Συγκεκριμένα παρατηρούνται το περιβάλλον του Εο-Sahabi, οι όχθες του και το παραποτάμιο δάσος, το λιμνοθαλάσσιο περιβάλλον, οι ελώδεις εκβολές του ποταμού, η σαβάνα και η ερημική ζώνη (Varelas in Boaz, 2009 occ. papers No 1).

Εικόνα 2.9: Πιθανή προέλευση των ιζημάτων του μέλους U1 από προκάμβρια πυριγενή πετρώματα του BA Τσαντ (Muftah et al., 2013 και γεωλογικοί σχηματισμοί Λιβύης και Τσαντ κατά Schlueter et al., 2008).

Εικόνα 2.10: Δείγμα 5P204 και σημεία λήψης επιμέρους δείγματος για XRD, SEM.

Εικόνα 2.11: Δείγματα 33P102A (αριστερά) και 9P204 (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην πρόσθια και κοιλιακή αντίστοιχα όψη των δειγμάτων. Για την ανάλυση του δείγματος 33P102A με τις μεθόδους XRD-FTIR χρησιμοποιήθηκε ήδη κονιοποιημένο υλικό από τους άπω κονδύλους του μηριαίου, που όπως φαίνεται στην εικόνα δεν έχουν διατηρηθεί σε ανατομική θέση με το υπόλοιπο οστό. Για το λόγο αυτό δεν σημειώνεται το μαύρο βελάκι.

Εικόνα 2.12: Δείγμα 10P28B και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Εικόνα 2.13: Δείγμα 20P31C και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Εικόνα 2.14: Δείγματα 128P32A (αριστερά) και 110P32A (δεξιά, δείγμα μόνο για XRD) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Εικόνα 2.15: Δείγμα 120P32A και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην εσωτερική όψη αυτού.

Εικόνα 2.16: Δείγμα 21P14 και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην οπίσθια όψη αυτού.

Εικόνα 2.17: Απολιθωμένοι σπόνδυλοι 14P62A (αριστερά) και 506P28 (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στη ραχιαία όψη τους. Στην αριστερή εικόνα το μωβ βέλος δείχνει το σημείο λήψης δείγματος για τις μεθόδους XRD, FTIR.

Εικόνα 2.18: Δείγμα P4A και σημείο λήψης δείγματος για XRD.

Εικόνα 2.19: Δείγμα 32P24A και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην εξωτερική όψη του.

Εικόνα 2.20: Δείγμα 22P62A (αριστερά) και 14P201A (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Εικόνα 2.21: Βασική διάταξη ενός SEM-EDS συστήματος (Severin, 2004).

Εικόνα 2.22: Τα παραγόμενα από την αλληλεπίδραση της ηλεκτρονιακής δέσμης και του δείγματος προϊόντα.

Εικόνα 2.23: Εντός του όγκου αλληλεπίδρασης της προσπίπτουσας δέσμης e^- και του δείγματος σημειώνεται η παραγωγή των SE σε μικρό βάθος, των BSE σε ενδιάμεσο και των ακτίνων-X στο μεγαλύτερο βάθος.

Εικόνα 2.24: Φάσματα εκπομπής ακτίνων-X για το $BaTiO_3$, που λήφθηκαν με EDS (ευρείες κορυφές) και WDS (στενές κορυφές). Όπως παρατηρούμε μόνο με τον WD ανιχνευτή επιτυγχάνεται η διάκριση των χαρακτηριστικών κορυφών Ba, Ti, οι οποίες στην περίπτωση του EDS επικαλύπτονται.

Εικόνα 2.25: Θραύσματα δύο δειγμάτων τοποθετημένα σε βάσεις με αγωγίμη πλαστελίνη, για ποιοτική παρατήρηση και ανάλυση στο SEM-EDS.

Εικόνα 2.26: Αντιπροσωπευτικές στιλπνές τομές των δειγμάτων μας, οι οποίες αναλύθηκαν ποσοτικά με τον ηλεκτρονικό μικροαναλυτή (microprobe).

Εικόνα 2.27: Το σύστημα SEM-EDS JEOL JSM-5600 του τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος του ΕΚΠΑ.

Εικόνα 2.28: Ο ηλεκτρονικός μικροαναλυτής JEOL JXA 8900 SUPERPROBE του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας του Παν/μίου WWU στο Μίνστερ του ΕJEOL

Εικόνα 2.29: Η περίθλαση των ακτίνων-X στα διαδοχικά κρυσταλλικά επίπεδα (lattice planes) των μικροκρυσταλλιτών του δείγματος (xray.tamu.edu/pdf/notes).

Εικόνα 2.30: Το περιθλασίμετρο Phillips X' Pert του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας στο Μίνστερ.

Εικόνα 2.31: Επισήμανση της βασικής γεωμετρίας του περιθλασίμετρου Phillips X' Pert.

Εικόνα 2.32: Τμήμα του διαγράμματος περίθλασης του βιοαπατίτη στο δείγμα 506P28, όπου φαίνονται τα ύψη a, b, c, h, τα οποία χρησιμοποιούν οι Person et al., 1995 για τον υπολογισμό του δείκτη κρυστάλλωσης.

Εικόνα 2.33: Υπολογισμός δείκτη κρυστάλλωσης του βιοαπατίτη στο δείγμα 110P32A, σύμφωνα με τη μεθοδολογία των Weiner & Bar-Yosef, 1990.

Εικόνα 2.34: Υπολογισμός της περιεκτικότητας σε CO_3^{2-} στο δείγμα 128P32A, σύμφωνα με τους Puceat et al., 2004.

Εικόνα 2.35: Τετραπολικός διαχωρισμός της πρώτης διεγερμένης κατάστασης του ^{57}Fe και το προκύπτον φάσμα Moessbauer με εμφάνιση τετραπολικής αλληλεπίδρασης (ΔE_Q) και ισομερούς μετατόπισης (δ) (Guetch et al., 2011).

Εικόνα 2.36: Τμήμα της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται στο εργαστήριο φασματοσκοπίας Moessbauer στον Δημόκριτο.

Κεφάλαιο 3

Εικόνες 3.1-3.8 : Εσωτερική μικρομορφολογία οστίτη ιστού από το Sahabi. 3.1-3.3 και 3.6, 3.8: μεμονωμένοι οστεώνες, 3.4: περισσότερα χαβερσιανά συστήματα και ενδιάμεσα ελάσματα, 3.5: σειρά ανάπτυξης οστεώνων, 3.7: χαβερσιανά κανάλια σε αξονική και εγκάρσια τομή, 3.9: οστεώνας τεμνόμενος από ρωγμή, 3.10: επικοινωνία χαβερσιανών σωλήνων μέσω πιθανού δικτύου Volkmann, 3.11: διακλάδωση χαβερσιανών καναλιών, 3.12-3.14: τυπική εικόνα οπών και κοιλοτήτων στο δείγμα P4A, 3.15, 3.16, 3.17, 3.18, 3.21, 3.22: λεπτομέρεια ελασμάτων, 3.19: ελάσματα και οστικές κοιλότητες, 3.20, 3.23: οστικές κοιλότητες, 3.24: ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού, 3.25, 3.28: ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού, 3.26, 3.27: τυπική μορφή ορυκτοποιημένων ινών κολλαγόνου στο τοίχωμα χαβερσιανού σωλήνα και οστικής κοιλότητας αντίστοιχα, 3.29-3.31: τυπική εικόνα υγιούς οστού, 3.32: επιφάνεια του οστού πιθανώς προσβεβλημένη από μικροβιακή δράση, 3.33-3.35: επιφάνεια του οστού πιθανώς προσβεβλημένη από μικροβιακή δράση μη τυπικής, ωστόσο, μορφής και μη εκτεταμένης, 3.36-3.53: δευτερογενείς ορυκτές φάσεις. Συγκεκριμένα: 3.36, 3.37: φάση Fe, Si, Al, K. 3.38: κρούστα αποτελούμενη από κρυστάλλους $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. 3.39: φάση Ca, Si, Fe, Al, K. 3.40: χημικό καθίζημα S, Sr, Ba, Ca, Fe στη θέση 2, μείγμα ασβεστίτη και αργιλικών στη θέση 3 και ασβεστίτης με εγκλείσματα σιδήρου στα σημεία 4, 5. 3.41: ομοίως με το σημείο 2 της 3.40. 3.42: φάση Ca, P, Al, Si, Na. 3.43: κρύσταλλοι σελεστίνη (SrSO_4) εντός χαβερσιανού σωλήνα. 3.44, 3.45: κρύσταλλοι γύψου. 3.46: φάση Fe, O στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού. 3.47: Χαρακτηριστική εικόνα οπών του δείγματος P4A, που όμως δε διαφοροποιείται σημαντικά από την κύρια σύσταση του βιοαπατίτη σύμφωνα με τις σημειακές ημι- ποσοτικές αναλύσεις με το EDS. Σημειακά εντοπίστηκαν κάποιοι κόκκοι ασβεστίτη καθώς και παρουσία Fe. 3.48: δοκίδες του σπογγώδους οστού χημικά αποτελούμενες από Ca, P, Na. 3.49: κρούστα αποτελούμενη από Ca, P, Si, Na, Al, Mg, Fe, K. 3.50: προϊόν οξειδωσης του σιδήρου. 3.51, 3.52: κρούστα με κρυστάλλους γύψου. 3.53: φάση σιδήρου.

Εικόνα 3.54: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 1 της εικόνας 3.40.

Εικόνα 3.55: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 2 της εικόνας 3.40. Αντίστοιχο φάσμα πρόεκυψε και κατά την ανάλυση της φάσης που φαίνεται στην εικόνα 3.41.

Εικόνα 3.56: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 3 της εικόνας 3.40.

Εικόνα 3.57: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 4 της εικόνας 3.40. Αντιπροσωπευτικό και για την ανάλυση στο σημείο 5.

Εικόνα 3.58: Ημιποσοτική σημειακή ανάλυση κατά μήκος γραμμής (αριστερά) και κοιλότητα του οστού που έχει πληρωθεί με σίδηρο (δεξιά) στο δείγμα 9P204.

Εικόνα 3.59: Περιθώριο του δείγματος 10P28B, πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικών μεταβολών.

Εικόνα 3.60: Χάρτες χωρικής κατανομής των στοιχείων F, Na, Al, P, S, Cl, Ca, Fe, Mg στο άκρο του δείγματος 10P28B, που φαίνεται στην εικόνα 3.59.

Εικόνα 3.61: Περιθώριο του δείγματος 120P32A, πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικών μεταβολών.

Εικόνα 3.62: Χάρτες χωρικής κατανομής των στοιχείων F, Na, Al, P, S, Cl, Ca, Fe, Ce, Sr, Mg, Mn στο περιθώριο του δείγματος 120P32A που φαίνεται στην εικόνα 3.61. Η χρήση χρωμάτων για τα στοιχεία που συμμετέχουν στη σύσταση εξυπηρετεί την καλύτερη οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων μας. Τα υπόλοιπα στοιχεία (Ce, Sr, Mn) επιλέχθηκαν από εμάς πριν την ανάλυση για να διερευνηθεί η πιθανότητα παρουσία τους, που προκύπτει από τη βιβλιογραφία.

Εικόνα 3.63: Σημεία κατά μήκος του περιθωρίου του δείγματος 120P32A που παρουσιάζουν διαφορετικό πορώδες αλλά την ίδια χημική σύσταση.

Εικόνα 3.64: Οπές του δείγματος 14P62A που έχουν πληρωθεί με φάση Fe-O.

Εικόνα 3.65: Ημιποσοτική σημειακή ανάλυση κατά μήκος γραμμής στο δείγμα 32P24A (αριστερά) και χάρτης κατανομής της συγκέντρωσης του Fe κατά μήκος της γραμμής (δεξιά).

Εικόνα 3.66: Κοιλότητα του δείγματος P4A που εγκλείει σιδηρούχα φάση (αριστερά) και περιθώριο του δείγματος πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικής επίδρασης (δεξιά).

Εικόνες 3.67-3.72: Ποσοτικές σημειακές αναλύσεις από την εσωτερική κοιλότητα των δειγμάτων προς το περίστεο, που πραγματοποιήθηκαν με WDS.

Εικόνες 3.73-3.78: Κατανομή της περιεκτικότητας των στοιχείων Ca, P, F, Cl, S, Fe κάθετα στην ανάπτυξη του συμπαγούς οστού, από την εσωτερική κοιλότητα έως το περίστεο για τα έξι στιλπνά δείγματα που αναλύθηκαν με EPMA. Οι τιμές των στοιχείων έχουν κανονικοποιηθεί ως προς την τιμή της ολικής ανάλυσης.

Εικόνα 3.79: θεωρητικά διαγράμματα περίθλασης απατιτών (Hughes et al., 1989; Fleet et al., 2004).

Εικόνα 3.80: Ακτινοδιάγραμμα του δείγματος 33P102A για την περιοχή μέτρησης 5°-70°, στο οποίο σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές της κρυσταλλικής φάσης του απατίτη.

Εικόνα 3.81: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της λευκής φάσης στην περιοχή μέτρησης 20°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.

Εικόνα 3.82: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της γκρι φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.

Εικόνα 3.83: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της γκρι-καφέ φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.

Εικόνα 3.84: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της καφέ φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.

Εικόνα 3.85: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα οστών που καλύπτονται επιφανειακά από κρούστα στην περιοχή μέτρησης 10° - 60° , στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.

Εικόνα 3.86: Ακτινοδιαγράμματα για τις υπό μελέτη κρούστες (32P24A_crust, 20P31C_crust, 14P201_crust) και το δείγμα ιζήματος (22P103A) στην περιοχή μέτρησης 20° - 70° . Οι παρατηρούμενες κορυφές ανήκουν σχεδόν αποκλειστικά στο χαλαζία.

Εικόνα 3.87: Λεπτομέρεια ακτινοδιαγραμμάτων επιλεγμένων δειγμάτων (ένα από κάθε φάση) στην περιοχή μέτρησης 25° - $26,4^{\circ}$. Η ανάκλαση [002] θεωρείται ενδεικτική του μεγέθους του κόκκου ενός υλικού κατά μήκος του άξονα c.

Εικόνα 3.88: Διάγραμμα δομικών παραμέτρων (a-άξονας, c-άξονας, όγκος κυψελίδας) για τα υπό μελέτη δείγματα απολιθωμένων οστών σε σχέση με δείγματα αναφοράς, προερχόμενα από τη Σταθοπούλου, 2008.

Εικόνα 3.89: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 5P204.

Εικόνα 3.90: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 9P204.

Εικόνα 3.91: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 33P102A.

Εικόνα 3.92: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 10P28B.

Εικόνα 3.93: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 20P31C.

Εικόνα 3.94: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 110P32A.

Εικόνα 3.95: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 128P32A.

Εικόνα 3.96: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 21P14.

Εικόνα 3.97: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 120P32A.

Εικόνα 3.98: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 506P28.

Εικόνα 3.99: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 14P62A.

Εικόνα 3.100: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος P4A.

Εικόνα 3.101: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 32P24A.

Εικόνα 3.102: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 22P62A.

Εικόνα 3.103: Φάσμα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για το δείγμα οστού 33P102A στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} . Στο φάσμα σημειώνονται οι θεμελιώδεις δονήσεις στις κύριες περιοχές του φάσματος.

Εικόνα 3.104: Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα δείγματα 33P102A και 110P32A στην περιοχή μέτρησης 1700 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} . Στο φάσμα 110P32A παρατηρείται εκτός από την ταινία απορρόφησης του H_2O και αυτή των OH^- .

Εικόνα 3.105: Περιοχή των φασμάτων MIR όλων των δειγμάτων, όπου τυπικά παρατηρούνται οι δονήσεις των φωσφορικών ριζών $\text{v}_4(\text{PO}_4)^{3-}$.

Εικόνα 3.106: Φάσμα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο του δείγματος 33P102A στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι κύριες θεμελιώδεις δονήσεις.

Εικόνα 3.107: Φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο των υπό μελέτη οστών στην περιοχή μέτρησης 500 cm^{-1} - 650 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι επιμέρους ταινίες της δόνησης $\text{v}_4(\text{PO}_4)^{3-}$.

Εικόνα 3.108: Φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο των υπό μελέτη οστών στην περιοχή μέτρησης 840 cm^{-1} - 900 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι επιμέρους ταινίες της δόνησης $\text{v}_2(\text{CO}_3)^{2-}$.

Εικόνα 3.109: Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα υπό μελέτη δείγματα κρουστών και ιζήματος στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} .

Εικόνα 3.110: Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα υπό μελέτη δείγματα κρουστών και ιζήματος στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} , στα οποία σημειώνονται οι δονήσεις που αναγνωρίστηκαν.

Εικόνα 3.111: Το προκύπτον για το δείγμα 32P24A φάσμα Moessbauer σε θερμοκρασία δωματίου.

Εικόνα 3.112: Εύρος τιμών της ισομερούς μετατόπισης που παρατηρείται για τα διάφορα ιόντα σιδήρου ^{57}Fe σε θερμοκρασία δωματίου και ως προς α - Fe (Greenwood & Gibb, 1971 in Guetlich et al., 2011).

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 2.1: Ταξινόμικές ομάδες ιχθύων, ερπετών και πτηνών από το Sahabi (Boaz, 1996, modified).

Πίνακας 2.2: Οικογένειες, γένη και είδη θηλαστικών από το Sahabi (ELNRP, unpublished, modified).

Πίνακας 2.3: Αντιπροσωπευτική παλαιοπανίδα στους υδάτινους θώκους του Sahabi.

Πίνακας 2.4: : Αντιπροσωπευτική παλαιοπανίδα στους χερσαίους θώκους του Sahabi.

Πίνακας 2.5: Τα δείγματα που αναλύθηκαν με κάθε ένα από τα συστήματα SEM-EDS και το σύστημα WDS, τα οποία αξιοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

Πίνακας 3.1: Ενέργειες (eV) των γραμμών εκπομπής ακτίνων-X των θεμελιωδών στοιβάδων K, L για τα στοιχεία που εμφανίζονται κατά την ανάλυση με το EDS των δειγμάτων της παρούσας εργασίας (X-Ray Data Booklet 2011, Table 1-2).

Πίνακας 3.2 : Μέσες τιμές των λόγων ασβεστίου προς φώσφορο για τα σκελετικά δείγματα υπό μελέτη, έτσι όπως υπολογίστηκαν από τις χημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή.

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 9P204 με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.68.

Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 10P28B με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.69.

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 120P32A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.70.

Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 14P62A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.71.

Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 32P24A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.72.

Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα P4A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.73.

Πίνακας 3.9: Συγκεντρωτικός πίνακας με το εύρος τιμών και τη μέση τιμή των περιεκτικοτήτων (% κ.β.) των στοιχείων που αναλύθηκαν για τα έξι δείγματα.

Πίνακας 3.10: Τιμές του δείκτη κρυστάλλωσης κατά Person et al. (1995) για τα υπό μελέτη δείγματα.

Πίνακας 3.11: Δομικές παράμετροι κυψελίδας των υπό μελέτη δειγμάτων όπως υπολογίστηκαν μέσω της μεθόδου Rietveld. Παρατίθενται επίσης οι τιμές της παραμέτρου R_{wp} .

Πίνακας 3.12: Μέσο φαινόμενο μέγεθος (average apparent size) και μέση μέγιστη τάση (average maximum strain) για τα υπό μελέτη δείγματα καθώς και οι τιμές των παραμέτρων GoF, χ^2 .

Πίνακας 3.13: Παρουσία δευτερογενών ορυκτών φάσεων (χαλαζίας, γύψος, ασβεστίτης) στα υπό μελέτη δείγματα οστών όπως προκύπτει από τα φάσματα μέσου υπερύθρου, τα φάσματα δεύτερης παραγωγού και τα διαγράμματα περίθλασης.

Πίνακας 3.14: Τιμές των δεικτών κρυστάλλωσης (IRSF) και του ποσοστού των ανθρακικών (C/P) για τα δείγματα υπό μελέτη.

Πίνακας 3.15: Τιμές των δεικτών κρυστάλλωσης (IRSF) και του ποσοστού των ανθρακικών (C/P) από τη βιβλιογραφία.

Κεφάλαιο 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Εισαγωγικά Στοιχεία

Με την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία ειδίκευσης συνεχίζεται ουσιαστικά η μελέτη μέρους του απολιθωματικού υλικού που ανακτήθηκε κατά τη διάρκεια των ανασκαφικών περιόδων 2007-2010, οι οποίες διεξήχθησαν στην περιοχή του As Sahabi (BA Λιβύη) στο πλαίσιο του προγράμματος ELNRP, από τον Αν. Καθηγητή Π. Παυλάκη. Η συμβολή στη μελέτη του εν λόγω υλικού από τη γράφουσα ξεκίνησε με την πτυχιακή εργασία με θέμα <<Ταξινομική μελέτη δείγματος μετακρανιακών απολιθωμάτων από τη Νεογενή παλαιοντολογική θέση Sahabi της Λιβύης>>, με την οποία επετεύχθη η περιγραφή των ανατομικών χαρακτηριστικών και η ταξινόμηση σε επίπεδο οικογένειας ενός συνολικού αριθμού 192 απολιθωμένων σκελετικών θραυσμάτων ως επί το πλείστον αρτιοδαχτύλων θηλαστικών.

Στόχο της παρούσας εργασίας αποτελεί η συμβολή στη γνώση των διαγενετικών μεταβολών που υφίσταται ο απατίτης των οστών (βιοαπατίτης) από τη στιγμή του ενταφιασμού του οστού στα γεωλογικά στρώματα μέχρι και την ανακάλυψή του από τους παλαιοντολόγους, όπως είναι οι μεταβολές στην εσωτερική μικρομορφολογία του οστού αλλά και ορυκτοχημικές αλλαγές στο πλέγμα του βιο-ορυκτού. Ειδικότερα, στον καθορισμό του σκοπού της εργασίας μάς οδήγησε το ίδιο το υλικό μας (δεκαπέντε απολιθωμένα σκελετικά θραύσματα κυρίως αρτιοδαχτύλων θηλαστικών) λόγω του διαφορετικού χρωματισμού που φέρουν τα επιμέρους δείγματα και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν βάσει αυτού του κριτηρίου σε δείγματα λευκού χρώματος, γκρι χρώματος, γκρι-καφέ χρώματος και καφέ χρώματος. Αναλυτικότερα, δεδομένων των παραγόντων που συντελούν στη διαμόρφωση του χρώματος ενός οστού, θα εξεταστεί η υπόθεση τα απολιθώματα των διαφορετικών φάσεων (όρος που διευκρινίζεται στο κεφ. 2.2) να σχετίζονται με διαφορετικές διαγενετικές διεργασίες και κατ' επέκταση διαφορετικά προφίλ του παλαιο-μικροπεριβάλλοντος ταφής. Συνεπώς, μελετάται το υλικό της παρούσας εργασίας τόσο από ταφονομική όσο και ορυκτοχημική πλευρά σε μία προσπάθεια αφενός κατανόησης της σύνθετης διεργασίας της διαγένεσης και αφετέρου της άμεσης σύνδεσης αυτής με το τοπικό γεωχημικό παλαιοπεριβάλλον ταφής και τις παλαιοοικολογικές συνήθειες της παλαιοπανίδας.

Από την οργάνωση των πρώτων παλαιοντολογικών ανασκαφών στην περιοχή μελέτης, στα μέσα της δεκαετίας του 1940, ως σήμερα έχουν δημοσιευτεί σύμφωνα με τον Muftah (2013 unpubl.) 116 επιστημονικές εργασίες. Επισημαίνονται ορισμένες πολύ σημαντικές εργασίες καθώς και οι τομείς στους οποίους εστιάζουν: De Heinzelin & El-Arnauti 1982; 1983; 1987, Muftah et al., 2008a, Muftah, 2013 unpubl. (στρωματογραφία), Willems & Meyrick, 1982, Beyer, 2008, Boaz et al., 2008a, Muftah, 2013 unpubl., El-Shawaihi et al., 2014 (γεωχρονολογία), Petrocchi 1943; 1952; 1954, Bernor & Pavlakis, 1987, Cooke, 1987, Gaziry, 1987a;b, Wood, 1987, Bernor & Scott, 2003, Boaz et al., 2008a, Pavlakis, 2008, Rook & Sardella, 2008, Muftah et al., 2013 (παλαιοντολογία σπονδυλωτών και βιοχρονολογία), Bernor & Pavlakis, 1987, Bernor & Rook, 2008 (ζωογεωγραφικές σχέσεις), Barr & Walker, 1973, Ballmann, 1987, Dechant Boaz, 1987, Gaudant, 1987, Hecht, 1987, Griffin 2002; 2006, Michailidis, 2008, Boaz, 2009, Argyriou et al., 2012, Muftah et al., 2013 (παλαιοπεριβάλλον).

Από τη μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας για την περιοχή του As Sahabi και όσο είναι δυνατό να γνωρίζουμε, οι δημοσιευμένες ορυκτολογικές μελέτες είναι μόλις δύο και συγκεκριμένα αυτές των De Geyter & Stoops (1987) και Muftah et al. (2013). Η πρώτη αποτελεί μία αναφορά στα επικρατούντα αργιλικά ορυκτά της περιοχής (σμηκτίτης, καολινίτης, μαρμαρυγίες) και η δεύτερη περιλαμβάνει την ορυκτολογική ανάλυση δειγμάτων αργιλικών ιζημάτων από τρεις θέσεις του ορίζοντα U1 του σχηματισμού Sahabi, με τη βοήθεια των μεθόδων XRD, ICP-OES και ICP-MS. Επομένως, η παρούσα εργασία καθίσταται πρωτότυπη καθώς αποτελεί την πρώτη προσπάθεια ορυκτολογικής - ορυκτοχημικής μελέτης απολιθωμένου βιοαπατίτη από την περιοχή του As Sahabi.

Για τη μελέτη των δειγμάτων μας αξιοποιούνται αρκετές αναλυτικές τεχνικές που κλασικά εφαρμόζονται στη μελέτη της διαγένεσης οστών και συγκεκριμένα οι: ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης - μικροανάλυση ακτίνων-X, ηλεκτρονική μικροανάλυση, περιθλασιμετρία ακτίνων-X και ανάλυση Rietveld, φασματοσκοπία υπερύθρου και φασματοσκοπία Moessbauer.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω επιμέρους στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των διαγενετικών μεταβολών του οστίτη ιστού και συνεπώς δε θα μπορούσαμε να παραλείψουμε την αναφορά στη σπουδαιότητα μελέτης αυτών. Η είσοδος ολιγοστοιχείων και ιχνοστοιχείων στο πλέγμα του βιοαπατίτη μετά την αντικατάσταση των κύριων στοιχείων του, προϋποθέτει την παρουσία τους στα κυκλοφορούντα υδατικά διαλύματα, η οποία εξαρτάται από τη γεωλογία της περιοχής. Επιπλέον, η κινητικότητά τους καθορίζεται όπως είναι γνωστό από το pH και Eh του τοπικού γεωχημικού περιβάλλοντος. Πέραν των πληροφοριών που αντλούνται για τις τοπικές παλαιογεωχημικές συνθήκες (Stathoroulou et al., 2008; Mueller et al., 2011; Pfretzschner & Tuetken, 2011; Trueman et al., 2011; Stathoroulou et al., 2013), οι διαγενετικές μεταβολές πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στις ιστοτοπικές μελέτες, τις μελέτες παλαιοδιατροφής, μετανάστευσης πανίδων, παλαιοθερμοκρασίας και χρονολόγησης των οστών καθώς αυτές εξαρτώνται από τη συσσώρευση ιχνοστοιχείων και ισοτόπων, η οποία μεταβάλλεται κατά τη διαγένεση (Σταθοπούλου, 2008; Thomas et al., 2011; Pfretzschner & Tuetken, 2011). Επίσης, η μελέτη της διαγένεσης συμβάλλει στο διαχωρισμό της καύσης των οστών από την κηλίδωσή τους λόγω οξειδίων (Stathoroulou et al., 2013).

Συνοψίζοντας, ευελπιστούμε η παρούσα εργασία να αποτελέσει αφορμή για περαιτέρω μελέτη των ταφονομικών και ορυκτοχημικών μεταβολών απολιθωμένου βιοαπατίτη από τη θέση As Sahabi και γενικότερα να συμβάλλει στην ανάδειξη της σπουδαιότητας μελέτης της διαγένεσης τόσο από παλαιοντολογική όσο και γεωχημική σκοπιά.

1.2 Οστό

1.2.1 Γενικά

Όπως είναι γνωστό, το σκελετικό σύστημα των οργανισμών επιτρέπει την κίνηση και τη στάση τους, υποβασιάζει τη μυϊκή μάζα και προστατεύει τα ζωτικά όργανα (π.χ. καρδιά, θώρακας, κρανίο). Επίσης αποθηκεύει τα χρήσιμα για τον οργανισμό ιόντα. Για παράδειγμα, το 80% κ.β. του φωσφόρου του σώματος, το 99% κ.β. του ασβεστίου και το 50% κ.β. του μαγνησίου βρίσκονται αποθηκευμένα στην ορυκτή φάση του οστίτη ιστού (Skinner, 2005;

Glimcher, 2006 cited in Pasteris et al., 2008). Επιπλέον, τα οστά δρουν ως αποθηκευτικός χώρος για μεταλλικά ιόντα όπως του στροντίου, του μολύβδου, του ουρανίου, τα οποία είναι τοξικά για τους μαλακούς ιστούς του σώματος (Posner, 1985 cited in Turner-Walker, 1993).

Με κριτήριο την εξωτερική τους μορφολογία, τα οστά ταξινομούνται σε επιμήκη ή μακρά (π.χ. μηριαίο, βραχιόνιο), βραχέα (π.χ. σπόνδυλοι, ταρσός) και πλατειά (π.χ. ωμοπλάτη, πύελος). Τα επιμήκη οστά αποτελούνται από ένα κεντρικό τμήμα, κυκλικής διατομής που καλείται διάφυση και περιλαμβάνει το μυελό των οστών όσο οι οργανισμοί βρίσκονται εν ζωή, και δύο άκρα που καλούνται επιφύσεις και σ' αυτά γίνονται οι συνοστεώσεις με άλλα οστά. Οι επιφύσεις, αν είναι οστέινες (στα ερπετά για παράδειγμα είναι χόνδρινες) αποτελούνται από σπογγώδες οστό (όρος που θα περιγραφεί στη συνέχεια). Τα βραχέα οστά συνίστανται από συμπαγές οστό εξωτερικά και σπογγώδες εσωτερικά ενώ τα πλατειά από μία πλάκα σπογγώδους οστού μεταξύ δύο πλακών συμπαγούς. Η οστεοποίηση ξεκινά από το κέντρο της διάφυσης με την αντικατάσταση των χόνδρινων κυττάρων- καθότι τα οστά ξεκινούν πάντα ως περιγράμματα χόνδρου- από οστό με τη βοήθεια των λεγόμενων οστεοβλαστών, και προχωρά προς το κέντρο των χόνδρινων επιφύσεων. Για τη διατήρηση του σχήματος του οστού κατά τη διαδικασία της οστεοποίησης, λαμβάνει χώρα καταστροφή του οστού με τη δράση των οστεοκλαστών (Σταθοπούλου, 2008).

Οι μηχανικές ιδιότητες του οστού και συγκεκριμένα η ακαμψία, η σκληρότητα, η ισχύς και η αντοχή στη θραύση οφείλονται στη χημική του σύσταση και τη δομή του. Σύμφωνα με τον Currey (1990, cited in Natali et al., 2014) η ελαστικότητα των οστών είναι ανάλογη του ποσοστού σε ασβέστιο και αντιστρόφως ανάλογη του πορώδους. Αυτό όμως που καθιστά μοναδικό το οστό είναι η ικανότητά του να αυτοκαταστρέφεται και να επαναποτίθεται ως ένας τρόπος αυτοσυντήρησης.

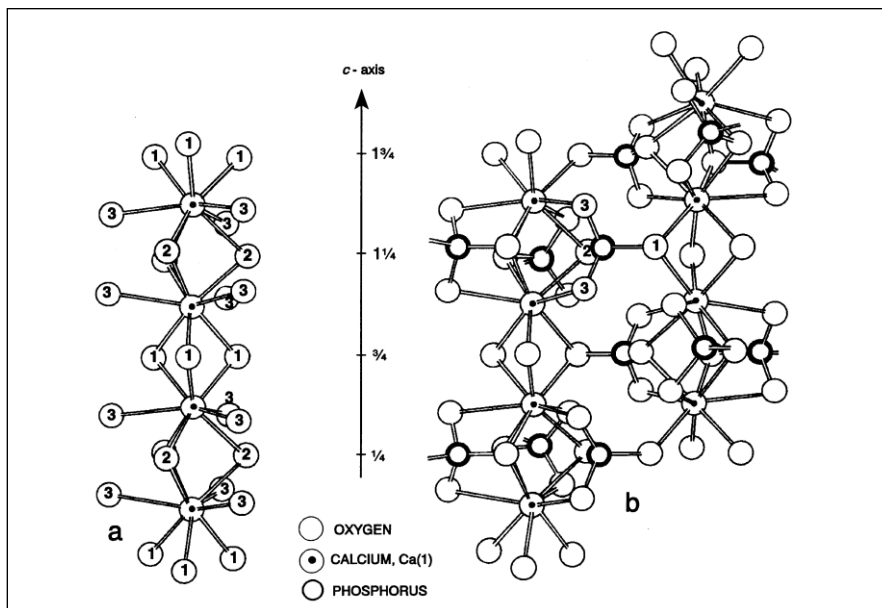
1.2.2 Χημική Σύσταση: Βιοαπατίτης-Κολλαγόνο

Ο οστίτης ιστός καθώς και ο ιστός των δοντιών συνιστούν ετερογενείς, ιεραρχικές και σύνθετες δομές (McKee et al., 2005 cited in Boskey, 2007; Dumont et al., 2011), αποτελούμενες από ανόργανη φάση, οργανική φάση, νερό και κύτταρα (οστεοβλάστες, οστεοκλάστες, οδοντοβλάστες, αδαμαντινοβλάστες) (Boskey, 2007).

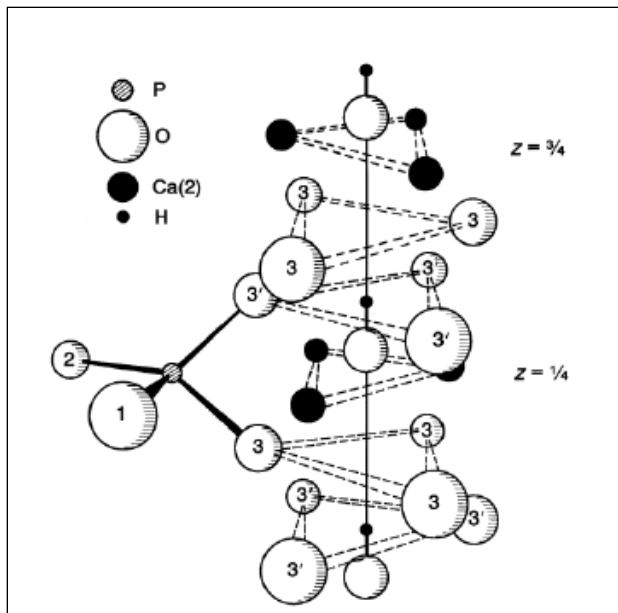
Η ανόργανη- ορυκτολογική φάση, που συνιστά το 69% του ξηρού βάρους του οστού (Σταθοπούλου, 2008), καλείται βιοαπατίτης και αποτελεί ένα ανάλογο του ορυκτού υδροξυλαπατίτη, με τον οποίον παρουσιάζει ουσιαστικές διαφορές, οι οποίες θα αναφερθούν παρακάτω. Η οργανική φάση περιλαμβάνει κυρίως κολλαγόνο καθώς και ένα μικρό ποσοστό μη κολλαγονούχων πρωτεϊνών. Ο λόγος ανόργανης- οργανικής φάσης καθορίζει τις ιδιότητες του οστού, όπως τη σκληρότητα και την ακαμψία του και διαφέρει μεταξύ των διαφορετικών ζωικών ειδών αλλά και μεταξύ των διαφορετικών οστών ενός ζώου (Pasteris et al., 2008).

Το ορυκτό απατίτης εισήλθε στην ορυκτολογική ορολογία το 1786 από τον Werner και οφείλει το όνομά του στο ρήμα απατάω καθώς πολλές φορές είχε εσφαλμένα εκτιμηθεί ως άλλο ορυκτό (Pasero et al., 2010), λόγω της ποικιλοχρωμίας και της πρισματικής του μορφής. Πρόκειται για το πιο κοινό φωσφορικό ορυκτό στον πλανήτη, με τη μεγαλύτερη αφθονία στο φλοιό της Γης (Wopenka & Pasteris, 2005). Συναντάται ως επουσιώδες ορυκτό σε πλουτώνια και μεταμορφωμένα πετρώματα και ως δετριτικό ορυκτό σε κλαστικά ιζήματα. Είναι γενικά αποδεκτό για τους μη στοιχειομετρικούς απατίτες ότι κρυσταλλώνονται στο εξαγωνικό σύστημα με ομάδα συμμετρίας την $P6_3/m$, ωστόσο σύμφωνα με τους Haverty et al.,

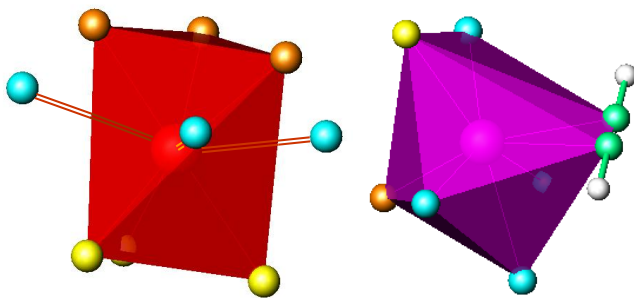
2005 (cited in Leventouri, 2006) ο στοιχειομετρικός υδροξυλαπατίτης κρυσταλλώνεται στο μονοκλινές σύστημα με ομάδες συμμετρίας την $P2_1/b$ κατά 23% και την $P2_1$ κατά 77%. Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξαν έπειτα από ανάλυση Rietveld σε διάγραμμα περίθλασης ενός NIST δείγματος αναφοράς. Μονοκλινή συμμετρία ($P2_1/b$) για το στοιχειομετρικό υδροξυλαπατίτη και χλωριοαπατίτη αναφέρει και ο Fleet (2009). Ο στοιχειομετρικός τύπος του απατίτη $[Ca_5(PO_4)_3(OH,F,Cl)]$ περιγράφει τα τρία ακραία μέλη: υδροξυλαπατίτη, φθοριοαπατίτη και χλωριοαπατίτη. Στην κρυσταλλική δομή του ορυκτού συμμετέχουν δύο άτομα ασβεστίου, τα οποία καταλαμβάνουν δύο κρυσταλλογραφικά ανεξάρτητες θέσεις. Το άτομο στη θέση 1 (Ca-I) σχηματίζει δεσμούς με εννέα άτομα οξυγόνου ($Ca-IO_9$) εκ των οποίων τα έξι σχηματίζουν ένα στρεβλό τριγωνικό πρίσμα με άξονα παράλληλο προς τον κρυσταλλογραφικό άξονα c, και τα άλλα τρία τοποθετούνται απέναντι από κάθε έδρα του πρίσματος στο ύψος του ισημερινού του, όπως αναπαριστά η εικόνα 1.3. Το άτομο ασβεστίου στη θέση 2 (Ca-II) (εικ. 1.2) συνδέεται με επτά άτομα οξυγόνου ($Ca-ΠO_6OH$). Τα πέντε από αυτά αποτελούν τη βάση μίας διπλής πενταγωνικής πυραμίδας, στην κορυφή της οποίας βρίσκεται στη μία πλευρά το άτομο οξυγόνου στη θέση O2 και στην άλλη πλευρά το άτομο στη θέση O4 (Σταθοπούλου, 2008). Συγκεκριμένα, το άτομο οξυγόνου στη θέση O4 αποτελεί το οξυγόνο της υδροξυλικής ρίζας. Όσο για τη φωσφορική ρίζα της απατιτικής δομής, είναι γνωστός ο σχηματισμός τετραέδρων με τη συμμετοχή τεσσάρων ατόμων οξυγόνου. Συγκεκριμένα, ο ρόλος του P στην κρυσταλλική δομή είναι η σύνδεση των παράλληλων στον άξονα c στηλών του Ca-I, καταλαμβάνοντας θέσεις ανάμεσα σε αυτές (Elliott et al., 2002; Σταθοπούλου, 2008), όπως απεικονίζεται στο σχήμα b της εικόνας 1.1.



Εικόνα 2.1: Οι στήλες που σχηματίζουν τα άτομα Ca-I (a) και η σύνδεση αυτών μεταξύ τους με τη βοήθεια της φωσφορικής ρίζας (b) (Elliott et al., 2002).



Εικόνα 1.2: Οι κρυσταλλογραφικές θέσεις των ατόμων Ca-II και των φωσφορικών τετραέδρων στη δομή του απατίτη (Jiangling Li, 2009).



Εικόνα 1.3: Τα πολύεδρα σύνταξης για το άτομο Ca-I (αριστερά) και Ca-II (δεξιά). Με κόκκινο χρώμα σημειώνεται το άτομο Ca-I, με μωβ το Ca-II και με λευκό το άτομο H της υδροξυλικής ρίζας. Τα άτομα οξυγόνου συμβολίζονται ως εξής: O(1) με κίτρινο, O(2) με γαλάζιο αριστερά και πορτοκαλί δεξιά, O(3) με πορτοκαλί αριστερά και γαλάζιο δεξιά και O(4) με πράσινο (Σταθοπούλου, 2008).

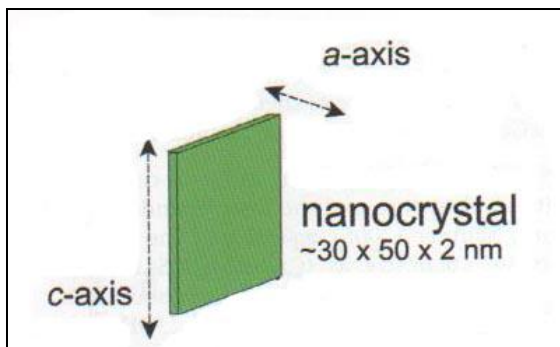
Ο απατίτης των οστών (και των οδόντων) αποτελεί συγκεκριμένα έναν υδροξυλαπατίτη και περιγράφεται από το χημικό τύπο $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ενώ πολύ συχνά εμφανίζεται στη βιβλιογραφία και ως $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, που αντιστοιχεί στο περιεχόμενο της μοναδιαίας κυψελίδας της εξαγωνικής δομής (Σταθοπούλου, 2008). Ο χημικός τύπος του υδροξυλαπατίτη προκύπτει από τον ευρύτερο για την υπερομάδα (supergroup) του απατίτη (ομάδα απατίτη, εδυφανούς, μελοβίτη, μπριτολίτη, ελλεσταδίτη) στοιχειομετρικό τύπο: $\text{I}^x\text{M}_1\text{I}_2\text{VII}\text{M}_2\text{III}(\text{IV}\text{TO}_4)_3\text{X}$ (Pasero et al., 2010), όπου $\text{M}_{1,2}=\text{Ca}$, $\text{T}=\text{P}$ και $\text{X}=\text{OH}$. Ωστόσο η δομή του βιοαπατίτη και συγκεκριμένα η μεγάλη του επιφάνεια όπως θα δούμε στη συνέχεια, επιτρέπει πλήθος αντικαταστάσεων στις θέσεις M, T, X. Ειδικότερα, το Ca^{2+} αντικαθίσταται από τα: Pb^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , Ce^{3+} , La^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} . Ο P^{5+} από: As^{5+} , V^{5+} , Si^{4+} , S^{6+} , B^{3+} και το OH^- από F^- , Cl^- . Όταν η αντικατάσταση γίνεται από ιόντα διαφορετικής ιοντικής ακτίνας προκαλείται αλλαγή στο μήκος των κρυσταλλογραφικών αξόνων και τον όγκο της μοναδιαίας κυψελίδας (Σταθοπούλου, 2008), για το λόγο αυτό είναι

ιδιαίτερα χρήσιμη η ανάλυση Rietveld που μας δίνει πληροφορίες για τα ανωτέρω μεγέθη. Για τη διατήρηση της ουδετερότητας κατά τις διάφορες υποκαταστάσεις παρατηρείται η υποκατάσταση ιόντων διαφορετικού σθένους ή η δημιουργία κενών (vacancies) σε άλλες θέσεις του κρυσταλλικού πλέγματος (Antonakos et al., 2007). Ενδεικτικός των αντικαταστάσεων του ασβεστίου ή της φωσφορικής ρίζας στη δομή του βιοαπατίτη είναι ο λόγος Ca/P (Σταθοπούλου, 2008) όπως προκύπτει από τις % κ.β. μέσες περιεκτικότητες των CaO και P₂O₅ ύστερα από ανάλυση με τη φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής επαγωγικώς συζευγμένου πλάσματος (ICP-AES).

Λόγω της υψηλής του περιεκτικότητας σε ανθρακικά (4-6% κ.β.) ο απατίτης των οστών περιγράφεται καλύτερα ως ανθρακικός υδροξυλαπατίτης, με χημικό τύπο $Ca_{10-x/2}[(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x](OH)_2$, όρος που παλαιότερα αποδιδόταν ως δαλλίτης αλλά δεν είναι πλέον δόκιμος (Σταθοπούλου, 2008; Stathopoulou et al., 2008; Trueman et al., 2011; Stathopoulou et al., 2013). Ωστόσο βλέπουμε αναφορά του όρου ‘δαλλίτης’ σε πρόσφατη δημοσίευση (Natali et al., 2014). Επίσης πρόσφατα στη βιβλιογραφία (Pasteris et al., 2014) προτείνεται ο χημικός τύπος $Ca_{(10-x)}[(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x](OH)_{2-x} \cdot nH_2O$ ($n \sim 1,5$) και επισημαίνεται η παρουσία μοριακού νερού δομικά ενσωματωμένου, καθώς και προσροφημένου σε συνθετικά δείγματα ανθρακικού απατίτη αλλά και δείγματα βιοαπατίτη. Τονίζεται μάλιστα ότι η παρουσία του νερού δεν είναι τυχαία αλλά αντιθέτως απαραίτητη, καθώς συντελεί στη ρύθμιση της χημικής πρόσβασης στην κρυσταλλογραφική θέση των διαύλων OH⁻ (apatite channels). Η αντικατάσταση από την ανθρακική ρίζα, CO₃²⁻, είναι τυπική για τους βιογενείς απατίτες και λαμβάνει χώρα σε δύο θέσεις εντός της δομής: είτε αντικαθιστά τη φωσφορική ρίζα είτε τα υδροξύλια (apatite channel) και καλείται αντίστοιχα αντικατάσταση τύπου B και αντικατάσταση τύπου A. Η πρώτη είναι συχνότερη στους ανθρακικούς απατίτες ενώ η αντικατάσταση τύπου A λαμβάνει χώρα σε συνθήκες πολύ υψηλής θερμοκρασίας (Antonakos et al., 2007; Σταθοπούλου, 2008; Pellegrini et al., 2011). Αναφορικά με την αντικατάσταση τύπου B είναι γενικά αποδεκτό ότι το επίπεδο (planar) δισθενές ανθρακικό ιόν αντικαθιστά το τρισθενές τετραέδρο της φωσφορικής ρίζας (Leventouri, 2006; Antonakos et al., 2007) αλλά η βιβλιογραφία προτείνει διαφορετικές φάσεις του τετραέδρου των φωσφορικών στις οποίες γίνεται η αντικατάσταση. Συγκεκριμένα, οι Wilson et al., 2004 (cited in Leventouri, 2006) υποστηρίζουν ότι το ανθρακικό ανιόν καταλαμβάνει μία κατοπτρικά συμμετρική φάση μίας κενής κρυσταλλογραφικής θέσης του τετραέδρου των φωσφορικών (mirror symmetry related faces of a vacated phosphate site). Οι Ivanova et al., 2001 (cited in Leventouri, 2006) αναφέρουν την τοποθέτηση της ανθρακικής ρίζας παράλληλα με τον άξονα c και σε φάση πλησίον του φωσφορικού τετραέδρου. Τέλος, οι Fleet et al., 2004 σημειώνουν ότι το ανθρακικό ιόν καταλαμβάνει μία υπό κλίση φάση (sloping face) του τετραέδρου. Σύμφωνα με τους Antonakos et al. (2007), η είσοδος των ανθρακικών τύπου B στη δομή του απατίτη επιφέρει αλλαγή της ομάδας συμμετρίας από την P_{63/m} στην P₆ ενώ όταν η ανθρακική ρίζα αντικαθιστά τα υδροξύλια η ομάδα συμμετρίας μεταβαίνει στην P₃ (Fleet et al., 2004). Επιπλέον, η ανθρακική αντικατάσταση μεταβάλλει εκτός από την ομάδα συμμετρίας και παραμέτρους της μοναδιαίας κυψελίδας (π.χ. επιμήκυνση του άξονα c και συμπίεση του άξονα a κατά την αντικατάσταση της φωσφορικής ρίζας σύμφωνα με τους Fleet et al., 2004), το μέγεθος των κρυσταλλιτών, τη διαλυτότητα, τη διπλοθλαστικότητα και τη θερμική σταθερότητα (Antonakos et al., 2007). Η μεταβολή και συγκεκριμένα η αύξηση του προϊόντος διαλυτότητας καθιστά το ασβέστιο και τα φωσφορικά διαθέσιμα για περαιτέρω

βιολογική ορυκτοποίηση (Cassella et al., 2000). Ειδικότερα κατά την αντικατάσταση των υδροξυλίων της δομής του βιοαπατίτη, οι Fleet et al., 2004 επισημαίνουν εκτόπιση των ατόμων στο τοίχωμα του καναλιού, διαστολή του καναλιού, ανακατανομή των δεσμών Ca-P, συμπίεση του πολυέδρου σύνταξης του Ca-I και περιστροφή του τετραέδρου της φωσφορικής ρίζας. Επιπροσθέτως, παρατηρείται η δημιουργία ενός κενού στη δομή λόγω της αντικατάστασης δύο OH⁻ από ένα άτομο CO₃²⁻ (Σταθοπούλου, 2008).

Ο βιοαπατίτης χαρακτηρίζεται από πολύ μικρό μέγεθος κρυστάλλων, της τάξης των nm (Tuetken & Vennermann, 2011). Συγκεκριμένα, το μήκος του κυμαίνεται μεταξύ 20-50 nm, το πλάτος του μεταξύ 12-20 nm (Boskey, 2007) και το πάχος του μεταξύ 2,5-3 nm (Posner, 1985 cited in Σταθοπούλου, 2008). Αναφορικά με το σχήμα των κρυστάλλων του, αυτό έχει περιγραφεί ως πλακοειδές (platelet) και βελονοειδές (needle-like), με το δεύτερο να αποδίδεται πλέον ως η πλάγια όψη του πρώτου (Σταθοπούλου 2008). Στην εικόνα 1.4 φαίνεται το πλακοειδές σχήμα ενός μεμονωμένου κρυστάλλου βιοαπατίτη. Οι τεχνικές που επιτρέπουν τον προσδιορισμό του σχήματος και μεγέθους των κρυστάλλων του βιοαπατίτη είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης ηλεκτρονίων (TEM) και η ανάλυση Rietveld σε διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X. Στην πραγματικότητα η ανάλυση Rietveld παρέχει μόνο ενδείξεις για το σχήμα των κρυστάλλων ενώ το μέγεθος που υπολογίζει αναφέρεται στη μικρότερη τέλεια οργανωμένη περιοχή του κρυσταλλίτη, που δεν ταυτίζεται απαραίτητα με τον ίδιο τον κρύσταλλο. Επομένως μόνο η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης ηλεκτρονίων μπορεί να οδηγήσει σε ακριβή προσδιορισμό των διαστάσεων του βιοαπατίτη.



Εικόνα 1.4: Κρύσταλλος βιοαπατίτη, σχήματος πλακιδίου (Pasteris et al., 2008).

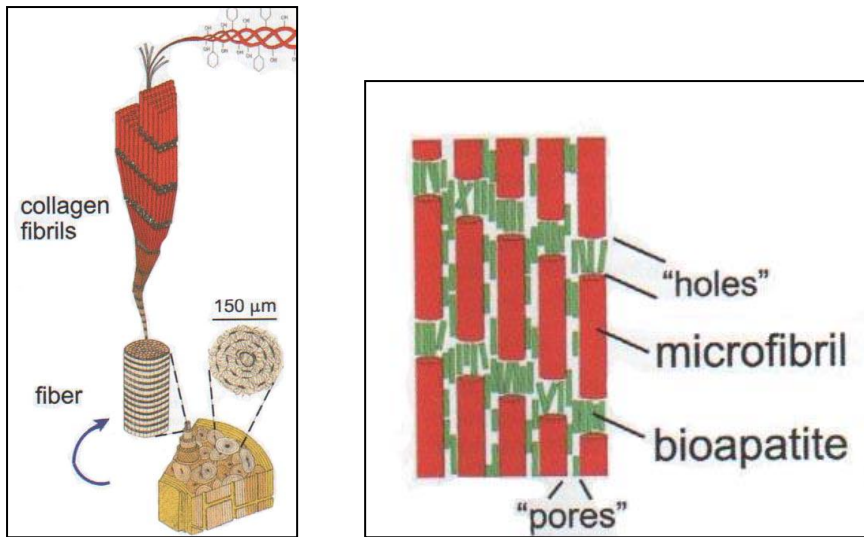
Ο βιοαπατίτης διαφοροποιείται από το γεωλογικό υδροξυλαπατίτη διότι εμφανίζει πολύ μικρό μέγεθος κρυστάλλων, υψηλό ποσοστό ανθρακικών υποκαταστάσεων και κενών στο κρυσταλλικό του πλέγμα, μεγάλη ειδική επιφάνεια που είναι απότοκος του μικρού μεγέθους κρυστάλλων και επιτρέπει την προσρόφηση ιόντων και πρωτεϊνών, ανεπάρκεια OH⁻ κατά 40% και ασβεστίου κατά 5-10% και αυξημένη διαλυτότητα (Boskey, 2007; Σταθοπούλου, 2008; Trueman et al., 2011). Αναφορικά με το ποσοστό υδροξυλίων στο βιοαπατίτη, οι Cho et al., 2003 (cited in Leventouri, 2006) υπογραμμίζουν ότι το ποσοστό τους στο συμπαγές ανθρώπινο οστό αποτελεί μόνο το 20% του αντίστοιχου ποσοστού στο στοιχειομετρικό υδροξυλαπατίτη ενώ οι Pasteris et al., 2004 (cited in Leventouri, 2006) επισημαίνουν την απουσία OH⁻ από δείγματα συμπαγούς οστού αρουραίων και βοοειδών. Ως αποτέλεσμα των πολλαπλών υποκαταστάσεων οι τυπικοί βιοαπατίτες έχουν χαμηλότερη μοριακή αναλογία Ca/P σε σύγκριση με την τιμή 1,67 που συναντάται στο στοιχειομετρικό υδροξυλαπατίτη (Boskey, 2007). Επίσης, ο βιοαπατίτης είναι πτωχά κρυσταλλωμένος και

εμφανίζει πλήρη έλλειψη εσωτερικής οργάνωσης των κρυστάλλων του (Σταθοπούλου, 2008). Βέβαια, με την αύξηση της ηλικίας του οστού παρατηρείται αύξηση της κρυσταλλικότητας, αύξηση του μεγέθους των κρυστάλλων στο επίπεδο a-b (Σταθοπούλου, 2008), καλύτερη οργάνωση της δομής και μικρότερο ποσοστό όξινης φωσφορικής ρίζας HPO_4^{2-} (Boskey, 2007). Η σπουδαιότερη ίσως διαφορά μεταξύ των δύο μορφών απατίτη- και αυτό που καθιστά μοναδικό το οστό όπως προαναφέρθηκε- είναι η δυναμική κατάσταση του βιοαπατίτη, γεγονός που αποδεικνύεται μέσω της κυτταρικής δράσης, οπότε το οστό καταστρέφεται (με τους οστεοκλάστες) και επαναποτίθεται (με τους οστεοβλάστες). Η διαδικασία καλείται ανάπλαση (**remodeling**) και λαμβάνει χώρα μόνο στον οστίτη ιστό, κάθε πέντε με δέκα χρόνια, αποτελώντας καθοριστική παράμετρο για τη ρύθμιση των επιπέδων ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφορικών (Boskey, 2007; Pasteris, 2008). Γίνεται συνεπώς εμφανής ο μοναδικός ρόλος των κυττάρων στο βιοαπατίτη και των παραγόμενων πρωτεϊνών, οι οποίες ελέγχουν την κρυσταλλική απόθεση. Αντιθέτως, οι διαδικασίες που προκαλούν μετατροπές στο γεωλογικό υδροξυλαπατίτη είναι φυσικοχημικές. Τέλος, οι αλλαγές στο βιοαπατίτη πραγματοποιούνται σε διάστημα ημερών ή μηνών και όχι σε γεωλογική κλίμακα (Boskey, 2007).

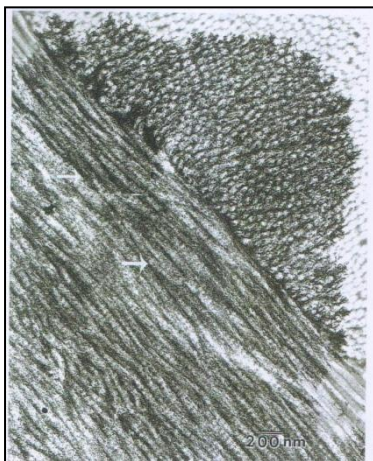
Η οργανική φάση του βιοαπατίτη συνιστά το 20-25 % του ξηρού του βάρους (Σταθοπούλου, 2008; Tuetken & Vennermann, 2011) και αποτελείται κατά 85-90% από κολλαγόνο τύπου A (Paschalis et al., 2001). Το μόριο του κολλαγόνου δομείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν μία τριπλο-ελικοειδή λεπτή ίνα (collagen fibril, εικόνα 1.5). Πέντε μόρια κολλαγόνου συνδυάζονται τμηματικά το ένα δίπλα στο άλλο με αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας μικροΐνας (microfibril, εικόνα 1.5) (Pasteris et al., 2008). Η παράλληλη αυτή διάταξη παρέχει ευελιξία στους μη ορυκτοποιημένους ιστούς. Ωστόσο, η δομή καθίσταται πιο ισχυρή και άκαμπτη λόγω της κρυστάλλωσης του απατίτη στα κενά μεταξύ των μικροΐνων του κολλαγόνου (Natali et al., 2014).

Συγκεκριμένα, η ανάπτυξη των κρυστάλλων του απατίτη λαμβάνει χώρα στους κενούς χώρους που εντοπίζονται μεταξύ ανώτερης και κατώτερης συστοιχίας μικροΐνων ή ανάμεσα σε παράλληλα διατεταγμένες ίνες (Pasteris et al., 2008) όπως απεικονίζεται στην εικόνα 1.5. Στη δεύτερη περίπτωση το μέγεθος των πόρων είναι μικρότερο. Στον οστίτη ιστό αλλά και στην οδοντίνη και την κονία των δοντιών είναι χαρακτηριστικός ο προσανατολισμός των αξόνων c της κυψελίδας των κρυστάλλων του απατίτη παράλληλα με το μεγάλο άξονα των μικροΐνων (Pasteris et al., 2008; Σταθοπούλου, 2008; Yerramshetty & Akkus, 2008), όπως απεικονίζεται στην εικόνα 1.6. Γενικότερα είναι αποδεκτό ότι κατά το σχηματισμό των οστών πρώτα αποτίθεται εξωκυτταρικά το κολλαγόνο και έπειτα ο σχηματισμός των απατιτικών κρυστάλλων (Pasteris et al., 2008; Σταθοπούλου, 2008).

Εκτός από το κολλαγόνο, η οργανική φάση του οστού περιλαμβάνει μη κολλαγόνες πρωτεΐνες (NCPs), βλεννοπολυσακχαρίδια, υδρογονάνθρακες και λιπίδια (Σταθοπούλου, 2008). Οι μη κολλαγόνες πρωτεΐνες εντοπίζονται στο εξωκυττάριο υγρό (extracellular matrix) και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό, την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κρυστάλλων του απατίτη, καθώς παρεμποδίζουν ή προωθούν την ορυκτοποίηση (Boskey, 2007). Σε αυτές ανήκουν οι: γλυκοπρωτεΐνες (π.χ. SIBLINGs), φωσφοροπρωτεΐνη, αλβουμίνη, οστεοκαλσίνη, οστεονεκτίνη. Ακόμη, στο οστό συμμετέχει και κολλαγόνο τύπου V. Τέλος, το ποσοστό του νερού στο ώριμο οστό είναι 9% ενώ στο νεοσχηματιζόμενο οστό φτάνει το 60% (Σταθοπούλου, 2008).



Εικόνα 1.5: Δεξιά παρατηρείται η ανάπτυξη κρυστάλλων βιοαπατίτη στους κενούς χώρους μεταξύ ανώτερης και κατώτερης συστοιχίας μικροϊνών (holes) ή ανάμεσα σε παράλληλα διατεταγμένες ίνες (pores). Αριστερά, η μικρότερη δομική μονάδα των οργανικών συστατικών του οστού, η λεπτή ίνα κολλαγόνου, τριπλο-ελικοειδούς δομής (Pasteris et al., 2008).



Εικόνα 1.6: Εικόνα από το μικροσκόπιο TEM, όπου απεικονίζεται η παράλληλη διάταξη των πυκνών σε ηλεκτρόνια κρυστάλλων απατίτη (βλ. βέλη) με τις ίνες του κολλαγόνου (λευκές περιοχές) στα αρχικά στάδια σχηματισμού των κρυστάλλων (Boskey, 2007).

1.2.3 Δομικά Χαρακτηριστικά

Το αρχικά σχηματιζόμενο οστό καλείται ανώριμο ή υφασμένο οστό (woven bone), είναι τραχύ και ινώδες, με τυχαία κατανομημένες τις ίνες κολλαγόνου, και περιλαμβάνει σφαιρικές οστικές κοιλότητες εντός των οποίων εγκλείονται οι **οστεοβλάστες**, τα κύτταρα δηλαδή που δημιουργούν τον οστίτη ιστό. Όπως αναφέρθηκε, το υφασμένο οστό περιέχει υψηλό ποσοστό νερού (60%). Πρέπει να σημειωθεί ότι πέραν από τα αρχικά στάδια δημιουργίας του οστού, υφασμένο οστό συναντάται και σε ενήλικα άτομα λόγω επούλωσης κάποιου τραύματος ή φυσιολογικής ανανέωσης του οστού. Εντοπίζεται επιπλέον στα σημεία πρόσφυσης συνδέσμων και τενόντων (Σταθοπούλου, 2008). Εν συνεχεία, στην πλειοψηφία

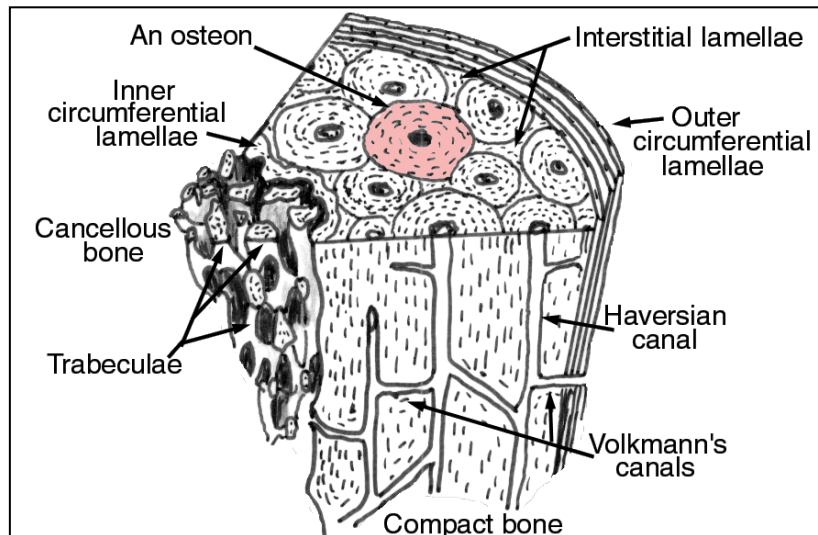
των θηλαστικών, ο οστίτης ιστός αποτίθεται διαδοχικά από τους οστεοβλάστες (Pasteris et al., 2008) υπό μορφή λεπτών στρωμάτων που ονομάζονται **ελάσματα (lamellae)**. Κάθε έλασμα δομείται, όπως αναφέρει η Σταθοπούλου (2008), από παράλληλες μεταξύ τους, στενά πακεταρισμένες ίνες κολλαγόνου. Τα ελάσματα δύναται να τοποθετούνται παράλληλα ή συγκεντρικά. Στη δεύτερη περίπτωση περιβάλλουν κυκλικά κανάλια στα οποία κυκλοφορεί ο μυελός των οστών και τοποθετούνται τα αιμοφόρα αγγεία. Πρόκειται για τα λεγόμενα **χαβερσιανά κανάλια (Haversian canals)**, τα οποία σε συνδυασμό με τα συγκεντρικά ελάσματα αποτελούν τα **χαβερσιανά συστήματα** ή τους **οστεώνες (osteons)**. Η ονομασία “χαβερσιανά” οφείλεται στον Βρετανό γιατρό Clopton Havers που πρώτος τα περιέγραψε στο βιβλίο του Osteologia που το 1961. Σε εγκάρσια τομή τα χαβερσιανά κανάλια συνιστούν κυκλικές οπές διαμέτρου 22-110 μm και σε αξονική τομή επιμήκη κανάλια. Τα χαβερσιανά συστήματα αποτίθενται πρωτογενώς ή δευτερογενώς δηλαδή σε περιοχές που δεν προϋπήρχε ή προϋπήρχε αντίστοιχα προηγούμενο οστό (Σταθοπούλου, 2008). Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρατηρούνται οστεώνες που τέμνονται από άλλους (νεότερους) ή υπολειμματικά ελάσματα παλιών οστεώνων [τα λεγόμενα ενδιάμεσα ελάσματα (interstitial lamellae)]. Δηλαδή, βλέπουμε ότι το χαβερσιανό ή ελασματικό οστό συνεχώς ανανεώνεται για να καλύψει τις ανάγκες του οργανισμού και αυτή η ανανέωση αποτυπώνεται στα ιστολογικά του χαρακτηριστικά. Οι οστεώνες επίσης επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω καναλιών που λέγονται **σωλήνες Volkmann** ενώ διαχωρίζονται από τους υπόλοιπους μέσω των ασβεστιτικών **γραμμών κονίας ή γραμμών του Ebner (cement lines)**. Με την ωρίμανση του οστού και την αύξηση της ηλικίας του οργανισμού, οι οστεώνες γίνονται πιο μικροί σε μέγεθος και πιο συγκεντρικοί (Σταθοπούλου, 2008). Ένα χαβερσιανό σύστημα δεν είναι πλήρες χωρίς τις **οστικές κοιλότητες (lacunae)**, οι οποίες φιλοξενούν τα οστεοκύτταρα (osteocytes-κατηγορία οστεοβλαστών). Ο μεγάλος άξονας των οστικών κοιλοτήτων τοποθετείται παράλληλα με τα ελάσματα και υποδεικνύονται έτσι τα όρια μεταξύ των ελασμάτων. Η σύνδεση των οστικών κοιλοτήτων επιτυγχάνεται μέσω των **οστικών σωλήνων (canaliculi)**. Όλες οι παραπάνω αναφερθείσες κοιλότητες του οστού που συνιστούν τα βασικά χαρακτηριστικά της εσωτερικής μορφολογίας του, κατά την παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εμφανίζονται πληρωμένες με δευτερογενείς ορυκτολογικές φάσεις, με θραύσματα από το οστό ή είναι κενές. Ακόμη, εντός των οπών αυτών μπορεί να εντοπιστούν ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου.

Εκτός από το χαβερσιανό οστό, το οποίο περιγράφηκε ως τώρα, πολύ αποτελεσματικό από άποψη προμήθειας αίματος και πολύ δυνατό –μάλιστα περισσότερο από το χαβερσιανό– είναι το λεγόμενο ελασματοειδές οστό (laminar bone) (οστά δεινοσαύρων). Αυτό αποτελείται από μία σειρά πεταλίων, καθένα από τα οποία διακρίνεται με μία φωτεινή γραμμή, μεταξύ των οποίων υπάρχουν δίκτυα αιμοφόρων κυττάρων. Ωστόσο, το ελασματοειδές οστό δε διαθέτει τη δυνατότητα ανανέωσης (remodeling) και αυτός ακριβώς είναι ο λόγος που αντικαθίσταται από το χαβερσιανό κατά την οντογένεση (Σταθοπούλου, 2008).

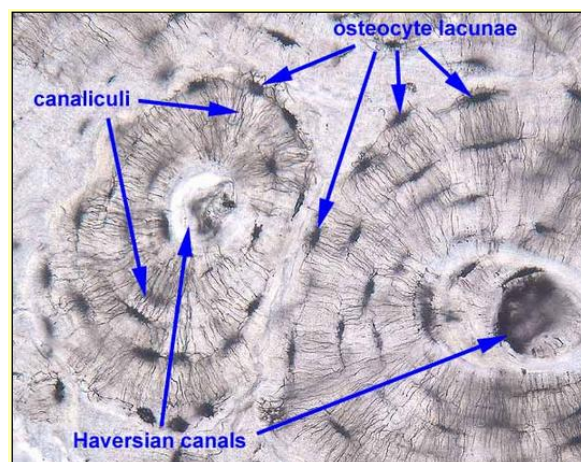
Συνεπώς είδαμε αρκετές περιπτώσεις ταξινόμησης των οστών όπως π.χ. χαβερσιανό ή ελασματικό - ελασματοειδές, ώριμο - ανώριμο ή υφασμένο, πρωτογενές - δευτερογενές. Μία ακόμη σημαντική και ευρέως χρησιμοποιούμενη στη βιβλιογραφία ταξινόμηση γίνεται με κριτήριο τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του οστού και το διαχωρίζει σε **συμπαγές (compact or cortical)** και **σπογγώδες (cancellous or trabecular)**. Το συμπαγές συναντάται στη διάφυση των μακρών οστών και παρουσιάζει την τυπική δομή του χαβερσιανού οστού.

Εξωτερικά και εσωτερικά περιφερειακά ελάσματα (external and internal circumferential lamellae) οριοθετούν, στην εξωτερική και εσωτερική επιφάνεια του συμπαγούς αντίστοιχα, τις περιοχές με πλήθος οστεώνων. Το σπογγώδες οστό είναι κυρίαρχο στις επιφύσεις των μακρών οστών και στο κέντρο της διάφυσης. Αποτελεί ένα ικρίωμα από επιμήκεις και εγκάρσιες δοκίδες μεταξύ των οποίων υπάρχουν ευμεγέθη κενά στα οποία κατ' αντιστοιχία με τα χαβερσιανά κανάλια του συμπαγούς κυκλοφορούσε ο μυελός των οστών (Σταθοπούλου, 2008). Στα απολιθωμένα οστά παραμένουν κενά ή πληρωμένα με υλικό του περιβάλλοντος. Γενικότερα, για την εφαρμογή αναλυτικών τεχνικών επιλέγεται η λήψη δείγματος από το συμπαγές τμήμα του οστού.

Τέλος, τα οστά περιβάλλονται εξωτερικά από μία ινώδη μεμβράνη, το περίοστεο (periosteum), το οποίο συνήθως δε διατηρείται κατά την απολίθωση (Σταθοπούλου, 2008). Τα παραπάνω αναφερθέντα χαρακτηριστικά της εσωτερικής μορφολογίας του οστού παρουσιάζονται στην εικόνα 1.7. Για τις οστικές κοιλότητες και τους οστικούς σωλήνες παρατίθεται η εικόνα 1.8.



Εικόνα 1.7: Βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά του οστού (<https://courses.stu.qmul.ac.uk>).



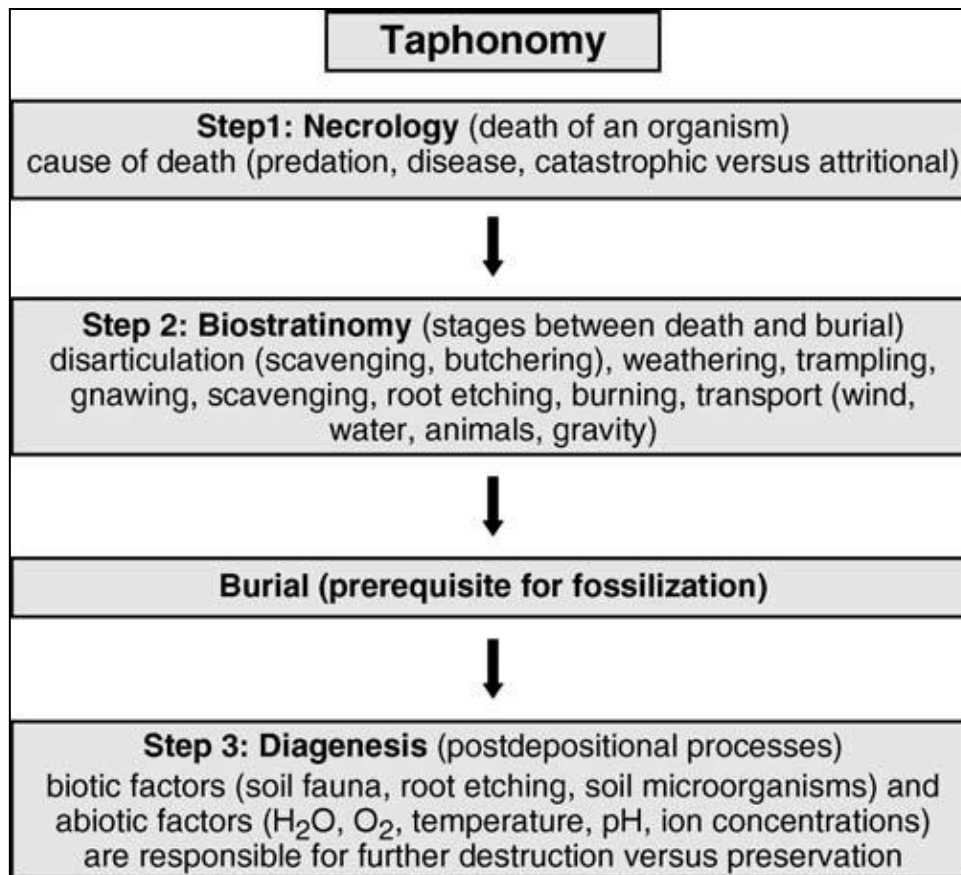
Εικόνα 1.8: Οστικές κοιλότητες και μεταξύ τους σύνδεση με τους οστικούς σωλήνες (<http://www.siumed.edu/~dking2/ssb/NM036b.htm>).

1.2.4 Διαγένεση

Αμέσως μετά το θάνατο ενός οργανισμού ξεκινά η πορεία των υπολειμμάτων του στο γεωλογικό χρόνο. Απαραίτητες προϋποθέσεις ώστε να εισέλθουν στο απολιθωματικό αρχείο είναι η σύστασή τους από ορυκτοποιημένους ιστούς (οστά, δόντια) και ο γρήγορος ενταφιασμός στα γεωλογικά ιζήματα. Να σημειωθεί ότι η απολίθωση των οστών δεν καλύπτεται από τον κλαστικό ορισμό της απολίθωσης ως ‘‘αντικατάστασης μόριο προς μόριο της οργανικής ύλης από ανόργανο υλικό του περιβάλλοντος’’. Αυτό που καταγράφεται στον βιοαπατίτη από άποψη χημικών στοιχείων είναι μία ανακατανομή των υπαρχόντων μέσω της απομάκρυνσης κάποιων στοιχείων και της πρόσληψης κάποιων άλλων (Σταθοπούλου, 2008). Το σύνολο των διεργασιών στις οποίες υπόκεινται τα οργανικά υπολείμματα από τη στιγμή του θανάτου ενός οργανισμού μέχρι και την ανασκαφή τους από τους παλαιοντολόγους μελετώνται από την επιστήμη που καλείται ταφονομία. Σύμφωνα με τον Efremon

(1940- cited in Παυλάκης, 2002) ως ταφονομία ορίζεται ‘‘η μετάβαση των οργανικών υπολειμμάτων από τη βιόσφαιρα στη λιθόσφαιρα’’. Ο Stodder (2008- cited in Abdel-Maksoud & Abdel-Hady, 2011) με τη σειρά του ορίζει την ταφονομία ως: ‘‘τη μελέτη των φυσικοχημικών διεργασιών, προκαλούμενων από φυσικούς ή ανθρωπογενείς παράγοντες ή από άλλα ζώα, που μετατρέπουν έναν οργανισμό μετά το θάνατό του και οδηγούν στην ενσωμάτωσή του στα γεωλογικά στρώματα’’. Ο όρος ταφονομία περιλαμβάνει τα επιμέρους στάδια της νεκρόλυσης, της βιοστρωματονομίας και της διαγένεσης (εικόνα 1.9). Κατά τη νεκρόλυση αποσυντίθενται τα μαλακά μέρη του οργανισμού και εξαρθρώνεται ο σκελετός ενώ η βιοστρωματονομία περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα μέχρι τον ενταφιασμό των υπολειμμάτων όπως η μεταφορά τους από το νερό, τον άνεμο, τη βαρύτητα ή άλλα ζώα, το ποδοπάτημα από άλλα ζώα, η αποσάθρωση από το νερό ή τον άνεμο, η εκτριβή, η εγχάραξη από ρίζες, η καύση (Παυλάκης, 2002). Μετά την ταφή των υπολειμμάτων στα γεωλογικά στρώματα ακολουθεί πλήθος φυσικοχημικών διεργασιών λόγω δράσης βιοτικών (μικροοργανισμοί του εδάφους, ριζικό σύστημα) και αβιοτικών (νερό, οξυγόνο, pH, θερμοκρασία, συγκεντρώσεις ιόντων) παραγόντων (Grupe, 2007), που συναποτελούν το διαγενετικό στάδιο.

Σύμφωνα με τη Σταθοπούλου (2008) και τους Tuetken & Vennermann (2011), οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διαγένεση των οστών ουσιαστικά χαρακτηρίζουν το μικροπεριβάλλον ταφής και τις γεωχημικές του συνθήκες και είναι η θερμοκρασία, η υγρασία, το pH και το Eh, το ποσοστό των οργανικών, η ορυκτολογία, η υφή και η κοκκομετρία του. Από αυτές τις παραμέτρους, οι πέντε πρώτες σε συνδυασμό με τη διαθεσιμότητα οξυγόνου καθορίζουν την ύπαρξη μικροοργανισμών, η δράση των οποίων είναι κατά περιπτώσεις πολύ έντονη και θα περιγραφεί παρακάτω. Καθοριστικός διαγενετικός παράγοντας και υπεύθυνος για την προσρόφηση χημικών στοιχείων από το οστό αλλά και για τη διάλυση του οστού είναι η κίνηση του υπόγειου νερού στο μικροπεριβάλλον ταφής του οστού καθώς επίσης και η σύσταση των κυκλοφορούντων στο έδαφος υδατικών διαλυμάτων, την οποία υπαγορεύει βέβαια η γεωλογία της ευρύτερης περιοχής. Ακόμη, η διάρκεια της ταφής, το βάθος στο οποίο βρίσκονται τα οστά, το οποίο ορίζει τη λιθοστατική πίεση που δέχονται από τα υπερκείμενα ιζήματα, και η θέση των οστών σε σχέση με τον υδροφόρο ορίζοντα επηρεάζουν τη διατήρησή τους (Σταθοπούλου, 2008).



Εικόνα 1.9: Τα επιμέρους στάδια που μελετά η ταφονομία (νεκρόλυση- βιοστρωματονομία- διαγένεση) (Grube,2007).

Προχωρώντας στην περιγραφή των διαγενετικών μεταβολών, οι Stathopoulou et al. (2008); Abdel-Maksoud & Abdel-Hady (2011); Mueller et al. (2011); Thomas et al. (2011) επισημαίνουν απώλεια του οργανικού υλικού και των ανθρακικών, αλλαγές στο πορώδες, αύξηση της κρυσταλλικότητας του βιοαπατίτη, αλλαγές στη σύσταση των ιχνοστοιχείων, αντικατάσταση του Ca²⁺ και των OH⁻, πρόσληψη διαλυμένων στο υπόγειο νερό ουσιών και μικροβιακά προκαλούμενη ισοτοπική αλλαγή. Η απώλεια του οργανικού υλικού ξεκινά από τον ίδιο τον οργανισμό μέσω μίας διαδικασίας που ονομάζεται αυτόλυση (Σταθοπούλου, 2008). Πρόκειται για αυτοκαταστροφή των κυττάρων του οργανισμού αλλά όχι του κολλαγόνου, που διευκολύνει την είσοδο των μικροοργανισμών του εδάφους (μύκητες, βακτήρια). Με της σειρά τους αυτοί αποσυνθέτουν αφενός το κολλαγόνο για να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες και αφετέρου, μέσω οξέων που εκκρίνουν, προκαλούν τη διάλυση του απατίτη και την καταστροφή των κενών του. Η μικροβιακή δράση (διεθνώς microbial activity or MFD= microbial focal destruction) γίνεται αναγνωρίσιμη στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο από χαρακτηριστικές οπές και “τούνελ” που δημιουργεί στον ιστό (Σταθοπούλου, 2008).

Κατά τη διαγένεση παρατηρείται αύξηση της κρυσταλλικότητας της ορυκτής φάσης. Όπως αναφέρθηκε, ο απατίτης των οστών είναι πτωχά κρυσταλλωμένος, κάτι που αλλάζει κατά τη διαγένεση μέσω των διαδικασιών της διάλυσης και της ανακρυστάλλωσης (Σταθοπούλου, 2008). Η διάλυση του βιοαπατίτη πραγματοποιείται με την υδρόλυση αυτού, η οποία οδηγεί σε ελεύθερα ιόντα κυρίως ασβεστίου και φωσφόρου που θα αποπλυθούν από την υγρασία του εδάφους ή θα λάβει χώρα η ανακρυστάλλωση του ανόργανου υλικού δηλαδή

η μεταβολή του σχήματος και του μεγέθους των κρυστάλλων του (αύξηση του μεγέθους) με διατήρηση της χημικής σύστασης (Grube, 2007; Tuetken & Vennermann, 2011). Συχνή κατά τη διαγένεση είναι η κρυστάλλωση βρουσίτη ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) σε pH 4,5-6 (Newesely, 1989; Koch et al., 1997 cited in Σταθοπούλου, 2008). Η ανακρυστάλλωση ολοκληρώνεται όταν έχει αυξηθεί σε τέτοιο βαθμό το μέγεθος των κρυστάλλων ώστε το ενδοκρυσταλλικό πορώδες που αρχικά καταλαμβάνονταν από κολλαγόνο, δεν υπάρχει πια (Trueman et al., 2011). Για τη μελέτη της μεταβολής της κρυσταλλικότητας έχει εισαχθεί ο όρος του συντελεστή κρυστάλλωσης (crystallinity index), που μπορεί να υπολογιστεί μέσω των φασμάτων υπερύθρου και των διαγραμμάτων περίθλασης ακτίνων -X. Λόγος για τον συντελεστή αυτόν θα γίνει στο κεφάλαιο περιγραφής των τεχνικών που εφαρμόστηκαν στην παρούσα εργασία.

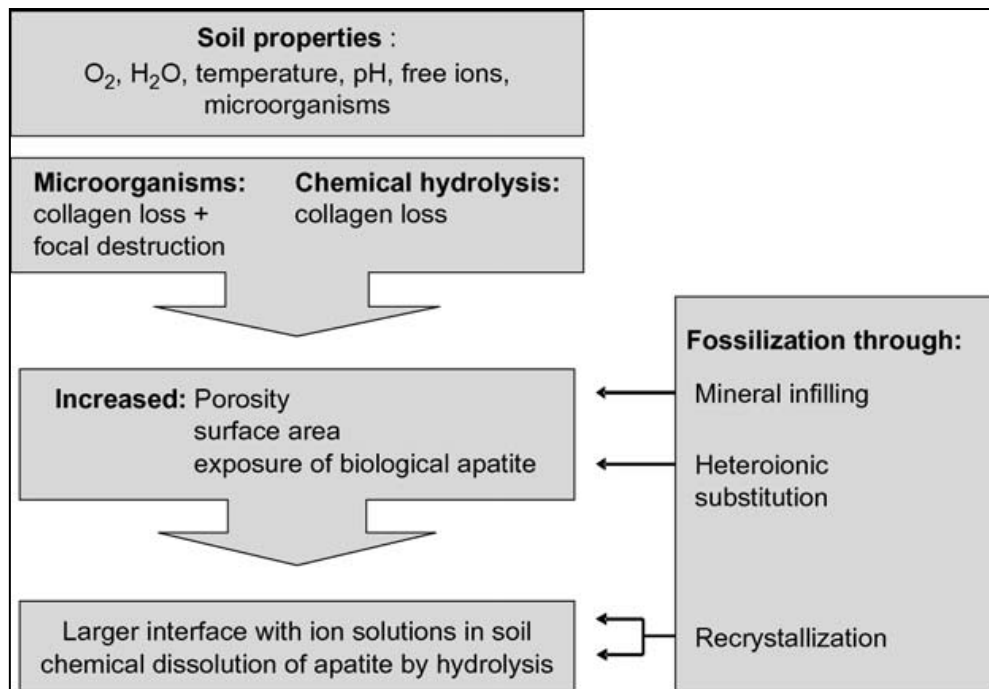
Όπως επισημάνθηκε κατά την περιγραφή της εσωτερικής μορφολογίας του οστίτη ιστού, οι διάφορες κοιλότητές του (χαβερσιανά κανάλια, οστικές κοιλότητες, πάσης φύσεως ασυνέχειες) κατά τη διαγένεση γεμίζουν με υλικό του περιβάλλοντος, τα λεγόμενα εγκλείσματα (π.χ. αργιλικά ορυκτά, οξείδια του σιδήρου και του πυριτίου). Τα εγκλείσματα δύναται κάλλιστα να είναι και βιολογικά. Επιπλέον τα διάφορα ιόντα που εισέρχονται στο κρυσταλλικό πλέγμα του βιοαπατίτη αντικαθιστώντας τα Ca, P, OH (π.χ. Na, Sr, Pb, S, F, Cl) συνιστούν τις λεγόμενες διεισδύσεις (Σταθοπούλου, 2008).

Επιπλέον, κατά την ποιοτική παρατήρηση του οστού με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο γίνεται αντιληπτός ο βαθμός διατήρησης της εσωτερικής μορφολογίας. Μερική ή πλήρης καταστροφή αυτής (για παράδειγμα μη διατήρησης των ελασμάτων, αποχωρισμός των οστεώνων) οφείλεται στη μικροβιακή δράση ή την αύξηση της κρυσταλλικότητας (για παράδειγμα έπειτα από την αντικατάσταση των υδροξυλίων από φθόριο). Ακόμη, ο σχηματισμός βρουσίτη κατά την ανακρυστάλλωση, που ειπώθηκε παραπάνω, προκαλεί ράγισμα του οστίτη ιστού και αποκόλληση των οστεώνων λόγω των μεγαλύτερων σε μέγεθος κρυστάλλων του (Σταθοπούλου, 2008). Βλέπουμε επομένως πώς μία διαγενετική αλλαγή επιφέρει μία δεύτερη. Εκτός από την εσωτερική μορφολογία των οστών μεταβάλλεται και η εξωτερική, με τη δημιουργία ρωγμών και την πλαστική παραμόρφωση των οστών κυρίως λόγω του βάρους των υπερκείμενων ιζημάτων.

Επιπροσθέτως, κατά τη διαγένεση μεταβάλλεται η τιμή του λόγου Ca/P λόγω εμπλουτισμού σε ασβέστιο και/ή αντικατάστασης της φωσφορικής ρίζας (αύξηση του λόγου) ή απόπλυσης ασβεστίου (μείωση) (Σταθοπούλου, 2008).

Η ανακατανομή του πορώδους από μικροπορώδες σε μακροπορώδες, η μεταβολή του χρώματος των οστών και πιθανή καύση αυτών, έρχονται να προστεθούν στην πληθώρα των διαγενετικών μεταβολών (Σταθοπούλου, 2008).

Στο παρακάτω διάγραμμα συνοψίζονται κάποιοι βασικοί διαγενετικοί παράγοντες και διαγενετικές μεταβολές.



Εικόνα 1.10: Βασικοί διαγενετικοί παράγοντες και διαγενετικές μεταβολές (Grupe, 2007).

1.2.5 Ολιγοστοιχεία και Ιχνοστοιχεία στα απολιθωμένα οστά

Οι τρόποι εισόδου των ιχνοστοιχείων στα απολιθωμένα οστά είναι τρεις. Πρώτον, εισέρχονται υπό μορφή ιόντων αντικαθιστώντας κάποιο από τα κύρια στοιχεία στο πλέγμα του βιοαπατίτη (Ca, P, OH). Πρόκειται για τη λεγόμενη απλή ισομορφική αντικατάσταση από ιόντα παρόμοιας ιοντικής ακτίνας ή σε διαφορετική περίπτωση μιλάμε για ετεροϊοντική αντικατάσταση. Επίσης, εισέρχονται ως συστατικά δευτερογενών ορυκτών φάσεων και πληρούν τις κοιλότητες και τα διάφορα κενά του οστίτη ιστού (π.χ. ασβεστίτης, χαλαζίας, γύψος). Την τρίτη περίπτωση αποτελεί η προσρόφηση των ιχνοστοιχείων στην επιφάνεια των κρυστάλλων του απατίτη, που όπως αναφέρθηκε προσφέρεται λόγω του νανοκρυσταλλικού μεγέθους. Τα ιχνοστοιχεία εμπεριέχονται στο περιβάλλον πορικό νερό και μετακινούνται εντός των διασυνδεδεμένων πόρων του οστού με τη διαδικασία της διάχυσης. Η προσρόφηση ευνοείται από μικρότερο ρυθμό κρυστάλλωσης και μεγαλύτερο πορώδες ενώ κατά την πορεία της διαγένεσης ενδέχεται τα προσροφηθέντα στην επιφάνεια ιχνοστοιχεία να εισέλθουν στο πλέγμα του απατίτη. Συνοψίζοντας, οι διαδικασίες που επιτρέπουν την είσοδο ολιγοστοιχείων και ιχνοστοιχείων στον οστίτη ιστό είναι η ιοντική αντικατάσταση, η απόθεση δευτερογενών ορυκτών φάσεων, η προσρόφηση και η διάχυση (ion exchange, precipitation of secondary minerals, adsorption, diffusion αντίστοιχα) (Σταθοπούλου, 2008; Trueman et al., 2011; Tuetken & Vennermann, 2011).

Σε κάθε περίπτωση η διαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων καθορίζεται από τη συγκέντρωσή τους στα κυκλοφορούντα υδατικά διαλύματα και άρα στους γεωλογικούς σχηματισμούς της ευρύτερης περιοχής ενώ η τελική τους περιεκτικότητα στα σκελετικά στοιχεία επηρεάζεται από την αρχική τους περιεκτικότητα σε αυτά, από την περιεκτικότητά τους στο πορικό νερό, από το pH και το Eh του περιβάλλοντος ταφής, που καθορίζουν την κινητικότητά τους, από το πορώδες και τη διαπερατότητα του οστού και από τη διάρκεια έκθεσης (Σταθοπούλου, 2008).

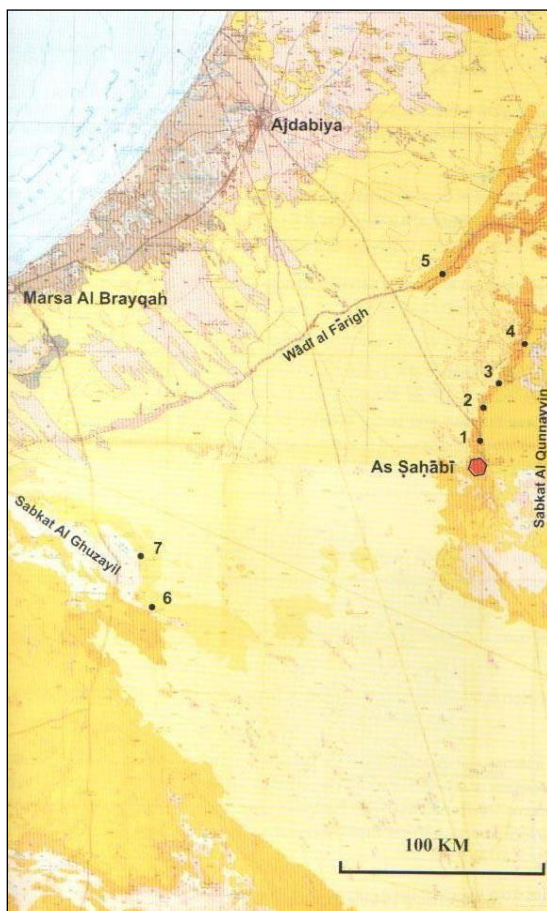
Αναφορικά με την κατανομή της συγκέντρωσης ολιγοστοιχείων και ιχνοστοιχείων στα οστά από την εσωτερική κοιλότητα προς το περίστυο, μία περίπτωση αποτελεί η παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων στο εξωτερικό τμήμα και συχνά εσωτερικά, περιμετρικά της κοιλότητας ενώ συγκεκριμένα για τις σπάνιες γαίες (REE) είναι γνωστή η κατανομή τύπου ‘U’, δηλαδή με αυξημένες συγκεντρώσεις στις εξωτερικές επιφάνειες των δειγμάτων πάρα στο εσωτερικό τους (Σταθοπούλου, 2008). Ωστόσο, δύναται να υπάρχει κορεσμός στοιχείων σε όλο το βάθος του οστού.

Κεφάλαιο 2: ΘΕΣΗ-ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Απολιθωματοφόρος Θέση

2.1.1 Γεωγραφική Θέση και Τεκτονική

Η απολιθωματοφόρος θέση As Sahabi βρίσκεται στη βόρεια και κεντρική Λιβύη, στο βορειότερο άκρο της ερήμου Σαχάρα, 100 km νοτιοανατολικά της πόλης Ajdabiya, η οποία με τη σειρά της συναντάται 155 km νότια της δεύτερης μεγαλύτερης λιβυκής πόλης, της Βεγγάζης (El- Arnauti & El- Sogher, 2004; Boaz, 2009). Οι γεωγραφικές συντεταγμένες της περιοχής είναι: $20^{\circ} 48' 08'' - 20^{\circ} 54' 45''$ E γεωγραφικό μήκος και $30^{\circ} 10' 58'' - 30^{\circ} 17' 36''$ N γεωγραφικό πλάτος (Muftah, 2013 unpublished PhD thesis). Όπως φαίνεται στον παρακάτω χάρτη (Εικ. 2.1), η απολιθωματοφόρος θέση τοποθετείται στο βορειοανατολικό τμήμα της λεκάνης της Σύρτης, στα δυτικά της Sebkhah Al- Qunayyin και περίπου 10 km νότια από το ιστορικό ρωμαϊκό, βυζαντινό και μετέπειτα τούρκικο φρούριο του Qasr as Sahabi, το οποίο καταστράφηκε σχεδόν ολοσχερώς κατά το Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο (Muftah et al., 2008a). Η λεκάνη της Σύρτης αποτελεί τη μεγαλύτερη και νεότερη ιζηματογενή λεκάνη στη Λιβύη, η οποία σχηματίστηκε κατά το Κενομάνιο, έχει διεύθυνση NW-SE και καλύπτει μία περιοχή περίπου 300.000 km^2 . Το βαθύτερο τμήμα της λεκάνης της Σύρτης περιλαμβάνει το βύθισμα της Ajdabiya στο οποίο τοποθετείται η θέση As Sahabi (Muftah, 2013 unpublished PhD thesis).



Εικόνα 2.1: Τμήμα του γεωλογικού χάρτη της Λιβύης σε κλίμακα 1:250.000 (φύλλα Ajdabiya και Sebkhah Ghuzayil) όπου φαίνεται η περιοχή μελέτης στα δυτικά της Sebkhah Al- Qunayyin (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

Σύμφωνα με τους El- Arnauti και El Sogher (2004: p. 12) και όπως φαίνεται στην εικόνα 2.2 το βύθισμα της Ajdabiya χωρίζεται στα ανατολικά από την πλατφόρμα της Κυρηναϊκής και την υποβύθιση Solug με ένα μεγάλο ρήγμα με ολίσθηση κατά κλίση. Στα δυτικά οριοθετείται επίσης από ένα ρήγμα που τη χωρίζει από την πλατφόρμα Al Jahamah, βόρεια οριοθετείται από τη Μεσόγειο και νότια από την ανύψωση Tibisti Sirt (Muftah, 2013 unpublished PhD thesis). Το βύθισμα της Ajdabiya αποτελεί το ανατολικό τεκτονικό βύθισμα (graben) του συστήματος τεκτονικών κεράτων και τάφρων (horsts and grabens) της λεκάνης της Σύρτης, του οποίου η γεωλογική ιστορία ξεκινά από το Ανώτερο Κρητιδικό και στο οποίο μέχρι σήμερα έχουν αποθεθεί ιζήματα με πάχος που ξεπερνά τα 15.000 ft. Η ιζηματογενής ακολουθία με το μεγαλύτερο πάχος αντιστοιχεί στην περίοδο Μέσο-Κατώτερο Ολιγόκαινο, κατά την οποία η υποβύθιση ήταν μεγαλύτερη και ο άξονας της ιζηματογενούς ακολουθίας καταλάμβανε το κέντρο της τάφρου. Αντιθέτως, από το Ανώτερο Ολιγόκαινο-Κατώτερο Μειόκαινο και κυρίως κατά το διάστημα Μέσο- Ανώτερο Μειόκαινο ο άξονας μετακινείται προς τα ανατολικά πιθανώς λόγω εφελκυστικής δραστηριότητας.



Εικόνα 2.2: Τεκτονικά στοιχεία στο κεντρικό και ανατολικό τμήμα της λεκάνης της Σύρτης. Με το νούμερο 1 σημειώνεται η Sebkhah Al- Qunayyin (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

2.1.2 Ιστορικό των ανασκαφών

Ο πρώτος γεωλόγος που σταμάτησε στην περιοχή του As Sahabi και έλαβε δείγματα απολιθωμάτων ήταν ο ιταλός Ardito Desio το Νοέμβριο του 1931 (Rook, 2008). Ωστόσο, αυτός που ανέδειξε τον πλούτο και την αξία της περιοχής ως απολιθωματοφόρου θέσης ήταν ο συμπατριώτης του, Carlo Petrocchi, ο οποίος εργάστηκε στην περιοχή για πέντε χρόνια (1932-1937) οργανώνοντας τις πρώτες παλαιοντολογικές ανασκαφές. Τα νέα είδη απολιθωμένων σπονδυλωτών που ανακαλύφθηκαν κατά τη διάρκειά τους ήταν τα παρακάτω: *Anancus petrocchii*, *Crocodylus checchiai*, *Leptobos cyrenaicus*, *Libycosaurus petrocchii*, *Miotragoceros cyrenaicus*, *Nyanzachoerus syrticus* και *Stegotrabelodon syrticus* (Boaz et al., 2008b). Ωστόσο, ο δεύτερος παγκόσμιος πόλεμος σταμάτησε κάθε παλαιοντολογική εργασία για περίπου τέσσερις δεκαετίες.

Το 1974, με πρωτοβουλία του Noel Boaz, ιδρύθηκε το διεθνές πρόγραμμα έρευνας για το Sahabi (International Sahabi Research Project-ISR), με έδρα το Πανεπιστήμιο της Βεγγάζης (πρώην Παν/μιο Garyounis) και συντονιστές τους Noel Boaz, Ali El- Arnauti και Abdel Wahid Gaziry (Boaz et al., 2008b). Στο πλαίσιο του εν λόγω προγράμματος πραγματοποιήθηκαν ανασκαφές από το 1977 ως το 1981 κατά τη διάρκεια των οποίων συλλέχθηκαν 4.465 απολιθώματα σκελετικών τμημάτων από ενενήντα θέσεις (Dechant Boaz, 1987). Στις ανασκαφές αυτές συμμετείχε και το μέλος της τριμελούς επιτροπής της γράφουσας, Αναπληρωτής Καθηγητής κ^{ος} Π. Παυλάκης, ως μέλος του ISR. Τα νέα είδη που έγιναν γνωστά στην επιστήμη από το 1979 είναι τα: *Abudhabia yardangi*, *Amebelodon cyrenaicus*, *Cercopithecini sp. nov.*, *Dytikodorcus libycus* και *Hexaprotodon sahabiensis*. Το ISR προχώρησε στην παραγωγή αρκετών επιστημονικών δημοσιεύσεων και δύο τόμων: του επιστημονικού δελτίου του Πανεπιστημίου Garyounis (Garyounis Scientific Bulletin Boaz et al., 1982) και μίας μονογραφίας αφιερωμένης στη “ Νεογενή Παλαιοντολογία και Γεωλογία του Sahabi (Boaz et al., 1987)”. Επιπλέον, όλες οι απολιθωματοφόρες θέσεις που καθιέρωσε το ISR καταγράφηκαν σε αεροφωτογραφίες και χαρτογραφήθηκαν από τους de Heinzelin και El- Arnauti το 1987. Όμως οι εργασίες στο πεδίο σταμάτησαν ξανά για αρκετά χρόνια λόγω του διεθνούς εμπάργκο στη Λιβύη (Boaz et al., 2008b).

Το 1995, με την ευκαιρία της διοργάνωσης από τον Ali El- Arnauti και τα μέλη του τμήματος Γεωλογίας του Πανεπιστημίου της Βεγγάζης ενός διεθνούς συνεδρίου για τις “ βιοτικές και κλιματικές επιπτώσεις της κρίσης αλμυρότητας του Μεσσηνίου στην περιοχή γύρω από τη Μεσόγειο”, οι συμμετέχοντες στο ISR αποφάσισαν να επανεκκινήσουν την παλαιοντολογική και στρωματογραφική έρευνα στο Sahabi και να εγκαινιάσουν αντίστοιχες εργασίες στην απολιθωματοφόρο θέση Jabal Zaltan. Οι προσπάθειες αυτές εντάχθηκαν στο πρόγραμμα έρευνας για το Νεογενές της ανατολικής Λιβύης ELNRP (East Libya Neogene Research Project) (Boaz et al., 2008b), το οποίο αποτελεί διεθνές ερευνητικό παλαιοντολογικό πρόγραμμα, διάδοχο του ISR, με διευθυντή το Noel Boaz. Η νέα αυτή περίοδος των παλαιοντολογικών ερευνών στο Sahabi σηματοδοτήθηκε από το ερευνητικό συνέδριο “Ευρω-Αφρικανική Βιοτική Εξέλιξη κατά το Νεογενές”, το οποίο διεξήχθη στο Πανεπιστήμιο Αθηνών στις 23-24 Νοεμβρίου 2006 και οργανώθηκε από το μέλος του ISR και ELNRP Αν. Καθηγητή Π. Παυλάκη, με φορέα οργάνωσης τον τομέα Ιστορικής Γεωλογίας- Παλαιοντολογίας του Τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος. Στο συνέδριο αυτό συμμετείχαν τα νέα μέλη του ELNRP, που οργάνωσαν τις δραστηριότητες του νέου αυτού ερευνητικού φορέα. Ο Αναπληρωτής Καθηγητής Π. Παυλάκης ανέλαβε διευθυντής ερευνών πεδίου στο Sahabi και έκτοτε διεξάγει συστηματικές παλαιοντολογικές έρευνες. Το υλικό της παρούσας εργασίας αποτελεί μέρος της συλλογής απολιθωμάτων των ανασκαφικών περιόδων 2007-2010 που διεξήγαγε ο κ^{ος} Παυλάκης. Στις καινοτομίες του ELNRP περιλαμβάνονται η μελέτη της υπεδαφικής γεωλογίας της περιοχής μέσω της διάνοιξης των δύο γεωτρήσεων Sahabi Borehole 1- Borehole 2 και WW1 A1-NC214 και της λήψης πυρήνων (cores) και cuttings για τη μελέτη των περιεχόμενων μικροαπολιθωμάτων (Muftah et al., 2008b, Muftah, 2013 unpubl.). Ακόμη σημαντική είναι η προσπάθεια των μελών του ELNRP για ακριβή χρονολόγηση του σχηματισμού M μέσω: της απόλυτης γεωχρονολόγησης με τη μέθοδο K-Ar σε γλαυκονίτη πλούσιο σε K, του προσδιορισμού της ισοτοπικής αναλογίας Sr (⁸⁷Sr/⁸⁶Sr) στα είδη *Ostrea* sp. και *Ballanus* sp. και της μελέτης των μικροαπολιθωμάτων (τρηματοφόρα, οστρακώδη, ασβεστολιθικό ναννοπλαγκτό) (Beyer,

2008; Boaz et al., 2008b; Muftah, 2013 unpublished PhD thesis; El-Shawaihdi et al., 2014). Επιπλέον, οι Muftah et al. (2013) προέβησαν στην ορυκτολογική μελέτη αργιλικών ιζημάτων από τρεις θέσεις του μέλους U1 του σχηματισμού Sahabi, δουλειά που αποτελεί, με εξαίρεση την πρωταρχική αναφορά των De Geyter & Stoops (1987) στις αργίλους της περιοχής του Sahabi, την πρώτη δημοσιευμένη εργασία για τα ιζήματα του As Sahabi από ορυκτολογική σκοπιά. Επιπρόσθετα, πολύτιμη είναι η συνεισφορά των μελών του ELNRP και στην προσπάθεια ανασύστασης του παλαιοπεριβάλλοντος στο Sahabi. Πιο πρόσφατες εργασίες στον τομέα αυτό είναι αυτές των Boaz (2009) και Argyriou et al. (2012). Επίσης, το ELNRP έχει ακολουθήσει τον ίδιο τρόπο ονομασίας και καταγραφής των απολιθωματοφόρων θέσεων με το ISRP και μάλιστα έχει καταγράψει με τη βοήθεια του παγκόσμιου συστήματος προσδιορισμού θέσης (GPS) τις γεωγραφικές συντεταγμένες κάθε θέσης. Τέλος, έχει επαναπροσδιορίσει με ακρίβεια και εντάξει στο σύστημα GPS τις ιστορικές εξήντα δύο θέσεις που μελέτησε ο Carlo Petrocchi (Boaz et al., 2008b).

Δυστυχώς οι πολιτικές αναταραχές στη Λιβύη το 2011 διέκοψαν για ακόμη μία φορά κάθε εργασία στην περιοχή αλλά η συνέχιση του προγράμματος ELNRP είναι απαραίτητη για την αύξηση του απολιθωματολογικού αρχείου, την απόδοση επίσημης ονομασίας στους άτυπα ονομαζόμενους σχηματισμούς M, P, Sahabi καθώς και τον ακριβή προσδιορισμό της ηλικίας του σχηματισμού Sahabi, η οποία εκτιμάται κυρίως βάσει της βιοστρωματογραφίας και σε σχέση με την ηλικία του υποκείμενου σχηματισμού M. Το ΕΚΠΑ βρίσκεται πάντως σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο της Βεγγάζης μέσω της διμερούς μορφωτικής συμφωνίας που υπεγράφη το 2008 μετά από ενέργειες του Αναπληρωτή Καθηγητή Π. Παυλάκη.

2.1.3 Σπουδαιότητα της απολιθωματοφόρου θέσης

Η σπουδαιότητα της απολιθωματοφόρου θέσης As Sahabi οφείλεται στην πλούσια πανίδα ιχθύων, ερπετών, πτηνών και κυρίως θηλαστικών, βάσει της οποίας αποδίδεται στο σχηματισμό Sahabi ανωμειοκαινική ηλικία (Pavlakis, 1999; Boaz et al., 2008a; Muftah et al., 2013). Χάρη στη γεωγραφική του θέση στα περίξ της Μεσογείου και την εικαζόμενη ανωμειοκαινική ηλικία βάσει κυρίως βιοστρωματογραφικών δεδομένων αλλά και γεωχρονολογικών για το σχηματισμό M, το Sahabi προσφέρεται για μελέτες σχετικά με την κρίση αλμυρότητας της Μεσογείου κατά το Μεσσήνιο όταν η Τηθύς θάλασσα απομονώθηκε από τον Ατλαντικό ωκεανό (Boaz et al., 2008a). Συγκεκριμένα, μπορούν να μελετηθούν οι κλιματικές, γεωλογικές και παλαιογεωγραφικές επιπτώσεις του γεγονότος αυτού αλλά και οι βιοτικές και συγκεκριμένα πιθανή ανταλλαγή πανίδας μεταξύ βορείου Αφρικής και Ευρασίας καθώς και επιπτώσεις στην τότε χλωρίδα (Carmignani et al., 1990; Boaz, 1996; Griffin, 2002; El-Shawaihdi et al., 2014). Επιπλέον, βιοστρωματογραφικές συσχετίσεις μπορούν να γίνουν και με άλλες νεογενείς απολιθωματοφόρες θέσεις του Παλαιού Κόσμου στην αφρικανική ήπειρο και να καταγραφούν τα κοινά γένη και είδη σπονδυλωτών.

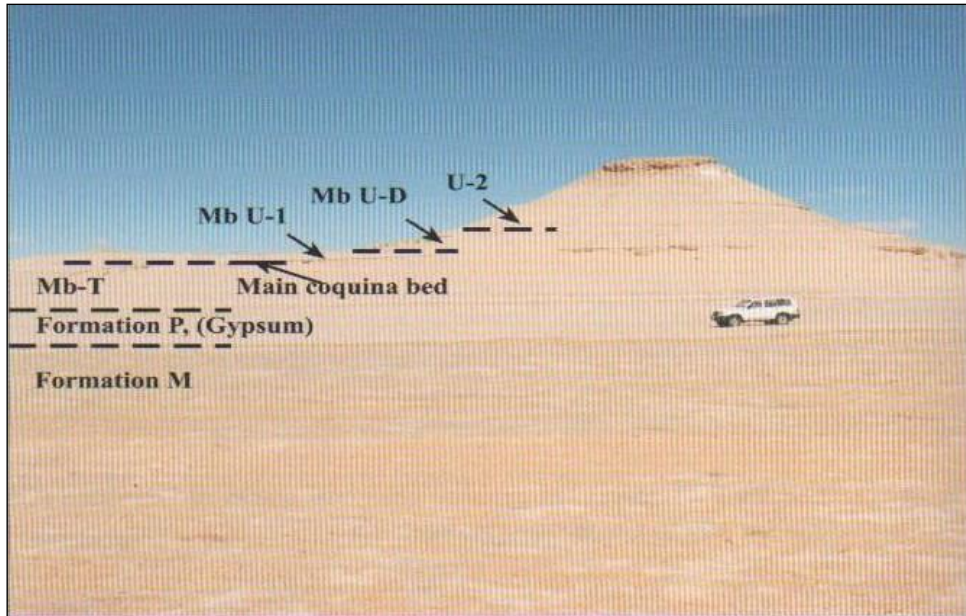
Όσον αφορά τη σύσταση της πανίδας είναι κατά κύριο λόγο αφρικανική αλλά περιλαμβάνει και αρκετά ευρασιατικά στοιχεία (Bernor & Pavlakis, 1987; Boaz, 1987). Ειδικότερα, η πανίδα στο Sahabi παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα με την απολιθωματοφόρο θέση Toros-Menalla στο Τσαντ, όπου βρέθηκε το απολιθωμένο κρανίο του Σαχελάνθρωπου (*Sahelanthropus tchadensis*), ενός προγόνου του γένους *Homo*, ηλικίας 7-6 εκατ. χρόνια. Με βάση το συσχετισμό της πανίδας θηλαστικών, και ιδιαίτερα τη συνύπαρξη του ‘‘στενοτοπικού’’, ενδημικού της Βορείου Αφρικής είδους ανθρακοθηρίου *Libycosaurus*

petrocchii, εκτιμάται ότι οι δύο παλαιοντολογικές θέσεις, Sahabi και Toros Menalla, συμμετέχουν σε μία ενιαία παλαιογεωγραφική επαρχία, Λιβυκο-Τσαντ (Lihoreau et al., 2006). Επίσης, ο Boaz το 1996 συμπεριέλαβε το Sahabi σε μία διακριτή παλαιοβιογεωγραφική ζώνη (A2) στη βόρεια Αφρική, ηλικίας Ανώτερο Μειόκαινο - Κατώτερο Πλειόκαινο, την οποία διαχώρισε από σύγχρονες ηλικιακά ζωογεωγραφικές επαρχίες της υποσαχάριας Αφρικής και της Ευρασίας (Boaz et al., 2008a). Δεδομένης της εξάρτησης των ανθρακοθηρίων από την παρουσία πηγών νερού, η αποκλειστική καταγραφή τους στο απολιθωματικό αρχείο στη Λιβύη και το Τσαντ αποτελεί ένδειξη και αντικείμενο περαιτέρω μελέτης για την ύπαρξη οικολογικών εμποδίων (palaeoenvironmental barrier/fragmentation) τα οποία απέτρεψαν την εξάπλωση των Anthracotheriidae στην υποσαχάρια και ανατολική Αφρική (Lihoreau et al., 2006).

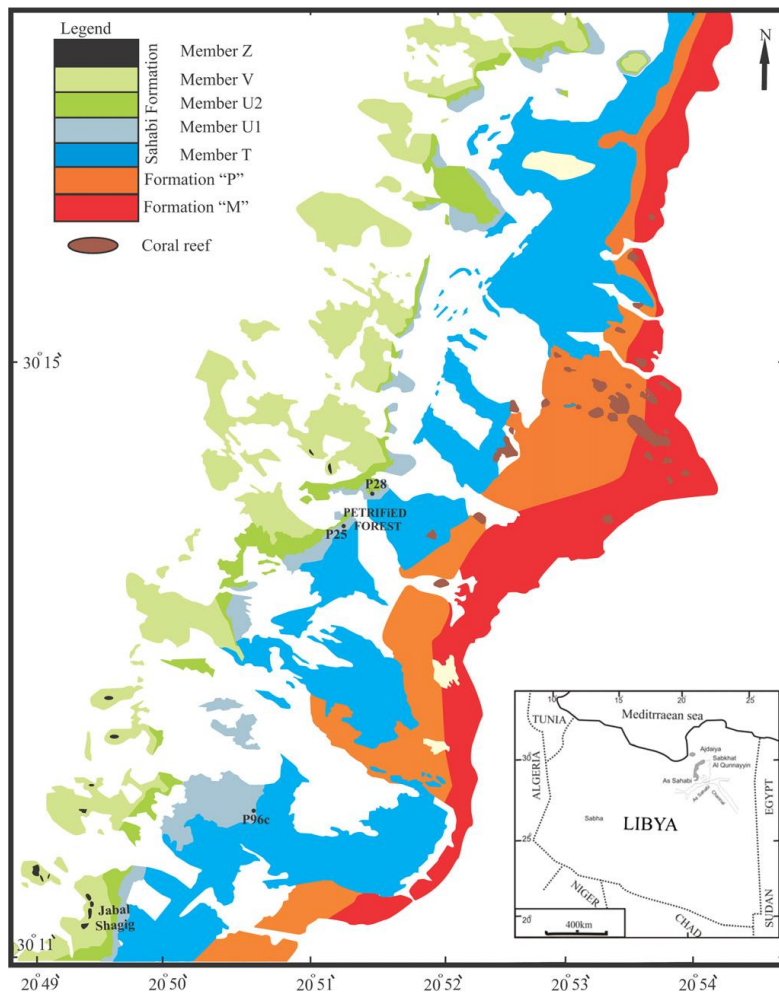
Μιλώντας για τη σπουδαιότητα της απολιθωματοφόρου θέσης δε θα μπορούσαμε να παραλείψουμε τη δυνατότητα μελέτης της δράσης και της υδρολογικής σύνδεσης ενός μείζονος υδρογραφικού δικτύου που κατά το Ανώτερο Μειόκαινο αποστράγγιζε τη βόρεια και ανατολική Λιβύη, του λεγόμενου Eo- Sahabi (Barr & Walker, 1973; El-Arnauti & El Sogher, 2004; Griffin, 2006; El-Shawaihi, 2014). Επιπλέον, μέσω του απολιθωματικού αρχείου παρέχεται η δυνατότητα για ανασύσταση του παλαιοπεριβάλλοντος καθώς στο Sahabi καταγράφεται η μετάβαση από τα παραποτάμια δάση στις αφρικανικές σαβάνες και τέλος στις σημερινές ερήμους (Boaz, 2009).

2.1.4 Περιγραφή της στρωματογραφίας της περιοχής

Στην περιοχή μελέτης έχουν αναγνωρισθεί τρεις σχηματισμοί, οι οποίοι άτυπα ονομάστηκαν από τους De Heinzelin & El- Arnauti (1982; 1983; 1987). Πρόκειται για τους σχηματισμούς M, P και το σχηματισμό Sahabi (εικόνα 2.3). Αρχαιότερος είναι ο σχηματισμός M, ο οποίος καλύπτεται ασύμφωνα από το σχηματισμό P. Με ασυμφωνία χωρίζεται και ο σχηματισμός Sahabi από τον υποκείμενό του, P. Με τη σειρά του ο σχηματισμός Sahabi υποδιαιρείται στα παρακάτω επτά μέλη: T, T.x., U-1, U-D, U-2, V, Z όπως απεικονίζεται στο γεωλογικό χάρτη της εικόνας 2.4. Ωστόσο σύμφωνα με πρόσφατα μη δημοσιευμένα δεδομένα (Muftah, 2013 unpublished PhD thesis), ο σχηματισμός Z θεωρείται ανεξάρτητος και όχι μέλος του σχηματισμού Sahabi λόγω της ασυμφωνίας που τον χωρίζει από το μέλος V, της λιθολογίας του (brecciated calcrete, paleo-caliche precipitation) και της παρουσίας σε αυτόν του χερσαίου σαλιγκαριού *Helix cf. melanostoma*. Υπάρχει και μία δεύτερη ονοματολογία, αυτή κατά Giglia (1984), που ορίζει ως σχηματισμό Sahabi την Sabkha Al Hamra και την Sabkha Al Qunayyin. Η τελευταία έχει αντίστοιχη ηλικία με το μέλος Wadi Al Farigh. Υπερκείμενος αυτού είναι ο σχηματισμός Qarat Weddah (Muftah et al., 2008a). Στην εργασία αυτή ακολουθείται η ονοματολογία κατά de Heinzelin και El- Arnauti (1987).



Εικόνα 2.3: Οι σχηματισμοί M, P και τα μέλη T, U-1, U-D, U-2 του σχηματισμού Sahabi όπως εκτίθενται στη θέση P 41 (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).



Εικόνα 2.4: Γεωλογικός χάρτης της περιοχής μελέτης (Muftah et al., 2013).

Επειδή η στρωματογραφία της περιοχής περιγράφεται αναλυτικά στην πτυχιακή εργασία της γράφουσας (Μαργαρίτη, 2011 unpublished thesis) επιλέγεται στην παρούσα εργασία να γίνει αναφορά μόνο στα μέλη U1 και U2 του σχηματισμού Sahabi από τα οποία προέρχεται το υλικό μας.

Μέλος U-1: Σύμφωνα με τους Muftah et al. (2008a: p.42): ο ορίζοντας αυτός αντιπροσωπεύεται από περιορισμένες εμφανίσεις μεταξύ των αρχαιότερων μελών T ή T.x. και των νεότερων U-D ή U-2. Αποτελείται από χαλαρή άμμο με πράσινες προς γκρι αργλικές ενδιαστρώσεις και περιστασιακά ροζ φακούς από άργιλο. Τα στρώματα αργίλων και άμμων παρουσιάζονται ενδιαστρωμένα μεταξύ δύο λεπτών δολομιτικών οριζόντων, που αντιπροσωπεύουν παράκτια και λιμνοθαλάσσια περιβάλλοντα (Muftah et al., 2013). Η σπουδαιότητα του μέλους U-1 έγκειται στην αφθονία του σε απολιθωμένα οστά και δόντια χερσαίων και θαλάσσιων θηλαστικών. Επίσης, φιλοξενεί πυριτωμένους κορμούς δέντρων.

Η απόθεση του μέλους αυτού έγινε σε ποτάμια και λιμνο-παλιρροιακά κανάλια κατά μήκος ρηχών, αμμωδών ακτών (de Heinzelin & El- Arnauti, 1987), όπως υποδεικνύει η παρουσία τόσο χερσαίων όσο και θαλάσσιων θηλαστικών.

Σύμφωνα με πρόσφατα ορυκτολογικά δεδομένα από την ανάλυση αργλικών ιζημάτων του ορίζοντα αυτού (δείγματα από τις θέσεις P25, P28, P96C) με τη μέθοδο της περιθλασιμετρίας ακτίνων X, προκύπτει ότι τα ορυκτά που απαντούν είναι ο χαλαζίας, οι άστριοι, φυλλοπυριτικά ορυκτά (χλωρίτης, ιλλίτης, σμηκτίτης), δολομίτης (μόνο στη θέση P96C) και αλίτης (μόνο στη θέση P25) (Muftah et al., 2013).

Μέλος U-2: Σύμφωνα με τους Muftah et al. (2008a: p.42): αποτελείται από άμμο με αργλικές ενδιαστρώσεις και δύο στρώματα δολομίτη. Το κατώτερο εμφανίζει έντονη βιολογική δραστηριότητα (βιοανάδευση από πελεκύποδα) και περιέχει απολιθωμένα κελύφη μαλακίων και απολιθωμένα σκελετικά τμήματα ιχθύων και φαλαινών. Σύμφωνα με τους Muftah et al. (2013) οι άργιλοι του ορίζοντα αυτού συνίστανται ορυκτολογικά από μοντμοριλλονίτη, καολινίτη, χλωρίτη και ιλλίτη ενώ πέραν των αργίλων απαντούν χαλαζίας και αλίτης και σε μικρότερο βαθμό δολομίτης και γύψος.

Το μέλος αυτό αποτέθηκε σε λιμνοθαλάσσιο περιβάλλον ή λιμναίο γλυκού νερού (de Heinzelin & El- Arnauti, 1987). Στην εικόνα 2.5 παρατηρείται η επαφή των οριζόντων U1-U2 όπως αυτή καταγράφεται στη θέση P9.



Εικόνα 2.5: Επαφή των μελών U-1 και U-2 στη θέση P9, που αποτελεί στρώμα με υπολείμματα ψαριών. Η βάση του U-2 αντιπροσωπεύεται εδώ από ασβεστόλιθο με απολιθωμένα μαλάκια (El- Arnauti & El- Sogher, 2004).

2.1.5 Γεωχρονολογία

Η χρονολόγηση του σχηματισμού Sahabi έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας από την ίδρυση του ISRP το 1975 (Boaz et al., 2008a) και ως σήμερα παραμένει αβέβαιη η ηλικία των διαφόρων μελών του. Η δυσκολία στην προσπάθεια αυτή έγκειται κυρίως στην απουσία από την περιοχή του As Sahabi ηφαιστειακών ιζημάτων που πιθανότατα θα φιλοξενούσαν πετρώματα πλούσια σε κάλιο (K), κατάλληλα για μελέτες απόλυτης γεωχρονολόγησης με τη χρήση των ραδιενεργών ισοτόπων καλίου- αργού (K- Ar) (Boaz et al., 2008a; Muftah et al., 2013). Επίσης, τα ιζήματα της περιοχής παρουσιάζουν ασθενή μαγνήτιση και περιλαμβάνουν ελάχιστους μαγνητισμένους κόκκους για να θεωρηθούν αξιόπιστα τα αποτελέσματα χρονολόγησης με τη μέθοδο του παλαιομαγνητισμού (Boaz et. al, 1982 cited in Boaz et al., 2008a, p. 960).

Μία προσπάθεια εκτίμησης της ηλικίας του σχηματισμού Sahabi έγινε από τους Willems και Meyrick το 1982 (cited in Boaz et al., 2008a, p. 960), οι οποίοι συσχέτισαν τη θαλάσσια μικροπανίδα που έχει ανακαλυφθεί στο Sahabi με taxa από τη Μεσόγειο (Deep Sea Core) και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο σχηματισμός M έχει ηλικία Μέσο Μειόκαινο βάσει των διατηρημένων απολιθωμάτων τρηματοφόρων. Ωστόσο, τα δείγματα από το Sahabi προέρχονταν από είδη χαρακτηριστικά μικρού θαλάσσιου βάρους ή γλυκού νερού.

Ως πιο επιτυχημένοι τρόποι για την ένταξη της απολιθωματοφόρου θέσης στο γεωλογικό χρόνο έχουν αποδειχθεί η τοπική λιθοστρωματογραφία και η βιοστρωματογραφία των σπονδυλωτών, χωρίς όμως καμία από τις δύο προσεγγίσεις να έχει αποδειχθεί απόλυτα ικανοποιητική (Boaz et al., 2008a).

Από λιθοστρωματογραφική άποψη, ιδιαίτερης προσοχής χρήζουν οι αποθέσεις γύψου που εντοπίζονται σε βαθιές ρωγμές στο σχηματισμό P και συσχετίστηκαν άμεσα με τους εβαπορίτες που αποτέθηκαν κατά την κρίση αλμυρότητας της Μεσογείου στο Μεσσήνιο, με αποτέλεσμα να αποδοθεί στο σχηματισμό P ηλικία Ανωτάτου Μειοκαίνου ενώ για το σχηματισμό Sahabi το όριο Ανώτατο Μειόκαινο- Κατώτερο Πλειόκαινο θεωρήθηκε αντιπροσωπευτικό της ηλικίας του. Το ερώτημα όμως είναι αν οι αποθέσεις αυτές συσχετίζονται πράγματι με το γεγονός του Μεσσηνίου ή αν είναι τοπικής φύσεως δηλαδή αν ο σχηματισμός P αντιπροσωπεύει έναν παρατεταμένο πρώτο κύκλο εβαποριτικής απόθεσης στα περιθώρια της λεκάνης της Μεσογείου, που χρονολογείται πριν τα 6,88 εκατ. χρόνια και προοδευτικά οδήγησε στην κρίση αλμυρότητας κατά το Μεσσήνιο, ή εναλλακτικά είναι το αποτέλεσμα ενός ραγδαίου δεύτερου κύκλου επικλυσιογενούς απόθεσης εβαποριτών, νεότερου των 6 εκατ. χρόνων. Στην πρώτη περίπτωση η επαφή του σχηματισμού P με το σχηματισμό Sahabi δεν αντιπροσωπεύει το όριο Ανώτερο Μειόκαινο- Κατώτερο Πλειόκαινο, το οποίο ενδεχομένως βρίσκεται μεταξύ των κατώτερων και ανώτερων μελών του σχηματισμού Sahabi (Boaz et al., 2008a; Muftah, 2013 unpublished).

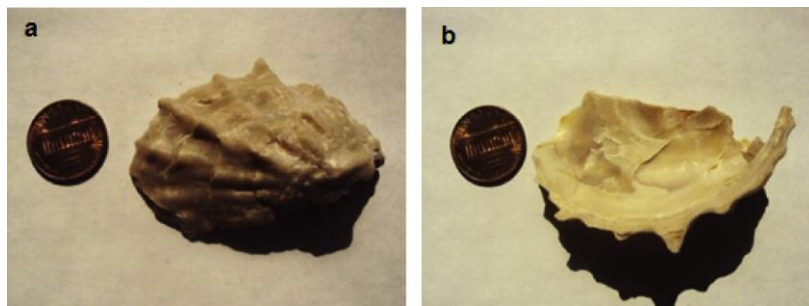
Σημαντική προσπάθεια για τη χρονολόγηση των νεογενών ιζημάτων της περιοχής μελέτης έχει γίνει στον υποκείμενο του σχηματισμού Sahabi σχηματισμό M, ο οποίος είναι πλούσιος σε απολιθώματα ασπόνδυλων όπως εχινοειδή, μαλάκια, βρυόζωα, κοράλλια, τρηματοφόρα, οστρακώδη και ασβεστολιθικό ναννοπλαγκτό. Συγκεκριμένα ο Beyer (2008) χρονολόγησε με τη μέθοδο των ισοτόπων K-Ar κόκκους αυθιγενούς γλαυκονίτη που βρέθηκαν στη θέση P53 και έδωσαν το ηλικιακό εύρος 7,5- 7,7 Ma. Με βάση τις παλαιομαγνητικές ανωμαλίες, σύμφωνα πάλι με τον Beyer (2008), δόθηκε το ηλικιακό εύρος 7,2-7,7 Ma για τους τρεις σχηματισμούς της περιοχής. Ωστόσο ένα στρώμα τέφρας που

ανακαλύφθηκε στη θέση P28 του ορίζοντα U1 του σχηματισμού Sahabi (Beyer, 2008) και το οποίο θα μπορούσε να αποτελέσει καλό χρονοστρωματογραφικό δείκτη, δεν επιβεβαιώνεται ότι έχει ηφαιστειακή προέλευση και ότι συσχετίζεται με τους βασάλτες της περιοχής Al Haruj (Muftah et al., 2013).

Σύμφωνα με τους El- Shawaihdi et al. (2014) αποδίδεται στο σχηματισμό M ηλικία 8,99 Ma και 9,36 Ma όπως προκύπτει αντίστοιχα από την ισοτοπική αναλογία $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ στο ασβεστιτικό κέλυφος των ειδών *Balanus* sp. και *Cubitostrea digitalina*. που βρέθηκαν στη θέση P53 και φαίνονται στις εικόνες 2.6, 2.7. Λόγω της επικάλυψης των ανωτέρω ηλικιών προκύπτει τελικά η ηλικία των 9,19 Ma, η οποία υποδεικνύει ηλικία Τορτονίου για το σχηματισμό M.

Την ίδια ηλικία (Τορτόνιο), και συγκεκριμένα το εύρος 8,23- 8,52 Ma υποστηρίζουν τα δείγματα ασβεστολιθικού ναννοπλαγκτού που εντοπίστηκαν σε ανθρακικά ιζήματα (cuttings samples) τα οποία ανακτήθηκαν από τη γεώτρηση Borehole 2 (Muftah, 2013 unpubl.; El- Shawaihdi et al. 2014). Επίσης, τα δείγματα ασβεστολιθικού ναννοπλαγκτού που εντοπίστηκαν σε cuttings samples από τη γεώτρηση WW1 A1 NC214 έδωσαν το εύρος 10,71- 10,40 Ma. Ακόμη μελετήθηκαν δείγματα τρηματοφόρων και οστρακωδών από το σχηματισμό M τα οποία υποδηλώνουν επίσης ηλικία Τορτονίου σύμφωνα με τις αναγνωρισθείσες βιοζώνες *Borelis melo*, *Globigerinoides obliquus obliquus* και *Cytheridae acuminata acuminata* (Sissingh, 1976) αντίστοιχα (Muftah, 2013 unpublished).

Να σημειωθεί πως παρότι ο σχηματισμός M είναι αρχαιότερος του σχηματισμού Sahabi, κύριου επικέντρου χρονολόγησης λόγω των περιεχομένων απολιθωμένων σπονδυλωτών, τα νέα δεδομένα που προκύπτουν από τις προαναφερθείσες προσπάθειες χρονολόγησής του συμβάλλουν στην τοπική γεωχρονολογία και την αναθεώρηση της χρονοστρωματογραφίας της περιοχής μελέτης (Muftah, 2013 unpubl.; El-Shawaihdi et al., 2014).



Εικόνα 2.6: Ραχιαία (a) και κοιλιακή (b) όψη του πελεκύποδου *Cubitosrea digitalina* (Eichwald, 1830 in: du Bois de Montpreux, 1831, cited in El-Shawaihdi et al., 2014) από το σχηματισμό M, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τη χρονολόγηση με τη μέθοδο των ισotόπων Sr.



Εικόνα 2.7: Αποικία δώδεκα κελυφών του είδους *Balanus* sp. από το σχηματισμό M, ένα από τα οποία χρησιμοποιήθηκε για τη χρονολόγηση με τη μέθοδο των ισοτόπων Sr (in El-Shawaihdi et al., 2014).

2.1.6 Βιοχρονολογία- Απολιθωμένη πανίδα σπονδυλωτών

Ο δεύτερος πιο επιτυχημένος τρόπος αξιολόγησης της γεωλογικής ηλικίας του σχηματισμού Sahabi είναι η βιοστρωματογραφία των σπονδυλωτών και κυρίως των θηλαστικών (Boaz et al., 1979 cited in Boaz et al., 2008a, p. 960; Bernor & Pavlakis, 1987; Boaz, 1996 cited in Boaz et al., 2008a: p. 960). Το πιο σημαντικό πρόβλημα στον προσδιορισμό της ηλικίας της απολιθωματοφόρου θέσης με αυτό τον τρόπο είναι ότι τα ευρήματα που ήρθαν στο φως από τις ανασκαφές του ISRP και του ELNRP προέρχονται από τα μέλη T και U1 στις ανατολικές θέσεις και υποδεικνύουν μειοκαινική ηλικία σε αντίθεση με τα απολιθώματα που ανακάλυψε ο Carlo Petrocchi τη δεκαετία του 1930 στις δυτικές εμφανίσεις του σχηματισμού Sahabi, τα οποία προέρχονται από τους ορίζοντες U2 και V και είναι ενδεικτικά νεότερης ηλικίας (πλειοκαινικής). Για το λόγο αυτό είναι εμφανής η πιθανότητα ύπαρξης στρωματογραφικού κενού (hiatus) μεταξύ των κατώτερων και ανώτερων μελών του σχηματισμού Sahabi αλλά για την επιβεβαίωση αυτής της πιθανότητας απαιτείται αφενός αύξηση του απολιθωματικού αρχείου και αφετέρου επανεξέταση των πρώτων ιταλικών συλλογών (Boaz et al., 2008a). Πάντως η πανίδα των τρωκτικών, των σαρκοφάγων, των ιπόμορφων, των ανθρακοθηρίδων, των σιύδων, των ιποποταμίδων και των βοοειδών υποστηρίζει ανωμειοκαινική ηλικία για το σχηματισμό Sahabi (Bernor & Pavlakis, 1987; Bernor & Scott, 2003; Boaz et al., 2008a; Pavlakis, 2008; Rook & Sardella, 2008; Muftah et al., 2013). Τα παρατηρούμενα στο Sahabi ευρασιατικά είδη του Ανωτέρου Μειοκαινού είναι τα παρακάτω: *Progonomys* sp., *Abudhabia yardangi*, *Sayimys* sp., *Indarctos atticus*, *Agriotherium africanum*, *Adcrocuta eximia*, *Percrocuta senyureki*, *Hyaenictitherium* sp., *Amphimachairodus* sp., το δεύτερο είδος αιλουρίδων (? *Paramachairodus orientalis*), *Diceros neumayri*, *Stegotetrabelodon syrticus*, *Libycosaurus petrocchii*, *Samotherium* sp., *Miotragoceros cyrenaicus* και *Prostrepsiceros libycus* (Bernor & Pavlakis, 1987).

Στους πίνακες 2.1, 2.2 παρατίθεται αναλυτικά η πανίδα σπονδυλωτών και συγκεκριμένα ιχθύων, ερπετών, πτηνών και θηλαστικών που έχει ανακαλυφθεί στο Sahabi.

Πίνακας 2.3: Ταξινομικές ομάδες ιχθύων, ερπετών και πτηνών από το Sahabi (Boaz, 1996, modified).

Aves		Pisces		Reptilia	
Phalacro-	<i>Phalacrocora</i>	Chondrichthyes	<i>Carcharodon</i>	Boidae	Gen. et sp.

coracidae	x sp.		<i>megalodon</i>		Indet. (Hecht, 1987) or <i>Python</i> (Delfino, 2008)
Anhingidae	<i>Anhinga</i> sp.	Polypteridae	<i>Polypterus</i> sp.	Crocodyli a	<i>Euthecodon</i> sp.
Pelecanidae	<i>Pelecanus</i> sp.	Clariidae	cf. <i>Clarius</i> sp. Or <i>Heterobranchus</i> sp.		<i>Crocodylus checchiai</i>
Ciconiidae	<i>Leptoptilos</i> sp.	Bagridae	<i>Clarotes</i> sp.	Trionychi dae	<i>Trionyx triunguis</i>
	Ciconiidarum gen. sp. (''cf. <i>Anastomus</i> sp.'')	Mochokidae	<i>Synodontis</i> sp.	Testudini dae	<i>Geochelone</i> sp. (Wood, 1987) or <i>Centrochelys</i> aff. <i>C. sulcata</i> (Delfino, 2008)
Accipitridae	Gen. et sp. Indet. (''vulture'')	Ariidae	<i>Arius</i> sp.		
Anatidae	Sp. A (''swan'')	Centropomidae	<i>Lates</i> sp.		
	Sp. B (''goose'')	Sparidae	Gen et sp. Indet.		
	Sp. C (''cf. <i>Netta rufina</i> '')	Percoidea	Gen. et sp. Indet. A		
	Sp. D (''cf. <i>Aythya nyroca</i> '')		Gen. et sp. Indet. B		

Πίνακας 4.2: Οικογένειες, γένη και είδη θηλαστικών από το Sahabi (ELNRP, unpublished, modified).

Οικογένεια	Γένος, Είδος
Felidae (Rook & Sardella, 2008)	<i>Amphimachairodus</i> aff. <i>kabir</i> ? <i>Paramachairodus orientalis</i> ? <i>Dinofelis</i> sp. Felidae indet. sp. A Felidae indet. sp. B Felidae indet. sp. C
Ursidae (Rook & Sardella, 2008)	<i>Indarctos atticus</i> <i>Agriotherium</i> cf. <i>africanum</i> Ursidae indet.
Viverridae (Rook & Sardella, 2008)	<i>Viverra howelli</i> Viverridae sp. B

Hyaenidae (Rook & Sardella, 2008)	<i>Percrocuta senyureki</i> <i>Hyaenictitherium namaquensis</i> <i>Adcrocuta eximia</i> <i>Chasmaporthetes</i> sp. Hyaenidae indet.
Phocidae	gen. et sp. indet.
Mustelidae (Rook & Sardella, 2008)	gen. et sp. indet.
Gomphotheriidae	'' <i>Mastodon</i> '' <i>grandincisivus</i> (= <i>Amebelodon cyrenaicus</i>) <i>Anancus petrocchii</i>
Elephantidae	<i>Stegotetrabelodon syrticus</i>
Rhinocerotidae	<i>Diceros neumayri</i>
Equidae	'' <i>Cremohipparion</i> '' aff. <i>matthewi</i> ? <i>Cremohipparion nikosi</i> '' <i>Hipparion</i> '' (<i>Sivalhippus</i>) sp.
Suidae	<i>Nyanzachoerus syrticus</i> <i>Nyanzachoerus</i> cf. <i>devauxi</i> <i>Nyanzachoerus kanamensis</i>
Hippopotamidae	<i>Hexaprotodon sahabiensis</i>
Anthracotheriidae	<i>Libycosaurus petrocchii</i>
Giraffidae	<i>Samotherium</i> sp. ?
Bovidae	<i>Gazella</i> sp. <i>Leptobos syrticus</i> <i>Tragoportax cyrenaicus</i> <i>Kobus darti</i> ? <i>Hippotragus</i> cf. <i>Damalacra</i> sp. <i>Raphicerus</i> sp. <i>Prostrepsiceros libycus</i>
Delphinidae	cf. <i>Lagenorhynchus</i> sp.
Platanistidae	gen. et sp. indet.
Dugongidae	<i>Metaxytherium serresii</i>
Soricidae	gen. et sp. indet.
Cricetidae	<i>Abudhabia yardangi</i> <i>Myocricetodon</i> sp. A <i>Myocricetodon</i> sp. B
Muridae	<i>Progonomys</i> sp.
Ctenodactylidae	<i>Sayimys</i> sp. (Munthe, 1987) or <i>Irhoudia</i> sp. (Agusti, 2008)
Sciuridae	cf. <i>Atlantoxerus getulus</i>
Cercopithecidae	<i>Macaca</i> sp. cf. <i>Libypithecus</i> sp.

Αναφορικά με τις ζωογεωγραφικές σχέσεις που εμφανίζει η πανίδα των μεγάλων θηλαστικών στο Sahabi οι σημαντικότερες εργασίες είναι των Bernor & Pavlakis (1987) και Bernor & Rook (2008), οι οποίες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι το Sahabi κατά το Ανώτερο Μειόκαινο αποτελούσε ένα ''βιογεωγραφικό σταυροδρόμι'' μεταξύ δυτικής Ευρασίας και υποσαχάριας Αφρικής. Όπως παρατηρείται δηλαδή αναγνωρίζουν τις παλαιοβιογεωγραφικές επιπτώσεις της κρίσης αλμυρότητας του Μεσσηνίου στην περιοχή.

Οι Bernor και Pavlakis (1987) επισημαίνουν ότι στο Sahabi συναντάται ένα μωσαϊκό από είδη ευρασιατικά, ενδημικά της βορείου Αφρικής και είδη που προέρχονται από διάφορες θέσεις σε όλη την Αφρική. Συνεπώς, είναι μία απολιθωματοφόρος θέση που προσφέρεται για μελέτη των ζωογεωγραφικών σχέσεων κατά κύριο λόγο μεταξύ των ηπείρων της Αφρικής, της Ευρώπης και της Ασίας. Στα ενδημικά είδη της βορείου Αφρικής περιλαμβάνονται εκτός από το *Libycosaurus petrocchii* τα: *Libypithecus* sp., *Atlantoxerus getulus*, *Myocricetodon* sp., το είδος της οικογένειας Soricidae (εντομοφάγα) και *Nyanzachoerus devauxi*. Τέλος, είδη με παναφρικανικές ζωογεωγραφικές συσχετίσεις είναι τα ακόλουθα: *Macaca* sp., *Viverra* sp. (πιθανώς), *Amebelodon cyrenaicus*, *Stegotetrabelodon syrticus*, *Nyanzachoerus syrticus*, *Nyanzachoerus kanamensis*, *Redunca darti*, *Hippotragus* sp., *Damalacra* sp. και *Raphicerus* sp..

Οι Bernor & Rook (2008) με τη σειρά τους αναφέρουν ότι το Sahabi παρουσιάζει βιογεωγραφικές συσχετίσεις με απολιθωματοφόρες θέσεις πικερμικής ηλικίας (8,2 - 7,5 Ma) και με σύγχρονες θέσεις στην Αραβική χερσόνησο και την Κένυα. Αναγνώρισαν τάξα χαρακτηριστικά της δυτικής Ευρασίας (*Indarctos*, *Amphimachairodus*, *Adcrocuta*, *Cremohipparion*, *Ceratotherium neumayri*, *Gazella*, *Prostrepsiceros*, *Tragoportax* ή *Miotragoceros*) καθώς και τάξα με αποκλειστική κατανομή στην Αραβική χερσόνησο και την ανατολική Αφρική (*Stegotetrabelodon syrticus*, *Nyanzachoerus syrticus*). Τα σημειούμενα κοινά γένη ανάμεσα στο Sahabi και τη θέση Lothagam Nawata της Κένυας [ηλικίας 7-5,5 εκατ. χρόνων (Leakey & Harris, 2003 cited in Bernor & Rook, 2008 p. 284)] είναι τα: *Viverra*, *Hyaenictitherium*, *Anancus*, *Stegotetrabelodon*, *Ceratotherium*, *Nyanzachoerus*, *Hexaprotodon*, *Tragoportax* (ή *Miotragoceros*), *Hippotragus*, *Damalacra*, *Gazella* και *Raphicerus*. Περισσότερα κοινά είδη μοιράζεται το Sahabi με τη θέση Baynunah στο Άμπου Ντάμπι, ηλικίας 6,7 εκατ. χρόνων (Whybrow & Hill, 1999 cited in Bernor & Rook, 2008, p. 284). Είναι τα εξής: *Stegotetrabelodon syrticus*, *Nyanzachoerus syrticus*, *Prostrepsiceros libycus* και *Tragoportax cyrenaicus*. Στα είδη αυτά θα έπρεπε να προστεθεί και το είδος *Hexaprotodon sahabiensis* (βλ. Gentry, 1999).

2.1.7 Παλαοπεριβαλλοντική αναπαράσταση

Στο Sahabi απαντά πληθώρα χερσαίων και υδάτινων οικολογικών θώκων, στην αναπαράσταση των οποίων, μαζί με τα διάφορα γένη και είδη που ενδιαιτούσαν, έχει προβεί το ELNRP (εικ. 2.8). Συγκεκριμένα τα υδάτινα περιβάλλοντα συνιστούν το ποτάμιο περιβάλλον, οι ελώδεις εκβολές του ποταμού και το περιβάλλον αλμυρού νερού στις λιμνοθάλασσες. Οι χερσαίοι θώκοι περιλαμβάνουν το παραποτάμιο δάσος, τη σαβάνα και το ερημικό περιβάλλον και καταγράφουν τη μετάβαση από τα τροπικά δάση της Αφρικής σε ένα νέο περιβάλλον με πεδιάδες και σαβάνες, το οποίο εξαπλώθηκε στην ήπειρο μετά το Ανώτερο Μειόκαινο καθώς το κλίμα γινόταν ολοένα ξηρότερο λόγω του σχηματισμού της οροσειράς των Ιμαλαίων (Boaz, 2009) από τη σύγκρουση της Ινδοαυστραλιανής λιθοσφαιρικής πλάκας με την Ευρασιατική. Στους πίνακες 2.3, 2.4 παρατίθεται η αντιπροσωπευτική παλαιοπανίδα ανά περιβάλλον. Από τα υδάτινα περιβάλλοντα μείζονος σημασίας είναι το περιβάλλον του ποταμού Eo-Sahabi (ονομασία που δόθηκε από τον Griffin το 2002; 2006), ο οποίος εικάζεται ότι εξέβαλλε στην τότε Μεσόγειο και συνδεόταν υδρολογικά με τη λίμνη Μεγατσάντ. Μία τέτοια υδρολογική σύνδεση αιτιολογεί την κοινή πανίδα που μοιράζονται οι απολιθωματοφόρες θέσεις στο Sahabi και το Τσαντ. Ειδικότερα

αποκλειστική είναι η παρουσία των ανθρακοθηρίων στο Sahabi και τη θέση Toros-Menalla ενώ απουσιάζουν από σύγχρονες απολιθωματοφόρες θέσεις της Αφρικής και της Ευρασίας (Lihoreau et al., 2006). Συνεπώς η ανωμειοκαινική λεκάνη του Eo-Sahabi διαφοροποιείται ζωογεωγραφικά από σύγχρονες ηλικιακά ζωογεωγραφικές επαρχίες της υποσαχάριας Αφρικής και της Ευρασίας (Boaz et al., 2008a) και δεδομένης της ανακάλυψης στη θέση Toros Menalla του Τσαντ, του είδους *Sahelanthropus tchadensis*, ενός προγόνου του γένους Homo, ηλικίας 6-7 εκατομμύρια χρόνια, αποτελεί παλαιοντολογική πρόκληση η ανακάλυψη του ίδιου είδους στο Sahabi. Την απορροή του Eo-Sahabi από τη λίμνη Μεγατσάντ υποστηρίζουν και τα αποτελέσματα της ορυκτολογικής μελέτης ιζημάτων του μέλους U1 του σχηματισμού Sahabi, στην οποία προέβησαν οι Muftah et al. (2013), και τα οποία υποδεικνύουν πολύ ώριμο υλικό, ηπειρωτικής προέλευσης που δε φαίνεται να έχει δεχτεί επιρροή από τα βασαλτικά πετρώματα της περιοχής Al Haruj στη Λιβύη. Αντιθέτως τα ιζήματα υποδεικνύουν φελσική προέλευση που κάλλιστα θα μπορούσε να εντοπιστεί στους γρανίτες του BA Τσαντ, προκαμβρίου ηλικίας (Muftah et al., 2013, εικόνα 2.9). Πέραν της ανωτέρω υπόθεσης για την προέλευση των ιζημάτων της περιοχής μελέτης και των καναλιών του Eo-Sahabi, υπάρχουν δύο ακόμη εικασίες, οι οποίες συνδέουν τον Eo-Sahabi με το Νείλο της Αιγύπτου. Η πρώτη θεωρία {Carmignani et al. (2009) cited in Muftah et al., 2013} αναφέρεται στην πιθανή ανωμειοκαινική διείσδυση στη Λιβύη του τότε Νείλου, που ωστόσο δεν υποστηρίζεται από τα δεδομένα παλαιοαναγλύφου και τα σημερινά δεδομένα τηλεπισκόπησης ενώ η δεύτερη περιγράφει την προέλευση των ιζημάτων του Eo-Sahabi από προκάμβρια πετρώματα των υψιπέδων της Αιθιοπίας κοντά στη λίμνη Tana (εντός της υδρολογικής λεκάνης του Μπλε Νείλου) αλλά παλαιοντολογικά δε θεωρείται πιθανή (Muftah et al., 2013). Αναφέρεται πάντως ότι στις θέσεις Sahabi και Toros Menalla ενδημούν διαφορετικά είδη του ιχθύος *Semlikiichthys* ενώ το είδος στο Sahabi είναι παρόν και στις πηγές του Νείλου στην Ανατολική Αφρική κατά το Ανώτερο Μειόκαινο και Πλειόκαινο (Argyriou et al., 2012).

Σε κάθε περίπτωση, είναι μείζονος σημασίας η συνειδητοποίηση του βαθμού συμβολής του εν λόγω υδρογραφικού δικτύου στη διαμόρφωση του αναγλύφου της περιοχής. Ουσιαστικά, το ερημικό τοπίο που απαντά σήμερα στη Λιβύη και η δημιουργία του σχηματισμού Sahabi είναι, σε συνδυασμό με κλιματικά και τεκτονικά αίτια, αποτέλεσμα της διαβρωτικής και αποθετικής δράσης του Eo-Sahabi κατά το Ανώτερο Μειόκαινο. Στη συνέχεια, η αιολική διάβρωση επέδρασε επί των πετρωμάτων και των άμμων που μετέφερε ο ποταμός.





Εικόνα 2.8: Καλλιτεχνική αναπαράσταση των παρατηρούμενων υδάτινων και χερσαίων οικολογικών θώκων στο Sahabi στην οποία πρόβησε το ELNRP. Συγκεκριμένα παρατηρούνται το περιβάλλον του Εο-Sahabi, οι όχθες του και το παραποτάμιο δάσος, το λιμνοθαλάσσιο περιβάλλον, οι ελώδεις εκβολές του ποταμού, η σαβάννα και η ερημική ζώνη (Varelas in Boaz, 2009 occ. papers No 1).

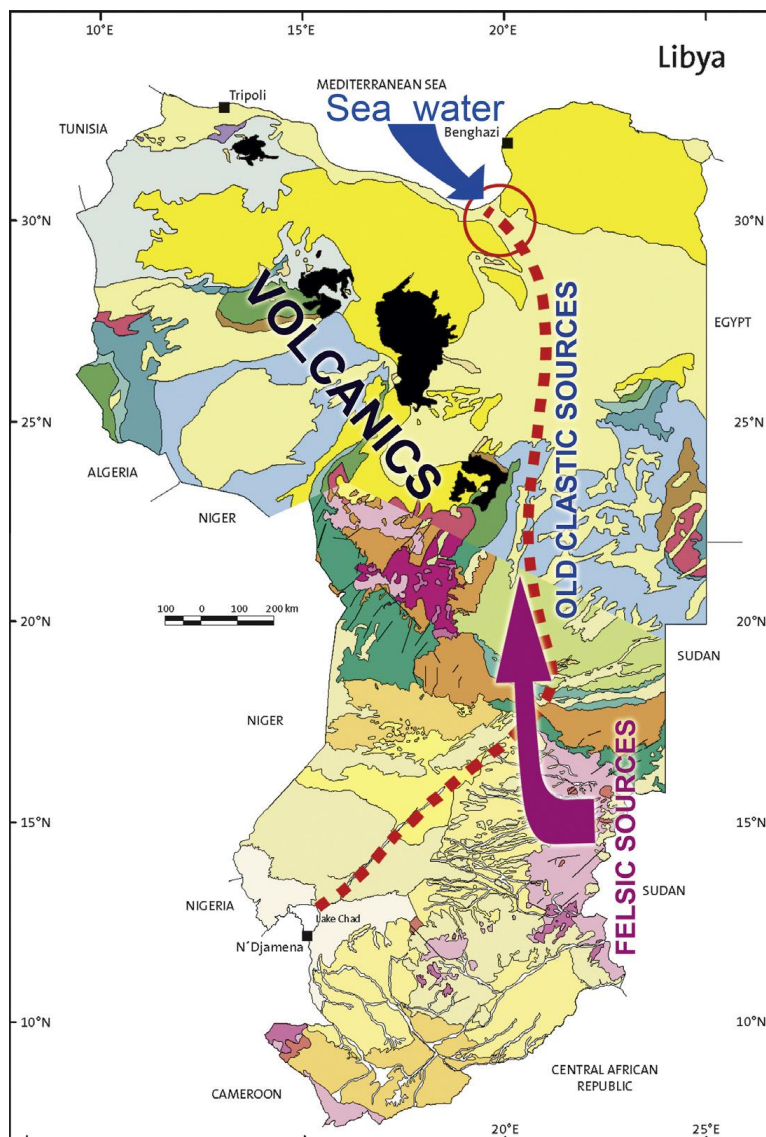
Πίνακας 2.3: Αντιπροσωπευτική παλαιοπανίδα στους υδάτινους θώκους του Sahabi.

Υδάτινο Περιβάλλον	Τάξη
Ποτάμιο περιβάλλον	<i>Arius gigas</i>
	<i>Clarius</i> sp.
	<i>C. laticeps</i>
	<i>Euthecodon</i> sp.
	<i>Lates</i> sp.
	<i>Lagenorhynchus</i> sp.
	<i>Percoidea</i>
	<i>Platanistadea</i>
	<i>Polypterus</i> sp.
	<i>Sparidae</i>
<i>Synodontis</i>	
Λιμνοθαλάσσιο περιβάλλον	<i>Anatidarum</i>
	<i>Carcharodon megalodon</i>
	<i>Crocodylus checchiai</i>
	<i>Metaxytherium</i>
	<i>Trionyx triunguis</i>

Ελώδεις εκβολές	<i>Accipitridae</i>
	<i>Amebelodon cyrenaicus</i>
	<i>Amphimachairodus aff. kabir</i>
	<i>Libycosaurus petrocchi</i>
	<i>Monachus sp.</i>

Πίνακας 2.4: : Αντιπροσωπευτική παλαιοπανίδα στους χερσαίους θώκους του Sahabi.

Χερσαίο Περιβάλλον	Τάξη
Όχθες και παραποτάμιο δάσος	<i>Accipitridae</i>
	<i>Agriotherium africanum</i>
	<i>Anhinga</i>
	<i>Colobinae gen. indet</i>
	<i>Hexaprotodon sahabiensis</i>
	<i>Macaca/Parapapio</i>
	<i>Stegotetrabelodon lybicus</i>
Σαβάνα	<i>Anhinga</i>
	<i>Chasmaporthetes sp.</i>
	<i>Gazella sp.</i>
	<i>Hipparion sp.</i>
	<i>Hippotragus libycus</i>
	<i>Kobus subdolus</i>
	<i>Leptotilos sp.</i>
	<i>Miotragocerus cyrenaicus</i>
	<i>Nyanzachoerus syrticus</i>
	<i>Percrocuta sp.</i>
	<i>Prostrepsiceros lybicus</i>
	<i>Raphicerus sp.</i>
<i>Viverra howelli</i>	
Ερημική ζώνη	<i>Accipitridae</i>
	<i>Atlantoxerus getulus</i>
	<i>Protatera yardangi</i>
	<i>Populus euphratica</i>



Εικόνα 2.9: Πιθανή προέλευση των ιζημάτων του μέλους U1 από προκάμβρια πυριγενή πετρώματα του ΒΑ Τσαντ (Muftah et al., 2013 και γεωλογικοί σχηματισμοί Λιβύης και Τσαντ κατά Schlueter et al., 2008).

2.2 Υλικό

Το απολιθωματικό υλικό της παρούσας εργασίας ανακτήθηκε κατά τη διάρκεια των ανασκαφικών περιόδων 2007-2010 που διεξήχθησαν στην περιοχή του As Sahabi από τον Αν. Καθηγητή Π. Παυλάκη και αποτελεί μέρος της συλλογής απολιθωμάτων του τμήματος Γεωλογίας του Παν/μίου της Βεγγάζης. Συνίσταται από δεκαπέντε σκελετικά θραύσματα σπονδυλωτών, κυρίως αρτιοδακτύλων θηλαστικών, μη αναγνωρίσιμων ως προς το γένος και είδος, τρία δείγματα από κρούστες που παρατηρούνται στην επιφάνεια των οστών και ένα δείγμα ιζήματος εντός τμήματος ενός σπονδύλου. Συγκεκριμένα τα σκελετικά τμήματα περιλαμβάνουν: ένα κρανιακό θραύσμα, τέσσερις σπονδύλους εκ των οποίων δύο άξονες, τρεις πλευρές, ένα βραχιόνιο, ένα μηριαίο, μία κνήμη, δύο αστράγαλους, μία φάλαγγα και ένα πλατύ οστό. Πρόκειται δηλαδή για έξι μακρά, οχτώ βραχέα και ένα πλατύ οστό. Τα δείγματα εντοπίστηκαν σε μικρό βάθος (περίπου 0,5 m) στον ορίζοντα U1 με εξαίρεση το δείγμα P4A που προέρχεται από το μέλος U2. Αντιπροσωπεύονται έντεκα στρωματογραφικές θέσεις και

ειδικότερα οι: P4, P14, P24, P28, P31, P32, P62, P102, P103, P201 και P204. Από αυτές, οι P28, P62 και P204 αντιπροσωπεύονται από δύο δείγματα η καθεμία ενώ η θέση P32 από τρία. Υπενθυμίζεται ότι ο συμβολισμός P έχει καθιερωθεί για τις απολιθωματοφόρες θέσεις όπου απαντά ο σχηματισμός Sahabi ενώ η ένδειξη A, B ή C δίπλα από κάποιες θέσεις (όπως θα φανεί κατά την αναφορά στα δείγματα) αντιστοιχεί σε διαφορετικούς ορίζοντες συλλογής του υλικού.

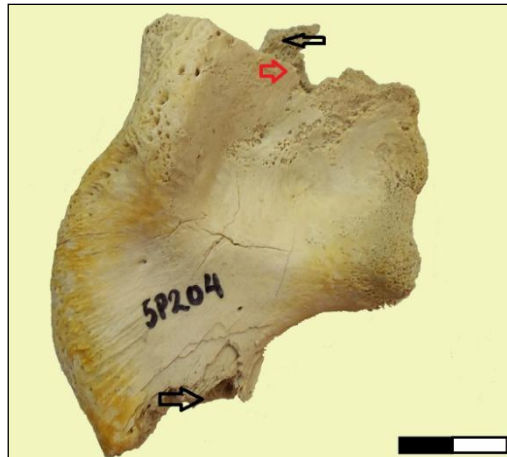
Μακροσκοπικά τα δείγματα παρουσιάζουν διαφορετικό χρωματισμό και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν βάσει αυτού του κριτηρίου σε δείγματα λευκού χρώματος, γκρι χρώματος, γκρι-καφέ χρώματος και καφέ χρώματος. Δεδομένου ότι το χρώμα των οστών επηρεάζεται από τις συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας, από την έκθεση στον ήλιο (Abdel-Maksoud & Abdel-Hady, 2011), από την αποσύνθεση του οργανικού υλικού και την είσοδο ιόντων εντός της δομής του βιοαπατίτη ή δευτερογενών φάσεων στις κοιλότητες του οστού (Σταθοπούλου, 2008) (π.χ. καφέ χρώμα λόγω οξειδίων Fe, μαύρο χρώμα λόγω καύσης), η ανωτέρω κατηγοριοποίηση διατηρήθηκε ώστε να εξεταστεί με την εφαρμογή αναλυτικών τεχνικών αν αυτή η διαφορά στο χρώμα των οστών αντανακλά διαφορές κατά τη διαγένεση. Ο Παυλάκης (2002) περιγράφει τους όρους βιοφάση και ταφόφαση. Ως βιοφάση, με τη στρωματογραφική και όχι οικολογική έννοια, γίνεται αναφορά σε ένα πέτρωμα με συγκεκριμένα περιεχόμενα απολιθώματα, τα οποία το διαφοροποιούν από τα διπλανά του πετρώματα. Ταφόφαση καλείται, σύμφωνα πάλι με τον Παυλάκη (2002), μία ακολουθία πετρωμάτων στην οποία τα περιεχόμενα απολιθώματα είναι αντιπροσωπευτικά του ενδιαίτηματος, του περιβάλλοντος ιζηματογένεσης και της ταφονομικής διαδικασίας. Παρατηρούμε δηλαδή ότι οι δύο αυτοί όροι αναφέρονται σε γεωλογικούς σχηματισμούς. Ωστόσο θα δανειστούμε στην παρούσα εργασία τον όρο ταφόφαση ή πιο απλά φάση για να γίνεται αναφορά στα απολιθώματά μας. Έτσι προκύπτουν τα δείγματα της λευκής, της γκρι, της γκρι-καφέ και της καφέ φάσης, από την ορυκτολογική και χημική ανάλυση των οποίων θα επιχειρηθεί η εξαγωγή συμπερασμάτων για τους γεωλογικούς σχηματισμούς που τα φιλοξενούσαν και το παλαιοπεριβάλλον όπου ενδιαιτούσαν οι οργανισμοί στους οποίους ανήκαν τα δείγματά μας. Ακολουθεί η περιγραφή των δειγμάτων με έμφαση στις μορφολογικές αλλαγές που έχουν αυτά υποστεί κατά το στάδιο κυρίως της βιοστρωματονομίας. Η περιγραφή των δειγμάτων συνοδεύεται και από αντιπροσωπευτικές εικόνες αυτών, στις οποίες σημειώνεται το σημείο λήψης δείγματος για τη μέθοδο της περιθλασιμετρίας ακτίνων-X και φασματοσκοπίας υπεριώθρου (με μαύρο βέλος) και για την παρατήρηση και ανάλυση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (κόκκινο βέλος). Να σημειωθεί ότι μιλώντας εδώ για ηλεκτρονική μικροσκοπία γίνεται αναφορά στα δείγματα που εγκιβωτίστηκαν σε ρητίνη και στιλβώθηκαν (βλ. προετοιμασία δειγμάτων για κάθε τεχνική).

Λευκή φάση

Δείγμα 33P102A: Πρόκειται για θραύσμα από το μηριαίο οστό ενός μέλους της οικογένειας Hippopotamidae ή Anthracotheriidae και συγκεκριμένα για το άνω άκρο και τη διάφυση του οστού (εικόνα 2.11). Το χρώμα του δείγματος είναι καθαρό λευκό με εξαίρεση κάποιες καφέ περιοχές που παρατηρούνται στην οπίσθια κυρίως επιφάνεια του δείγματος και οφείλονται στην κόλλα που χρησιμοποιήθηκε κατά τη συντήρηση. Το άνω τμήμα του μηριαίου διατηρείται αλλά αποσπασμένο από το υπόλοιπο οστό και εμφανίζεται αρκετά εύθρυπτο, περισσότερο από το υπόλοιπο οστό. Μάλιστα υπήρχε διαθέσιμο σε αρκετή ποσότητα υλικό

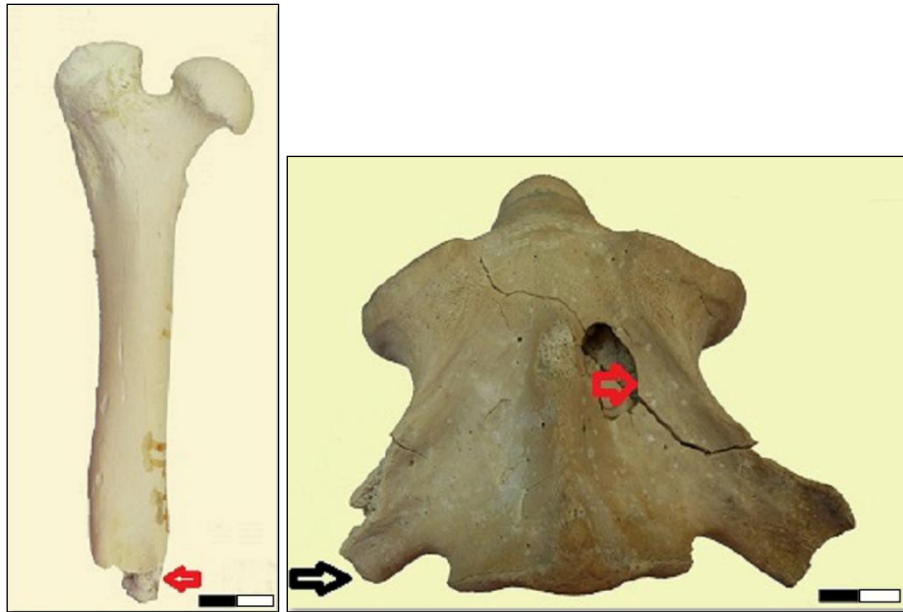
από το δείγμα που ήταν ήδη τριμμένο-κονιοποιημένο και έτσι λήφθηκε αυτό για την ανάλυση με XRD και FTIR.

Δείγμα 5P204: Το εν λόγω θραύσμα προέρχεται από κάποιο πλατύ οστό (εικόνα 2.10), του οποίου ο ανατομικός και ταξινομικός προσδιορισμός δεν κατέστη δυνατός. Παρουσιάζεται αρκετά διαβρωμένο με αποτέλεσμα οι δοκίδες του σπογγώδους οστού να εκτίθενται σε μεγάλο μέρος της επιφάνειάς του. Επίσης τμήμα του συμπαγούς οστού παρουσιάζεται σπασμένο σε παράλληλα επίπεδα.



Εικόνα 2.10: Δείγμα 5P204 και σημεία λήψης επιμέρους δείγματος για XRD, SEM.

Δείγμα 9P204: Πρόκειται για το δεύτερο αυχενικό σπόνδυλο (άξονα) ενός Hippopotamidae (εικόνα 2.11). Το δείγμα παρουσιάζει λευκό χρώμα με κάποιες γκρι περιοχές στη ραχιαία επιφάνεια. Στην κοιλιακή επιφάνεια παρατηρείται μία ευμεγέθους οπή εντός της οποίας έχει ενσωματωθεί το σπασμένο κομμάτι του οστού. Η οπή αυτή πιθανότατα προκλήθηκε μεταθανάτια (post mortem). Δύο ακόμη οπές εμφανίζονται πλησίον της ακανθώδους απόφυσης. Τμήμα του σπογγώδους οστού εκτίθεται στην κοιλιακή επιφάνεια, λόγω σπασίματος της μίας (εκ των δύο) εγκάρσιας απόφυσης. Πολλές μικρές οπές που αντιστοιχούν σε μορφολογικά χαρακτηριστικά εντοπίζονται σε όλη την κοιλιακή επιφάνεια του οστού.



Εικόνα 2.11: Δείγματα 33P102A (αριστερά) και 9P204 (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην πρόσθια και κοιλιακή αντίστοιχα όψη των δειγμάτων. Για την ανάλυση του δείγματος 33P102A με τις μεθόδους XRD-FTIR χρησιμοποιήθηκε ήδη κονιοποιημένο υλικό από τους άπω κονδύλους του μηριαίου, που όπως φαίνεται στην εικόνα δεν έχουν διατηρηθεί σε ανατομική θέση με το υπόλοιπο οστό. Για το λόγο αυτό δεν σημειώνεται το μαύρο βελάκι.

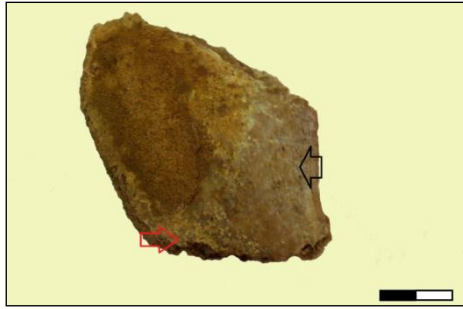
Γκρι φάση

Δείγμα 10P28B: Πρόκειται για αταξινόμητο κρανιακό θραύσμα (εικόνα 2.12). Το δείγμα αυτό παρουσίασε κατά την προσπάθεια αφαίρεσης δείγματος για τις αναλυτικές μας τεχνικές, σημαντική σκληρότητα. Σε κάποια σημεία της επιφάνειάς του, λόγω σπασιμάτων ή διάβρωσης, εκτίθεται το σπογγώδες οστό.



Εικόνα 2.12: Δείγμα 10P28B και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Δείγμα 20P31C: Το συγκεκριμένο θραύσμα ανήκε σε μία ταξινομικά μη προσδιορίσιμη πλευρά (εικόνα 2.13). Στην επιφάνειά του εντοπίζεται κρούστα καφεκίτρινου χρώματος ενώ και στο εσωτερικό του οστού, εκεί που διακρίνεται το σπογγώδες, φαίνεται να έχει εισχωρήσει κρούστα καφέ χρώματος. Αναλύθηκαν τόσο το οστό όσο και η επιφανειακή κρούστα.



Εικόνα 2.13: Δείγμα 20P31C και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Δείγμα 128P32A: Το θραύσμα αυτό περιλαμβάνει το άνω τμήμα και μέρος της διάφυσης της αριστερής κνήμης ενός αντιπροσώπου της τάξης των σαρκοφάγων. Παρουσιάζει διάβρωση λόγω της δράσης του ανέμου ή του νερού με αποτέλεσμα να μη διακρίνονται αρκετοί μορφολογικοί χαρακτήρες. Ακόμη, το σώμα της διάφυσης εμφανίζει κάθετα προς αυτό δύο σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους σπασίματα.

Δείγμα 110P32A: Πρόκειται για την αριστερή δεύτερη φάλαγγα ενός Giraffidae. Σε αρκετά σημεία λόγω διάβρωσης εκτίθεται το σπογγώδες οστό, όπως απεικονίζεται στην εικόνα 2.12 στην πρόσθια επιφάνεια του δείγματος. Ακόμη στο άνω άκρο της φάλαγγας, άνωθεν της μεταξύ των δύο κονδύλων αύλακας, εμφανίζεται μία οπή. Και το δείγμα αυτό παρουσιάζει σκληρότητα και για το λόγο αυτό επιλέχθηκε να μη ληφθεί δείγμα για το SEM προκειμένου να αποφευχθεί η καταστροφή του.

Τα δείγματα 128P32A και 110P32A απεικονίζονται ακολούθως (εικ. 2.14).



Εικόνα 2.14: Δείγματα 128P32A (αριστερά) και 110P32A (δεξιά, δείγμα μόνο για XRD) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Γκρι-καφέ φάση

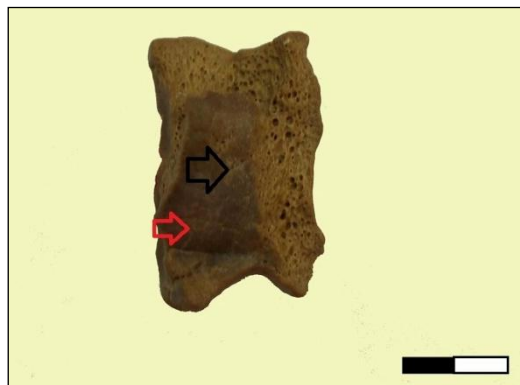
Δείγμα 120P32A: Στο δείγμα αυτό διατηρούνται μόνο η πρόσθια και εσωτερική επιφάνεια του δεξιού αστράγαλου ενός Hippopotamidae. Στην οπίσθια επιφάνεια εκτίθεται εξ ολοκλήρου το σπογγώδες οστό και μάλιστα σε αρκετά από τα κενά του έχουν εισχωρήσει

δευτερογενείς κόκκοι από το περιβάλλον, που είναι ορατοί μακροσκοπικά. Στην εσωτερική όψη του δείγματος είναι χαρακτηριστική η μετάβαση από καφέ σε γκρι χρώμα όπως φαίνεται στην εικόνα 2.15. Η πρόσθια επιφάνεια εμφανίζει καφέ χρώμα με εξαίρεση το βόθρο μεταξύ της άνω και άπω τροχιλίας, που έχει περισσότερο γκρι χρώμα. Επίσης, το δείγμα αυτό παρουσιάζει σκληρότητα.



Εικόνα 2.15: Δείγμα 120P32A και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην εσωτερική όψη αυτού.

Δείγμα 21P14: Πρόκειται για το δεξιό αστράγαλο ενός βοοειδούς (Bovidae) (εικόνα 2.16). Το σπογγώδες οστό αποκαλύπτεται λόγω διάβρωσης ή σπασίματος στην οπίσθια, εξωτερική και εσωτερική επιφάνεια του δείγματος. Το δείγμα έχει γκρι χρώμα με εξαίρεση την άπω τροχιλία, η οποία εμφανίζει κάποια καφέ απόχρωση. Τόσο το συμπαγές όσο και το σπογγώδες οστό του δείγματος 21P14 εμφανίζουν σκληρότητα και κατέστησαν δύσκολη την απόσπαση επιμέρους δειγμάτων για τις αναλυτικές τεχνικές.



Εικόνα 2.16: Δείγμα 21P14 και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην οπίσθια όψη αυτού.

Καφέ φάση

Δείγμα 506P28: Συνιστά θραύσμα από έναν ουραίο σπόνδυλο. Το δείγμα εμφανίζει διάβρωση και έκθεση του σπογγώδους στη ραχιαία του επιφάνεια, όπως φαίνεται στην εικόνα 2.17. Εντός του σπονδυλικού τρήματος παρατηρείται δευτερογενής φάση λευκού χρώματος.

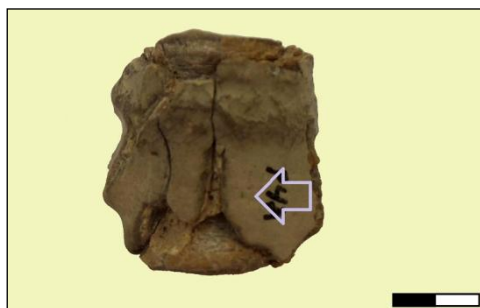
Δείγμα 14P62A: Το δείγμα αυτό αποτελεί θραύσμα του άξονα ενός βοοειδούς και συγκεκριμένα την οδοντοειδή απόφυση αυτού. Καθότι το θραύσμα είναι εγκάρσια τετμημένο ως προς το μέσο οβελιαίο επίπεδο, παρατηρείται το σπογγώδες οστό στη ραχιαία όψη. Και τα δύο δείγματα της καφέ φάσης εμφάνισαν σκληρότητα.



Εικόνα 2.17: Απολιθωμένοι σπόνδυλοι 14P62A (αριστερά) και 506P28 (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στη ραχιαία όψη τους. Στην αριστερή εικόνα το μωβ βέλος δείχνει το σημείο λήψης δείγματος για τις μεθόδους XRD, FTIR.

Δείγματα καλυμμένα με κρούστα

Δείγμα P4A: Πρόκειται για απολιθωμένο σπόνδυλο ενός Οστεϊχθύος. Το δείγμα παρουσιάζει γκρι χρώμα, είναι εύθρυπτο και εκτιμήθηκε ότι είναι στο σύνολό του καλυμμένο από κρούστα. Από τα αποτελέσματα της μεθόδου XRD φαίνεται να αποτελείται μόνο από το οστό αυτό καθ' εαυτό αλλά με το SEM-EDS εντοπίστηκε μία διαφορετική φάση που ομοιάζει με κρούστα (βλ. κεφ.3.1.2). Στην εικόνα 2.18 σημειώνεται με μωβ βέλος το σημείο λήψης δείγματος για XRD και FTIR ενώ για την παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο το δείγμα το λάβαμε από το εσωτερικό του σπονδύλου, καθότι δυστυχώς λόγω του ότι ήταν πολύ εύθρυπτος δεν αποφεύχθηκε η θραύση του. Επιπλέον, να σημειωθεί ότι παρά την αρχική μας εκτίμηση ότι το δείγμα καλύπτεται από κρούστα, δεν ήταν δυνατός κάποιος διαχωρισμός οστού-κρούστας και έτσι το δείγμα που λάβαμε για XRD και FTIR αναμέναμε να εμφανίσει στο διάγραμμα περίθλασης και το φάσμα υπερύθρου δύο φάσεις.



Εικόνα 2.18: Δείγμα P4A και σημείο λήψης δείγματος για XRD.

Δείγμα 32P24A: Πρόκειται για το άνω τμήμα του δεξιού βραχίονα ενός βοοειδούς. Όπως παρατηρείται στην εικόνα 2.19, το δείγμα εμφανίζει ένα καφέ-κόκκινο χρώμα ενώ στην εξωτερική όψη του, πλησίον του μείζονος βραχιόνιου ογκώματος, παρατηρείται μία κρούστα με καφέ σκούρο χρώμα. Το υλικό της κρούστας παρουσιάζει σκληρότητα όπως και στο σύνολό του το συμπαγές οστό του δείγματος. Επιπλέον, παρατηρώντας την εγκάρσια τομή του βραχιόνιου από το εσωτερικό της διάφυσης προς το εξωτερικό αυτής γίνεται μετάβαση από λευκό χρώμα σε καφέ έως και μαύρο. Μελετήθηκε τόσο τμήμα του συμπαγούς οστού όσο και της επιφανειακής κρούστας.



Εικόνα 2.19: Δείγμα 32P24A και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM στην εξωτερική όψη του.

Δείγμα 22P62A: Στο δείγμα αυτό διατηρείται το άνω άκρο και τμήμα του σώματος μίας πρώτης πλευράς, ταξινομικά μη προσδιορίσιμης. Εμφανίζεται διαβρωμένο και με αποστρογγυλεμένο (rounding) το ραχιαίο άκρο του. Επίσης, φαίνεται να εμπίπτει στα δείγματα της καφέ φάσης αλλά καλύπτεται σε διάφορα σημεία της επιφάνειάς του από κρούστα καφεκίτρινου χρώματος, όπως φαίνεται στην εικόνα 2.20. Από το δείγμα αυτό αναλύθηκε μόνο το απολιθωμένο οστό και όχι η κρούστα, δεδομένου ότι μακροσκοπικά τουλάχιστον φαίνεται να είναι αντίστοιχη με την κρούστα που καλύπτει το δείγμα 14P201, η οποία αναλύθηκε.



Εικόνα 2.20: Δείγμα 22P62A (αριστερά) και 14P201A (δεξιά) και σημεία λήψης δείγματος για XRD, SEM.

Δείγμα 14P201: Αποτελεί μία σχεδόν πλήρη μεσοθωρακική πλευρά μη προσδιορίσιμη ταξινομικά. Το δείγμα καλύπτεται από κρούστα καφεκίτρινου χρώματος σχεδόν σε όλο το σώμα της πλευράς (εικόνα 2.20) ενώ παρουσιάζεται διαβρωμένο κυρίως στο άνω άκρο, όπου εκτίθεται και το σπογγώδες. Σε μακροσκοπικό προς το παρόν επίπεδο, το δείγμα αυτό φαίνεται να αποτελεί αντίστοιχη φάση με την πλευρά 22P62A. Στο συγκεκριμένο δείγμα

ήταν αρκετά εύκολη η λήψη δείγματος για τις εφαρμοζόμενες τεχνικές, γεγονός ενδεικτικό μειωμένης σκληρότητας.

Δείγμα ίζηματος 22P103A: Το ίζημα αυτό λήφθηκε από τον αυχενικό σπόνδυλο με κωδικό 22P103A και συγκεκριμένα από το μεσοσπονδύλιο τρήμα αυτού (transverse foramen). Ενδεχομένως αντιστοιχεί σε σημερινό ίζημα της περιοχής (πχ άμμο της Σαχάρας) και εμφανίζει καφεκίτρινο χρώμα.

2.3 Μεθοδολογία

2.3.1 Γενικά

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης χρησιμοποιούνται οι παρακάτω τεχνικές, οι οποίες κλασικά εφαρμόζονται στη μελέτη της διαγένεσης των οστών: η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης σε συνδυασμό με τη μικροανάλυση ακτίνων-X (Scanning Electron Microscopy-SEM, Energy Dispersive X-ray analysis- EDS/EDX), η ηλεκτρονική μικροανάλυση (Electron Microprobe Analysis-EPMA), η περιθλασιμετρία ακτίνων-X και η μέθοδος Rietveld (X-ray Diffraction), η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) και η φασματοσκοπία Moessbauer.

2.3.2 Χρήση των Δεσμών e⁻ στη Μελέτη Γεωϋλικών

2.3.2.1. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)- Μικροανάλυση Ακτίνων -X (EDS)

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για την παρατήρηση του βαθμού διατήρησης της εσωτερικής μικροδομής του οστού, της πιθανής παρουσίας μικροβιακής δράσης καθώς και τη μελέτη της ορυκτολογίας του ιστού, τόσο της κύριας (απατιτική) όσο και πιθανών δευτερογενών ορυκτών φάσεων εντός των κοιλοτήτων του οστού. Η ποιοτική παρατήρηση πραγματοποιείται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης ενώ ο μικροαναλυτής ακτίνων-X επιτρέπει την ποιοτική αλλά και ημι-ποσοτική χημική ανάλυση περιοχών ενδιαφέροντος εντός του δείγματος. Σημαντική είναι και η δυνατότητα που προσφέρεται για παρατήρηση της μη στιλβωμένης επιφάνειας των δειγμάτων, ούτως ώστε να είναι πλήρως διακριτά τα εσωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά του οστού. Στην περίπτωση αυτή βέβαια, η ανάλυση περιοχών ενδιαφέροντος είναι ποιοτική.

2.3.2.1.1 Στοιχεία Τεχνικής (Severin, 2004; Reed, 2005; UW-Madison Geology 777, 2006)

Η βασική διάταξη ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης εξοπλισμένου με έναν μικροαναλυτή ακτίνων-X δίνεται στην εικόνα 2.21. Η λειτουργία των μερών του από τα οποία διέρχονται οι διάφορες ακτινοβολίες γίνεται σε υψηλό κενό (vacuum). Αρχικά, η παραγωγή της δέσμης των ηλεκτρονίων επιτυγχάνεται με τη θέρμανση ενός μεταλλικού νήματος (συνήθως βολφραμίου), σύμφωνα με το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο. Η δέσμη επιταχύνεται με την εφαρμογή μεταξύ του νήματος και της ανόδου δυναμικού επιτάχυνσης της τάξης συνήθως των 20-30 keV, και στη συνέχεια κατευθύνεται στο δείγμα μέσω μιας σειράς ηλεκτρομαγνητικών φακών (συγκλινόντων, αντικειμενικών). Από την πρόσπτωση της δέσμης των ηλεκτρονίων στο δείγμα παράγονται φως, ηλεκτρόνια Auger, δευτερογενή ηλεκτρόνια (secondary electrons), οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια (backscattered electrons) και ακτίνες-X, όπως παρατηρείται στην εικ. 2.22. Τα δευτερογενή και οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια ανιχνεύονται από τους αντίστοιχους ανιχνευτές (SE and BSE detectors) ενώ οι

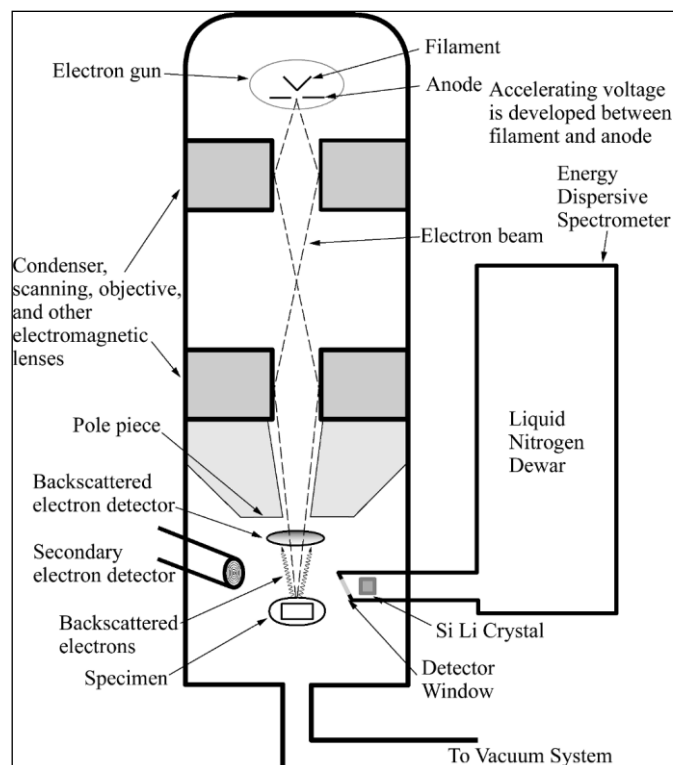
ακτίνες X από το EDS. Να σημειωθεί το διαφορετικό βάθος αλληλεπίδρασης εντός του δείγματος από το οποίο παράγονται τα ανωτέρω προϊόντα, όπως απεικονίζεται στην εικόνα 2.23. Επίσης, η ηλεκτρονική δέσμη αλληλεπιδρά με το δείγμα 2 μm κατά μήκος και 2 μm σε βάθος, δίνοντας έναν όγκο αλληλεπίδρασης σχήματος αχλαδιού.

Για την παραγωγή των ακτίνων-X δύο είναι οι κύριες αλληλεπιδράσεις (μη ελαστικές) μεταξύ του δείγματος και των ηλεκτρονίων της προσπίπτουσας δέσμης. Η πρώτη οδηγεί στη δημιουργία των ακτίνων-X γνωστών ως Bremsstrahlung ή continuum, οι οποίες παράγονται από την απώλεια ενέργειας λόγω της επιβράδυνσης των ηλεκτρονίων της δέσμης κατά την επαφή τους με τα άτομα του δείγματος. Η ακτινοβολία αυτή συνιστά το υπόβαθρο των φασμάτων εκπομπής ακτίνων-X. Η δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνει τον ιονισμό της εσωτερικής στοιβάδας των ατόμων του δείγματος όταν η ενέργεια που ασκείται υπερβαίνει τη λεγόμενη κρίσιμη ενέργεια (η οποία διαφέρει για κάθε στοιχείο και κάθε στοιβάδα). Συγκεκριμένα, η πρόσπτωση της δέσμης των ηλεκτρονίων προκαλεί την πλήρη απομάκρυνση από το άτομο ενός ηλεκτρονίου μιας εσωτερικής στοιβάδας, αφήνοντας το άτομο σε διεγερμένη κατάσταση. Το κενό στη χαμηλότερη ενεργειακά στοιβάδα καλύπτεται από ένα ηλεκτρόνιο εξωτερικής στοιβάδας. Κατά τη διαδικασία αυτή παράγεται ένα φωτόνιο με ενέργεια ίση με την ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο στοιβάδων. Τα φωτόνια αυτά εμπίπτουν συνήθως στο ενεργειακό φάσμα των ακτίνων-X. Οι συγκεκριμένες ακτίνες ονομάζονται χαρακτηριστικές ακτίνες – X. Όταν προέρχονται από τον ιονισμό της K στοιβάδας συμβολίζονται ως K X-rays, της L στοιβάδας L X-rays κ.ο.κ. Επίσης, η πιο κοινή μετάβαση – καθότι περισσότερα από ένα ηλεκτρόνια είναι πιθανό να μετακινηθούν στην εσωτερική στοιβάδα- είναι γνωστή ως γραμμή α π.χ. $K\alpha$, $L\alpha$.

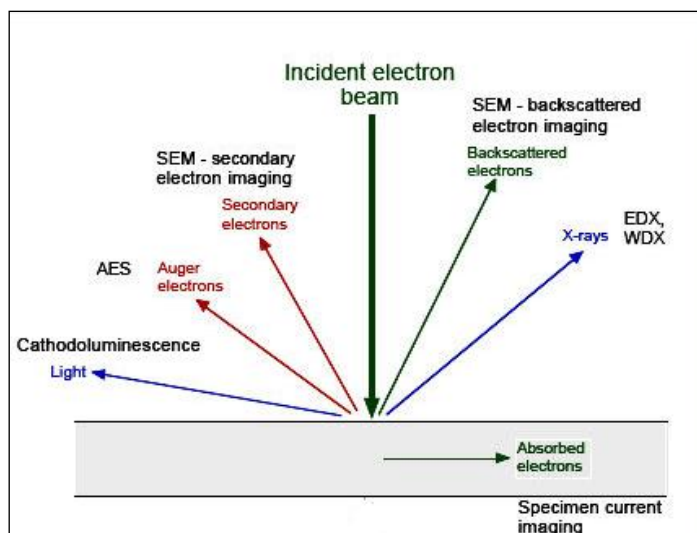
Μετά την παραγωγή τους, οι ακτίνες-X χτυπούν τον ανιχνευτή, ο οποίος αποτελείται από έναν κρύσταλλο πυριτίου –σπανιότερα γερμανίου- [Si(Li) detector] και προστατεύεται από ένα παράθυρο, συνήθως Be. Η απορρόφηση των ακτίνων-X από τον κρύσταλλο προκαλεί τη μετατόπιση ενός ηλεκτρονίου από τη στοιβάδα σθένους (valence band) στη στοιβάδα αγωγιμότητας (conduction band), το οποίο στη συνέχεια θα παράγει ζεύγη electron-holes¹. Επίσης, κατά την πλήρωση της εσωτερικής στοιβάδας από ένα e^- κάποιας εξωτερικής στοιβάδας, θα παραχθεί είτε ένα ηλεκτρόνιο Auger είτε μία χαρακτηριστική ακτίνα –X πυριτίου (SiKa X-ray). Σε κάθε περίπτωση η ενέργεια αποδίδεται ως ζεύγη electron-holes, τα οποία παράγουν ένα πολύ μικρό φορτίο. Η μετατροπή του φορτίου αυτού σε δυναμικό (της τάξης των mVolts) πραγματοποιείται από τον FET (Field Effect Transistor), ο οποίος βρίσκεται στο πίσω μέρος του ανιχνευτή. Τόσο ο ανιχνευτής όσο και ο FET συνδέονται μέσω χάλκινης ράβδου με έναν θάλαμο υγρού αζώτου (LN dewar) για την αποφυγή θορύβου και διάχυσης του Li στον ανιχνευτή. Με τη βοήθεια του προ-ενισχυτή (pre-amp) και του κύριου ενισχυτή, το δυναμικό ενισχύεται στα 1-10 Volts. Στο σημείο αυτό, δύο συσκευές, ο PHA (Pulse Height Analyser) και ο MCA (Multi-Channel Analyser) αναλαμβάνουν την ανίχνευση του παλμού των ηλεκτρονίων, τη μέτρηση του μεγέθους του και το διαχωρισμό των παλμών σε κανάλια ανάλογα με το μέγεθός τους. Τελικά, ο μετατροπέας αναλογικού σήματος σε ψηφιακό (ADC) αποδίδει τα δεδομένα στην επιφάνεια ενός υπολογιστή υπό μορφή φάσματος, με άξονα x την ενέργεια των ακτίνων-X (keV) και άξονα y την ένταση (counts).

¹ Ο όρος hole ή electron hole χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα θετικό φορτισμένο σωματίδιο, το οποίο κινείται ακριβώς όπως το ηλεκτρόνιο, σε μία εντελώς κενή στοιβάδα σθένους (en.wikipedia.org/wiki/Semiconductor).

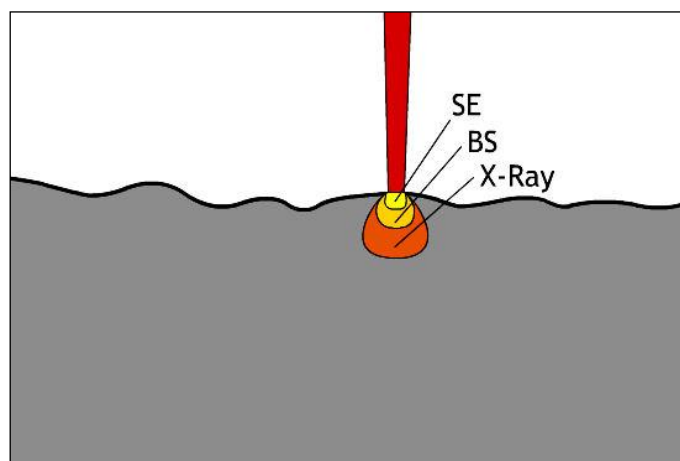
Συνοψίζοντας, οι ED ανιχνευτές ακτίνων-X είναι οικονομικοί, πραγματοποιούν γρήγορα ποιοτική και ημιποσοτική ανάλυση του γεωϋλικού αλλά το όριο ανιχνευσιμότητας που διαθέτουν (0,1%) είναι μικρότερο από αυτό των WDS (0,005%), η διακριτική ικανότητα είναι φτωχότερη ενώ έχουν και κάποια επιπλέον μειονεκτήματα. Σε αυτά περιλαμβάνεται η εμφάνιση στο φάσμα, μεταξύ των κύριων κορυφών, των λεγόμενων sum peaks ή escape peaks όταν, αντίστοιχα, καταφθάνουν ταυτόχρονα στον ανιχνευτή δύο ακτίνες-X ή μία χαρακτηριστική ακτίνα-X Si δεν απορροφάται αλλά διαφεύγει από τον κρύσταλλο, με αποτέλεσμα την εμφάνιση στο φάσμα μίας μικρότερης κορυφής 1,74 keV χαμηλότερα από την κύρια (parent) κορυφή. Ακόμη, δύναται να εμφανίζονται στο φάσμα μικρές κορυφές Si (internal fluorescence peak) ή Fe και Cu λόγω απορρόφησης μία ακτίνας-X στο λεγόμενο νεκρό στρώμα του ανιχνευτή ή διέγερσης του μετάλλου του υποδοχέα ή του θαλάμου από οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια, αντίστοιχα. Στην εικόνα 2.24 παρατίθενται τα φάσματα εκπομπής ακτίνων-X για το BaTiO₃, τα οποία λήφθηκαν και με τους δύο τύπους ανιχνευτών (EDS, WDS) ούτως ώστε να καταστεί σαφής η αδυναμία του EDS να διαχωρίσει τις κορυφές εκείνες που οφείλονται στα δύο στοιχεία (Ba, Ti). Να επισημανθεί τέλος, ότι οι ανιχνευτές EDS που φέρουν παράθυρο Be (αποτελούν τη συνηθέστερη περίπτωση) απορροφούν τις ακτίνες-X στοιχείων ελαφρύτερων του νατρίου (Z<11) (π.χ. οξυγόνο, άζωτο, άνθρακας). Για την καταγραφή των χαρακτηριστικών ακτίνων-X των ελαφρών στοιχείων απαιτούνται EDS με λεπτό παράθυρο (π.χ. από πολυμερές) ή χωρίς παράθυρο (thin window or windowless detectors).



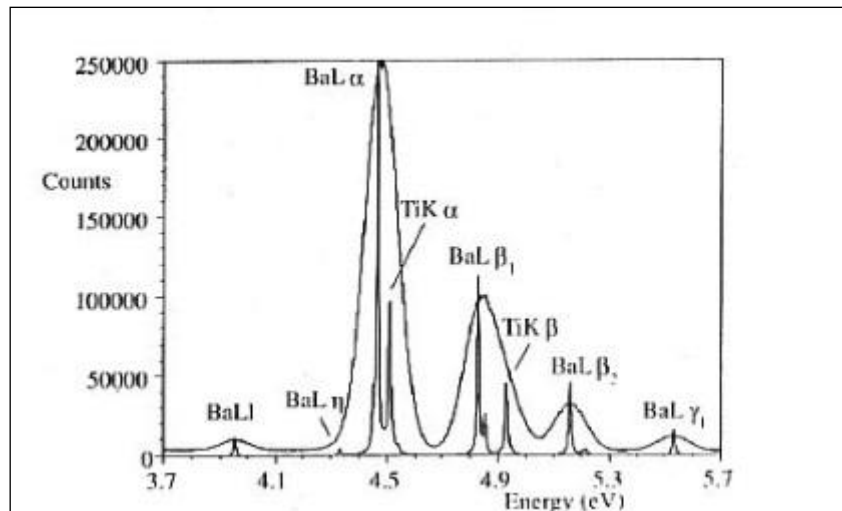
Εικόνα 2.21: Βασική διάταξη ενός SEM-EDS συστήματος (Severin, 2004).



Εικόνα 2.22: Τα παραγόμενα από την αλληλεπίδραση της ηλεκτρονιακής δέσμης και του δείγματος προϊόντα.



Εικόνα 2.23: Εντός του όγκου αλληλεπίδρασης της προσπίπτουσας δέσμης e^- και του δείγματος σημειώνεται η παραγωγή των SE σε μικρό βάθος, των BSE σε ενδιάμεσο και των ακτίνων-X στο μεγαλύτερο βάθος.



Εικόνα 2.24: Φάσματα εκπομπής ακτίνων-X για το BaTiO₃, που λήφθηκαν με EDS (ευρείες κορυφές) και WDS (στενές κορυφές). Όπως παρατηρούμε μόνο με τον WD ανιχνευτή επιτυγχάνεται η διάκριση των χαρακτηριστικών κορυφών Ba, Ti, οι οποίες στην περίπτωση του EDS επικαλύπτονται.

2.3.2.1.2 Προετοιμασία Δειγμάτων - Πειραματικές Διατάξεις

Για τη μελέτη των δειγμάτων μας χρησιμοποιήθηκε το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης JEOL JSM- 6390 και το σύστημα SEM-EDS JEOL JSM- 5600 (εικ. 2.27) του τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος του ΕΚΠΑ καθώς και το σύστημα JEOL JSM- 6610 LV του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας στο WWU του Μίνστερ. Το JEOL JSM- 5600 ήταν συνδεδεμένο με το EDS OXFORD LINK ISIS και οι συνθήκες μικροανάλυσης ήταν:

Δυναμικό επιτάχυνσης (accelerating voltage): 20 kV (αντίστοιχα 20 keV η ενέργεια της δέσμης των e⁻)

Ρεύμα δέσμης (beam current): 0,5 nA

Χρόνος ανάλυσης (live time): 50 s

Απόσταση εργασίας (working distance): 20 mm

Παρόμοιες οι συνθήκες μικροανάλυσης και για το JEOL JSM- 6610LV, το οποίο ήταν συνδεδεμένο με το EDS OXFORD X-MAX. Η απόσταση εργασίας ωστόσο ρυθμιζόταν συνήθως στα 12 mm. Επίσης, η δέσμη ηλεκτρονίων παραγόταν από θερμαινόμενο νήμα LaB₆ και όχι W όπως στο JEOL JSM- 5600.

Παρασκευάστηκαν δύο ειδών δείγματα. Αρχικά, πολύ μικρά θραύσματα των δειγμάτων τοποθετήθηκαν σε ειδικές βάσεις με τη βοήθεια αγωγίμης πλαστελίνης και επιμεταλλώθηκαν με χρυσό, όπως τα δείγματα της εικόνας 2.25. Τα εν λόγω δείγματα παρατηρήθηκαν στο SEM με δευτερογενή ηλεκτρόνια και επέτρεψαν τη μελέτη των λεπτομερειών της εσωτερικής μορφολογίας του οστίτη ιστού, οι οποίες γίνονται πολύ λιγότερο διακριτές στα στιλπνά δείγματα. Οι περιοχές ενδιαφέροντος που εντοπίστηκαν αναλύθηκαν ποιοτικά με τον μικροαναλυτή ακτίνων-X OXFORD LINK ISIS.

Για συνδυασμό παρατήρησης και ημι-ποσοτικής χημικής ανάλυσης παρασκευάστηκαν στιλπνές τομές (polished samples), όπως αυτές της εικόνας 2.26, μετά τον εγκιβωτισμό εγκάρσια κομμένων θραυσμάτων των δειγμάτων μας σε εποξική ρητίνη (Renlam Cy 218 & REN HV 5161) μέσα σε ειδικά καλούπια (mounting moulds, διαμέτρου 30 mm). Στη συνέχεια, τα δείγματα κόπηκαν με το κοπτικό λειαντικό Struers Discoplan –TS, υπέστησαν λείανση με γυαλόχαρτα ανθρακοπυριτίου (SiC - silicon carbide abrasive papers

320 gritt, 600 gritt) και τελικά στιλβώθηκαν στο μηχάνημα Struers Rotapol-35 με τη χρήση αδαμαντόπαστας, κοκκομετρίας έξι μm. Η επιμετάλλωση των δειγμάτων έγινε στην περίπτωση αυτή με άνθρακα με το όργανο Cressington Carbon Coater του τμήματος στο Μίνστερ. Έξι από τα δείγματα αυτά, όπως παρατηρούμε στον πίνακα 2.5, αναλύθηκαν ημιποσοτικά με το μικροαναλυτή ακτίνων-Χ του τμήματος Ορυκτολογίας στο Μίνστερ και εν συνεχεία ποσοτικά με τη μέθοδο EPMA (εικ. 2.28). Η ανάλυσή τους πραγματοποιήθηκε με οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια προκειμένου να εντοπιστεί μέσω των μεταβολών της φωτεινότητας εντός των δειγμάτων, αλλαγή στη χημική σύσταση του οστού. Συνολικά, στον πίνακα 2.5 σημειώνονται τα δείγματα που παρατηρήθηκαν με κάθε σύστημα SEM-EDS και WDS.

Πίνακας 2.5: Τα δείγματα που αναλύθηκαν με κάθε ένα από τα συστήματα SEM-EDS και το σύστημα WDS, τα οποία αξιοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

Sample	JEOL JSM-6390	JEOL JSM-5600 (OXFORD LINK ISIS)	JEOL JSM-6610 LV (OXFORD X-MAX)	JEOL JXA 8900 SUPERPROBE
33P102A	x			
5P204	x			
9P204	x		x	x
10P28B	x	x	x	x
20P31C	x	x		
20P31C_crust				
110P32A	x	x		
128P32A	x			
21P14	x			
120P32A	x	x	x	x
506P28	x	x		
14P62A	x	x	x	x
P4A	x	x	x	x
P4A_crust	x	x		
32P24A	x	x	x	x
32P24A_crust	x	x		
22P62A	x			
14P201				
14P201_crust	x			
22P103A				



Εικόνα 2.25: Θραύσματα δύο δειγμάτων τοποθετημένα σε βάσεις με αγώγιμη πλαστελίνη, για ποιοτική παρατήρηση και ανάλυση στο SEM-EDS.



Εικόνα 2.26: Αντιπροσωπευτικές στιλπνές τομές των δειγμάτων μας, οι οποίες αναλύθηκαν ποσοτικά με τον ηλεκτρονικό μικροαναλυτή (microprobe).



Εικόνα 2.27: Το σύστημα SEM-EDS JEOL JSM-5600 του τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος του ΕΚΠΑ.

2.3.2.2 Ηλεκτρονική Μικροανάλυση (EPMA)

2.3.2.2.1 Στοιχεία Τεχνικής (Reed, 2005)

Ο ηλεκτρονικός μικροαναλυτής (electron microprobe) χρησιμοποιείται περίπου από το 1960 ως βασικό εργαλείο για την ποσοτική ανάλυση κύριων στοιχείων και ολιγοστοιχείων σε στερεά δείγματα (www.uni-muenster.de/Mineralogie/en/ausstattung/mikrosonde.html). Διαφοροποιείται από το EDS καθώς το WD φασματόμετρο ρυθμίζεται ώστε κάθε φορά να μετρά μόνο ένα μήκος κύματος (γι' αυτό και η ονομασία μικροαναλυτής διασποράς μήκους κύματος). Συγκεκριμένα, οι ακτίνες-X μετά την παραγωγή τους, με τον τρόπο που περιγράφηκε στο κεφ. 2.3.2.1, σκεδάζονται στα διαφορετικά επίπεδα ενός κρυστάλλου σύμφωνα με το νόμο του Bragg ούτως ώστε να βρίσκονται σε φάση (ενισχυτική συμβολή) και να αυξάνεται η έντασή τους. Από την εξίσωση που περιγράφει το νόμο του Bragg $\{n\lambda = 2d\sin\theta\}$ προκύπτει ότι για $n=1$ (είναι οι ανακλάσεις που χρησιμοποιούνται στα WD φασματόμετρα) το μήκος κύματος εξαρτάται από την απόσταση d μεταξύ των κρυσταλλικών επιπέδων. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται αρκετοί κρύσταλλοι με διαφορετικές αποστάσεις d για να καλύπτεται το πλήρες εύρος του μήκους κύματος. Οι συνήθως χρησιμοποιούμενοι κρύσταλλοι είναι οι: LiF, PET, TAP. Προκειμένου να είναι μεγαλύτερη η ανακλαστική επιφάνεια του κρυστάλλου και να διατηρείται σταθερή η γωνία Bragg, η πηγή των ακτίνων- X, ο κρύσταλλος και ο ανιχνευτής τοποθετούνται στην περιφέρεια ενός υποθετικού κύκλου (Rowland circle).

Η ανίχνευση των ακτίνων-X πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενός αναλογικού μετρητή (proportional counter), ο οποίος αποτελείται από έναν σωλήνα πληρωμένο με αργό (και 10% μεθάνιο). Η είσοδος των ακτίνων-X προκαλεί τον ιονισμό των ατόμων του αερίου και κατ' επέκταση την παραγωγή ελεύθερων ηλεκτρονίων και θετικά φορτισμένων ιόντων, τα

οποία έλκονται αντίστοιχα από την άνοδο και την κάθοδο (σώμα του μετρητή). Το ηλεκτρικό πεδίο γύρω από το καλώδιο της ανόδου πολλαπλασιάζει τα ηλεκτρόνια και τα ιόντα και οδηγεί τελικά σε έναν ενισχυμένο παλμό, το ύψος του οποίου είναι ανάλογο της ενέργειας του απορροφηθέντος φωτονίου ακτίνων-X.

Στην παρούσα εργασία αξιοποιείται η τεχνική EPMA με σκοπό:

- Να υπολογιστούν οι περιεκτικότητες (% κ.β.) των κύριων στοιχείων Ca, P, F, Cl, που υποδεικνύονται από τη χημική σύσταση του βιοαπατίτη και τις αναμενόμενες υποκαταστάσεις στη θέση των OH⁻, και των ολιγοστοιχείων που θα εντοπιστούν μέσω της ημι-ποσοτικής σημειακής χημικής ανάλυσης με το EDS.
- Να μελετηθεί η γραμμική κατανομή των στοιχείων κάθετα στην ανάπτυξη του συμπαγούς οστού, από την εσωτερική κοιλότητα έως το περίστεο.
- Να υπολογιστεί η αναλογία των περιεκτικότητων των δύο κύριων στοιχείων του βιοαπατίτη, Ca, P, από τη μέση τιμή της περιεκτικότητας τους.

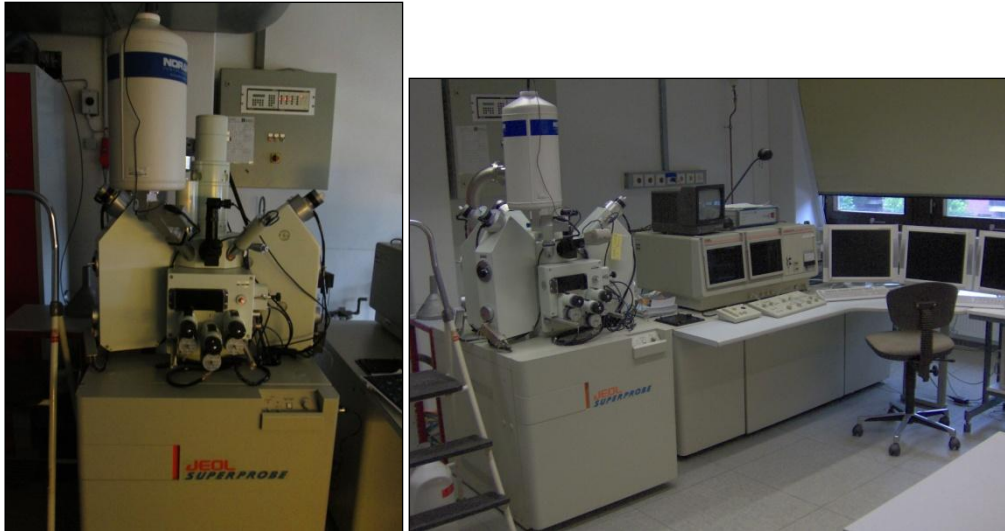
Στα μειονεκτήματα των ηλεκτρονικών μικροαναλυτών WDS περιλαμβάνονται το υψηλό τους κόστος, ο σαφώς μεγαλύτερος σε σύγκριση με το EDS χρόνος ανάλυσης (περίπου 30 min) και η χαμηλότερη ένταση (count rates) στα φάσματα εκπομπής. Ωστόσο τα ανωτέρω εξισορροπούνται από τη δυνατότητα ποσοτικής χημικής ανάλυσης, την καλύτερη διακριτική ικανότητα και το χαμηλότερο όριο ανιχνευσιμότητας. Κατ' αντιστοιχία με τη Si escape peak στο EDS συναντάται η Ar escape peak στο WDS. Ουσιαστικά οι χρήστες αξιοποιούν συμπληρωματικά τους δύο τύπους μικροαναλυτών ακτίνων-X. Στην αρχή, δηλαδή, είθισται να πραγματοποιούνται γρήγορες ημιποσοτικές χημικές αναλύσεις με το EDS ούτως ώστε να εντοπιστούν τα χημικά στοιχεία που παρουσιάζουν ενδιαφέρον και στη συνέχεια βαθμονομείται με τη βοήθεια πρότυπων και φυσικών δειγμάτων το WDS για τα εν λόγω στοιχεία και λαμβάνονται ποσοτικές αναλύσεις συνήθως σε συγκεκριμένα σημεία ή κατά μήκος επιλεγμένων τομών εντός του δείγματος δεδομένου του μεγάλου χρόνου ανάλυσης που απαιτείται.

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για τις ποσοτικές αναλύσεις των στίλπνων δειγμάτων που περιγράφονται στο κεφ. 2.3.2.1.2, είναι το JEOL JXA 8900 SUPERPROBE του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας στο Μίνστερ. Ο συγκεκριμένος ηλεκτρονικός μικροαναλυτής είναι εξοπλισμένος με τέσσερα WDS και ένα EDS. Προσδιορίζει στοιχεία με $Z > 9$ (από το φθόριο και μετά). Οι διαθέσιμοι κρύσταλλοι είναι οι: LDE, LDEB, LBEC, TAP, PET, LIF, LIFH, PETH ενώ κάθε WDS περιλαμβάνει δύο αναλυτικούς κρυστάλλους. Οι συνθήκες ανάλυσης ήταν:

Δυναμικό επιτάχυνσης (accelerating voltage): 15 kV

Διάμετρος δέσμης (probe diameter): 5 μm / 2 μm

Ρεύμα δέσμης (probe current): 4×10^{-9} A



Εικόνα 2.28: Ο ηλεκτρονικός μικροαναλυτής JEOL JXA 8900 SUPERPROBE του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας του Παν/μίου WWU στο Μίνστερ.

2.3.3 Περιθλασιμετρία Ακτίνων -X (XRD)-Μέθοδος Rietveld

2.3.3.1 Στοιχεία Τεχνικής (Bruker AXS 2001; Intro to XRD- X-ray Diffraction Texas A&M University; Σταθοπούλου, 2008)

Η περιθλασιμετρία ακτίνων- X αποτελεί μη καταστροφική τεχνική που χρησιμοποιείται για την ορυκτολογική ανάλυση κρυσταλλικών αλλά και άμορφων στερεών. Όταν το προς ανάλυση δείγμα είναι πολυκρυσταλλικό (π.χ. ένα πέτρωμα) εφαρμόζεται η μέθοδος σκόνης (X-ray Powder Diffraction).

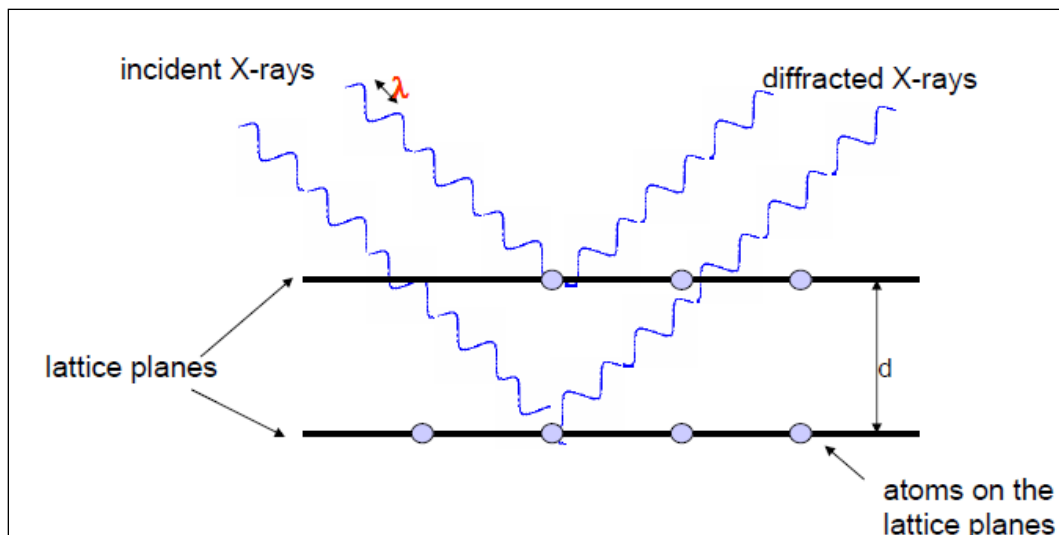
Στην περίπτωση των απολιθωμένων οστών η τεχνική συμβάλλει:

- Στον ποιοτικό προσδιορισμό της ορυκτολογικής σύστασης του οστίτη ιστού, μέσω της σύγκρισης του πειραματικού διαγράμματος περίθλασης με πρότυπα διαγράμματα της βάσης δεδομένων του λογισμικού. Για να γίνει και ποσοτικός προσδιορισμός απαιτείται η εφαρμογή της μεθόδου Rietveld.
- Στον εντοπισμό δευτερογενών φάσεων που είναι παρούσες υπό μορφή εγκλεισμάτων στις κοιλότητες του οστού.
- Στην εκτίμηση της κρυσταλλικότητας του βιοαπατίτη μέσω της φαινομενολογίας των φασμάτων, παρατηρώντας δηλαδή το πλάτος των κορυφών ή συγκεκριμένες ανακλάσεις ([002], [004]), καθώς επίσης υπολογίζοντας το δείκτη κρυστάλλωσης (Crystallinity Index).

Στα περιθλασίμετρα ακτίνων-X χρησιμοποιείται συνήθως η γεωμετρία Bragg-Brentano. Τα βασικά μέρη ενός περιθλασίμετρου είναι: η πηγή ακτίνων-X (λυχνία), ο μονοχρωμάτορας Johansson, ο δειγματοφορέας με το δείγμα και ο ανιχνευτής, όπως απεικονίζεται στην εικ. 2.31. Από την πηγή εκπέμπεται μονοχρωματική ακτινοβολία CuK α μήκους κύματος $\lambda=1,54059 \text{ \AA}$. Στη συνέχεια, η ακτινοβολία περνά από το μονοχρωμάτορα, ο οποίος απομακρύνει τα ανεπιθύμητα μήκη κύματος (π.χ. την K β ακτινοβολία). Μέσω μία σειράς σχισμών (divergence slits, anti-diffusion slits, soller slits) η ακτινοβολία καθοδηγείται στο δείγμα όπου περιθλάται στα παράλληλα και ισαπέχοντα κρυσταλλικά επίπεδα των

μικροκρυσταλλιτών σύμφωνα με το νόμο του Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$), ώστε να υπάρχει ενισχυτική συμβολή (εικ. 2.29). Έπειτα, μέσω πάλι κάποιων διαφραγμάτων και σχισμών συγκλίνει, ευθυγραμμίζεται, και προσπίπτει στον ανιχνευτή, ο οποίος καταγράφει τις γωνίες περίθλασης και την αντίστοιχη ένταση. Η σάρωση είναι τύπου $\theta/2\theta$ δηλαδή η αρχική δέσμη σχηματίζει με την επιφάνεια του δειγματοφορέα γωνία θ και ο ανιχνευτής βρίσκεται πάνω στον κύκλο μέτρησης του γωνιόμετρου σε γωνία 2θ ως προς την αρχική δέσμη. Για να διατηρείται αυτή η γωνιακή σχέση κάθε στιγμή της σάρωσης, ο ανιχνευτής κινείται με διπλάσια γωνιακή ταχύτητα σε σχέση με το δειγματοφορέα.

Το αποτέλεσμα της περίθλασης των ακτίνων-X στα διαδοχικά επίπεδα των κρυστάλλων του πολυκρυσταλλικού δείγματος είναι το διάγραμμα περίθλασης με άξονα x τη γωνία 2θ (degrees) και y την ένταση (counts). Το διάγραμμα αυτό έχει τη μορφή διαδοχικών κορυφών (Bragg peaks). Η ένταση κάθε κορυφής (peak intensity) είναι ενδεικτική του είδους των ατόμων ενός συγκεκριμένου ορυκτού ή διαφορετικά του περιεχομένου της μοναδιαίας κυψελίδας. Το σχετικό ύψος κάθε κορυφής είναι ανάλογο του σχετικού ποσοστού με το οποίο αντιπροσωπεύεται κάθε ορυκτή φάση. Η θέση κάθε κορυφής (peak position) εξαρτάται από την απόσταση d μεταξύ των διαδοχικών επιπέδων κάθε κρυστάλλου. Μία ακόμη πληροφορία που αντλείται από τα διαγράμματα περίθλασης αφορά στο πλάτος κάθε ανάκλασης (peak broadening), το οποίο είναι ενδεικτικό του μεγέθους του κρυσταλλίτη και της τάσης.



Εικόνα 2.29: Η περίθλαση των ακτίνων-X στα διαδοχικά κρυσταλλικά επίπεδα (lattice planes) των μικροκρυσταλλιτών του δείγματος (xray.tamu.edu/pdf/notes).

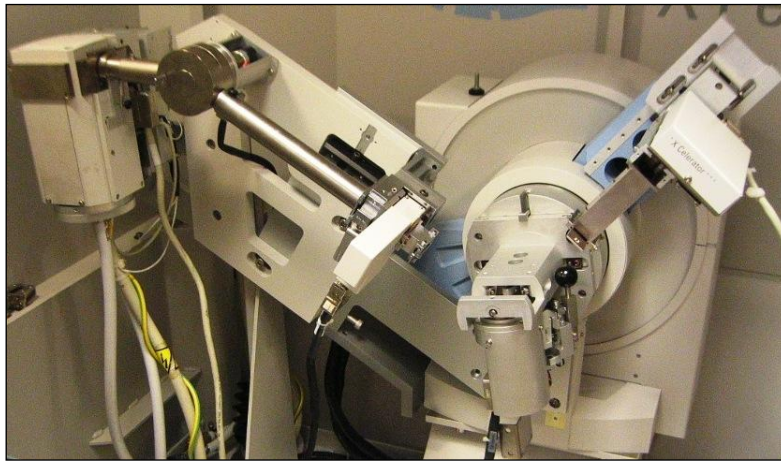
2.3.3.2 Προετοιμασία Δειγμάτων και Πειραματική διάταξη

Για τη μελέτη των δειγμάτων με περίθλαση ακτίνων-X χρησιμοποιήθηκε το περιθλασίμετρο Phillips X' Pert Powder Diffractometer του τμήματος Ορυκτολογίας στο Μίνστερ (εικ. 2.30). Η μέτρηση έγινε με τον ανιχνευτή position sensitive detector με τις εξής ρυθμίσεις: Start angle: 5° - End angle: 70° - Time per step: 1200 s - Total time: 2h20min - Tension: 45 kV - Current: 40 mA.

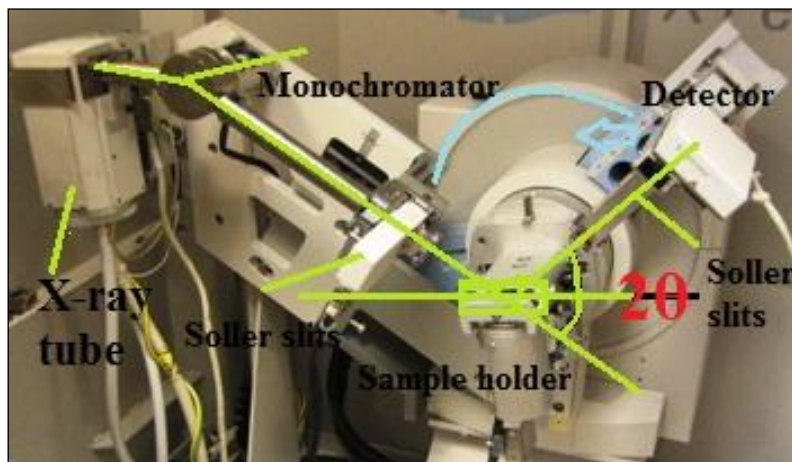
Η προετοιμασία τω δειγμάτων έγινε στο τμήμα Γεωλογίας του ΕΚΠΑ και περιλαμβάνει τη χειροκίνητη κονιοποίηση και ομογενοποίηση των δειγμάτων σε αχάτινο γουδί. Προϋποθέσεις για την παρασκευή ενός καλού δείγματος είναι ο τυχαίος

προσανατολισμός των κρυσταλλιτών εντός του δείγματος και η καλή συμπίεσή του στο δειγματοφορέα (densely packed). Επιπλέον, το μικρό μέγεθος των κρυσταλλιτών (< 10 μm). Να σημειωθεί ότι δεν προηγήθηκε διαλυτοποίηση των δειγμάτων ή επεξεργασία με οξέα για απομάκρυνση εξωγενών φάσεων.

Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την αποτίμηση των ακτινογραφημάτων ήταν το X'Pert High Score.



Εικόνα 2.30: Το περιθλασίμετρο Phillips X' Pert του Ινστιτούτου Ορυκτολογίας στο Μίνστερ.

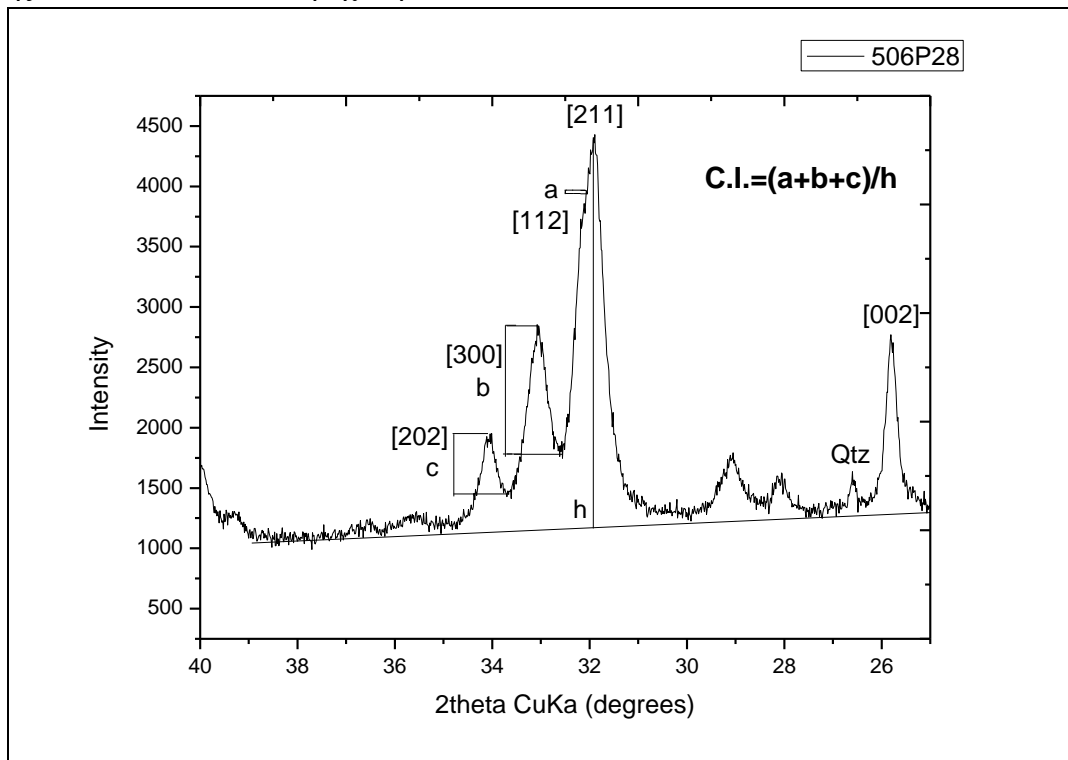


Εικόνα 2.31: Επισήμανση της βασικής γεωμετρίας του περιθλασίμετρου Phillips X' Pert.

2.3.3.3 Ορισμός Δείκτη Κρυστάλλωσης (C.I.)

Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, μία βασική διαγενετική μεταβολή είναι η αύξηση της κρυσταλλικότητας του βιοαπατίτη των οστών. Στα διαγράμματα περίθλασης η κρυσταλλικότητα αντικατοπτρίζεται στο πλάτος των κορυφών (peak width/broadening). Στενή κορυφή υποδηλώνει αυξημένη κρυσταλλικότητα. Σε μία προσπάθεια ποσοτικοποίησης αυτής της μεταβολής υπολογίζεται ο δείκτης κρυστάλλωσης. Η μεθοδολογία που ακολουθείται και σημειώνεται στην εικ. 2.32, είναι αυτή των Person et al. (1995). Συγκεκριμένα, ορίζεται μία γραμμή αναφοράς στο τμήμα 25° - 40° και υπολογίζονται

τα ύψη a , b , c , h των κορυφών $[112]$, $[300]$, $[202]$, $[211]$ αντίστοιχα, μετρώντας από το μέγιστο ύψος κάθε κορυφής έως την “αύλακα” που τη χωρίζει από τη γειτονική της. Ο δείκτης δίνεται τελικά από τη σχέση: $C.I. = (a+b+c)/h$.



Εικόνα 2.32: Τμήμα του διαγράμματος περίθλασης του βιοαπατίτη στο δείγμα 506P28, όπου φαίνονται τα ύψη a , b , c , h , τα οποία χρησιμοποιούν οι Person et al., 1995 για τον υπολογισμό του δείκτη κρυστάλλωσης.

2.3.3.4 Μέθοδος Rietveld (Σταθοπούλου, 2008; Lutterotti: Introduction to Diffraction and the Rietveld Method)

Η μέθοδος Rietveld εφαρμόζεται με στόχο τη βελτιστοποίηση (refinement) των παραμέτρων δομής ενός πολυκρυσταλλικού δείγματος. Συγκεκριμένα, πραγματοποιείται προσαρμογή (fit) του πειραματικού διαγράμματος περίθλασης με το κατάλληλο θεωρητικό, το οποίο επιλέγει ο χρήστης. Στην περίπτωσή μας, χρησιμοποιείται ως θεωρητικά υπολογισμένο μοντέλο ο υδροξυλαπατίτης των Wilson et al., 1999 ($a = b = 9,4081 \text{ \AA}$, $c = 6,8887 \text{ \AA}$ από τη βάση του American Mineralogist). Κάποιοι από τους παράγοντες που διορθώνονται είναι οι: παράγοντας κλίμακας S , παράγοντας Lorentz-πώλωσης L_p , προτιμητέος προσανατολισμός, παράγοντας πολλαπλότητας και η συνάρτηση σχήματος. Στην παρούσα μελέτη η συνάρτηση σχήματος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Thompson- Cox-Hastings pseudo- Voigt, η οποία μπορεί να περιγραφεί ως άθροισμα μίας Λορεντζιανής και μίας Γκαουσιανής συνάρτησης σχήματος. Κατά την προσαρμογή πειραματικού-θεωρητικού διαγράμματος μεταβάλλονται με τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων οι δομικές παράμετροι, παράμετροι που περιγράφουν τη συνάρτηση σχήματος και παράμετροι του οργάνου μέτρησης.

Στόχος της μεθόδου είναι ο υπολογισμός της συμβολής του δείγματος στη διαπλάτυνση των ανακλάσεων (sample contribution to line width- β^2_{sample}), η οποία εξαρτάται από το μέγεθος του κρυσταλλίτη και την τάση λόγω ατελειών στο πλέγμα. Κατά τη βελτιστοποίηση με το λογισμικό FullProf Suite, οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται είναι οι: IG Gauss size και Y Lorentz size και οι: U Gauss strain και X Lorentz strain. Σε πρώτο

στάδιο δίνονται αρχικές τιμές στις παραμέτρους IG, X (συνήθως 0,01) και σε δεύτερο στάδιο στις παραμέτρους Y, U και ελέγχεται η τιμή που προκύπτει για κάθε παράμετρο από τις επιλεγθείσες καθώς και το φαινόμενο μέγεθος των κρυσταλλιτών, η τάση και κάποιες παράμετροι (κυρίως η Rwp αλλά και οι GoF, Chi2) που δίνουν μία εικόνα της προόδου της προσαρμογής των δύο διαγραμμάτων. Στο τρίτο βήμα της διαδικασίας βελτιστοποίησης επιλέγονται και οι τέσσερις παράμετροι και, για την πλειοψηφία των δειγμάτων, προκύπτει αρνητική τιμή για την U. Στο επόμενο στάδιο παραλείπεται η παράμετρος U και συνήθως σταματά η βελτιστοποίηση με την εμφάνιση της ένδειξης: convergence reached. Στο τελικό στάδιο της βελτιστοποίησης οι κύκλοι (cycles of refinement) αυξάνονται από είκοσι σε εκατό.

Στην παρούσα εργασία η μέθοδος Rietveld εφαρμόστηκε με κύριους στόχους:

- Τον υπολογισμό του συντεταγμένου μήκους κατά τη διεύθυνση των αξόνων a και c, του όγκου της κυψελίδας (V_{cell}), του μέσου φαινομένου μεγέθους του κόκκου σε όλες τις διευθύνσεις (average apparent size) και της μέσης μέγιστης τάσης (average maximum strain).
- Την κατασκευή διαγράμματος δομικών παραμέτρων (άξονας a, άξονας c, όγκος κυψελίδας) για το συνδυασμό της μεθόδου Rietveld με τις FTIR, EPMA.
- Την εξαγωγή πληροφοριών όσον αφορά το σχήμα του κόκκου των υπό μελέτη δειγμάτων.

Στα θετικά της μεθόδου Rietveld, σύμφωνα με τον Lutterotti, περιλαμβάνονται: η άμεση χρησιμοποίηση των μετρήσεων της έντασης, η χρήση του πλήρους διαγράμματος και η χαμηλότερη ευαισθησία σε πειραματικά σφάλματα. Ωστόσο, απαιτείται ένα ευρύ διάγραμμα περίθλασης, ένα θεωρητικά υπολογισμένο μοντέλο και κάποια εξοικείωση και εμπειρία του χρήστη πάνω στο λογισμικό.

2.3.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier εφαρμόζεται για το χαρακτηρισμό σκελετικών υλικών περίπου από το 1996 (Kirchner et al., 1997; Paschalis et al., 1996; 1997a;b; Magne et al., 2001 cited in Σταθοπούλου, 2008). Αποτελεί δονητική τεχνική, η οποία μετρά την ικανότητα της ύλης να απορροφά ή να ανακλά την υπέρυθη ακτινοβολία, λόγω συντονισμού με τους κανονικούς τρόπους δόνησής της (Σταθοπούλου, 2008). Μέσω του προσδιορισμού του δονητικού φάσματος του υλικού, η τεχνική αυτή επιτρέπει το χαρακτηρισμό ορισμένων ομάδων σε ένα μόριο (π.χ. υδροξύλια, αμινομάδες).

Οι στόχοι για τους οποίους εφαρμόζεται η τεχνική στην παρούσα εργασία είναι οι ακόλουθοι:

- Ο προσδιορισμός της ορυκτολογικής σύστασης του βιοαπατίτη μέσω της απόδοσης των κορυφών του φάσματος σε συγκεκριμένες ρίζες (φωσφορική, ανθρακική, υδροξύλια).
- Η μελέτη πιθανών αντικαταστάσεων εντός της δομής όπως η αντικατάσταση της φωσφορικής ρίζας από την ανθρακική.
- Η διερεύνηση της παρουσίας δευτερογενών ορυκτών φάσεων όπως χαλαζία, ασβεστίτη, μέσω των αντίστοιχων κορυφών του φάσματος.

- Η μελέτη της πιθανής διατήρησης οργανικής ύλης.
- Ο συνδυασμός της τεχνικής με την περιθλασιμετρία ακτίνων-X και τη μέθοδο Rietveld για την πιστοποίηση των δευτερογενών ορυκτών φάσεων και την παρουσία των ανθρακικών ριζών στα δείγματά μας.
- Ο υπολογισμός φασματικών δεικτών με βάση την ένταση χαρακτηριστικών κορυφών του φάσματος, για την άντληση πληροφοριών αναφορικά με το βαθμό κρυστάλλωσης του βιοαπατίτη (IRSF) και την περιεκτικότητα σε ανθρακικά.

2.3.4.1 Στοιχεία Τεχνικής (Κορδοπάτης & Μαγκαφά, 2005; Βαλαβανίδης, 2006; Σταθοπούλου, 2008)

Τα άτομα των μορίων ακόμη και στη βασική ενεργειακή τους κατάσταση δεν παραμένουν ακίνητα αλλά εκτελούν κινήσεις δόνησης και περιστροφής. Κατά την ακτινοβόληση της ύλης με υπέρυθρη ακτινοβολία² τα μόρια εκείνα των οποίων η διπολική ροπή μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της δόνησης, απορροφούν την υπέρυθρη ακτινοβολία με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ενέργεια δόνησης και περιστροφής τους. Οι παρατηρούμενες δονήσεις διακρίνονται κατά κύριο λόγο σε δονήσεις τάσης (stretching) και κάμψης (bending).

Στην παρούσα μελέτη λήφθηκαν φάσματα στην περιοχή του μέσου υπερύθρου (MIR, 450 cm⁻¹- 4000 cm⁻¹). Η τετμημένη των φασμάτων είναι ο κυματαριθμός της ακτινοβολίας [ν (cm⁻¹)], ο οποίος ορίζεται ως το αντίστροφο του μήκους κύματος ενώ στον άξονα y προβάλλεται η διαπερατότητα (T), η οποία προκύπτει από το λόγο της έντασης της διερχόμενης ακτινοβολίας προς την προσπίπτουσα. Η απορρόφηση (A) του δείγματος προκύπτει από τη σχέση: $A = -\log T$.

Στα θετικά της μεθόδου, σύμφωνα με τους Hollund et al. (2012), περιλαμβάνονται η εξαγωγή πληροφοριών τόσο για τη χημική σύσταση όσο και για την κρυσταλλικότητα του απατίτη, η δυνατότητα μελέτης όχι μόνο της ανόργανης αλλά και της οργανικής ύλης και το χαμηλό κόστος. Ωστόσο, η μελέτη των μεταβολών της κρυσταλλικότητας κατά τη διαγένεση μέσω του υπολογισμού του δείκτη κρυστάλλωσης δε φέρει πλήρη αξιοπιστία καθώς η τιμή του δείκτη επηρεάζεται από την προετοιμασία του δείγματος, το βαθμό λειοτρίβισης, τις εφαρμοζόμενες πιέσεις για τη δημιουργία του pellet, τις αντιδράσεις στερεάς κατάστασης μεταξύ του δείγματος και του KBr, τη συγκέντρωση του δείγματος, τη διακριτική ικανότητα, και το όργανο μέτρησης

2.3.4.2 Προετοιμασία Δειγμάτων και Πειραματικές Διατάξεις

Το φασματοφωτόμετρο υπερύθρου που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Perkin- Elmer 840 του τομέα Οργανικής Χημείας του τμήματος Χημείας του Παν/μίου Αθηνών. Τα βασικά μέρη του οργάνου είναι η πηγή της IR ακτινοβολίας (συνήθως μία θερμαινόμενη κεραμική ράβδος), μία σειρά από καθρέπτες και πρίσματα, μία κυψελίδα NaCl με το δείγμα και ο ανιχνευτής. Για τη βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιείται συνήθως φιλμ πολυστυρολίου.

Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε στα παρακάτω στάδια:

² Υπέρυθρη ακτινοβολία (infrared-IR) είναι το τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που εκτείνεται πέρα από το ορατό και φτάνει μέχρι την περιοχή των μικροκυμάτων.

- Χρησιμοποιήθηκαν τα ήδη κονιοποιημένα για τη μέθοδο XRD δείγματα. Από κάθε δείγμα ζυγίστηκε ποσότητα μικρότερη του ενός mg με ποσότητα KBr ούτως ώστε το συνολικό δείγμα να έχει βάρος 0,2 g.
- Η ποσότητα του δείγματος με το βρωμιούχο κάλιο λειοτριβήθηκε χειροκίνητα σε αχάτινο γουδί για να ομογενοποιηθεί το δείγμα.
- Το δείγμα τοποθετήθηκε σε ειδικό υποδοχέα και έπειτα συμπίεστηκε υπό κενό σε υδραυλικό πιεστήριο δεχόμενο πίεση δέκα τόνων (Vacuum Pump V-700 Buchi). Με τη διαδικασία αυτή το δείγμα από σκόνη μετατράπηκε σε διαφανές δισκίο (pellet).
- Τέλος τοποθετήθηκε στο όργανο, στην πορεία της υπέρυθρης ακτινοβολίας και λήφθηκαν τα φάσματα MIR με διακριτική ικανότητα 4 cm^{-1} και δέκα σαρώσεις. Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για baseline correction και επισήμανση των κορυφών ήταν το Spectrum v5.0.1.

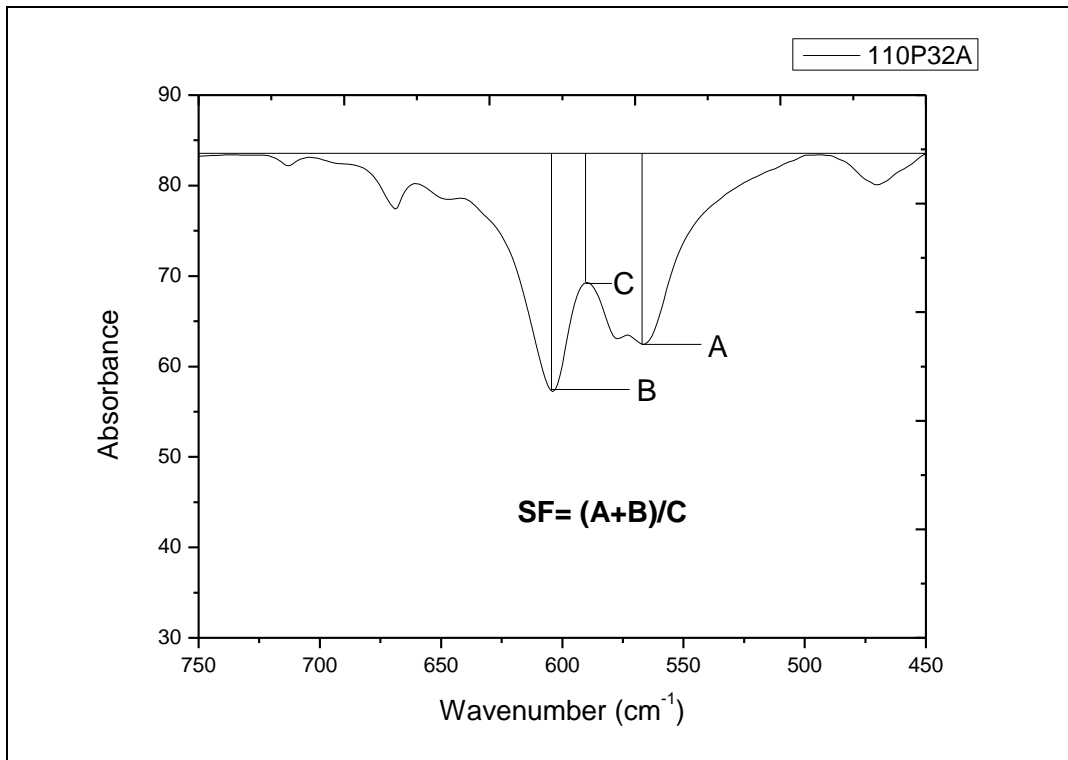
Για τη μεταφορά των δεδομένων στο πρόγραμμα Origin, με το οποίο έγινε η επεξεργασία και παρουσίαση όλων των φασμάτων της παρούσας εργασίας, τα αρχεία μας μετατράπηκαν σε αρχεία ASCII (xy αρχεία). Να σημειωθεί επίσης ότι το λογισμικό Spectrum v5.0.1 μας έδωσε τη δυνατότητα για λήψη και των φασμάτων δεύτερης παραγωγού, στα οποία- όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα της εργασίας- αυξάνεται η διακριτική ικανότητα των στενών κορυφών του φάσματος και απαλείφονται οι ευρείες.

2.3.4.3 Ορισμός Φασματοσκοπικών Δεικτών

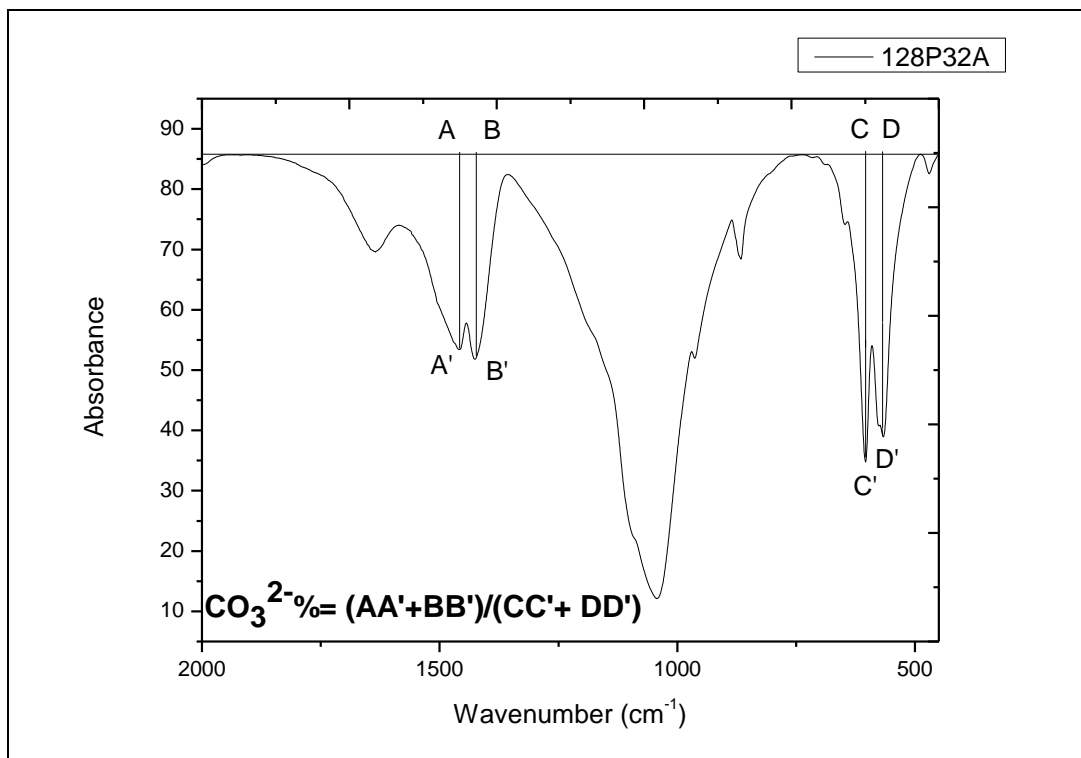
Με βάση τις εντάσεις χαρακτηριστικών κορυφών των φασμάτων απορρόφησης δύναται να υπολογιστούν διάφοροι δείκτες όπως ο δείκτης κρυστάλλωσης (IRSF), η σχετική περιεκτικότητα σε ανθρακικά, ο δείκτης BAI (B-carbonate/A-carbonate) και ο δείκτης PPI (phosphate peaks index). Στην παρούσα εργασία επιλέγεται ο υπολογισμός των δύο πρώτων δεικτών.

Ο δείκτης κρυστάλλωσης IRSF (Infrared Splitting Factor) χρησιμοποιείται για να περιγράψει την αύξηση της κρυσταλλικότητας του βιοαπατίτη κατά τη διαγένεση. Επίσης, αύξηση της κρυσταλλικότητας παρατηρείται σε περιπτώσεις καύσης των οστών (Stathopoulou et al., 2013). Ο υπολογισμός του γίνεται σύμφωνα με τους Weiner & Bar-Yosef (1990), όπως σημειώνεται στην εικ. 2.33. Συγκεκριμένα, η τιμή του προκύπτει από το λόγο του αθροίσματος των εντάσεων των κορυφών στους 567 cm^{-1} και 604 cm^{-1} ($\nu_4\text{PO}_4^{3-}$) προς το ύψος του μεταξύ τους υβώματος (590 cm^{-1}). Οι εντάσεις υπολογίζονται σε σχέση με μία γραμμή αναφοράς (450 cm^{-1} - 750 cm^{-1}).

Επιπροσθέτως, υπολογίστηκε ο λόγος των ανθρακικών ριζών προς τη φωσφορική C/P (% ποσοστό των ανθρακικών) με βάση τις εντάσεις των κορυφών $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$ και $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ ως προς μία γραμμή αναφοράς (450 cm^{-1} - 2000 cm^{-1}), όπως φαίνεται στην εικ. 2.34. Η μεθοδολογία αυτή αντλήθηκε από τους Puceat et al. (2004). Ωστόσο στη βιβλιογραφία (Fernandez-Jalvo et al., 2010; Thompson et al., 2011; Hollund et al., 2012) συναντάται και υπολογισμός με βάση τις εντάσεις των κορυφών $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$ και $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$.



Εικόνα 2.33: Υπολογισμός δείκτη κρυστάλλωσης του βιοαπατίτη στο δείγμα 110P32A, σύμφωνα με τη μεθοδολογία των Weiner & Bar-Yosef, 1990.



Εικόνα 2.34: Υπολογισμός της περιεκτικότητας σε CO_3^{2-} στο δείγμα 128P32A, σύμφωνα με τους Rucsat et al., 2004.

2.3.5 Φασματοσκοπία Moessbauer (Guetlich et al., 2011; Δούβαλης; http://users.uoi.gr/nkourkou/Sn_mossbauer.pdf)

Η φασματοσκοπία Moessbauer (προς τιμήν του Rudolf Moessbauer που ανακάλυψε το φαινόμενο και τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ το 1962) είναι μία τεχνική υψηλής ευαισθησίας σε ενεργειακές μεταβολές, της τάξης των 10^{-8} eV, και μεγάλης διακριτικής ικανότητας ($\sim 10^{-12}$). Ως φαινόμενο Moessbauer ορίζεται ο πυρηνικός συντονισμός χωρίς ανάκρουση (recoilless) έπειτα από απορρόφηση ακτινοβολίας γ . Το ισότοπο που έχει μελετηθεί περισσότερο με την τεχνική αυτή είναι το ισότοπο ^{57}Fe , με αναλογία 2.14% στο συνήθη μεταλλικό σίδηρο (α - Fe). Η φασματοσκοπία Moessbauer ξεκίνησε ως πυρηνική τεχνική αλλά εξελίχθηκε σε μία έμμεση τεχνική για την εξαγωγή συμπερασμάτων για την ηλεκτρονική δομή του ατόμου ξεκινώντας από τον πυρήνα αυτού.

Κατά τη μετάβαση από μία διεγερμένη (excited state) σε μία βασική κατάσταση (ground state) και αντίστροφα, η πιθανότητα μετάβασης ως συνάρτηση της ενέργειας μετάβασης εκφράζεται ως μία φασματική γραμμή με μορφή Lorentz, συμμετρικά γύρω από την ενέργεια της πιο πιθανής μετάβασης (E_0). Στη διεγερμένη κατάσταση η ενέργεια δε λαμβάνει μία διακριτή τιμή αλλά εμπίπτει εντός ενός ενεργειακού εύρους ΔE . Το πλάτος της φασματικής γραμμής εξαρτάται από το μέσο χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης, οι οποίοι στην περίπτωση της φασματοσκοπίας Moessbauer λαμβάνουν τιμές από 10^{-6} s έως 10^{-11} s. Για την περίπτωση του ^{57}Fe η ενέργεια E_0 ($= E_e - E_g$) μεταξύ της πρώτης διεγερμένης και της βασικής κατάστασης ισούται με 14.4 keV.

Το φαινόμενο απορρόφησης πυρηνικού συντονισμού ακτίνων γ αναλύεται στην παρακάτω διαδικασία: Ένας πυρήνας μεταπίπτοντας από μία διεγερμένη στη βασική του κατάσταση εκπέμπει ένα σωματίδιο γ ενέργειας $E_0 = E_e - E_g$. Η κβαντισμένη αυτή ενέργεια δύναται να απορροφηθεί από πυρήνα ίδιου αριθμού πρωτονίων και ίδιου αριθμού νετρονίων προκαλώντας τη διέγερσή του. Ωστόσο για να γίνει απορρόφηση του φωτονίου από τον πυρήνα απαιτείται ενέργεια ίση με το άθροισμα της ενέργειας E_0 και της ενέργειας ανάκρουσης E_R , ούτως ώστε να αντισταθμιστεί η ανάκρουση που μεταδίδεται στον αρχικά αποδιεγειρόμενο πυρήνα. Για να επιτευχθεί αυτό απαιτείται η επικάλυψη των φασματικών γραμμών εκπομπής και απορρόφησης, το οποίο καθίσταται εφικτό μέσω του φαινομένου Doppler και τη σχετική κίνηση της πηγής ακτινοβολίας γ ως προς το δείγμα (καλείται απορροφητής) με τρόπο ώστε να μετατοπίζονται τα πυρηνικά ενεργειακά τους επίπεδα και να επέρχεται συντονισμός.

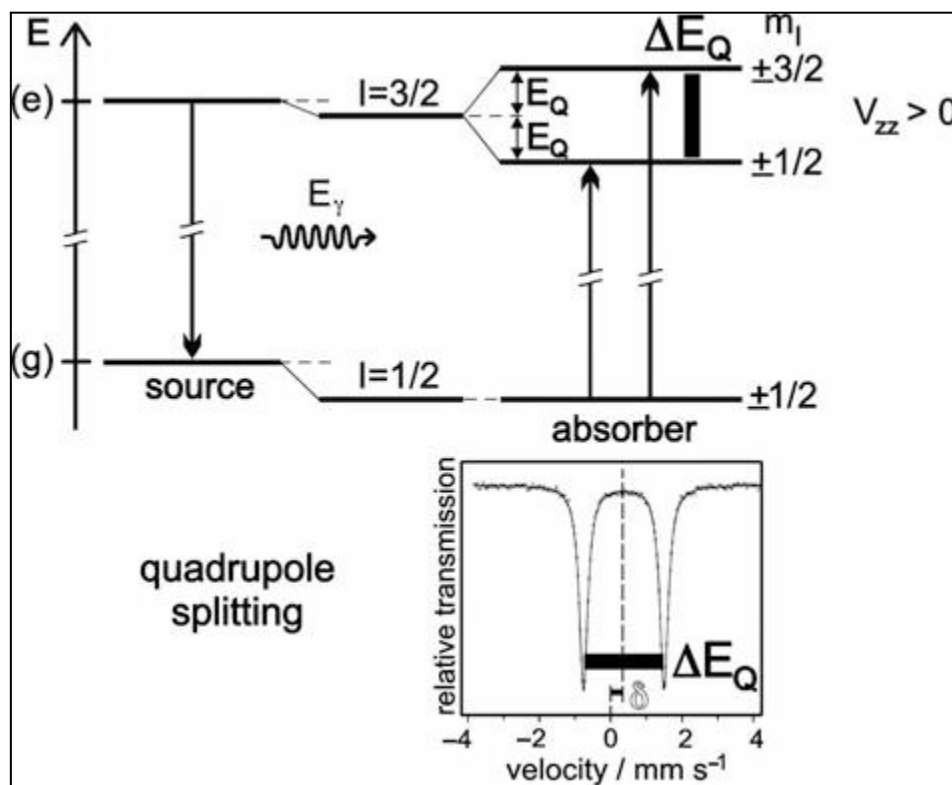
Η βασική διάταξη ενός φασματομέτρου Moessbauer περιλαμβάνει τα εξής μέρη:

- Την πηγή ακτινοβολίας γ και συγκεκριμένα το ισότοπο ^{57}Co , εμποτισμένο σε μήτρα Rh. Η αξιοποιούμενη μετάβαση είναι αυτή των 14,4 keV μεταξύ της πρώτης διεγερμένης (3/2) και της βασικής κατάστασης (1/2) του ^{57}Fe . Για την προστασία του χρήστη χρησιμοποιούνται φύλλα μολύβδου πάχους μισού εκατοστού.
- Το σύστημα κίνησης της πηγής (drive) και έναν ηλεκτρονικό μετατροπέα.
- Το σύστημα συλλογής και καταγραφής δεδομένων (multichannel analyzer- MCA).
- Το σύστημα καταμέτρησης των κρούσεων.
- Περιφερειακά και βοηθητικά συστήματα όπως φούρνοι και κρυοστάτες για λήψη φασμάτων σε υψηλότερες ή χαμηλότερες θερμοκρασίες και εξωτερικό μαγνητικό πεδίο.

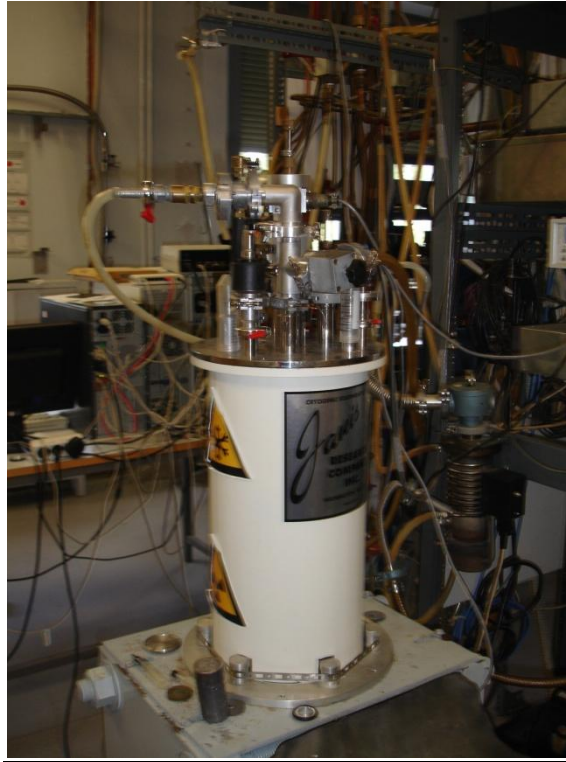
Για τη βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιείται ως υλικό αναφοράς ο μεταλλικός σίδηρος (α - Fe). Τα ζεύγη δεδομένων ταχύτητα πηγής - κρούσεις οδηγούνται τελικά σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή για την απεικόνιση του φάσματος και την επεξεργασία αυτού.

Το φάσμα Moessbauer έχει τη μορφή μίας τετραπολικής διπλέτας (quadrupole double) με άξονα x την ταχύτητα της πηγής (mm/s) και άξονα y τη σχετική απορρόφηση. Τα μεγέθη που υπολογίζονται από το φάσμα Moessbauer είναι η ισομερής μετατόπιση (isomer shift, δ) και η τετραπολική αλληλεπίδραση (quadrupole splitting, ΔE_Q). Η ισομερής μετατόπιση είναι ανάλογη της διαφοράς στην πυκνότητα ηλεκτρονιακού φορτίου του πυρήνα στην πηγή και τον απορροφητή και, όπως σημειώνεται στην εικ. 2.35, αντιστοιχεί στη μεσοκάθετο της τετραπολικής διπλέτας. Κατά τον προσδιορισμό της τιμής της απαιτείται η αναφορά στις συνθήκες θερμοκρασίας (θερμοκρασία δωματίου- RT ή συνθήκες υγρού αζώτου) και το υλικό αναφοράς (α - Fe). Σχετικά με την πυκνότητα των ηλεκτρονίων στον πυρήνα λαμβάνεται υπόψη η συμβολή μόνο των s τροχιακών. Η τετραπολική αλληλεπίδραση με τη σειρά της σχετίζεται με την ασυμμετρία του ηλεκτρονιακού φορτίου στον πυρήνα (λόγω σθένους ή πλέγματος).

Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας λήφθηκε το φάσμα Moessbauer ενός δείγματος απολιθωμένου οστού με τη διάταξη του εργαστηρίου φασματοσκοπίας Moessbauer του Ινστιτούτου Επιστήμης Υλικών στο Δημόκριτο (εικ. 2.36). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το ήδη κονιοποιημένο από την τεχνική XRD δείγμα σε ποσότητα τέτοια ώστε να καλύψει τον απαιτούμενο όγκο των $\sim 712 \text{ mm}^3$.



Εικόνα 2.35: Τετραπολικός διαχωρισμός της πρώτης διεγερμένης κατάστασης του ^{57}Fe και το προκύπτον φάσμα Moessbauer με εμφάνιση τετραπολικής αλληλεπίδρασης (ΔE_Q) και ισομερούς μετατόπισης (δ) (Guetlich et al., 2011).



Εικόνα 2.36: Τμήμα της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται στο εργαστήριο φασματοσκοπίας Moessbauer στον Δημόκριτο.

Κεφάλαιο 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)- Μικροανάλυση Ακτίνων-X (EDS)

3.1.1 Ποιοτική παρατήρηση δειγμάτων - Βασικά Ιστολογικά Χαρακτηριστικά και Μικροβιακή Δράση

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης χρησιμοποιήθηκε με αρχικό στόχο την ποιοτική παρατήρηση των δειγμάτων μας για τη μελέτη της ιστολογίας, του βαθμού διατήρησης της εσωτερικής μικρομορφολογίας και της επίδρασης της διαγένεσης σε αυτή, τη διερεύνηση πιθανής μικροβιακής δράσης καθώς και για τον εντοπισμό δευτερογενών ορυκτών φάσεων εντός των διαφόρων κοιλοτήτων των οστών. Για το λόγο αυτό, όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας, η ανάλυση έγινε με δευτερογενή ηλεκτρόνια σε θραύσματα των δειγμάτων επιμεταλλωμένα με Au. Εν συνεχεία, οι εντοπισθείσες δευτερογενείς ορυκτές φάσεις που παρουσίασαν ενδιαφέρον αναλύθηκαν ποιοτικά (καθότι η επιφάνεια των δειγμάτων ήταν ελεύθερη δηλαδή με ανάγλυφο και όχι στυλβωμένη) με μικροαναλυτή ακτίνων-X (EDS), με συνδυασμό δευτερογενών και οπισθοσκεδαζόμενων ηλεκτρονίων.

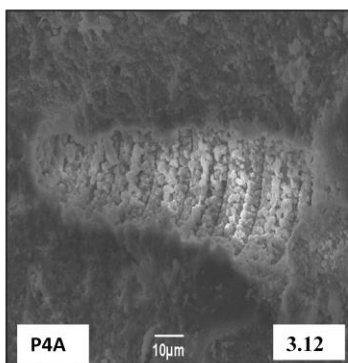
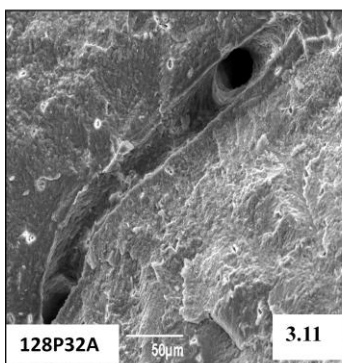
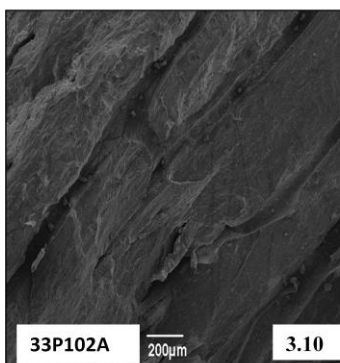
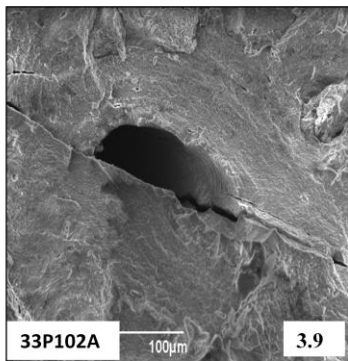
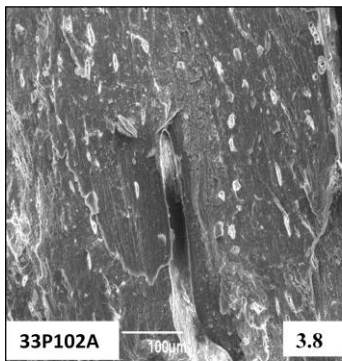
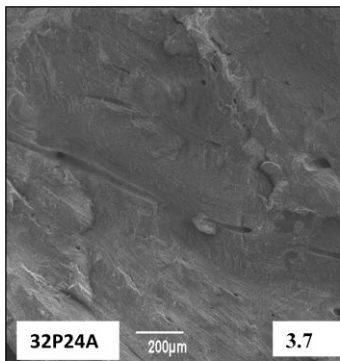
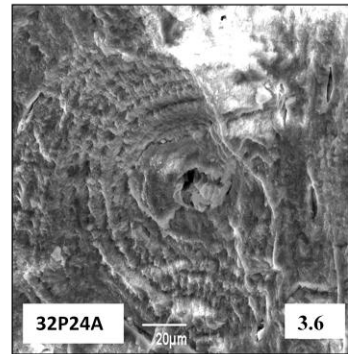
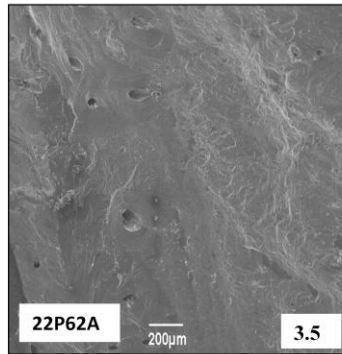
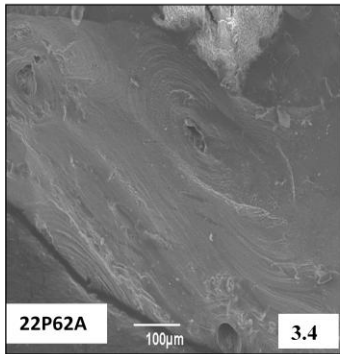
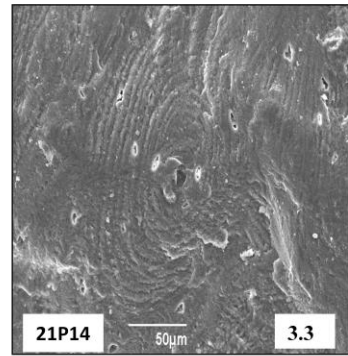
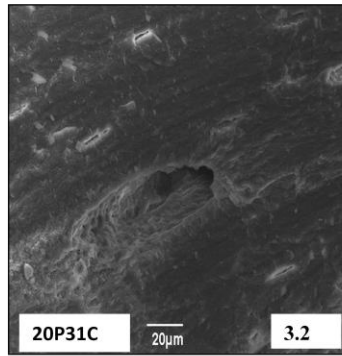
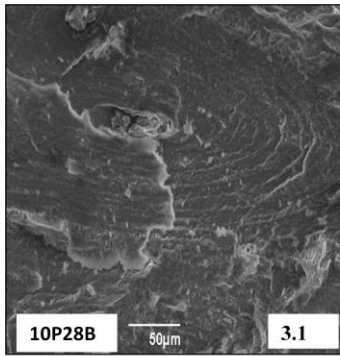
Σε γενικές γραμμές τα υπό μελέτη δείγματα παρουσιάζουν μέτρια διατήρηση της ιστολογίας τους σε σχέση με την εικόνα που δίνει το φρέσκο οστό. Βέβαια καλή είναι η διατήρηση στην περίπτωση των 21P14, 32P24A, 9P204 και κακή για τα 5P204, P4A. Σε αρκετές περιοχές του συμπαγούς των οστών παρατηρούνται πολύ καλά διατηρημένες οι λεπτομέρειες της εσωτερικής μικροδομής (χαβερσιανοί σωλήνες, ελάσματα, οστικές κοιλότητες). Άριστα διατηρημένοι οστεώνες παρατηρούνται στις εικόνες 3.1, 3.3, 3.8 σε εγκάρσια/ ελαφρώς πλάγια τομή ενώ στις εικόνες 3.7 και 3.11 εντοπίζεται διακλάδωση χαβερσιανών σωλήνων (αξονική-εγκάρσια τομή). Η εικόνα 3.5 επιτρέπει την παρατήρηση της σειράς ανάπτυξης των οστεώνων καθώς τα ελάσματα των πρωτογενών οστεώνων “κόβονται” από αυτά των δευτερογενών. Ακόμη, στην εικόνα 3.10 εντοπίζονται σε αξονική τομή χαβερσιανοί σωλήνες οι οποίοι επικοινωνούν με μία κάθετη προς αυτούς κοιλότητα που συνιστά έναν πιθανό σωλήνα Volkmann. Επιπλέον στο δείγμα 22P62A της εικόνας 3.4 διατηρούνται υπολειμματικά ελάσματα παλαιότερων οστεώνων (τα λεγόμενα ενδιάμεσα ελάσματα). Τα χαβερσιανά κανάλια εμφανίζονται στα δείγματά μας κενά ή πληρωμένα με κάποια δευτερογενή ορυκτή φάση ως έγκλεισμα. Στις εικόνες 3.12-3.14 παρατίθεται η χαρακτηριστική για το δείγμα P4A εικόνα για κάθε οπή-κοιλότητα-ρωγμή. Ποιοτικά εξετάζεται η ιδιαίτερη αυτή φάση στο κεφ. 3.1.2.

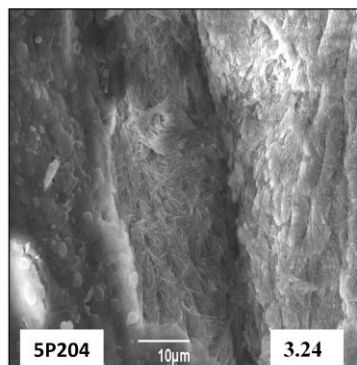
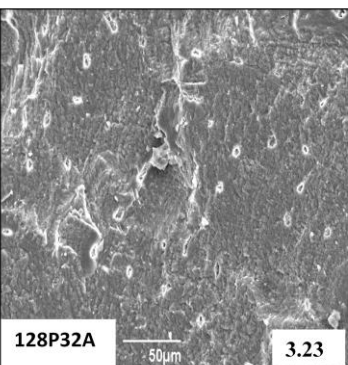
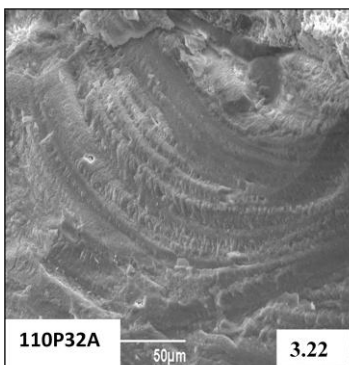
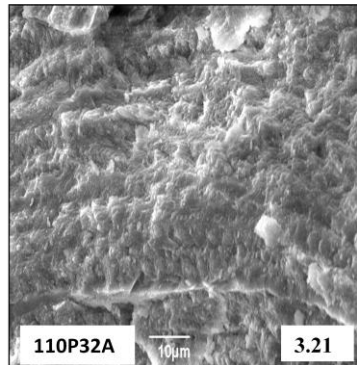
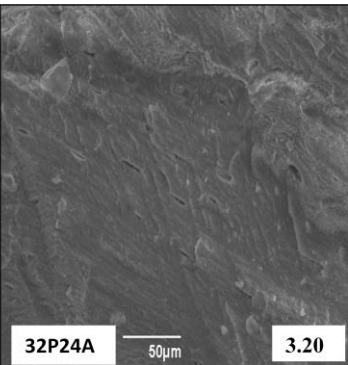
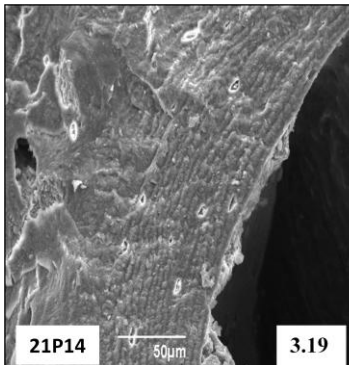
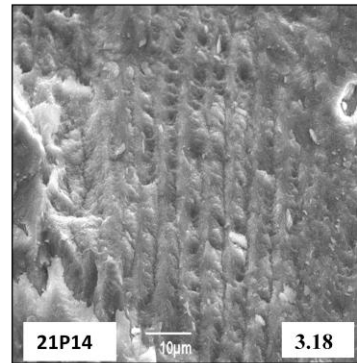
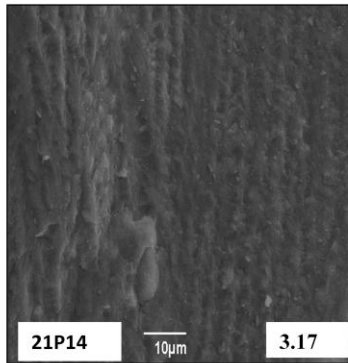
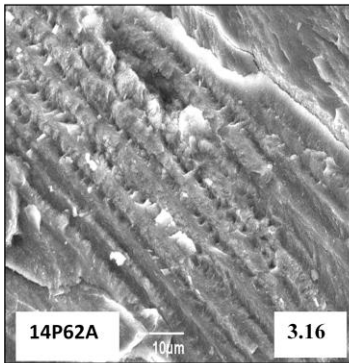
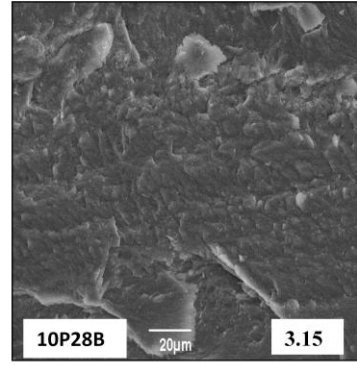
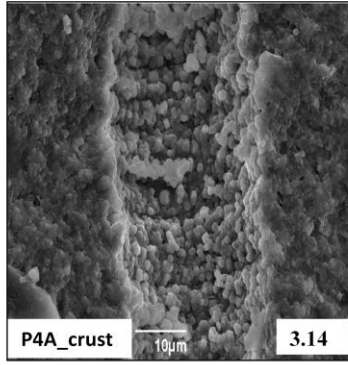
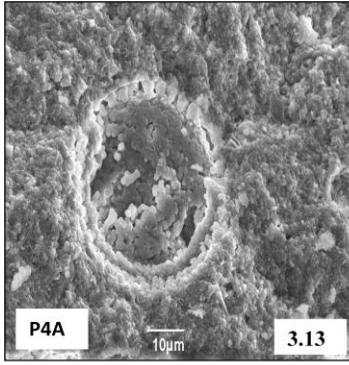
Στις εικόνες 3.15-3.18 και 3.21, 3.22 παρατηρούνται λεπτομέρειες των συγκεντρικών ελασμάτων που αναπτύσσονται περιφερειακά των χαβερσιανών καναλιών. Ειδικότερα στην εικόνα 3.16 γίνεται εμφανής η τυπική μορφολογία των ελασμάτων με τα δεμάτια πακεταρισμένων ινών κολλαγόνου, που δομούν το κάθε έλασμα μεμονωμένα. Η παρατήρηση των οστικών κοιλοτήτων γίνεται εφικτή στις εικόνες 3.2, 3.3, 3.8, 3.19, 3.20, 3.23 ενώ συγκριτικά με τις υπόλοιπες εικόνες είναι αντιληπτή η διαφορά μεγέθους με τα χαβερσιανά κανάλια.

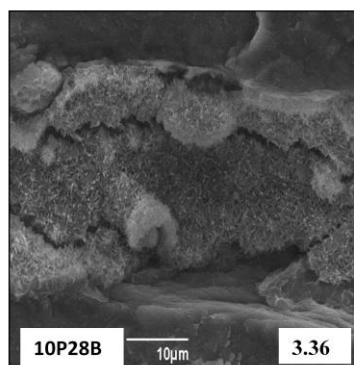
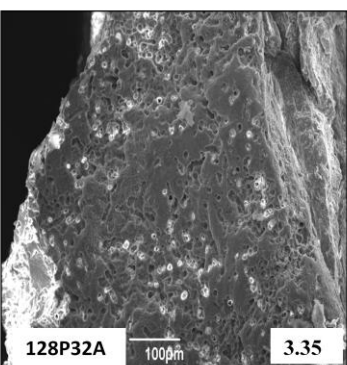
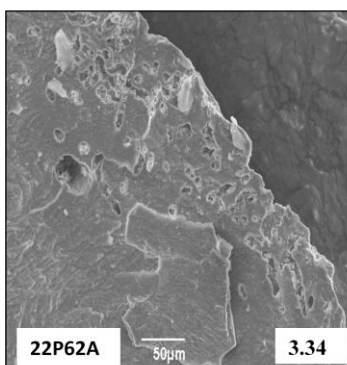
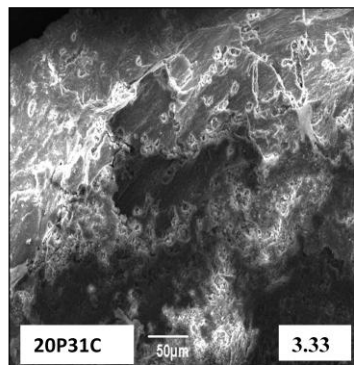
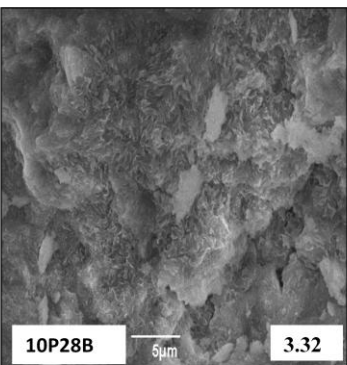
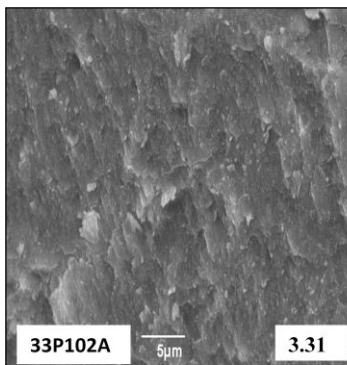
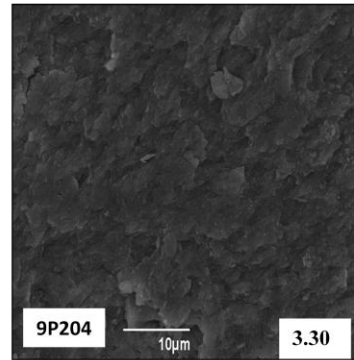
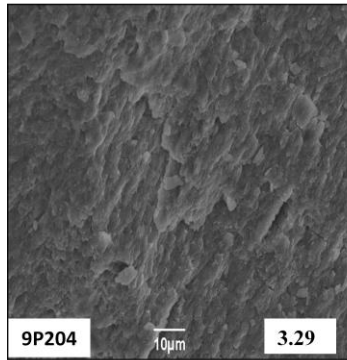
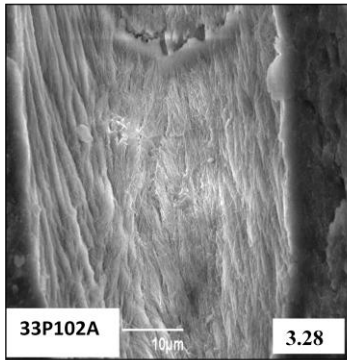
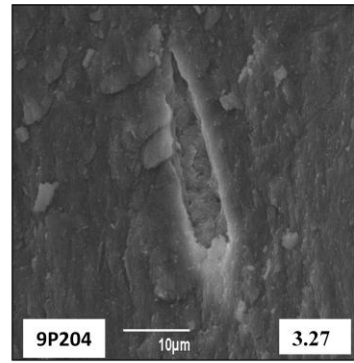
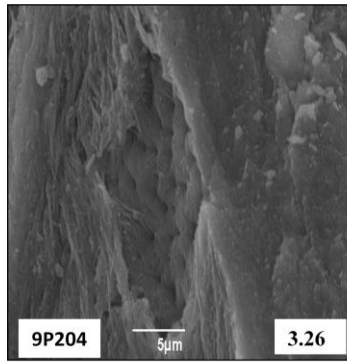
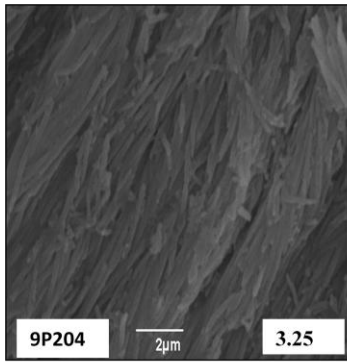
Οι εικόνες 3.24-3.28, που προέρχονται από τα δείγματα της λευκής φάσης, καθιστούν δυνατή την παρατήρηση των ορυκτοποιημένων ινών κολλαγόνου στο εσωτερικό τοίχωμα χαβερσιανών καναλιών και μίας οστικής κοιλότητας (3.27). Η τυπική μορφή αυτών παρατίθεται στις εικόνες 3.26-3.27.

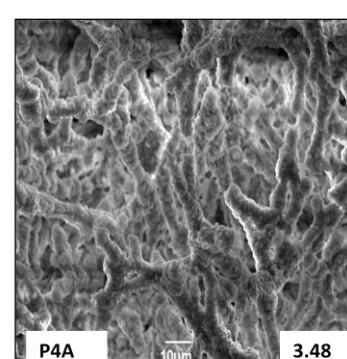
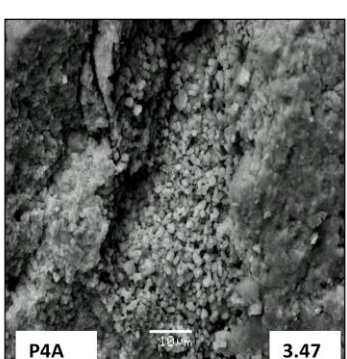
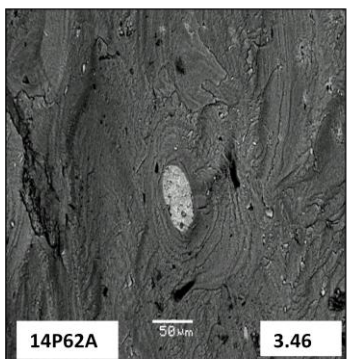
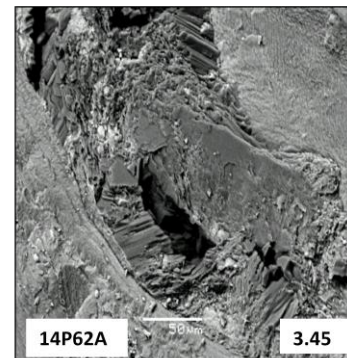
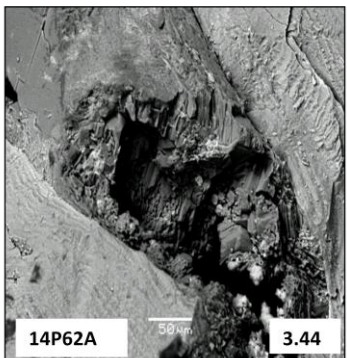
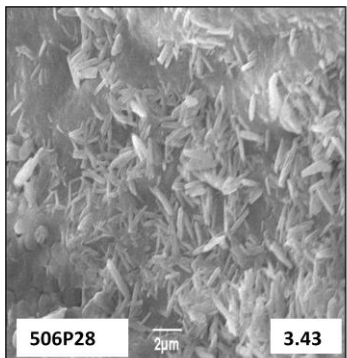
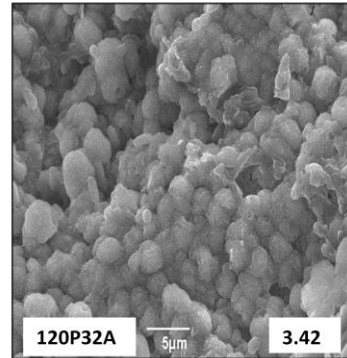
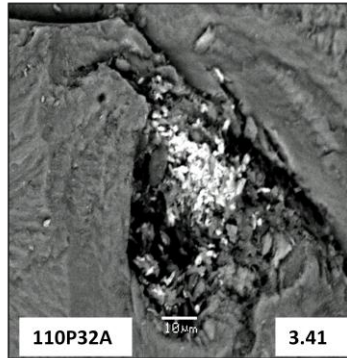
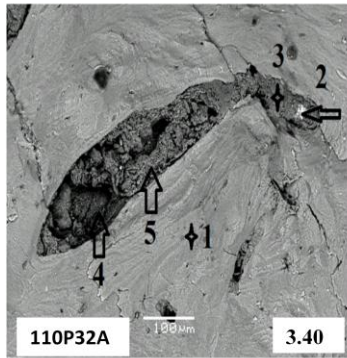
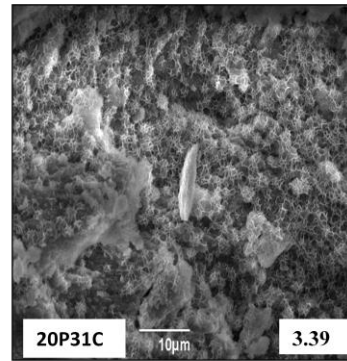
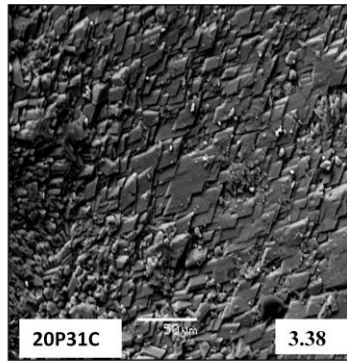
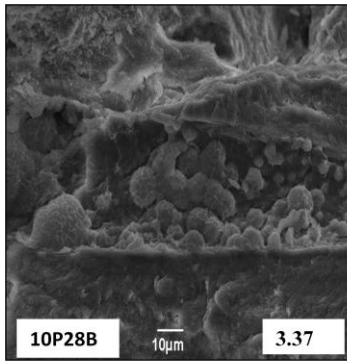
Μία ακόμη χρήσιμη παρατήρηση αφορά στη διαφοροποίηση της επιφάνειας του οστού από την υγρή του εικόνα- που ομοιάζει με αυτή του φρέσκου οστού και παρατηρείται στις εικόνες 3.29-3.31- και στη μετατροπή της σε ένα δίκτυο από οπές και στοές (τούνελ) όπως σημειώνεται στις εικόνες 3.33-3.35 (δείγματα 20P31C, 22P62A και 128P32A αντίστοιχα). Οι εν λόγω δομές, που καλύτερα φαίνονται στην εικόνα 3.35 του δείγματος 128P32A, οφείλονται στη δράση μικροοργανισμών που διατρύπουν τον οστίτη ιστό. Η διεργασία αυτή αποδίδεται διεθνώς με τους όρους μικροβιακή δράση ή MFD (microbial focal destruction). Ωστόσο, από τη σύγκριση με τα χαρακτηριστικά των εμφανίσεων της μικροβιακής δράσης στη βιβλιογραφία (Σταθοπούλου, 2008), καταλήγουμε ότι στα δείγματά μας αφενός η μικροβιακή δράση δεν είναι εκτεταμένη και αφετέρου δεν είναι τυπική όσον αφορά το σχήμα και μέγεθος των προκαλούμενων στοών. Αντιθέτως, περιορίζεται σε συγκεκριμένα σημεία των δειγμάτων χωρίς να επιδρά σημαντικά στη γενική εικόνα της εσωτερικής μικρομορφολογίας. Το γεγονός ότι η μικροβιακή δράση παρατηρείται- και μάλιστα σε πρωταρχικό στάδιο- μόνο σε τρία από τα δεκαπέντε υπό μελέτη δείγματα απολιθωμένων οστών αποτελεί μία ένδειξη για την απουσία από το τοπικό γεωχημικό περιβάλλον ταφής των ευνοϊκών για την επιβίωση και δράση των μικροοργανισμών συνθηκών. Σύμφωνα με τη Σταθοπούλου (2008) οι συνθήκες που αποτρέπουν την παρουσία μικροοργανισμών είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες, η αυξημένη ξηρότητα ή ένα υγρό ανοξικό περιβάλλον. Να σημειωθεί ακόμη ότι στην εικόνα 3.32 του δείγματος 10P28B παρατηρείται, εντός μίας κοιλότητας του οστού, μία επιφάνεια που σίγουρα δεν είναι υγής αλλά ούτε ομοιάζει με αυτές των εικόνων 3.33-3.35. Για το λόγο αυτό αποδίδεται με επιφύλαξη σε επιφάνεια προσβεβλημένη από MFD.

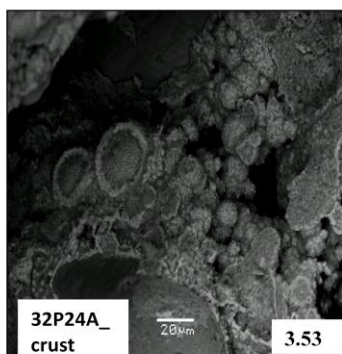
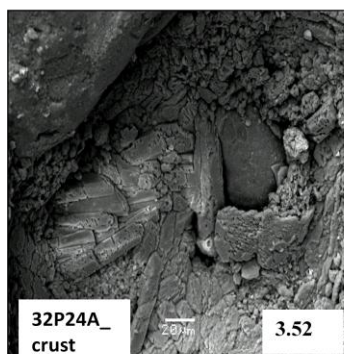
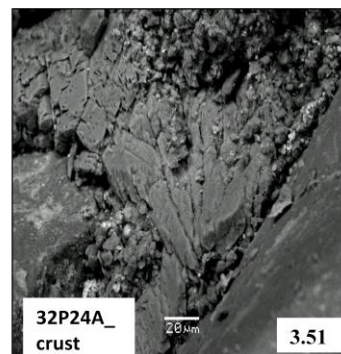
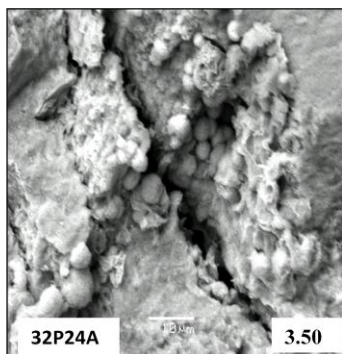
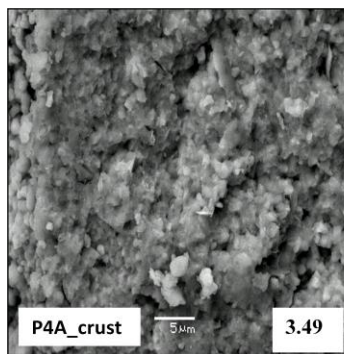
Αναφορικά με τον αρχικό στόχο της παρούσας εργασίας για την εξέταση της υπόθεσης ότι ο διαφορετικός χρωματισμός των οστών οφείλεται ή συνδέεται με διαφορετικές διαγενετικές αλλαγές μπορεί να σημειωθεί ότι δεν εντοπίζεται από την ποιοτική παρατήρηση των δειγμάτων κάποια ομαδοποίηση ή ισχυρή διαφοροποίηση των δειγμάτων ανά φάση ή μεταξύ των δειγμάτων της ίδιας θέσης. Αυτό που μπορεί να αναφερθεί είναι η παρατήρηση ορυκτοποιημένων ιών κολλαγόνου μόνο στα τρία δείγματα της λευκής φάσης (5P204, 9P204, 33P102A).











Εικόνες 3.1-3.8 : Εσωτερική μικρομορφολογία οστίτη ιστού από το Sahabi. 3.1-3.3 και 3.6, 3.8: μεμονωμένοι οστεώνες, 3.4: περισσότερα χαβερσιανά συστήματα και ενδιάμεσα ελάσματα, 3.5: σειρά ανάπτυξης οστεώνων, 3.7: χαβερσιανά κανάλια σε αξονική και εγκάρσια τομή, 3.9: οστεώνας τεμνόμενος από ρωγμή, 3.10: επικοινωνία χαβερσιανών σωλήνων μέσω πιθανού δικτύου Volkmann, 3.11: διακλάδωση χαβερσιανών καναλιών, 3.12-3.14: τυπική εικόνα οπών και κοιλοτήτων στο δείγμα P4A, 3.15, 3.16, 3.17, 3.18, 3.21, 3.22: λεπτομέρεια ελασμάτων, 3.19: ελάσματα και οστικές κοιλοότητες, 3.20, 3.23: οστικές κοιλοότητες, 3.24: ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού, 3.25, 3.28: ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού, 3.26, 3.27: τυπική μορφή ορυκτοποιημένων ινών κολλαγόνου στο τοίχωμα χαβερσιανού σωλήνα και οστικής κοιλοότητας αντίστοιχα, 3.29-3.31: τυπική εικόνα υγιούς οστού, 3.32: επιφάνεια του οστού πιθανώς προσβεβλημένη από μικροβιακή δράση, 3.33-3.35: επιφάνεια του οστού πιθανώς προσβεβλημένη από μικροβιακή δράση μη τυπικής, ωστόσο, μορφής και μη εκτεταμένης, 3.36-3.53: δευτερογενείς ορυκτές φάσεις. Συγκεκριμένα: 3.36, 3.37: φάση Fe, Si, Al, K. 3.38: κρούστα αποτελούμενη από κρυστάλλους $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. 3.39: φάση Ca, Si, Fe, Al, K. 3.40: χημικό καθίζημα S, Sr, Ba, Ca, Fe στη θέση 2, μείγμα ασβεστίτη και αργιλικών στη θέση 3 και ασβεστίτη με εγκλείσματα σιδήρου στα σημεία 4, 5. 3.41: ομοίως με το σημείο 2 της 3.40. 3.42: φάση Ca, P, Al, Si, Na. 3.43: κρύσταλλοι σελεστίνη (SrSO_4) εντός χαβερσιανού σωλήνα. 3.44, 3.45: κρύσταλλοι γύψου. 3.46: φάση Fe, O στο εσωτερικό χαβερσιανού καναλιού. 3.47: Χαρακτηριστική εικόνα οπών του δείγματος P4A, που όμως δε διαφοροποιείται σημαντικά από την κύρια σύσταση του βιοαπατίτη σύμφωνα με τις σημειακές ημι- ποσοτικές αναλύσεις με το EDS. Σημειακά εντοπίστηκαν κάποιοι κόκκοι ασβεστίτη καθώς και παρουσία Fe. 3.48: δοκίδες του σπογγώδους οστού χημικά αποτελούμενες από Ca, P, Na. 3.49: κρούστα αποτελούμενη από Ca, P, Si, Na, Al, Mg, Fe, K. 3.50: προϊόν οξείδωσης του σιδήρου. 3.51, 3.52: κρούστα με κρυστάλλους γύψου. 3.53: φάση σιδήρου.

3.1.2 Δευτερογενείς Ορυκτές Φάσεις

Μετά την ποιοτική παρατήρηση των δειγμάτων και τον εντοπισμό δευτερογενών ορυκτών φάσεων που παρουσίασαν ενδιαφέρον και φάνηκαν να διαφοροποιούνται από τη χημική σύσταση του βιοαπατίτη, ακολούθησε η σημειακή ανάλυσή τους με την τεχνική SEM-EDX. Να σημειωθεί ακόμη μία φορά ότι πρόκειται για ποιοτικές σημειακές αναλύσεις σε θραύσματα των δειγμάτων μη στυλπνά. Με την τεχνική αυτή αναλύθηκαν επτά δείγματα οστού, δύο δείγματα κρούστας και ένα δείγμα στο οποίο δεν είχε γίνει διαχωρισμός οστίτη ιστού-κρούστας. Ακολουθεί η περιγραφή των φάσεων που αναλύθηκαν σε κάθε δείγμα.

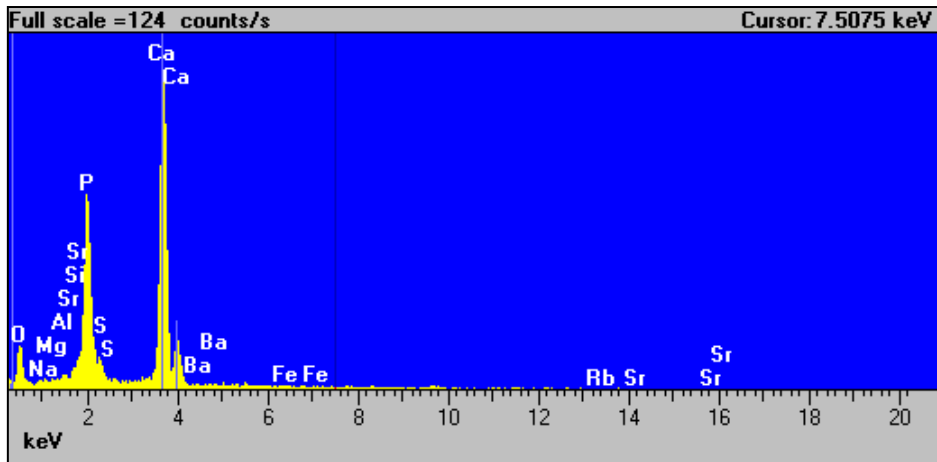
10P28B: Στο δείγμα αυτό εντοπίστηκαν εντός χαβερσιανών σωλήνων οι δευτερογενείς ορυκτές φάσεις των εικόνων 3.36, 3.37. Η πρώτη φάση (εικόνα 3.36) έδωσε κατά την ανάλυσή της υψηλά ποσοστά Fe (29.71%), Si (25.41%) και μικρότερα ποσοστά Al, K με την παρουσία όμως και Ca, P (Total: 78%).

Η δεύτερη φάση (εικόνα 3.37) είναι παρόμοια χημικά της πρώτης αλλά με υψηλότερο το ποσοστό του Si από αυτό του Fe (Si: 34.67%, Fe: 31.16%, Total: 89.91%).

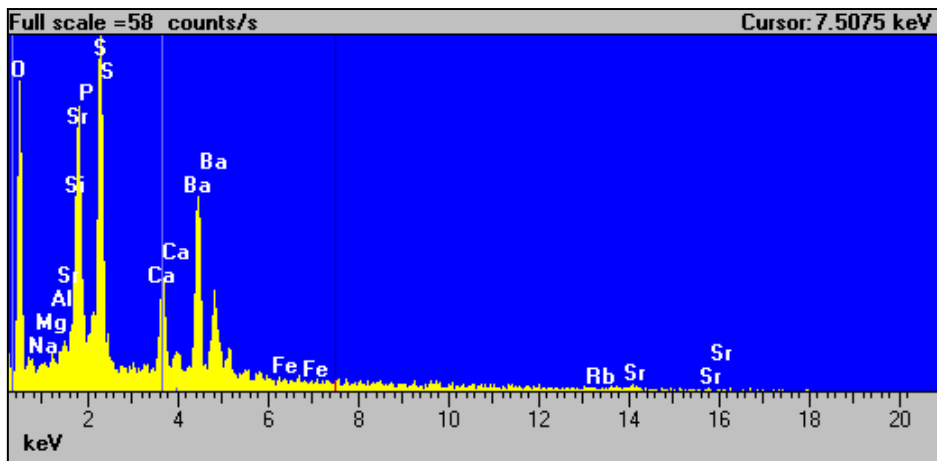
20P31C: Πρόκειται για το δείγμα στο οποίο δεν διαχωρίστηκε για την τεχνική αυτή ο οστίτης ιστός από την επιφανειακή κρούστα. Ανάλυση των κρυστάλλων της κρούστας, που φαίνονται στην εικόνα 3.38, έδειξε ότι συνιστούν κρυστάλλους γύψου (S: 60.05%, Ca: 34.62%, O: 23%, Si: 0.78%, Al: 0.05%, Fe: 0.04%, Total: 94,61%). Επίσης, στο λεπτόκοκκο υλικό της κρούστας εντοπίστηκε χαλαζίας.

Η φάση της εικόνας 3.39 είναι κυρίαρχη στο δείγμα και καλύπτει αρκετές από τις επιφάνειες του. Η ανάλυσή της έδωσε υψηλότερα ποσοστά Ca: 31.85%, Si: 24.06% (Total: 89.84%) με επιπλέον παρουσία σιδήρου, αργιλίου και καλίου.

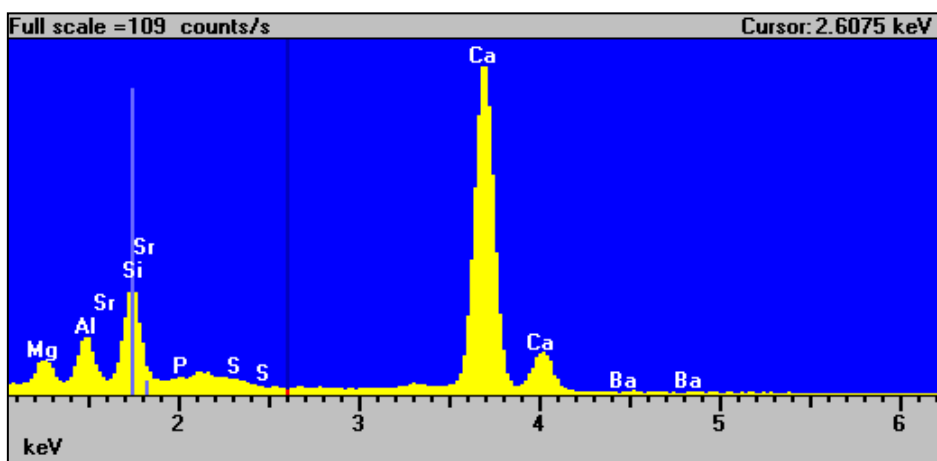
110P32A: Στο συγκεκριμένο δείγμα πραγματοποιήθηκαν ποιοτικές σημειακές αναλύσεις στα σημεία 1-5 της εικόνας 3.40. Τα σημεία 2-5 αντιπροσωπεύουν περιοχές ενός εγκλείσματος εντός ενός χαβερσιανού σωλήνα, των οποίων η ένταση της φωτεινότητας κατά την παρατήρηση με οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια διαφοροποιείται, γεγονός που αποτελεί ένδειξη για διαφοροποίηση και της χημικής σύστασης. Στο σημείο 1 αντιθέτως αναλύεται η επιφάνεια του οστίτη ιστού, εκτός της κοιλότητας, και όπως αναμενόταν προκύπτει η τυπική σύσταση του βιοαπατίτη (γραμμές εκπομπής Ca, P) με την παρουσία επιπλέον θείου, που χαρακτηρίζει τα δείγματα της παρούσας εργασίας, όπως φαίνεται στο φάσμα της εικόνας 3.54. Η ανάλυση στο σημείο 2 έδωσε το φάσμα της εικόνας 3.55, το οποίο χαρακτηρίζει ένα χημικό καθίζημα (chemical precipitate) αποτελούμενο από S, Sr, Ba, Ca, Fe. Η ίδια φάση εντοπίστηκε και στο έγκλεισμα της εικόνας 3.41. Στο σημείο 3 εντοπίστηκε, σύμφωνα με το φάσμα της εικόνας 3.56, μία φάση που συνιστά μείγμα ασβεστίτη και αργλικών ορυκτών (calcite-clays mixture) (γραμμές εκπομπής Ca, Si, Al, Mg). Οι αναλύσεις στα σημεία 4 και 5 αποδεικνύουν την ύπαρξη ίδιας φάσης, που αποτελεί είτε ανκερίτη είτε πιθανότερα ασβεστίτη με εγκλείσματα σιδήρου (calcite with iron inclusions) (φάσμα εικόνας 3.58). Να σημειωθεί ότι για την απόδοση των γραμμών εκπομπής των φασμάτων στα κατάλληλα στοιχεία συνέβαλλε ο πίνακας 3.1 καθώς οι γραμμές εκπομπής ακτίνων-X των στοιχείων που προκύπτουν από τις αναλύσεις των δειγμάτων μας εμπίπτουν σε μικρό ενεργειακό εύρος με αποτέλεσμα να απαιτείται προσοχή για τη σωστή απόδοση της κάθε μίας. Να διευκρινιστεί επίσης ότι στο φάσμα της εικόνας 3.55 εμφανίζεται το Rb διότι η $K\alpha_1$ γραμμή εκπομπής ακτίνων-X του Rb βρίσκεται πλησίον αυτής του Sr ($K\alpha_1$ Rb=13.395 eV, $K\alpha_1$ Sr= 14.165 eV). Ωστόσο λόγω της γραμμής εκπομπής $La_1= 1.806$ eV πιστοποιήθηκε η παρουσία του Sr στη συγκεκριμένη φάση και όχι του Rb (La_1 Rb= 1.694 eV).



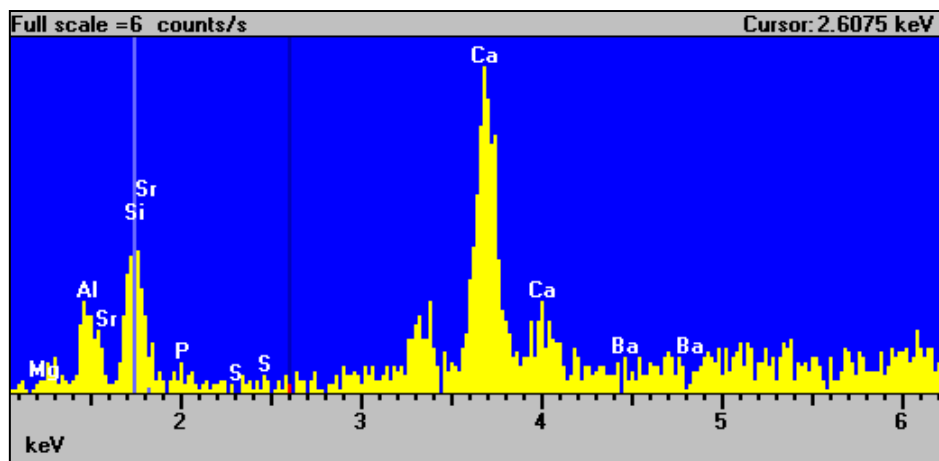
Εικόνα 3.54: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 1 της εικόνας 3.40.



Εικόνα 3.55: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 2 της εικόνας 3.40. Αντίστοιχο φάσμα πρόεκυψε και κατά την ανάλυση της φάσης που φαίνεται στην εικόνα 3.41.



Εικόνα 3.56: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 3 της εικόνας 3.40.



Εικόνα 3.57: Φάσμα εκπομπής ακτίνων-X που λήφθηκε με το SEM-EDS έπειτα από ανάλυση στο σημείο 4 της εικόνας 3.40. Αντιπροσωπευτικό και για την ανάλυση στο σημείο 5.

120P32A: Η φάση της εικόνας 3.42 παρατηρείται τόσο εντός μίας ευμεγέθους κοιλότητας του δείγματος όσο και γύρω από ένα χαβερσιανό κανάλι και πρόκειται για φάση που εκτός από Ca, P περιλαμβάνει Al, Si, Na.

506P28: Η φάση της εικόνας 3.43 εντοπίστηκε στο εσωτερικό χαβερσιανού σωλήνα και συνιστά κρυστάλλους σελεστίνη (SrSO₄) (S: 27.16%, Sr: 23.30%, O: 23%, Ca: 22.55%, P: 14.88%, Fe: 5.61%, Si: 5.06%, Al: 1.24, Ti: 0.5%, Mn: 0.23%, Total: 100.55%).

14P62A: Στο εν λόγω δείγμα εντοπίστηκαν κρύσταλλοι γύψου εντός ευμεγεθών χαβερσιανών σωλήνων (εικόνες 3.44, 3.45) καθώς και εγκλείσματα σιδήρου επίσης στο εσωτερικό χαβερσιανών καναλιών (εικόνα 3.46). Παρατηρούμε τη διαφοροποίηση της χημικής σύστασης λόγω παρουσίας φάσης σιδήρου στην εικόνα 3.46 από τη μεταβολή της έντασης της φωτεινότητας των περιοχών του δείγματος (με τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια τα βαρύτερα στοιχεία εμφανίζουν μεγαλύτερη φωτεινότητα).

P4A: Στο συγκεκριμένο δείγμα είναι χαρακτηριστική για κάθε κοιλότητα ή οπή η φάση των εικόνων 3.12-3.14 και 3.47. Η ανάλυση μεμονωμένων κόκκων έδωσε στις περισσότερες περιπτώσεις τη σύσταση του απατίτη όπως έχει διατηρηθεί στα δείγματά μας (Ca, P, S) και σε κάποιες περιπτώσεις συνοδευόταν από την παρουσία Fe όχι όμως ως ξεχωριστής δευτερογενούς ορυκτής φάσης. Προκύπτει λοιπόν το ερώτημα αν ο σίδηρος συμμετέχει στη δομή. Επίσης, εντοπίστηκαν κάποιοι κρύσταλλοι ασβεστίτη.

Στο ίδιο δείγμα ανήκει και η εικόνα 3.48, στην οποία παρατηρούμε πιθανώς τις δοκίδες του σπογγώδους οστού. Η ανάλυσή τους έδωσε Ca, P, S, Na.

P4A-crust: Δίπλα από την κοιλότητα της εικόνας απαντά η φάση της φωτογραφίας 3.49, η οποία δίνει την εικόνα δευτερογενών κόκκων που έχουν επικαθήσει στο οστό ως κρούστα. Η ανάλυση αυτής της φάσης έδωσε κατά κύριο λόγο Ca, P και σε μικρότερα ποσοστά Si, Na, Al, Mg, Fe, K.

32P24A: Η φάση της εικόνας 3.50 (οι σφαιρικές δομές) αποτελεί προϊόν οξείδωσης του σιδήρου (Ferrihydrite- FeOOH(OH)_x γH₂O), με παρουσία και Si.

32P24A-crust: Η κρούστα αυτή αποτελείται από χαλαζία (μεγάλοι κόκκοι της κρούστας) καθώς και από κρυστάλλους γύψου (εικόνες 3.51, 3.52). Ακόμη, στην εικόνα 3.53 οι σφαιρικές δομές αντιστοιχούν σε σιδηρούχα φάση με μικρότερα ποσοστά Al, Si, Na.

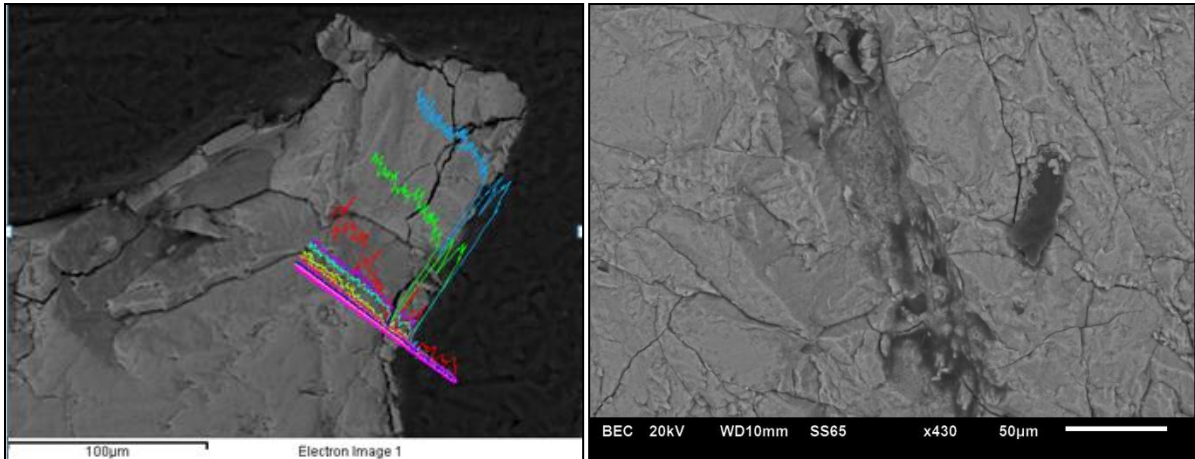
Πίνακας 3.1: Ενέργειες (eV) των γραμμών εκπομπής ακτίνων-X των θεμελιωδών στοιβάδων K, L για τα στοιχεία που εμφανίζονται κατά την ανάλυση με το EDS των δειγμάτων της παρούσας εργασίας (X-Ray Data Booklet 2011, Table 1-2).

Element	Ka ₁	Ka ₂	La ₁
Na	1.04	1.04	
Mg	1.253	1.253	
Al	1.486	1.486	
Si	1.739	1.739	
P	2.013	2.012	
S	2.307	2.306	
Cl	2.622	2.62	
K	3.313	3.311	
Ca	3.691	3.688	341.3
Mn	5.898	5.887	637.4
Fe	6.403	6.39	705
Sr	14.165	14.097	1.806
Ba	32.193	31.817	4.466
Au	68.803	66.989	9.713

3.1.3 Ημιποσοτική σημειακή χημική ανάλυση

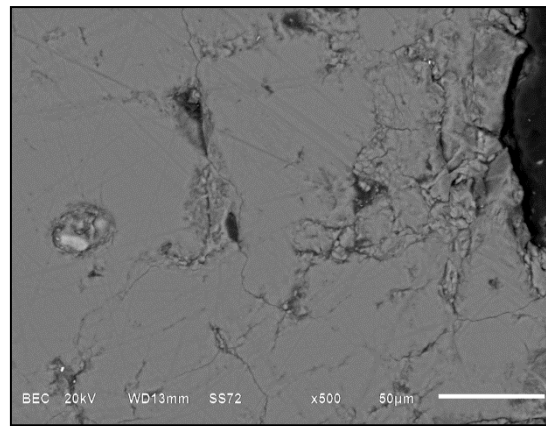
Σε έξι από τα υπό μελέτη δείγματα (9P204, 10P28B, 120P32A, 14P62A, P4A, 32P24A), τα οποία επιλέχθηκαν έτσι ώστε να αντιπροσωπεύεται η κάθε φάση, όπως είχαν αρχικά οριστεί (λευκή, γκρι, γκρι-καφέ, καφέ και δύο δείγματα οστών που καλύπτονται από κρούστες αντίστοιχα), πραγματοποιήθηκαν ημιποσοτικές αναλύσεις με τη μέθοδο SEM-EDS έπειτα από την παρασκευή στιλπνών τομών (μπλοκ εμποτισμένα σε ρητίνη). Η τεχνική αυτή αποδείχθηκε χρήσιμη καθώς παρείχε την πληροφορία για παρουσία στα δείγματά μας πέραν του Ca και του P, θείου και σιδήρου, που όπως γνωρίζουμε δεν απαντούν στο χημικό τύπο του βιοαπατίτη και συνεπώς έχουν εισέλθει είτε ως διεισδύσεις (δηλαδή αντικαθιστώντας κάποιο από τα κύρια στοιχεία της δομής) είτε ως εγκλείσματα. Εν συνεχεία τα έξι αυτά δείγματα αναλύθηκαν και με τη μέθοδο της ηλεκτρονικής μικροανάλυσης με WDS. Ακολουθεί η παράθεση για κάθε δείγμα στοιχειακών χαρτών (elemental maps), γραμμών (linescans) και φωτογραφιών.

9P204: Στο δείγμα αυτό πραγματοποιήθηκαν ημιποσοτικές σημειακές αναλύσεις κατά μήκος μίας γραμμής (όπως φαίνεται στην εικόνα 3.58) σε ένα άκρο του δείγματος, το οποίο κατά την παρατήρηση με BSE εμφανίζεται με ελαφρώς αυξημένη φωτεινότητα. Τα στοιχεία που απαντούν κατά σειρά μειούμενης συγκέντρωσης είναι τα: Ca, P, O, S, Na, F, Cl. Επίσης εντοπίζεται κοιλότητα του οστού που έχει πληρωθεί με σίδηρο (εικόνα 3.58 δεξιά).

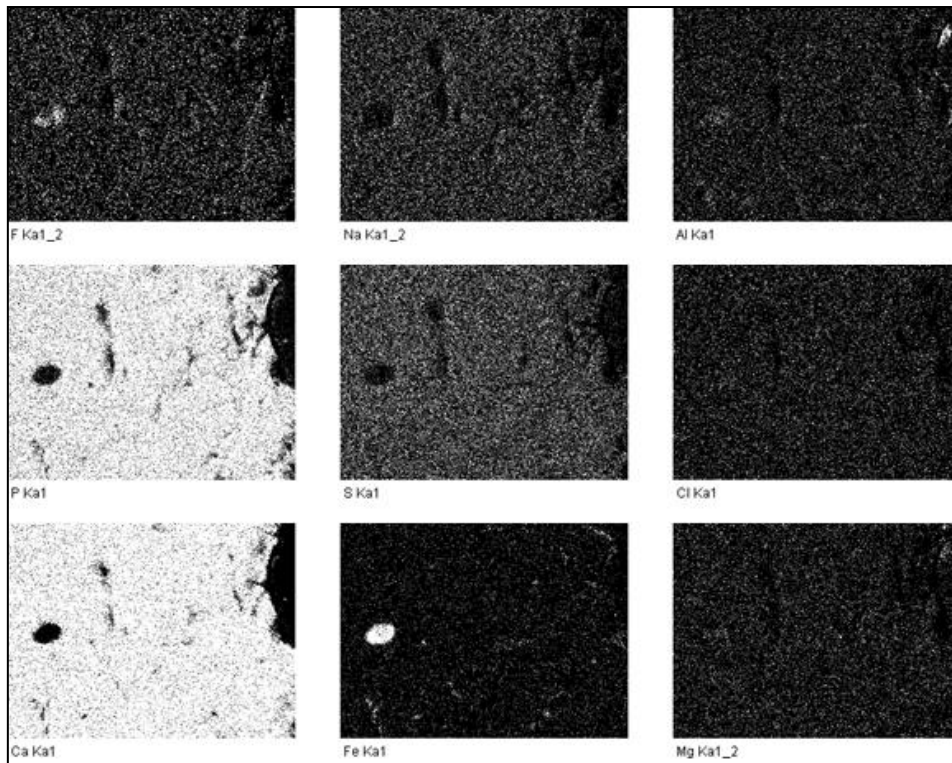


Εικόνα 3.58: Ημιοσοτική σημειακή ανάλυση κατά μήκος γραμμής (αριστερά) και κοιλότητα του οστού που έχει πληρωθεί με σίδηρο (δεξιά) στο δείγμα 9P204.

10P28B: Στην εικόνα 3.59 παρατίθεται ένα από τα περιθώρια του δείγματος, στο οποίο εντοπίζονται ρωγμές ενδεχομένως προκληθείσες διαγενετικά από την αλληλεπίδραση με τα κυκλοφορούντα υδατικά διαλύματα του εδάφους. Από τους χάρτες χωρικής κατανομής που λήφθηκαν για κάποια επιλεγέντα στοιχεία (εικόνα 3.60) προκύπτει ότι στη δομή του βιοαπατίτη συμμετέχει εκτός από τα κύρια στοιχεία (Ca, P) το S. Αντιθέτως το F και το Na εμφανίζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση κατά μήκος μίας ρωγμής, στοιχείο που αποτελεί ένδειξη για εμπλουτισμό των υδατικών διαλυμάτων στα στοιχεία αυτά. Ακόμη, στην ίδια εικόνα εντοπίζεται οπή του δείγματος που έχει πληρωθεί με Fe, F και σε μικρότερο ποσοστό Al, Mg.

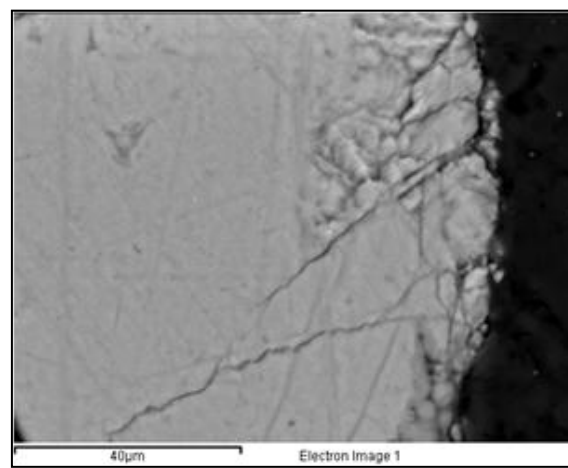


Εικόνα 3.59: Περιθώριο του δείγματος 10P28B, πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικών μεταβολών.

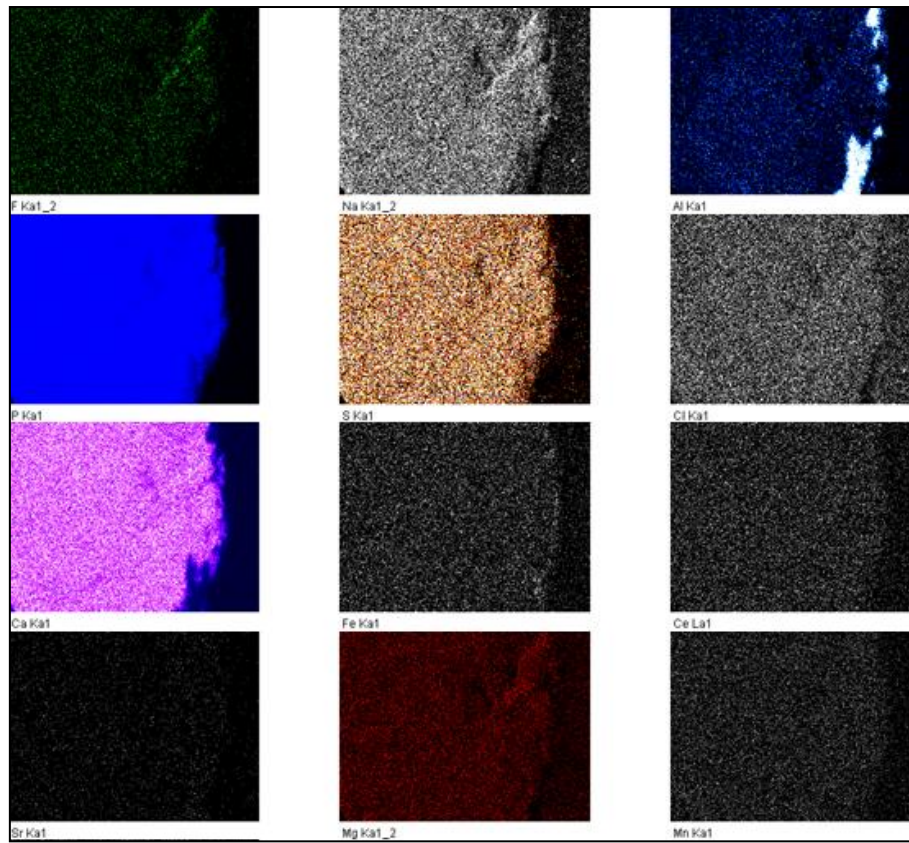


Εικόνα 3.60: Χάρτες χωρικής κατανομής των στοιχείων F, Na, Al, P, S, Cl, Ca, Fe, Mg στο άκρο του δείγματος 10P28B, που φαίνεται στην εικόνα 3.59.

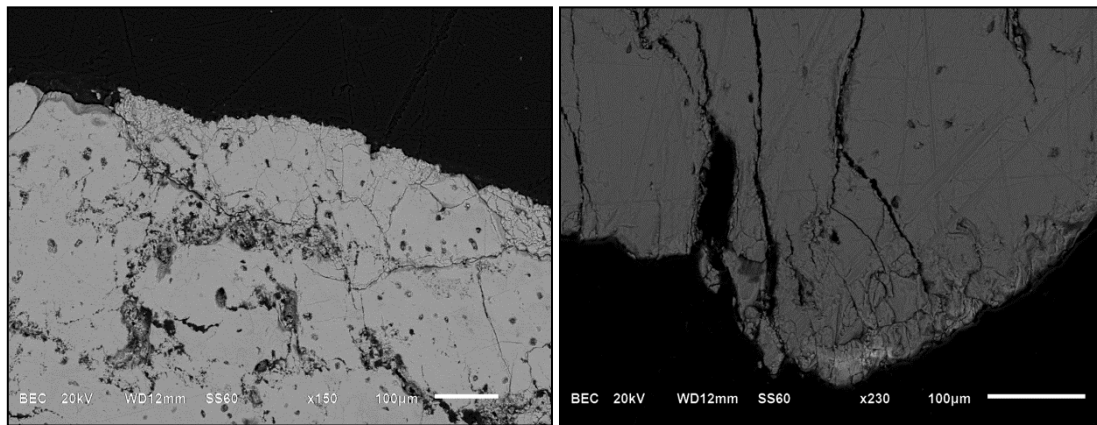
120P32A: Κατ' αντιστοιχία με το δείγμα 10P28B, εντοπίστηκε και στο δείγμα αυτό (εικόνα 3.61) ένα περιθώριο με έντονες ρωγμές, ενδεικτικές πιθανώς της αλληλεπίδρασης με τα υδατικά διαλύματα. Κατά μήκος μίας εκ των ρωγμών εμφανίζεται αυξημένη η συγκέντρωση F, Na όπως φαίνεται στην εικόνα 3.62. Από την ίδια εικόνα συνάγεται ότι στη δομή συμμετέχει εκτός από τα Ca, P το S και σε μικρότερο ποσοστό το Mg. Επιπλέον παρατηρείται κατά μήκος του περιθωρίου υψηλότερη συγκέντρωση Al, που προέρχεται ενδεχομένως από το ίζημα μέσα στο οποίο βρέθηκε ενταφιασμένο το εν λόγω δείγμα. Παρακολουθώντας το περιθώριο του δείγματος στο σύνολό του (συνδυάζοντας τις εικόνες 3.61 και 3.63) παρατηρούνται αλλαγές του πορώδους, που σχετίζονται με διαγενετικές μεταβολές, αλλά η σύσταση του οστίτη ιστού παραμένει ίδια.



Εικόνα 3.61: Περιθώριο του δείγματος 120P32A, πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικών μεταβολών.

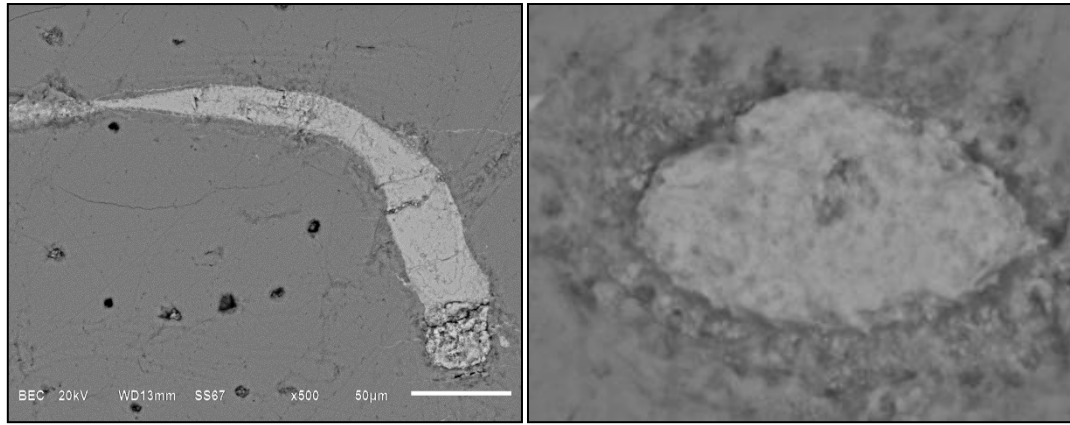


Εικόνα 3.62: Χάρτες χωρικής κατανομής των στοιχείων F, Na, Al, P, S, Cl, Ca, Fe, Ce, Sr, Mg, Mn στο περιθώριο του δείγματος 120P32A που φαίνεται στην εικόνα 3.61. Η χρήση χρωμάτων για τα στοιχεία που συμμετέχουν στη σύσταση εξυπηρετεί την καλύτερη οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων μας. Τα υπόλοιπα στοιχεία (Ce, Sr, Mn) επιλέχθηκαν από εμάς πριν την ανάλυση για να διερευνηθεί η πιθανότητα παρουσία τους, που προκύπτει από τη βιβλιογραφία.



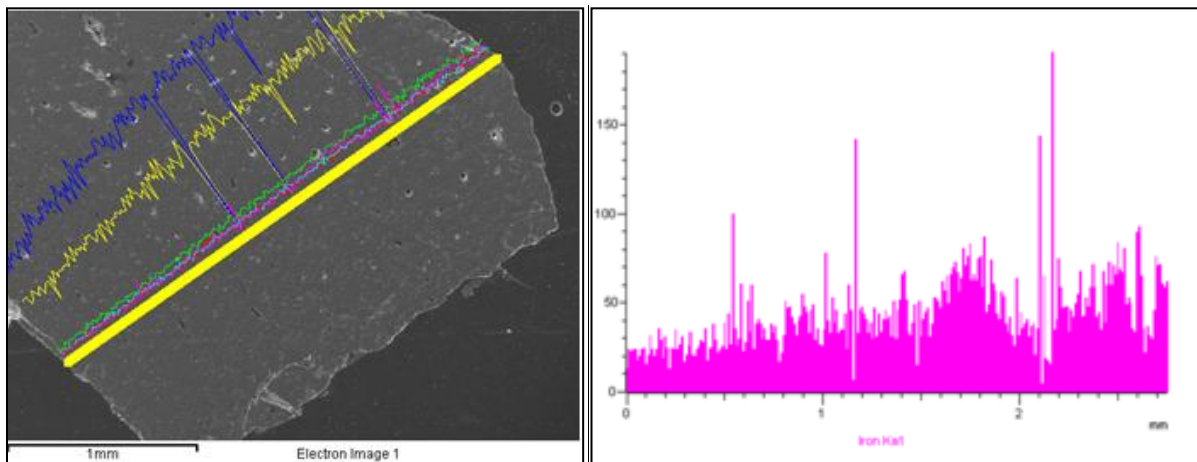
Εικόνα 3.63: Σημεία κατά μήκος του περιθωρίου του δείγματος 120P32A που παρουσιάζουν διαφορετικό πορώδες αλλά την ίδια χημική σύσταση.

14P62A: Στο συγκεκριμένο δείγμα είναι χαρακτηριστική η παρουσία φάσης Fe-O υπό μορφή εγκλείσματος εντός οπών και κοιλοτήτων όπως φαίνεται στην εικόνα 3.64. Σε άλλη οπή του δείγματος βρέθηκαν κόκκοι χαλαζία και ασβεστίτη.



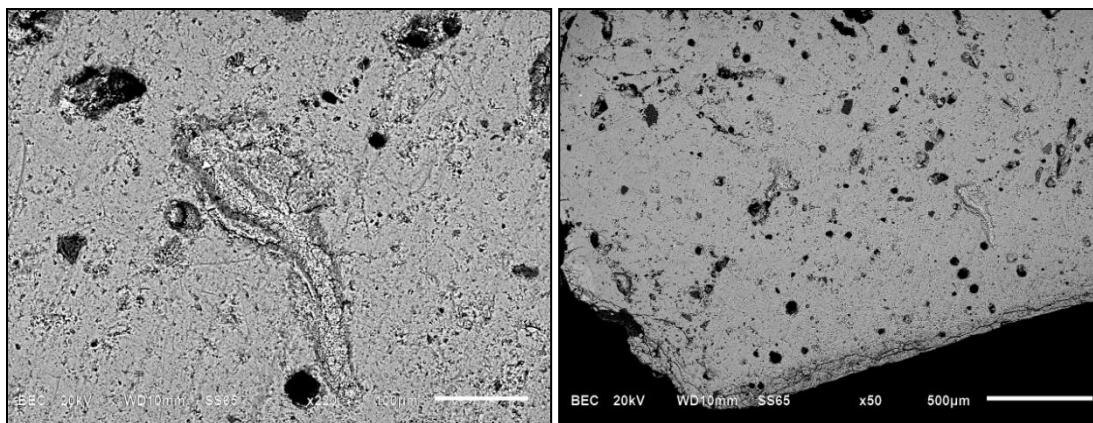
Εικόνα 3.64: Οπές του δείγματος 14P62A που έχουν πληρωθεί με φάση Fe-O.

32P24A: Στο δείγμα αυτό πραγματοποιήθηκαν ημιποσοτικές σημειακές αναλύσεις κατά μήκος δύο παράλληλων μεταξύ τους γραμμών, καθεμία από τις οποίες εκτεινόταν σε όλο το πλάτος του δείγματος (εικόνα 3.65-αριστερά φαίνεται μία εκ των δύο linescans). Τα χημικά στοιχεία που εντοπίστηκαν είναι Ca, P, S, Na, Fe, Cl. Όσον αφορά το Fe παρατηρούμε αυξημένες συγκεντρώσεις σε συγκεκριμένα σημεία, όπως απεικονίζεται στην εικόνα 3.65 (δεξιά), που πιθανώς πρόκειται για κοιλότητες του οστού στις οποίες έχει εισχωρήσει ως έγκλεισμα.



Εικόνα 3.65: Ημιποσοτική σημειακή ανάλυση κατά μήκος γραμμής στο δείγμα 32P24A (αριστερά) και χάρτης κατανομής της συγκέντρωσης του Fe κατά μήκος της γραμμής (δεξιά).

P4A: Στην εικόνα 3.66 (δεξιά) παρατηρούνται αρκετές οπές του δείγματος P4A που έχουν πληρωθεί με βαρύτερα στοιχεία (αυξημένη φωτεινότητα) όπως η κοιλότητα στην αριστερή φωτογραφία της ίδιας εικόνας, η οποία αποτελείται από φάση σιδήρου. Επιπλέον σημειώνεται κατά μήκος του περιθωρίου του οστού (3.66 δεξιά φωτογραφία) αλλαγή του πορώδους σε σύγκριση με το συνολικό περιθώριο του δείγματος, η οποία αποτελεί ένδειξη διαγενετικών διαδικασιών.



Εικόνα 3.66: Κοιλότητα του δείγματος P4A που εγκλείει σιδηρούχα φάση (αριστερά) και περιθώριο του δείγματος πιθανώς ενδεικτικό διαγενετικής επίδρασης (δεξιά).

3.2 Ηλεκτρονική Μικροανάλυση (Electron Probe Microanalysis- EPMA)

3.2.1 Αποτελέσματα αναλύσεων

Στις στιλπνές τομές των έξι δειγμάτων που αναλύθηκαν με τη μέθοδο της ηλεκτρονικής μικροανάλυσης με μικροαναλυτή διασποράς μήκους κύματος, πραγματοποιήθηκαν σημειακές αναλύσεις από την εσωτερική κοιλότητα των δειγμάτων προς την περιοχή του περιόστεου, όπως φαίνεται στις εικόνες 3.67-3.72. Να σημειωθεί ότι από τα δείγματα 32P24A και P4A αναλύθηκε οστίτης ιστός και όχι τμήμα της κρούστας. Με την τεχνική αυτή υπολογίστηκαν οι περιεκτικότητες (% κ.β.) των κύριων στοιχείων Ca, P, F, Cl, που υποδεικνύονται από τη χημική σύσταση του βιοαπατίτη και τις αναμενόμενες υποκαταστάσεις στη θέση των OH⁻, και των ολιγοστοιχείων Fe, S, τα οποία εντοπίστηκαν μέσω της ημι-ποσοτικής σημειακής χημικής ανάλυσης με το EDS. Στους πίνακες 3.3- 3.8 δίνονται οι αναλύσεις για κάθε δείγμα και στον πίνακα 3.9 παρατίθενται συγκεντρωτικά το εύρος τιμών για την περιεκτικότητα κάθε στοιχείου (ελάχιστη- μέγιστη τιμή) καθώς και η μέση τιμή. Να σημειωθεί ότι οι ολικές αναλύσεις δεν έχουν κανονικοποιηθεί στο 100% αλλά κυμαίνονται μεταξύ 75.98%- 88.14%, γεγονός που είναι αναμενόμενο στην περίπτωση των οστών λόγω των κοιλοτήτων και πάσης φύσεως κενών τους και της διαφορετικής περιεκτικότητας οργανικών συστατικών σε κάθε δείγμα. Επίσης, στα δείγματα 9P204, 12P32A, 14P62A και 32P24A πραγματοποιήθηκαν είκοσι σημειακές αναλύσεις (εικόνες 3.67, 3.69, 3.70, 3.71 αντίστοιχα) ενώ στο 10P28B τριάντα (εικ. 3.68) και στο P4A δεκατριείς (εικ. 3.72). Η απόσταση μεταξύ των διαδοχικών σημειακών αναλύσεων (distance) αλλά και η απόσταση κάθε σημείου από το αρχικό σημείο ανάλυσης (accumulated distance of the line) δίνονται επίσης στους πίνακες 3.3- 3.8.

Για τη μελέτη της γραμμικής κατανομής των στοιχείων κάθετα στην ανάπτυξη του συμπαγούς οστού, από την εσωτερική κοιλότητα έως το περιόστεο, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα των εικόνων 3.73-3.78. Στον άξονα x προβάλλεται η απόσταση κάθε σημείου ανάλυσης από την αρχή της γραμμής και στον άξονα y οι τιμές των στοιχείων κανονικοποιημένες ως προς την ολική ανάλυση (% elemental/total analysis). Όπως παρατηρείται στα έξι διαγράμματα τα προφίλ των στοιχείων Ca, P, S και Cl είναι ομοιόμορφα με ελάχιστες διακυμάνσεις των τιμών τους κατά μήκος της γραμμής. Το F παρουσιάζει στο δείγμα 9P204 ένα μέγιστο που συμπίπτει με μέγιστο του Ca και ελάχιστο του P και εμφανίζει

μικρές διακυμάνσεις στα δείγματα P4A και 32P24A. Ο Fe με τη σειρά του παρουσιάζει διακυμάνσεις των τιμών του στα δείγματα 14P62A και 32P24A, το οποίο είναι αναμενόμενο καθώς στα δύο αυτά δείγματα είναι αυξημένη η περιεκτικότητά του.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 3.9 ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες και χρήζουσες συζήτησης είναι οι υψηλές περιεκτικότητες φθορίου, θείου και σιδήρου σε σύγκριση με τις παρατηρούμενες σε μη απολιθωμένο υλικό. Όσον αφορά το F⁻ παρατηρούνται σε όλα τα δείγματα υψηλές συγκεντρώσεις που πλησιάζουν τη θεωρητικά μέγιστη περιεκτικότητα φθορίου στο απολιθωμένο οστό (3.8% κ.β., Σταθοπούλου, 2008). Η μεγαλύτερη μέση τιμή (3.71% κ.β.) σημειώνεται στο δείγμα 9P204 και η μικρότερη (2.56% κ.β.) στο 32P24A. Συνεπώς, καταλήγουμε ότι τα δείγματα μας λόγω της διαγένεσης έχουν διατηρηθεί ως φθοριοαπατίτες έπειτα από την αντικατάσταση των OH⁻ από F⁻. Το συμπέρασμα αυτό συμφωνεί, όπως θα φανεί παρακάτω, και με τα αποτελέσματα της μεθόδου Rietveld.

Το θείο εμφανίζει υψηλές συγκεντρώσεις, της τάξης του 3.93% κ.β., με τη μέγιστη μέση τιμή (4.71% κ.β.) να παρατηρείται στο δείγμα 9P204 και την ελάχιστη (2.99% κ.β.) στο P4A. Η παρουσία του στοιχείου αυτού μπορεί να είναι υπό μορφή θεικών ανιόντων που αντικαθιστούν τη φωσφορική ρίζα στο πλέγμα του βιοαπατίτη ή να οφείλεται σε εγκλείσματα γύψου (CaSO₄·2H₂O), κρύσταλλοι της οποίας να μεν εντοπίστηκαν με το EDS μόνο στο δείγμα 32P24A από τα εν λόγω έξι δείγματα αλλά όπως θα δούμε παρακάτω η παρουσία της γύψου ως δευτερογενούς ορυκτής φάσης πιστοποιείται και από τα αποτελέσματα των μεθόδων XRD και FTIR.

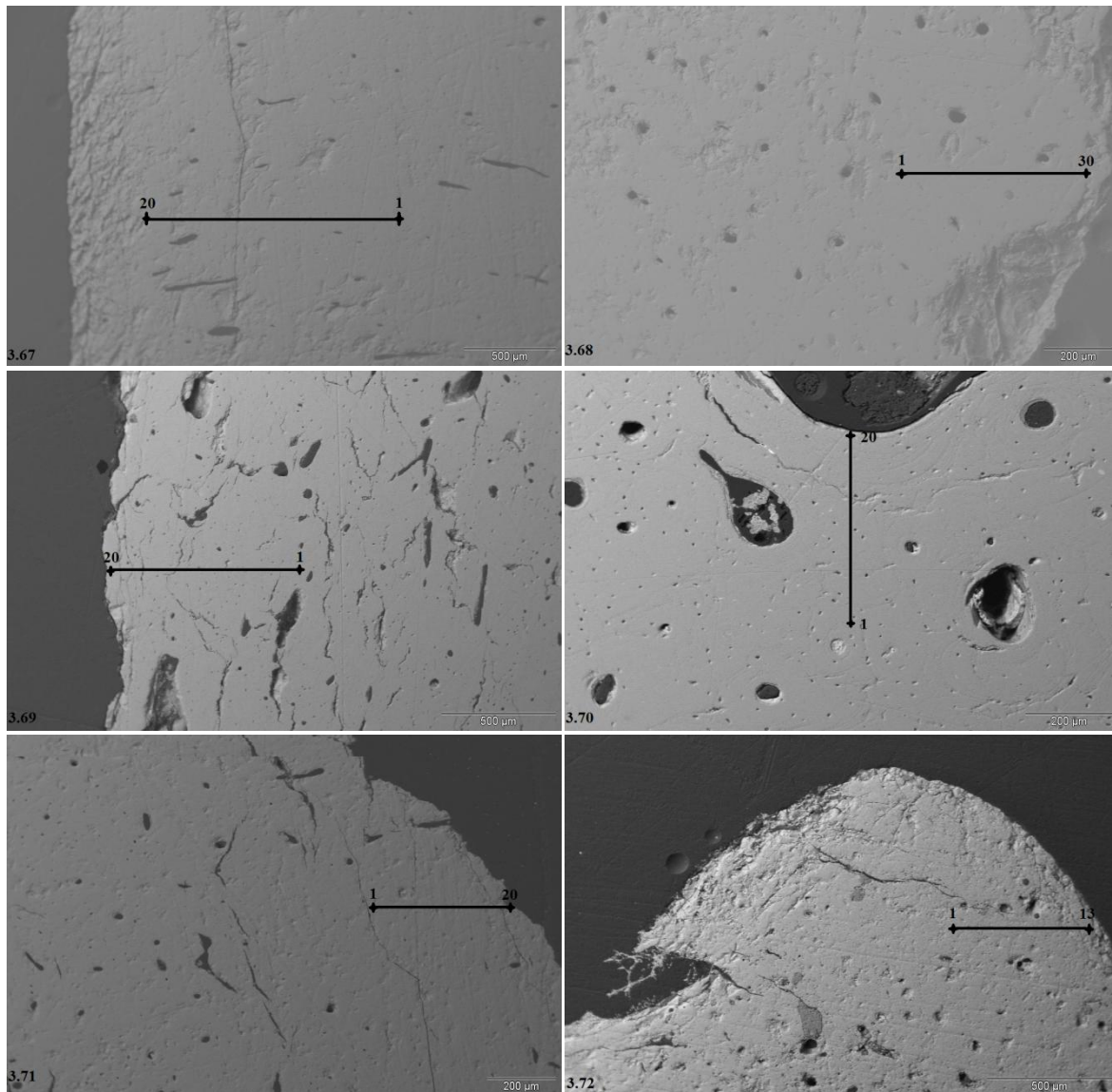
Υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου σημειώνονται μόνο στα δείγματα 14P62A (1.66% κ.β.) και 32P24A (2.63% κ.β.). Η παρουσία του μπορεί να είναι υπό μορφή εγκλεισμάτων ή διεϊσδυσης. Στην πρώτη περίπτωση ενδέχεται να πρόκειται για εγκλείσματα γκαϊτίτη (FeOOH) ή άμορφου κρυσταλλικού FeOOH ή αιματίτη (Fe₂O₃). Επιπλέον, σε συνδυασμό με τις υψηλές συγκεντρώσεις θείου, καθίσταται πιθανή η ύπαρξη εγκλεισμάτων σιδηροπυρίτη (FeS). Στη δεύτερη περίπτωση δισθενή κατιόντα σιδήρου αντικαθιστούν το ασβέστιο. Συνεπώς το κείμερο ερώτημα είναι αν ο σίδηρος συμμετέχει ή όχι στη δομή του βιοαπατίτη. Για το λόγο αυτό προχωρήσαμε στη μέθοδο φασματοσκοπίας Moessbauer στο δείγμα 32P24A.

3.2.2 Λόγοι Ca/P

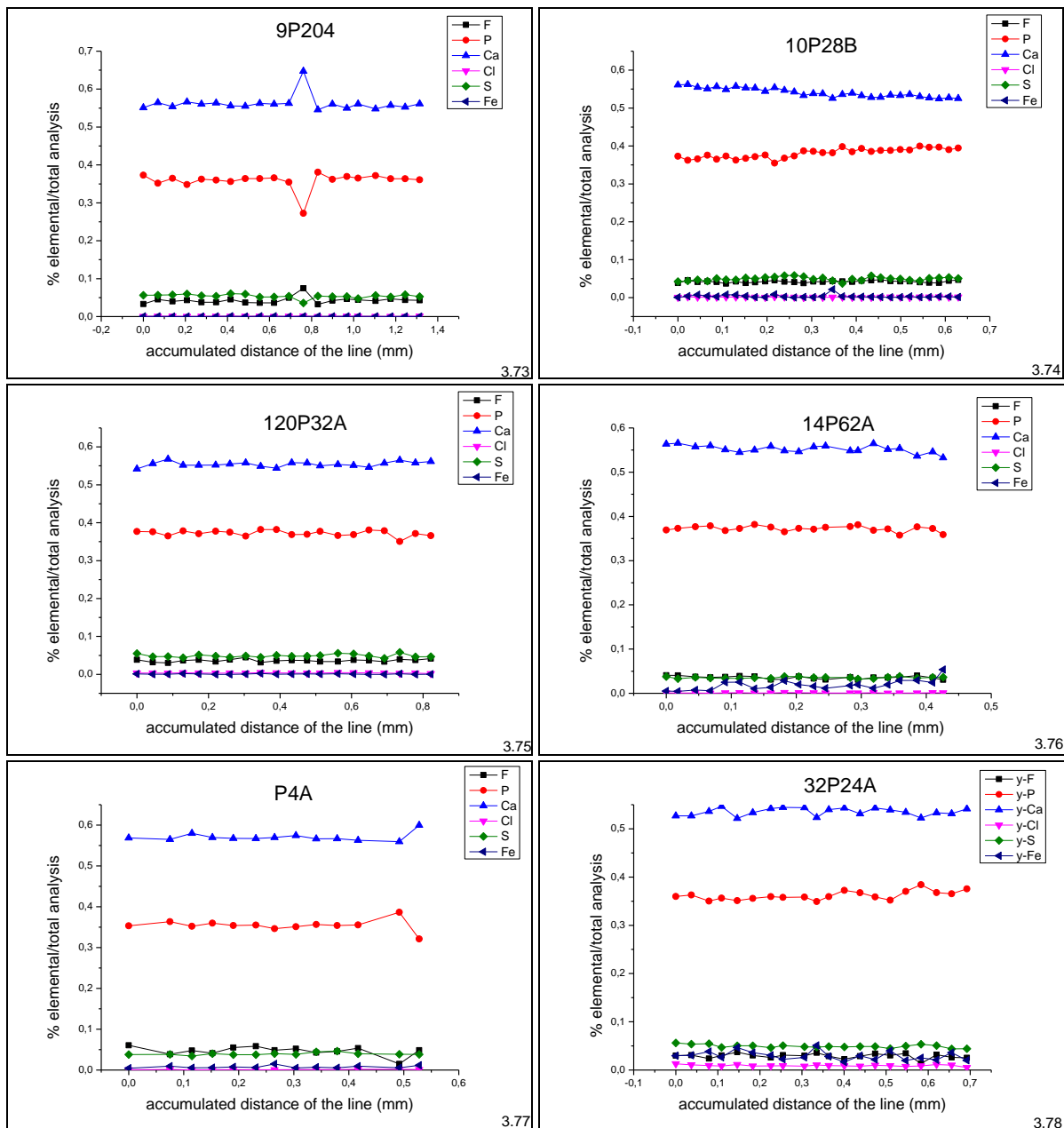
Από τη μέση τιμή της περιεκτικότητας των δύο κύριων στοιχείων του βιοαπατίτη, Ca, P, όπως αυτή προέκυψε από την ποσοτική μικροανάλυση των στιλπνών τομών, είναι δυνατός ο υπολογισμός της αναλογίας των περιεκτικότητων των ανωτέρω στοιχείων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Quattropani et al., 1999 cited in Σταθοπούλου, 2008) η θεωρητική τιμή του λόγου στο φρέσκο οστό είναι 2,14 και στον ορυκτό απατίτη 2,16. Στον πίνακα 3.2 παρατίθενται οι αντίστοιχοι λόγοι για τα έξι δείγματα. Παρατηρούμε ότι για τα δείγματα μας η % κ.β. αναλογία Ca/P είναι μικρότερη από τις θεωρητικές τιμές, γεγονός που υποδεικνύει απόπλυση του ασβεστίου και γενικότερη αποσάθρωση του οστού (White & Hannus, 1983 cited in Σταθοπούλου, 2008).

Πίνακας 3.2 : Μέσες τιμές των λόγων ασβεστίου προς φώσφορο για τα σκελετικά δείγματα υπό μελέτη, έτσι όπως υπολογίστηκαν από τις ποσοτικές χημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή.

Sample	Ca/P ratio (% w/t)
9P204	1,56
10P28B	1,42
120P32A	1,49
14P62A	1,48
32P24A	1,48
P4A	1,61



Εικόνες 3.67-3.72: Ποσοτικές σημειακές αναλύσεις από την εσωτερική κοιλότητα των δειγμάτων προς το περίοστεο, που πραγματοποιήθηκαν με WDS.



Εικόνες 3.73-3.78: Κατανομή της περιεκτικότητας των στοιχείων Ca, P, F, Cl, S, Fe κάθετα στην ανάπτυξη του συμπαγούς οστού, από την εσωτερική κοιλότητα έως το περίοσσο για τα έξι στυλνά δείγματα που αναλύθηκαν με EPMA. Οι τιμές των στοιχείων έχουν κανονικοποιηθεί ως προς την τιμή της ολικής ανάλυσης.

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 9P204 με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.68.

F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line (μm)
2.875	32.641	48.238	0.044	4.926	0.037	87.540	Line 1 9P204	0
3.971	30.984	49.709	0.065	4.997	0.032	88.071	Line 2	69
3.541	32.261	49.015	0.097	5.082	0.000	88.483	Line 3	139
3.811	30.584	49.716	0.044	5.249	0.000	87.789	Line 4	208

3.342	32.131	49.703	0.053	4.867	0.014	88.691	Line 5	277
3.304	31.519	49.383	0.065	4.706	0.018	87.589	Line 6	346
3.985	31.509	49.177	0.071	5.359	0.065	88.472	Line 7	415
3.274	32.240	49.147	0.076	5.246	0.000	88.587	Line 8	485
3.159	31.913	49.303	0.073	4.514	0.055	87.671	Line 9	554
3.196	32.254	49.394	0.018	4.567	0.055	88.134	Line 10	622
4.316	30.981	49.147	0.085	4.711	0.000	87.404	Line 11	692
5.657	20.588	48.936	0.117	2.690	0.023	75.603	Line 12	761
2.808	33.049	47.314	0.006	4.706	0.051	86.751	Line 13	830
3.681	31.579	48.898	0.044	4.595	0.032	87.269	Line 14	899
4.121	32.769	48.748	0.053	4.708	0.018	88.670	Line 15	968
3.826	31.592	48.522	0.056	4.129	0.032	86.533	Line 16	1.021
3.624	32.579	47.985	0.032	4.884	0.023	87.594	Line 17	1.104
4.161	32.247	49.411	0.021	4.593	0.000	88.676	Line 18	1.176
3.811	31.854	48.421	0.026	5.079	0.037	87.617	Line 19	1.245
3.728	31.528	49.037	0.094	4.589	0.000	87.385	Line 20	1.314

Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 10P28B με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.69.

F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line (μm)
3.490	33.916	51.038	0.053	3.865	0.079	90.960	Line 1 10P28B	0
3.989	31.384	48.720	0.149	3.795	0.321	86.644	Line 2	22
3.691	32.826	49.781	0.098	4.226	0.674	89.720	Line 3	44
3.725	32.780	48.078	0.104	3.805	0.375	87.276	Line 4	66
3.639	32.162	49.060	0.083	4.456	0.230	88.079	Line 5	87
3.190	32.441	47.690	0.127	4.107	0.682	86.865	Line 6	108
3.657	31.223	48.029	0.138	4.061	0.591	86.128	Line 7	130

3.324	31.846	47.989	0.112	4.524	0.330	86.700	Line 8	152
3.513	32.399	48.175	0.112	4.358	0.099	87.152	Line 9	173
3.790	33.442	48.394	0.066	4.736	0.081	88.898	Line 10	196
3.789	29.675	46.327	0.178	4.559	0.713	83.606	Line 11	217
3.590	31.488	46.838	0.112	4.963	0.158	85.612	Line 12	239
3.532	32.223	46.792	0.081	5.054	0.018	86.195	Line 13	261
3.367	34.137	47.032	0.043	4.918	0.122	88.191	Line 14	282
3.618	33.069	46.123	0.107	4.182	0.108	85.660	Line 15	304
3.565	32.691	45.989	0.069	4.451	0.248	85.496	Line 16	325
3.597	31.464	43.304	0.083	3.688	1.786	82.388	Line 17	347
3.578	33.383	44.980	0.104	3.131	0.248	83.894	Line 18	369
3.429	31.863	44.692	0.043	4.059	0.180	82.812	Line 19	391
3.600	32.024	43.377	0.063	3.692	0.185	81.411	Line 20	412
3.747	31.744	43.473	0.049	4.742	0.158	82.324	Line 21	434
3.849	31.393	42.725	0.104	4.266	0.131	80.824	Line 22	455
3.483	31.127	42.831	0.109	4.027	0.050	80.135	Line 23	477
3.458	31.647	43.220	0.075	4.010	0.086	81.023	Line 24	499
3.390	30.886	42.482	0.032	3.685	0.239	79.280	Line 25	520
3.235	31.853	42.295	0.112	3.541	0.081	79.730	Line 26	543
3.084	31.170	41.422	0.112	3.998	0.126	78.588	Line 27	564
3.121	31.988	42.296	0.138	4.204	0.203	80.605	Line 28	586
3.518	30.936	41.789	0.081	4.231	0.198	79.254	Line 29	608
3.696	31.168	41.499	0.107	3.995	0.121	79.006	Line 30	629

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 120P32A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.70.

P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line
------	-----	----	-----	-----	-------	---------	----------------------------------

							(μm)
33.564	48.277	0.296	4.902	0.093	89.055	Line 1 120P32A	0
32.848	48.580	0.298	4.092	0.019	87.382	Line 2	44
31.522	49.066	0.250	4.063	0.028	86.385	Line 3	87
32.933	48.026	0.354	3.811	0.148	87.025	Line 4	129
32.350	48.156	0.289	4.500	0.088	87.255	Line 5	173
33.646	49.195	0.265	4.296	0.000	89.077	Line 6	220
32.936	48.777	0.294	3.978	0.000	87.893	Line 7	260
31.424	48.063	0.279	4.176	0.056	86.159	Line 8	304
33.154	47.665	0.392	3.929	0.190	86.822	Line 9	346
33.669	47.934	0.324	4.417	0.037	88.138	Line 10	390
31.949	48.410	0.291	4.156	0.069	86.678	Line 11	433
32.090	48.447	0.267	4.209	0.088	86.880	Line 12	476
32.968	48.083	0.309	4.337	0.046	87.372	Line 13	512
31.605	47.788	0.414	4.825	0.120	86.334	Line 14	562
31.760	47.516	0.361	4.655	0.055	86.160	Line 15	606
33.419	47.952	0.332	4.267	0.000	87.766	Line 16	649
32.765	48.196	0.287	3.652	0.000	86.495	Line 17	692
29.751	47.942	0.240	4.922	0.124	84.864	Line 18	735
31.817	47.802	0.287	3.958	0.000	85.663	Line 19	779
31.500	48.354	0.173	4.023	0.032	86.112	Line 20	822

Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 14P62A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.71.

F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line (μm)
3.547	32.195	49.146	0.094	3.284	0.450	87.202	Line 1 14P62A	0

3.499	32.404	49.156	0.053	2.868	0.389	86.884	Line 2	18
3.339	33.740	49.953	0.047	3.236	0.676	89.574	Line 3	45
3.203	33.604	49.671	0.044	3.061	0.500	88.724	Line 4	68
3.249	32.176	48.159	0.085	2.968	2.184	87.434	Line 5	91
3.426	32.547	47.601	0.117	2.935	2.210	87.367	Line 6	113
3.421	34.262	49.401	0.065	3.148	0.943	89.785	Line 7	136
2.702	32.812	48.787	0.056	2.950	1.178	87.334	Line 8	161
2.842	32.360	48.575	0.144	3.380	2.503	88.575	Line 9	182
3.378	33.107	48.498	0.114	3.349	1.775	88.773	Line 10	204
2.944	32.602	49.024	0.094	3.135	1.388	87.926	Line 11	227
2.742	33.344	49.700	0.047	3.189	1.006	88.862	Line 12	245
3.233	33.342	48.503	0.059	3.139	1.553	88.455	Line 13	283
2.706	33.744	48.606	0.073	2.863	1.742	88.579	Line 14	295
3.103	31.942	48.956	0.117	2.903	0.996	86.684	Line 15	319
3.130	33.030	49.010	0.035	3.238	1.745	88.862	Line 16	341
3.208	31.631	48.996	0.053	3.400	2.551	88.476	Line 17	359
3.486	32.747	46.696	0.044	3.000	2.560	87.055	Line 18	386
3.126	33.210	48.647	0.108	3.202	2.152	89.105	Line 19	410
2.666	31.295	46.445	0.099	3.165	4.677	87.202	Line 20	426

Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα 32P24A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.72.

F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line (μm)
2.662	31.942	46.743	1.161	4.994	2.630	88.749	Line 1 32P24A	0
2.764	32.489	47.173	0.967	4.812	2.739	89.562	Line 2	37
2.072	30.457	46.623	0.806	4.747	3.332	86.983	Line 3	79
2.644	31.206	47.893	0.740	4.104	2.295	87.602	Line 4	109
3.256	30.731	45.644	1.003	4.401	4.076	87.514	Line 5	146
2.656	31.143	46.715	0.718	4.403	3.173	87.528	Line 6	183
2.258	31.466	47.466	0.769	4.053	2.671	87.558	Line 7	226
2.724	31.461	47.859	0.793	4.466	1.943	87.920	Line 8	255
2.630	31.840	48.303	0.705	4.277	2.320	88.809	Line 9	306

3.210	31.285	46.901	0.936	4.255	4.578	89.602	Line 10	335
2.521	31.608	47.484	0.802	4.293	2.480	87.946	Line 11	364
2.001	32.975	48.095	0.762	4.232	1.482	88.532	Line 12	401
2.463	31.603	45.676	0.694	4.197	2.552	85.991	Line 13	438
2.993	31.513	47.724	0.875	4.289	1.900	87.837	Line 14	474
2.695	31.424	48.103	0.805	3.956	3.561	89.227	Line 15	510
3.080	32.990	47.606	0.661	4.438	1.760	89.089	Line 16	547
1.194	33.637	45.757	0.756	4.684	2.218	87.572	Line 17	583
2.785	32.108	46.568	1.002	4.432	1.838	87.334	Line 18	620
2.325	32.429	47.163	0.898	3.878	3.219	88.730	Line 19	656
2.248	33.199	47.854	0.464	3.903	1.770	88.386	Line 20	692

Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα σημειακών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο δείγμα P4A με Ηλεκτρονικό Μικροαναλυτή. Οι αναλύσεις έγιναν κατά μήκος της γραμμής που απεικονίζεται στην εικόνα 3.73.

F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO	Total	Comment	Accumulated Distance of the line (μm)
4.917	28.711	46.210	0.059	3.094	0.361	81.269	Line 1 P4A	0
3.034	28.459	44.235	0.100	2.998	0.754	78.280	Line 2	75
3.642	26.860	44.239	0.032	2.605	0.426	76.264	Line 3	115
3.271	28.586	45.233	0.056	3.185	0.458	79.399	Line 4	152
4.123	26.513	42.488	0.094	2.816	0.578	74.855	Line 5	190
4.585	27.888	44.529	0.064	2.938	0.476	78.535	Line 6	231
3.467	24.802	40.781	0.061	2.880	1.067	71.584	Line 7	265
4.005	26.926	44.054	0.094	2.932	0.393	76.697	Line 8	304
3.273	27.309	43.369	0.073	3.406	0.527	76.563	Line 9	341
3.499	27.188	43.505	0.085	3.560	0.430	76.775	Line 10	379
3.989	26.489	41.926	0.123	2.954	0.711	74.484	Line 11	417
1.077	28.150	40.770	0.121	2.817	0.403	72.858	Line 12	492

3.412	22.547	42.069	0.078	2.701	0.822	70.174	Line 13	528
-------	--------	--------	-------	-------	-------	--------	---------	-----

Πίνακας 3.9: Συγκεντρωτικός πίνακας με το εύρος τιμών και τη μέση τιμή των περιεκτικοτήτων (% κ.β.) των στοιχείων που αναλύθηκαν για τα έξι δείγματα.

Sample	values	F	P2O5	CaO	Cl	SO3	FeO
9P204							
	min	2,81	20,59	47,31	0	2,69	0
	max	5,66	33,05	49,72	0,12	5,36	0,07
	mean	3,71	31,34	48,96	0,06	4,71	0,02
10P28B							
	min	3,08	29,68	41,42	0,03	3,13	0,05
	max	3,99	34,14	51,04	0,18	5,05	0,68
	mean	3,54	32,01	48,21	0,09	4,18	0,29
120P32A							
	min	2,61	29,75	47,52	0,17	3,65	0
	max	3,84	33,67	48,2	0,41	4,92	0,19
	mean	3,16	32,38	48,21	0,3	4,26	0,06
14P62A							
	min	2,67	31,3	46,45	0,04	2,86	0,39
	max	3,55	34,26	49,95	0,12	3,4	4,68
	mean	3,15	32,81	48,68	0,08	3,12	1,66
32P24A							
	min	1,19	30,46	45,64	0,46	3,88	1,48
	max	3,26	33,64	48,3	1,16	4,99	4,58
	mean	2,56	31,88	47,17	0,82	4,34	2,63
P4A							
	min	1,08	22,55	40,77	0,03	2,61	0,36
	max	4,92	28,71	46,21	0,12	3,56	1,07
	mean	3,56	26,96	43,34	0,08	2,99	0,57

3.3. Περιθλασιμετρία Ακτίνων-Χ (XRD)-Μέθοδος RIETVELD

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την τεχνική XRD αφορούν αφενός στη μελέτη της φαινομενολογίας των διαγραμμάτων περίθλασης, δηλαδή στην παρατήρηση και χρήση συγκεκριμένων κορυφών, και αφετέρου στη μέθοδο Rietveld.

3.3.1 Φαινομενολογική παρουσίαση των διαγραμμάτων περίθλασης

Όπως ήταν αναμενόμενο όλα τα υπό μελέτη δείγματα οστών αποτελούνται από απατίτη ωστόσο η προσπάθεια ταυτοποίησης των ακτινοδιαγραμμάτων με τα δείγματα αναφοράς που περιέχονται στο λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε δεν επέτρεψε την ακριβή αποτίμηση ενός υδροξυλαπατίτη ή ενός φθοριοαπατίτη. Άλλωστε, όπως παρατηρείται στην εικόνα 3.79, το διάγραμμα περίθλασης ενός φθοριοαπατίτη (Hughes et al., 1989) και ενός ανθρακικού υδροξυλαπατίτη (Fleet et al., 2004) παρουσιάζουν πολύ μικρές διαφορές και επικαλύπτονται στο μεγαλύτερο τμήμα τους. Στην εικόνα 3.80 παρατίθεται το πλήρες

(περιοχή μέτρησης: 5°-70°) ακτινοδιάγραμμα του δείγματος 33P102A, στο οποίο σημειώνονται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Handschin & Stern, 1992; Turner-Walker, 1993; Regnier et al., 1994; Alvarez-Lloret et al., 2006; Σταθοπούλου, 2008; Dumont et al., 2011) οι ισχυρότερες κορυφές της κρυσταλλικής φάσης του απατίτη ([002]: $2\theta=25.91^\circ$, [211]: $2\theta=31.87^\circ$, [112]: $2\theta=32.26^\circ$, [300]: $2\theta=33.02^\circ$, [202]: $2\theta=34.14^\circ$, [310]: $2\theta=39.94^\circ$, [222]: $2\theta=46.83^\circ$, [213]: $2\theta=49.59^\circ$, [410]: $2\theta=51.46^\circ$, [004]: $2\theta=58.27^\circ$). Οι τιμές 2θ έχουν ληφθεί από τους Hughes et al. (1989) από τη βάση του American Mineralogist και αντιστοιχούν στο δείγμα ορυκτού φθοριοαπατίτη (Durango Mexico) που προβάλλεται στην εικ. 3.79. Επιλέχθηκε το συγκεκριμένο δείγμα (33P102A) διότι αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από απατίτη (πολύ μικρό ποσοστό χαλαζία) με αποτέλεσμα να είναι καλύτερη η παρατήρηση των κορυφών της κύριας ορυκτολογικής φάσης. Στις εικόνες 3.81-3.86 δίνονται τα ακτινοδιαγράμματα για όλα τα υπό μελέτη δείγματα ομαδοποιημένα ανά φάση (λευκή, γκρι, γκρι-καφέ, καφέ και δείγματα που φέρουν επιφανειακή κρούστα). Όπως διαπιστώνεται οι δευτερογενείς ορυκτολογικές φάσεις που εντοπίστηκαν είναι: ο χαλαζίας που απαντά σε όλα τα δείγματα, η γύψος στα δείγματα 110P32A, 21P14, 14P62A, 22P62A και ο ασβεστίτης στα 110P32A, 120P32A. Να σημειωθεί ότι από την ένταση της ισχυρότερης κορυφής του χαλαζία ($2\theta=26,65^\circ$) προκύπτει ότι πολύ υψηλό είναι το ποσοστό του στα δείγματα 120P32A και 14P201. Βέβαια όσον αφορά το δείγμα 14P201, επειδή αποτελείται επιφανειακά από χαλαζιακή κρούστα, παρά το μηχανικό διαχωρισμό οστού-κρούστας πριν την τεχνική, στο ακτινοδιάγραμμα εμφανίζονται ισχυρότερες οι κορυφές του χαλαζία σε σύγκριση με αυτές του απατίτη. Επιπλέον συμπεράσματα που προκύπτουν από την παρατήρηση των φασμάτων είναι το ισχυρό υπόβαθρο, που δημιουργεί αρκετό θόρυβο, καθώς και οι χαμηλές εντάσεις (λίγα counts), που υποδεικνύουν ότι το υλικό δε διασκορπίζεται καλά.

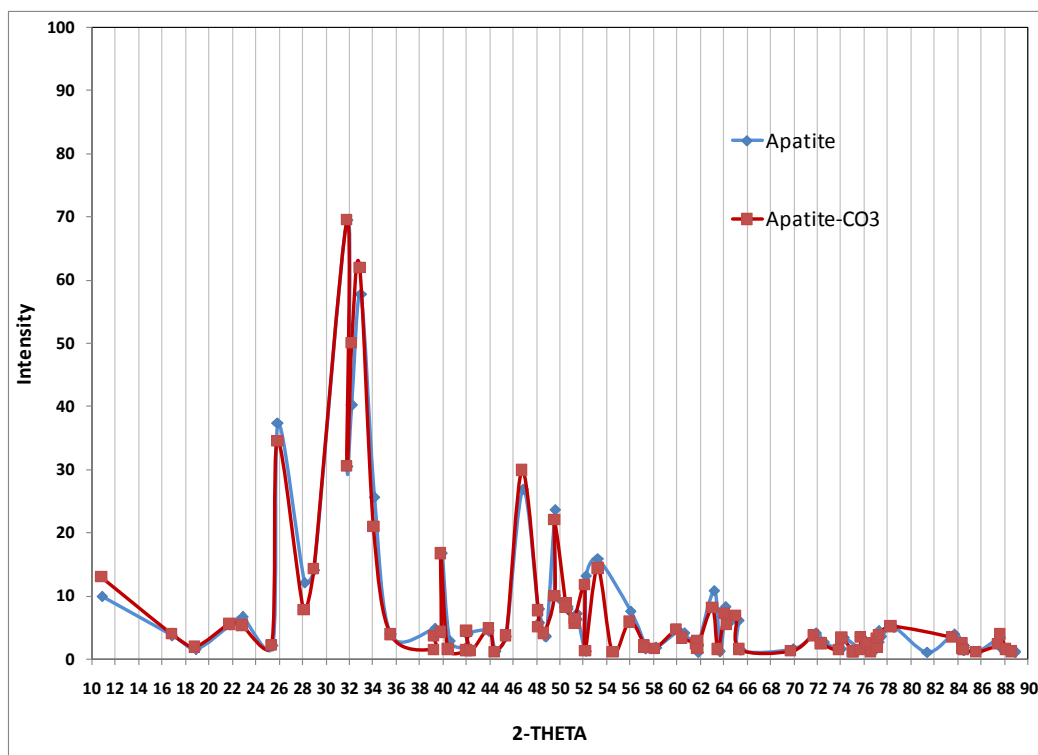
Συγκρίνοντας τώρα τα ακτινοδιαγράμματα των δειγμάτων που προέρχονται από την ίδια θέση σημειώνονται κάποιες ομοιότητες όπως: στα δείγματα 5P204, 9P204 όπως και στα 10P28B, 506P28 απαντά μόνο χαλαζίας, στα δείγματα 110P32A, 120P32A εντοπίζεται χαλαζίας και ασβεστίτης (ωστόσο στο 110P32A εντοπίστηκε και γύψος) και στα 14P62A, 22P62A παρατηρείται χαλαζίας και γύψος. Από τη σύγκριση των δειγμάτων ίδιας φάσης προκύπτουν τα εξής:

- Τα δείγματα της λευκής φάσης φέρουν ως δευτερογενή ορυκτή φάση μόνο χαλαζία αλλά διαφέρουν ως προς το ποσοστό αυτού όπως υποδεικνύεται από την ένταση της ισχυρότερης κορυφής του.
- Από τα δείγματα της γκρι φάσης διαφοροποιείται το 110P32A στο οποίο εντοπίζεται εκτός από το χαλαζία, γύψος και ασβεστίτης. Να σημειωθεί ότι στην εικόνα 3.82 προβάλλεται μαζί με τα δείγματα της γκρι φάσης και το ακτινοδιάγραμμα του δείγματος P4A (αρχικά ταξινομημένο στα δείγματα που καλύπτονται από κρούστα) διότι από την τεχνική της περιθλασιμετρίας ακτίνων-X προέκυψε μόνο η κύρια ορυκτή φάση του οστίτη ιστού (δηλαδή απατίτης) και όχι κάποια δεύτερη φάση που να αντιστοιχεί στην κρούστα που είχε μακροσκοπικά παρατηρηθεί.
- Τα δείγματα της γκρι-καφέ φάσης διαφοροποιούνται καθώς το 21P14 φέρει γύψο εκτός από χαλαζία ενώ το 120P32A ασβεστίτη.
- Στα δείγματα της καφέ φάσης εντοπίζεται γύψος στο 14P62A ενώ στο 506P28 μόνο χαλαζίας.

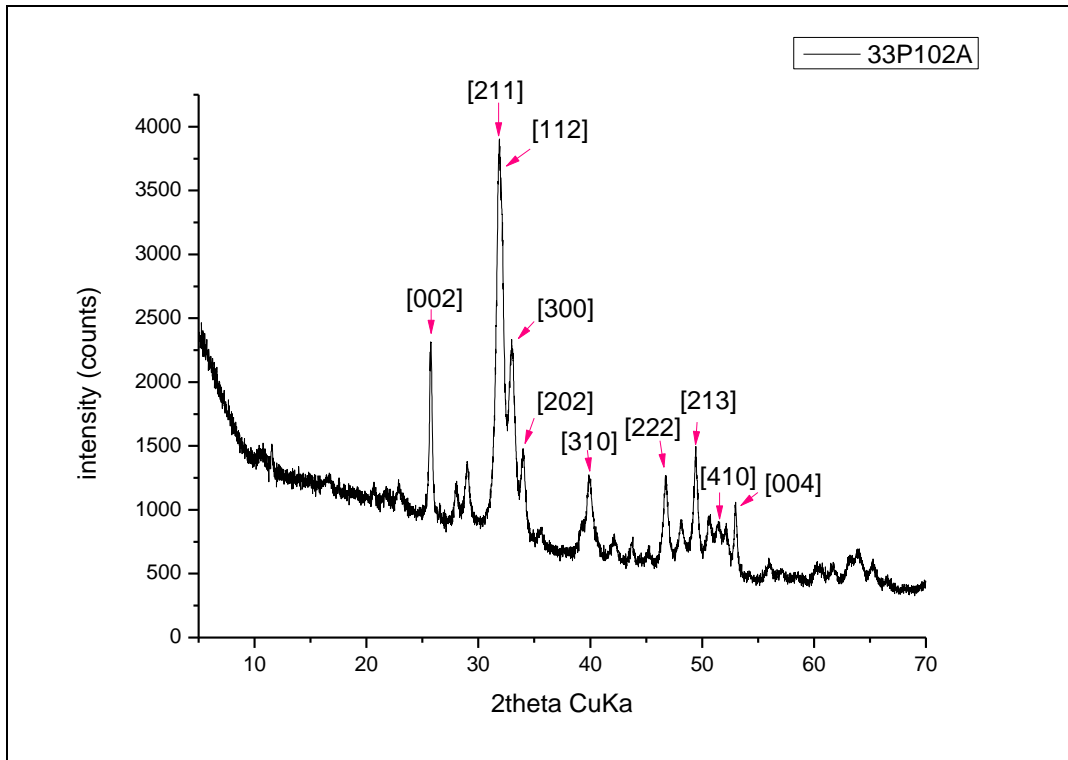
Ωστόσο να υπογραμμιστεί ότι από τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας υπερύθρου που έπονται πιστοποιείται η παρουσία γύψου σε όλα τα δείγματα (πλην του 128P32A) και του ασβεστίτη στα 128P32A και 14P62A εκτός από τα 110P32A, 120P32A. Για το λόγο αυτό είναι ασφαλέστερο να γίνει η σύγκριση των δειγμάτων μετά και από τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας υπερύθρου.

Όσον αφορά τις υπό μελέτη κρούστες (32P24A_crust, 20P31C_crust, 14P201_crust) και το δείγμα ιζήματος (22P103A) αποτελούνται κατά κύριο λόγο από χαλαζία, όπως φαίνεται στα ακτινοδιαγράμματα της εικόνας 3.86. Σε αντίθεση με τα οστά, στην περίπτωση των δειγμάτων επιφανειακής κρούστας και ιζήματος οι εντάσεις είναι υψηλές.

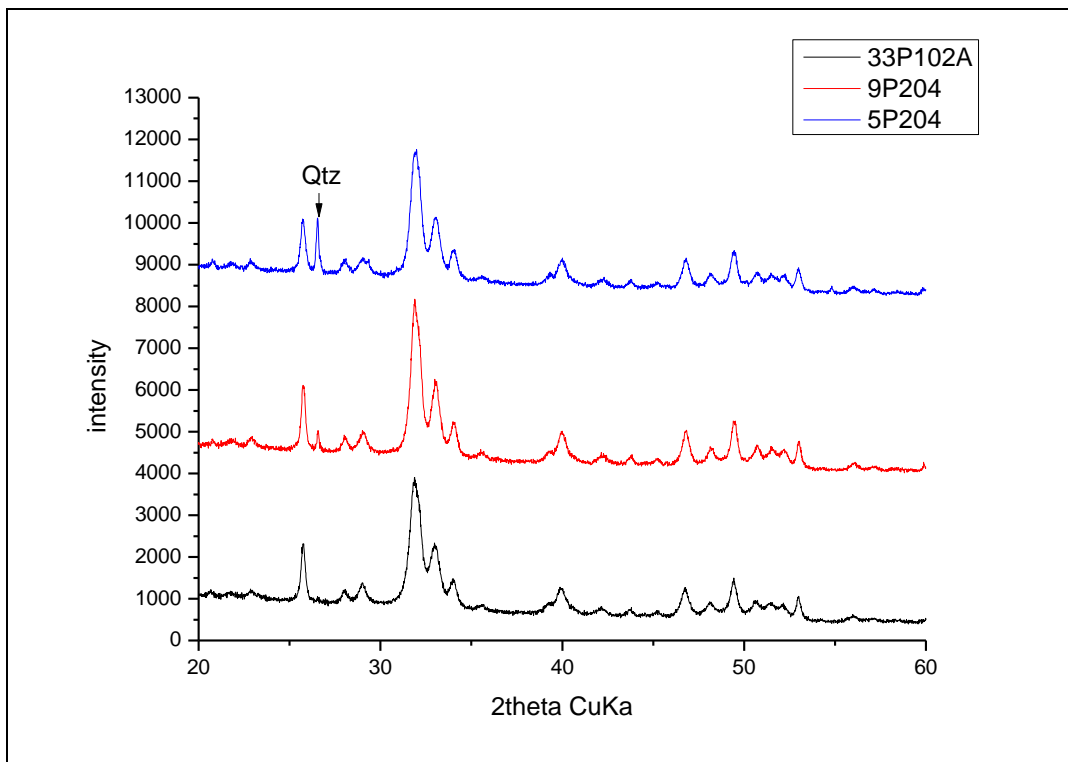
Αναφορικά με την κρυσταλλικότητα του απατίτη ισχύει θεωρητικά, σύμφωνα με τους Turner-Walker (1993); Miller [2001 (cited in Alvarez-Lloret et al., 2006)]; Σταθοπούλου, (2008), ότι όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος του κόκκου κατά μήκος του άξονα c τόσο περισσότερο οξύληκτη εμφανίζεται η ανάκλαση [002]. Με άλλα λόγια η ανάκλαση [002] καθώς και η [004] είναι ενδεικτικές της κρυσταλλικότητας ενός υλικού. Στην εικόνα 3.87 παρατίθεται λεπτομέρεια των ακτινοδιαγραμμάτων επιλεγμένων δειγμάτων (ένα από κάθε φάση) στην περιοχή μέτρησης $25^{\circ} < 2\theta < 26,4^{\circ}$. Όπως παρατηρείται η ανάκλαση [002] είναι ευρεία για τα δείγματα 33P102A, 110P32A, 120P32A, 14P62A και μόνο στην περίπτωση του P4A γίνεται πιο στενή. Το δεδομένο αυτό συμφωνεί και με τους δείκτες κρυστάλλωσης που υπολογίζονται παρακάτω (πίνακας 3.10). Υπάρχουν επομένως κάποιες ενδείξεις ([002], C.I.) για μεγαλύτερη κρυσταλλικότητα στο δείγμα P4A.



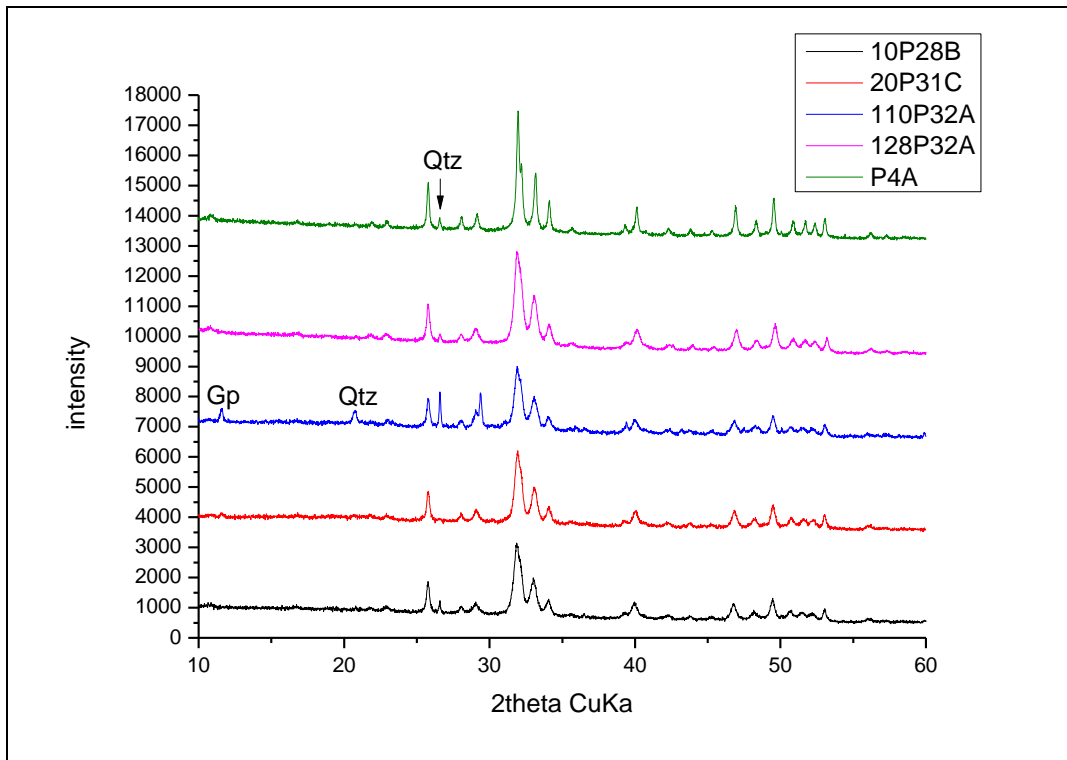
Εικόνα 3.79: Θεωρητικά διαγράμματα περίθλασης απατιτών (Hughes et al., 1989; Fleet et al., 2004).



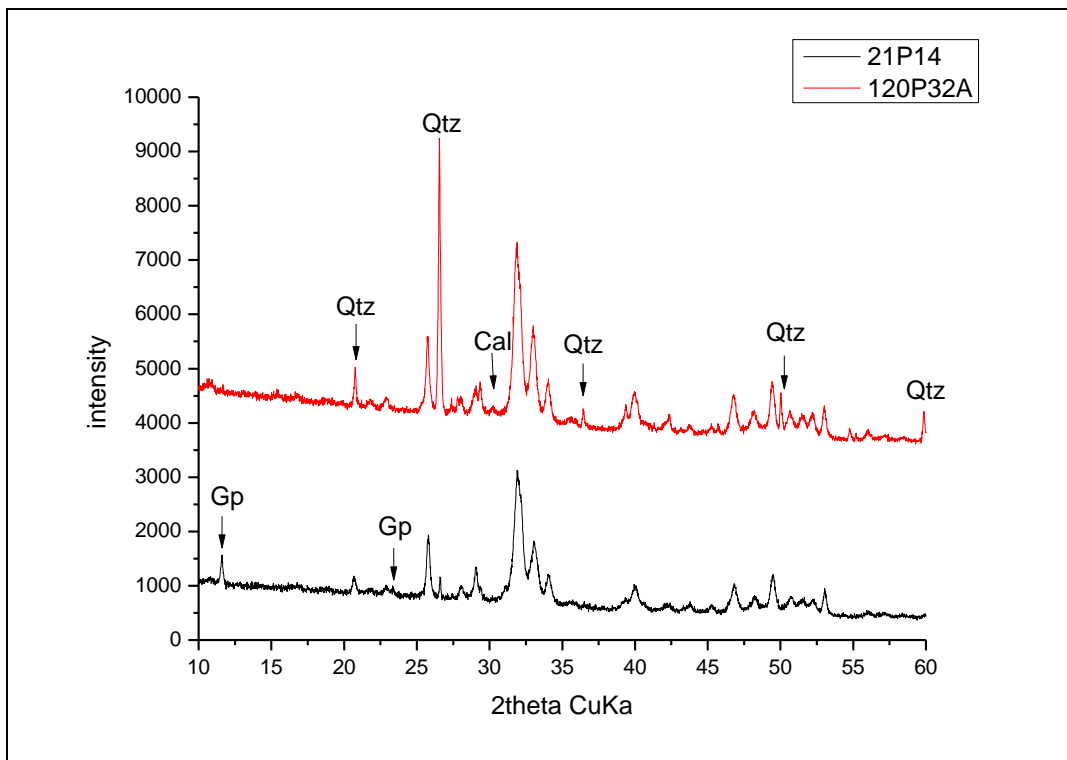
Εικόνα 3.80: Ακτινοδιάγραμμα του δείγματος 33P102A για την περιοχή μέτρησης 5°-70°, στο οποίο σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές της κρυσταλλικής φάσης του απατίτη.



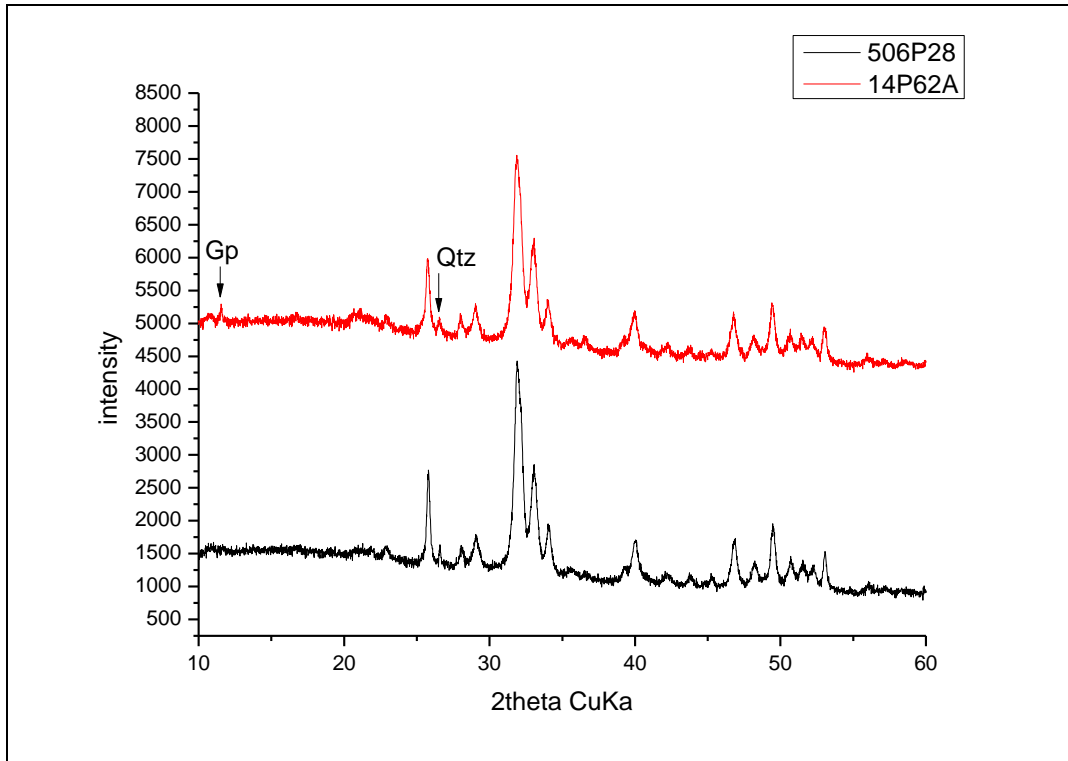
Εικόνα 3.81: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της λευκής φάσης στην περιοχή μέτρησης 20°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.



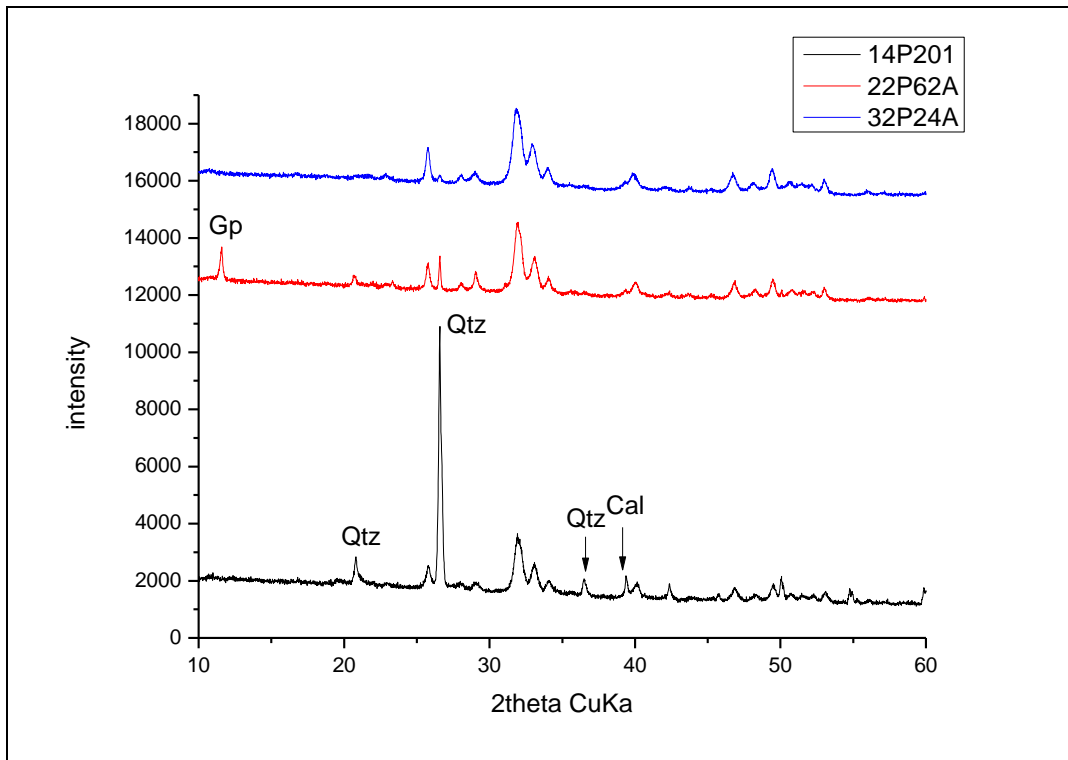
Εικόνα 3.82: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της γκρι φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.



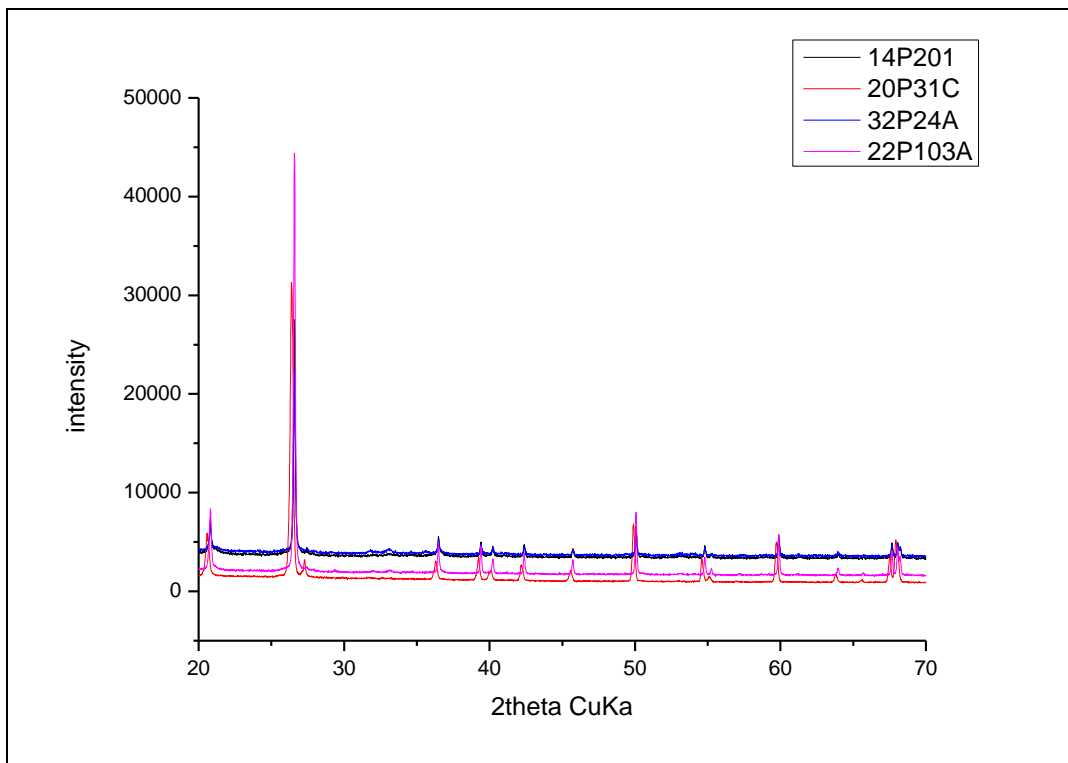
Εικόνα 3.83: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της γκρι-καφέ φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.



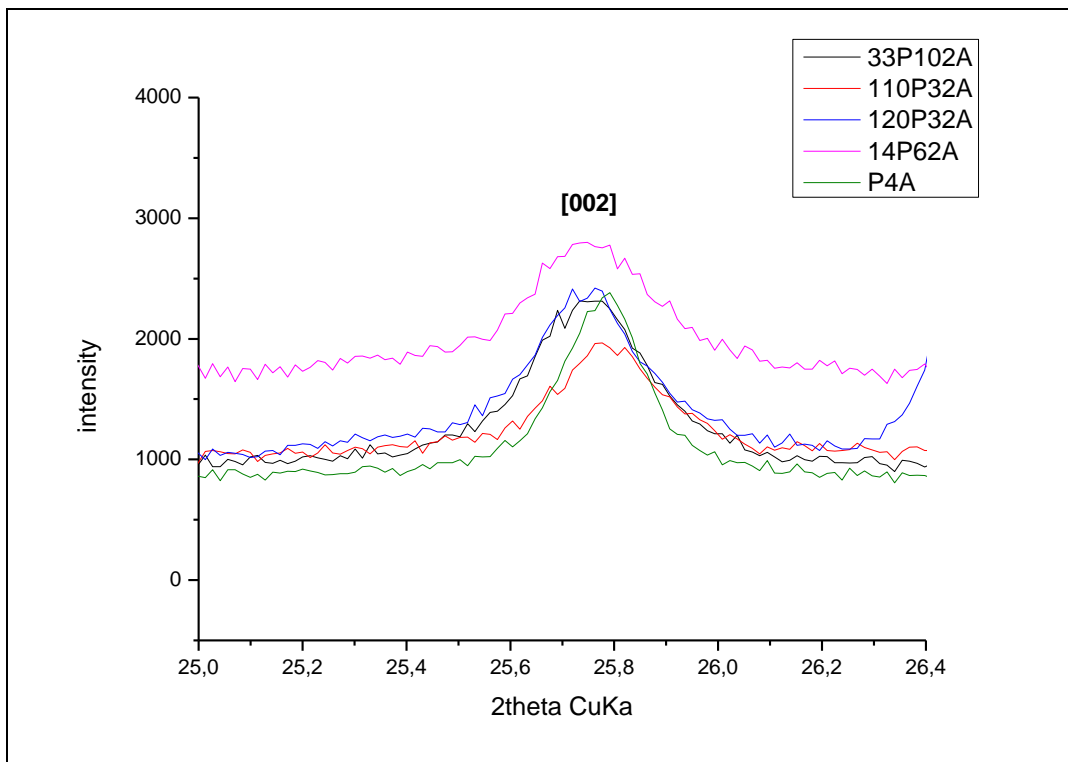
Εικόνα 3.84: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα της καφέ φάσης στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.



Εικόνα 3.85: Ακτινοδιαγράμματα για τα δείγματα οστών που καλύπτονται επιφανειακά από κρούστα στην περιοχή μέτρησης 10°-60°, στα οποία σημειώνονται οι ισχυρότερες κορυφές των ορυκτών φάσεων πλην του απατίτη.



Εικόνα 3.86: Ακτινοδιαγράμματα για τις υπό μελέτη κρούστες (32P24A_crust, 20P31C_crust, 14P201_crust) και το δείγμα ιζήματος (22P103A) στην περιοχή μέτρησης 20°-70°. Οι παρατηρούμενες κορυφές ανήκουν σχεδόν αποκλειστικά στο χαλαζία.



Εικόνα 3.87: Λεπτομέρεια ακτινοδιαγραμμάτων επιλεγμένων δειγμάτων (ένα από κάθε φάση) στην περιοχή μέτρησης 25°-26,4°. Η ανάκλαση [002] θεωρείται ενδεικτική του μεγέθους του κόκκου ενός υλικού κατά μήκος του άξονα c.

3.3.2 Δείκτης Κρυστάλλωσης (C.I.)

Όπως αναφέρθηκε κατά την περιγραφή της διαγένεσης, μία από τις παρατηρούμενες αλλαγές είναι αυτή της κρυσταλλικότητας του απατίτη και συγκεκριμένα η αύξηση του μεγέθους των κρυστάλλων του. Στα διαγράμματα περίθλασης ακτίνων-X η κρυσταλλικότητα εκφράζεται από το πόσο οξύληκτες ή ευρείες είναι οι κορυφές, γεγονός που καθιστά ένα ορυκτό περισσότερο ή λιγότερο κρυσταλλικό αντίστοιχα. Για την ποσοτικοποίηση της κρυσταλλικότητας των σκληρών ιστών χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία ο δείκτης κρυστάλλωσης (C.I), ο οποίος ορίστηκε στο κεφάλαιο της μεθοδολογίας.

Σύμφωνα λοιπόν με τον τρόπο υπολογισμού του δείκτη κατά Person et al. (1995), προέκυψαν οι τιμές του πίνακα 3.10, με τα δείγματα να παρατίθενται ανά φάση. Παρατηρούμε ότι τη μέγιστη τιμή εμφανίζει το δείγμα P4A (0,71), την ελάχιστη το 33P102A (0,32) ενώ η μέση τιμή είναι 0,48. Μεταξύ των διαφορετικών φάσεων δεν εντοπίζονται ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις στην τιμή του δείκτη. Συγκριτικά αναφέρονται από τη βιβλιογραφία οι τιμές $0,38 \pm 0,09$ (Σταθοπούλου, 2008) και $0,69-1,07$ (Puceat et al., 2004 για οδοντικούς ιστούς) ενώ για το μοντέρνο οστό οι Chadeaux et al. (2009) αναφέρουν την τιμή $0,47 \pm 0,03$.

Πίνακας 3.10: Τιμές του δείκτη κρυστάλλωσης κατά Person et al. (1995) για τα υπό μελέτη δείγματα.

Samples	C.I
33P102A	0,32
5P204	0,4
9P204	0,46
10P28B	0,5
20P31C	0,52
110P32A	0,5
128P32A	0,51
21P14	0,4
120P32A	0,55
506P28	0,5
14P62A	0,5
P4A	0,71
32P24A	0,42
22P62A	0,47
14P201	0,5

3.3.3 Ανάλυση Rietveld

Η εικόνα των διαγραμμάτων περίθλασης των υπό μελέτη δειγμάτων μετά την επεξεργασία τους με τη μέθοδο Rietveld παρατίθεται στις φωτογραφίες 3.89-3.102 ενώ στους πίνακες 3.11 και 3.12 δίνεται για κάθε δείγμα η τιμή των δομικών παραμέτρων δηλαδή: το συντεταγμένο μήκος κατά τη διεύθυνση των αξόνων a και c, ο όγκος της κυψελίδας (V_{cell}), το μέσο φαινόμενο μέγεθος του κόκκου, η μέση μέγιστη τάση καθώς και οι τιμές των παραμέτρων R_{wp} , GoF , Chi^2 , που αποτελούν κριτήρια του πόσο καλή είναι η ταύτιση του θεωρητικού φάσματος με το πειραματικό. Πέραν της τιμής, για κάθε παράμετρο δίνεται και η αβεβαιότητα υπολογισμού της. Στον πίνακα 3.11 παρατηρείται ότι οι τιμές του άξονα c

παρουσιάζουν πολύ μικρό εύρος μεταβολών και κυμαίνονται από 6,8928 Å έως 6,9017 Å με εξαίρεση το δείγμα 128P32A (6,8607 Å). Επομένως ο άξονας c δεν είναι ευαίσθητος στις δομικές μεταβολές σε αντίθεση με τον άξονα a και τον όγκο της κυψελίδας, που παρουσιάζουν συστηματικές διαφοροποιήσεις και κυμαίνονται αντίστοιχα από 9,3641 Å έως 9,3888 Å και 523,886 Å³ έως 526,373 Å³. Στο ανωτέρω εύρος τιμών του άξονα a και του όγκου της κυψελίδας δε λήφθηκαν υπόψη οι τιμές των δειγμάτων 128P32A και P4A (σημειώνονται με κόκκινο στον πίνακα 3.11) καθώς διαφοροποιούνται αρκετά από αυτές των υπόλοιπων δειγμάτων.

Πίνακας 3.11: Δομικές παράμετροι κυψελίδας των υπό μελέτη δειγμάτων όπως υπολογίστηκαν μέσω της μεθόδου Rietveld. Παρατίθενται επίσης οι τιμές της παραμέτρου Rwp.

Sample	Rwp	a (value/uncertainty)(Å)	c (value/uncertainty)(Å)	Vcell (value/uncertainty) (Å ³)
33P102A	5,4	9,3839 (0,002)	6,9017 (0,0015)	526,322 (0,1947)
5P204	7,35	9,3707 (0,0026)	6,9016 (0,002)	524,832 (0,2577)
9P204	5,68	9,3721 (0,0015)	6,8987 (0,0011)	524,775 (0,1434)
10P28B	5,13	9,3709 (0,0016)	6,8928 (0,0012)	524,192 (0,1568)
20P31C	3,86	9,3642 (0,001)	6,8986 (0,0008)	523,886 (0,1018)
110P32A	7,74	9,3699 (0,0052)	6,898 (0,004)	524,469 (0,5097)
128P32A	5,68	9,325 (0,0015)	6,8607 (0,0012)	516,644 (0,1432)
21P14	6,08	9,3742 (0,0021)	6,8996 (0,0016)	525,078 (0,2065)
120P32A	14,4	9,3755 (0,0061)	6,897 (0,0046)	524,017 (0,5914)
506P28	3,85	9,3728 (0,0013)	6,8963 (0,001)	524,67 (0,1263)
14P62A	3,48	9,3744 (0,002)	6,8954 (0,0015)	524,784 (0,1943)
P4A	5,36	9,3396 (0,0006)	6,893 (0,0005)	520,713 (0,0623)
32P24A	4,31	9,3888 (0,0018)	6,8951 (0,0013)	526,373 (0,1699)
22P62A	5,17	9,3641 (0,0029)	6,8994 (0,0022)	523,93 (0,2869)

Με τη βοήθεια των τιμών του πίνακα 3.11 καθίσταται δυνατή η κατασκευή του διαγράμματος της εικόνας 3.88. Πρόκειται για ένα διάγραμμα δομικών παραμέτρων (άξονας a, άξονας c, όγκος κυψελίδας) των δειγμάτων της παρούσας εργασίας σε σχέση με δείγματα αναφοράς (φθοριοαπατίτες, ανθρακικοί φθοριοαπατίτες, υδροξυλαπατίτες, χλωριοαπατίτες, φωσφορικό πέτρωμα, αλεσμένο οστό, βιογενής απατίτης) προερχόμενα από τη Σταθοπούλου (2008). Κάποια από τα δείγματα αναφοράς σημειώνονται στο διάγραμμα. Ανάλογο διάγραμμα πρωτοπαρουσιάστηκε από τους Handschin & Stern (1992) και έχει χρησιμοποιηθεί από τους Σταθοπούλου (2008) και Stathoroulou et al. (2008). Παρατηρείται ότι οι παράμετροι των δειγμάτων που μελετήθηκαν τα τοποθετούν στο αριστερό τμήμα του διαγράμματος της εικόνας και συγκεκριμένα μεταξύ των δειγμάτων αναφοράς που περιέχουν ανθρακικά τύπου B (αντικαθιστούν τη φωσφορική ρίζα) και των φθοριοαπατιτών. Αυτό υποδεικνύει την εντονότερη επίδραση στα υπό μελέτη δείγματα του φθορίου ή/και των ανθρακικών τύπου B. Όσον αφορά την παρουσία του φθορίου και τη διατήρηση ουσιαστικά του βιοαπατίτη των δειγμάτων μας ως φθοριοαπατίτη το στοιχείο αυτό από τη μέθοδο

Rietveld συμφωνεί με τα αποτελέσματα της ηλεκτρονικής μικροανάλυσης, που έδωσε υψηλές συγκεντρώσεις του εν λόγω στοιχείου. Και στην περίπτωση όμως των ανθρακικών τύπου B τα αποτελέσματα της μεθόδου Rietveld συμφωνούν με αυτά της φασματοσκοπίας υπερύθρου, όπως θα αναφερθεί αναλυτικά στο υποκεφάλαιο 3.4.

Πέραν των διαστάσεων της μοναδιαίας κυψελίδας, η μέθοδος Rietveld επέτρεψε τον υπολογισμό του μεγέθους του κόκκου των δειγμάτων μας. Βέβαια ως μέγεθος ‘κόκκου’ νοείται στην περίπτωση υπολογισμού του με τη μέθοδο αυτή το μέγεθος της μικρότερης ‘τέλεια οργανωμένης περιοχής’ του κρυσταλλίτη. Γι’ αυτό συχνά αναφέρεται ότι με τη συγκεκριμένη μέθοδο υποεκτιμώνται οι πραγματικές διαστάσεις του κρυστάλλου του απατίτη. Γνωρίζουμε ότι το μέγεθος κόκκου των απατιτών είναι ανισότροπο (οι ανακλάσεις [001] είναι στενότερες από τις [hkl]) ωστόσο στην παρούσα εργασία, όπως φαίνεται στον πίνακα 3.12, το μέγεθος του κρυστάλλου που υπολογίσαμε αντιστοιχεί στο λεγόμενο ιστροπικό μέγεθος δηλαδή το μέσο φαινόμενο μέγεθος του κρυστάλλου σε όλες τις διευθύνσεις (average apparent size).

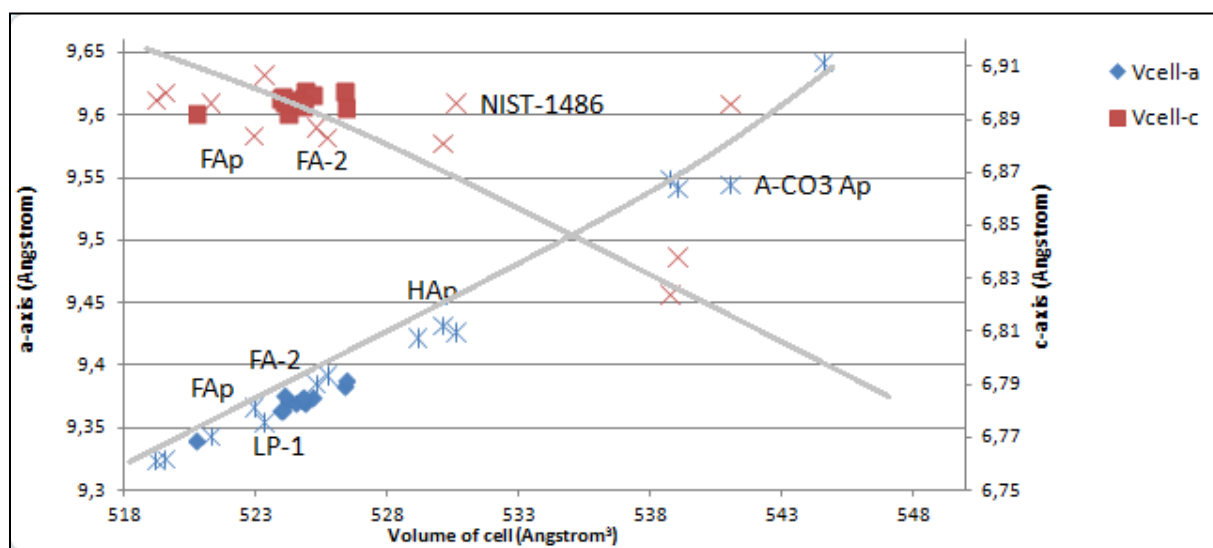
Αναφορικά με τη συμβολή του δείγματος στο πλάτος των ανακλάσεων (sample contribution to line width or peak broadening), που συμβολίζεται με β^2_{sample} , εκτός από τη συμβολή του μεγέθους των κρυστάλλων υπάρχει και η συμβολή της τάσης που οφείλεται σε εσωτερικές ατέλειες του πλέγματος, σύμφωνα με τους Chipera & Bish, 1991 (cited in Dumont et al., 2011). Τα παραπάνω συνοψίζονται στη σχέση: $\beta^2_{\text{sample}} = \beta^2_{\text{size}} + \beta^2_{\text{strain}}$. Στην παρούσα εργασία, και όπως φαίνεται στον πίνακα 3.12, η τάση που υπολογίστηκε αντιστοιχεί στο $\frac{1}{4}$ της φαινόμενης τάσης που όρισαν οι Stokes & Wilson. Είναι η λεγόμενη μέγιστη τάση (ϵ), η οποία σχετίζεται με τη μέση τετραγωνική ρίζα της τάσης (RMSS) μέσω της σχέσης $\epsilon(\text{RMS}) = \text{SQRT}(2/\pi) \epsilon$ (στην περίπτωση της κατανομής Gauss). Να σημειωθεί ότι για το δείγμα 21P14 δεν υπολογίστηκαν οι τιμές του μεγέθους και της τάσης διότι δεν εντοπίστηκε σημαντική διαπλάτωση των ανακλάσεων (resolution limited= no significant line broadening detected).

Όσον αφορά το σχήμα του κόκκου των υπό μελέτη δειγμάτων η ανάλυση μας προτείνει βελονοειδές σχήμα, με τον άξονα των βελόνων παράλληλα στη μεγάλη διάσταση του απατιτικού κρυστάλλου, δηλαδή τον άξονα c. Αυτό προκύπτει διότι, όπως φαίνεται στις εικόνες 3.89-3.102, οι ανακλάσεις [002] και [004] εμφανίζουν υψηλότερη ένταση και είναι πιο στενές σε σύγκριση με το θεωρητικό μοντέλο. Επιπλέον από την τιμή του προτιμητέου προσανατολισμού στα δείγματά μας, που είναι κοντά στη μονάδα, προκύπτει ότι δεν υπάρχει κάποιος προτιμητέος προσανατολισμός των κρυστάλλων.

Πίνακας 3.12: Μέσο φαινόμενο μέγεθος (average apparent size) και μέση μέγιστη τάση (average maximum strain) για τα υπό μελέτη δείγματα καθώς και οι τιμές των παραμέτρων GoF, Chi2.

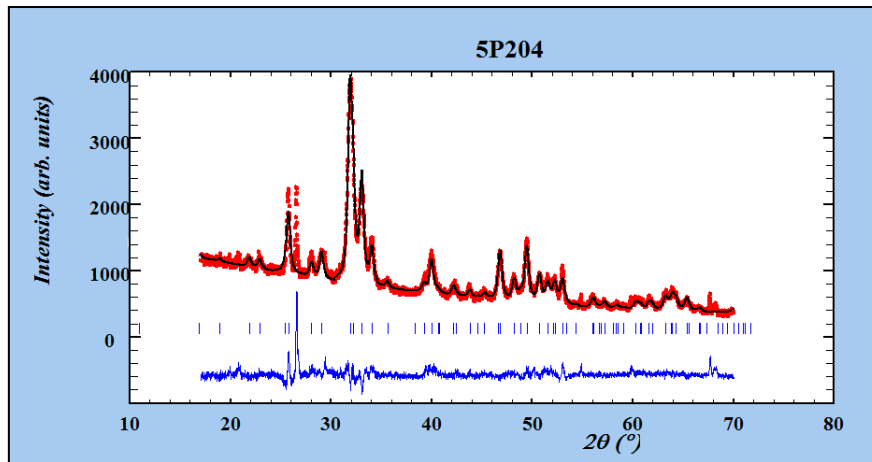
Sample	aver. app. size (value/uncertainty)(Å)	aver. max. strain (value/uncertainty)(%%)	GoF	Chi2
5P204	168,01 (0,8717)	14,82 (0,0553)	2,1	4,55
33P102A	191,09 (0,8448)	18,87 (0,0731)	1,6	2,43
9P204	226,73 (0,7498)	18,15 (0,0864)	1,7	2,79
10P28B	300 (0,6875)	26,82 (0,0371)	1,4	2,03

20P31C	341,08 (0,8692)	18,77 (0,0165)	1,2	1,57
110P32A	288,71 (1,6698)	22,28 (0,1059)	2,4	5,71
128P32A	243,38 (0,5915)	19,45 (0,0595)	1,6	2,64
21P14	resolution limited	resolution limited	1,6	2,62
120P32A	292,8 (1,4322)	24,32 (0,0048)	4,4	19,2
506P28	229,84 (0,2894)	15,98 (0,0471)	1,4	1,85
14P62A	184,09 (0,9238)	9,25 (0,0328)	1,4	1,87
P4A	645,68 (2,15380)	6,8494 (0,0088)	1,5	2,15
32P24A	182 (0,6624)	19,58 (0,0276)	1,4	1,98
22P62A	280,58 (1,304)	28,78 (0,00)	1,8	3,11

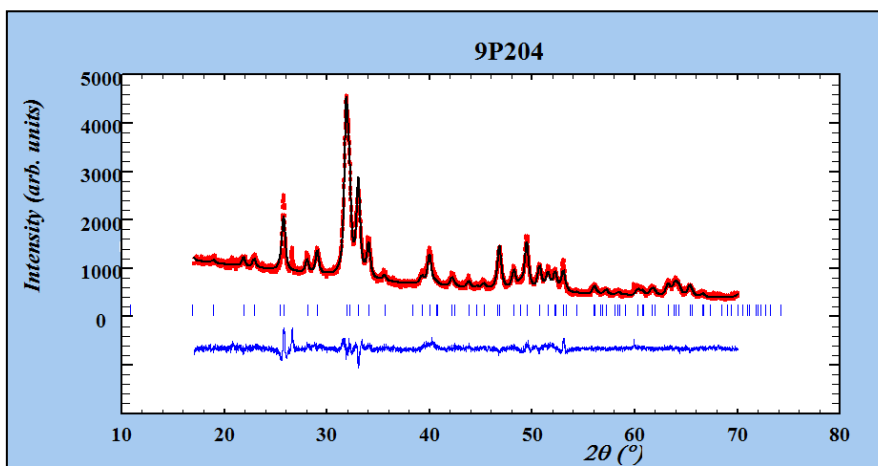


Εικόνα 3.88: Διάγραμμα δομικών παραμέτρων (a-άξονας, c-άξονας, όγκος κυψελίδας) για τα υπό μελέτη δείγματα απολιθωμένων οστών σε σχέση με δείγματα αναφοράς, προερχόμενα από τη Σταθοπούλου, 2008.

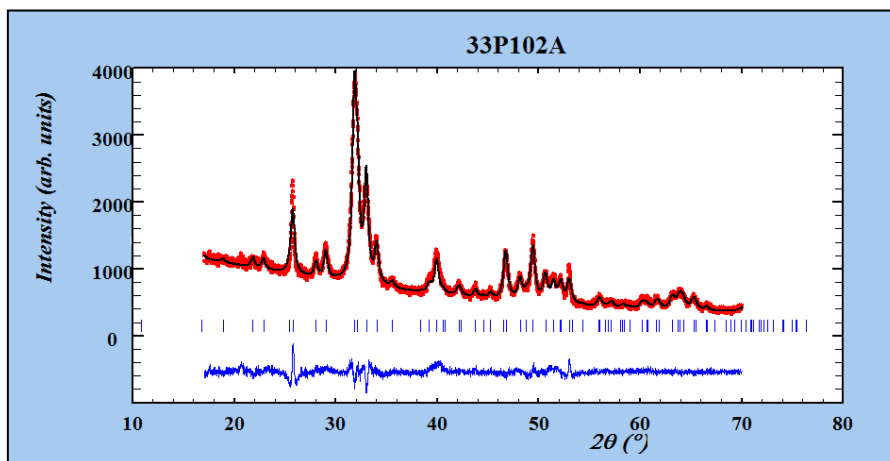
Επιπροσθέτως, μέσω της μεθόδου Rietveld υπολογίστηκαν κάποιες παράμετροι που χαρακτηρίζουν την ποιότητα της βελτιστοποίησης που πραγματοποιήθηκε. Πρόκειται για τις παραμέτρους R_{wp} (πίνακας 3.11), GoF και Chi^2 (πίνακας 3.12). Περισσότερο αξιόπιστη θεωρείται η παράμετρος R_{wp} , της οποίας η απόλυτη τιμή δεν εξαρτάται από την απόλυτη τιμή της έντασης αλλά από το υπόβαθρο των ακτινοδιαγραμμάτων. Για το λόγο αυτό στα δείγματά μας οι τιμές R_{wp} εμφανίζονται χαμηλές λόγω του ισχυρού background που έχουν τα διαγράμματα περίθλασης. Για τις άλλες δύο παραμέτρους είναι αποδεκτό ότι για μια καλή βελτιστοποίηση πρέπει η GoF (Goodness of Fit) να κυμαίνεται μεταξύ 1-2 και η Chi^2 να λαμβάνει τιμές μικρότερες του τρία. Στον πίνακα 3.12 παρατηρείται ότι κυρίως για το δείγμα 120P32A δεν είναι καλές οι τιμές των GoF , Chi^2 , το οποίο οφείλεται στο πολύ υψηλό ποσοστό χαλαζία όπως αυτό προκύπτει ποιοτικά από το ακτινοδιάγραμμα του δείγματος (εικ. 3.83). Για αντίστοιχο λόγο δεν εφαρμόστηκε η μέθοδος για το δείγμα 14P201.



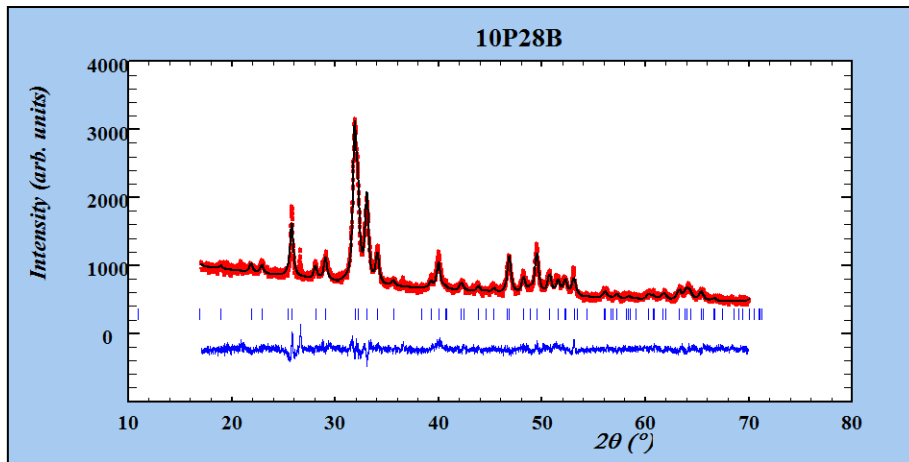
Εικόνα 3.89: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 5P204.



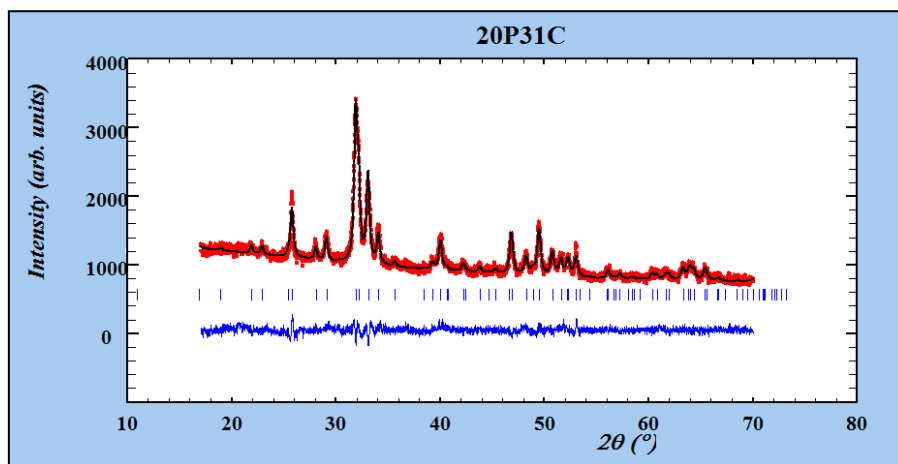
Εικόνα 3.90: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 9P204.



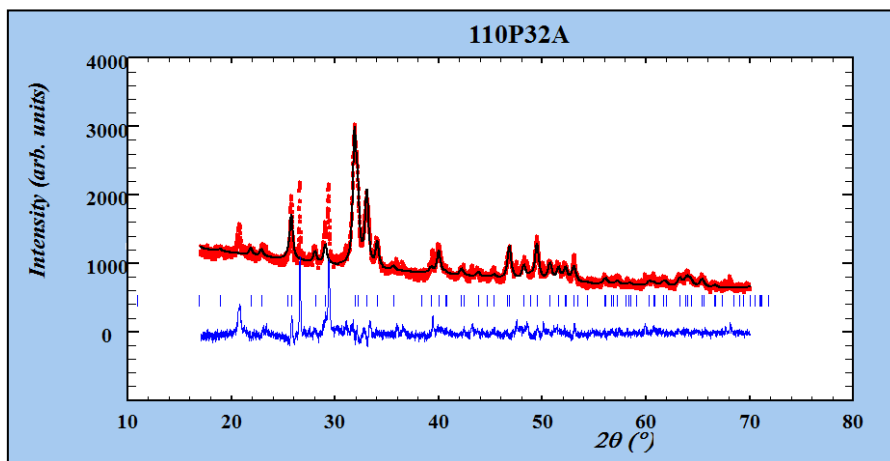
Εικόνα 3.91: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 33P102A.



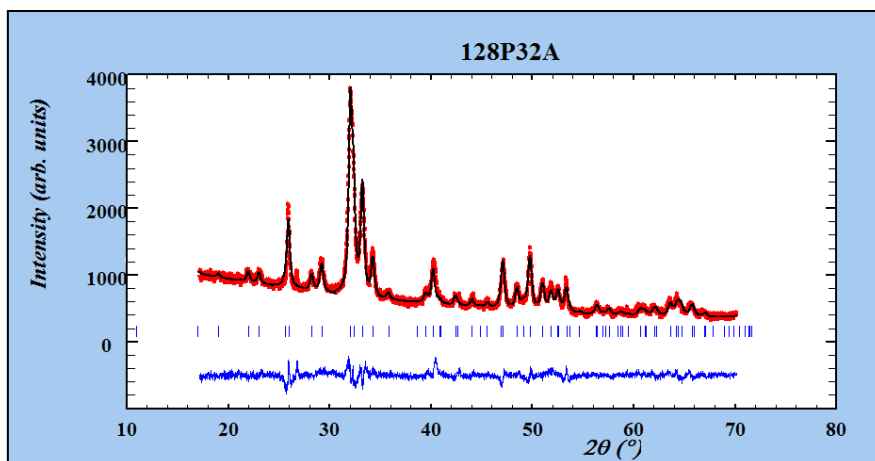
Εικόνα 3.92: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 10P28B.



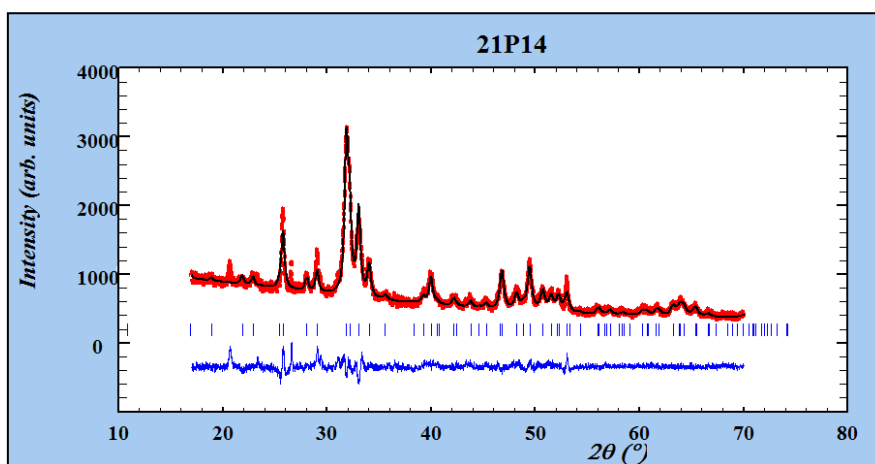
Εικόνα 3.93: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 20P31C.



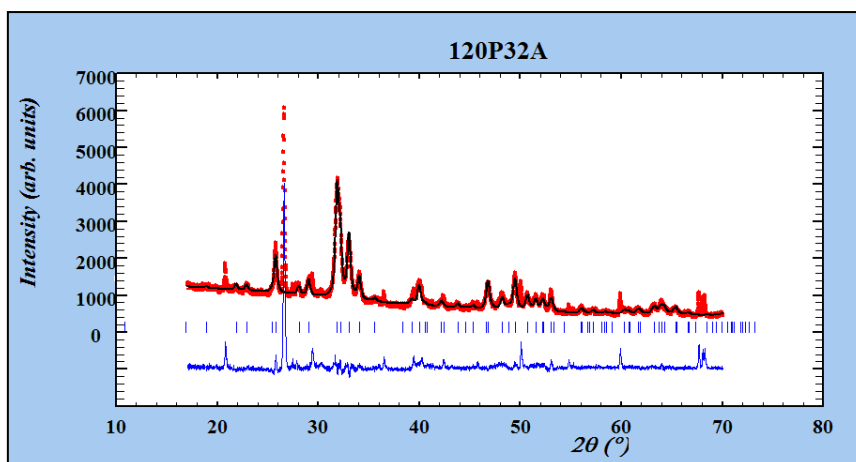
Εικόνα 3.94: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 110P32A.



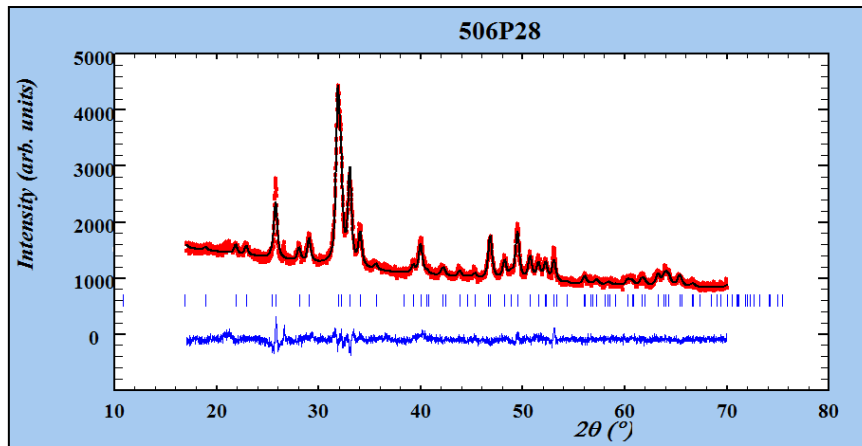
Εικόνα 3.95: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 128P32A.



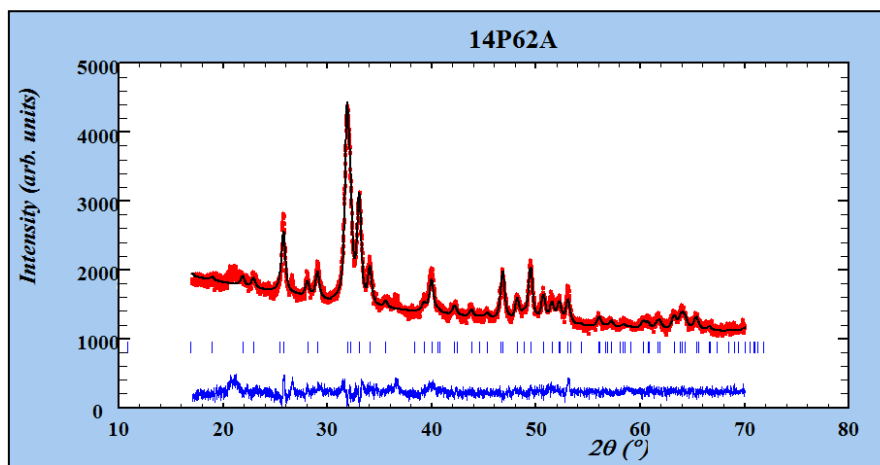
Εικόνα 3.96: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 21P14.



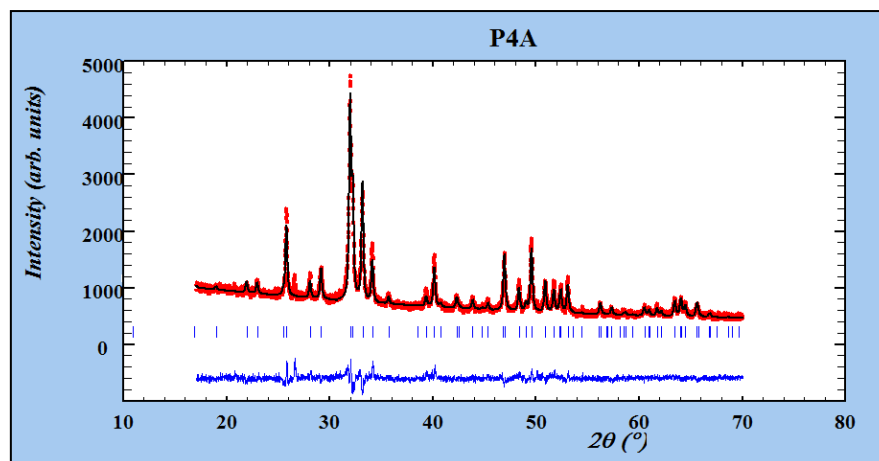
Εικόνα 3.97: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 120P32A.



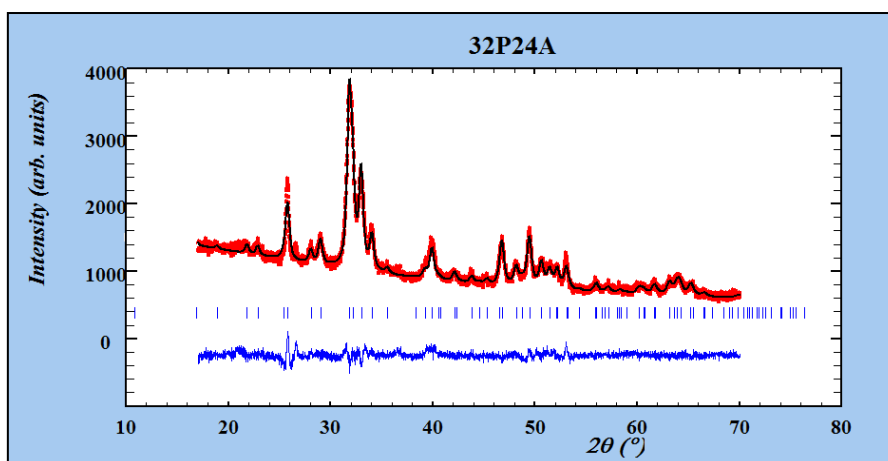
Εικόνα 3.98: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 506P28.



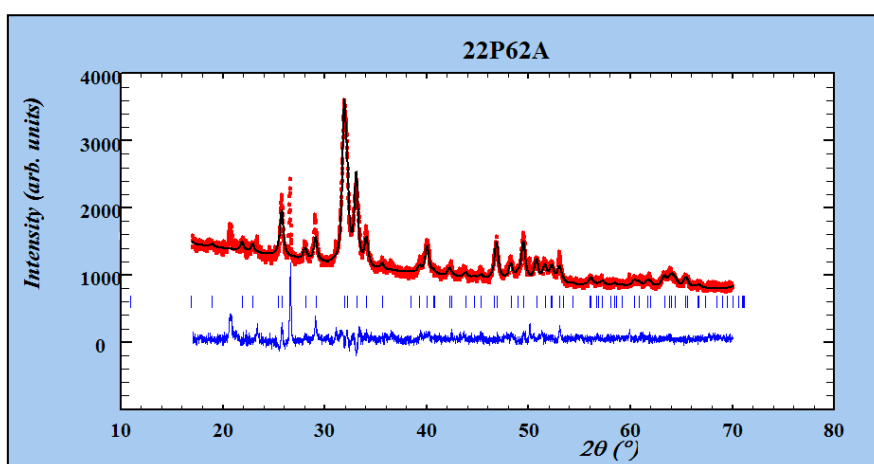
Εικόνα 3.99: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 14P62A.



Εικόνα 3.100: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος P4A.



Εικόνα 3.101: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 32P24A.



Εικόνα 3.102: Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου Rietveld στο διάγραμμα περίθλασης του δείγματος 22P62A.

3.4 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου μας προσφέρει αποτελέσματα τα οποία συμβάλλουν στην εξαγωγή συμπερασμάτων τόσο μόνα τους όσο και σε συνδυασμό με αυτά της περιθλασιμετρίας ακτίνων-Χ και της ηλεκτρονικής μικροανάλυσης. Τα αποτελέσματα προκύπτουν από τη μελέτη της φαινομενολογίας των φασμάτων και από τον υπολογισμό δεικτών με βάση τις εντάσεις συγκεκριμένων κορυφών του φάσματος.

3.4.1 Φαινομενολογική παρουσίαση των φασμάτων μέσου υπερύθρου (MIR)

Στις εικόνες 3.103, 3.104 απεικονίζεται το φάσμα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για το δείγμα 33P102A στην πλήρη περιοχή μέτρησης (450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} - 4000 cm^{-1}). Στο φάσμα σημειώνονται οι κυριότερες θεμελιώδεις δονήσεις, οι οποίες σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Huang & Kerr, 1960; Turner-Walker, 1993; Regnier et al., 1994; Yubao et al., 1994; Wright & Schwarcz, 1996; Clasen & Ruyter, 1997; Puceat et al., 2004; Fleet et al., 2004; Wopenka & Pasteris, 2005; Alvarez-Lloret et al., 2006; Chakraborty et al., 2006; Leventouri, 2006; Antonakos et al., 2007; Σταθοπούλου, 2008; Stathopoulou et al., 2008; Trueman et al., 2008; Chadeaux et al., 2009a; b; Fleet, 2009; Fernandez-Jalvo et al., 2010;

Kourkoumelis & Tzaphlidou, 2010; Abdel-Maksoud & Abdel-Hady, 2011; Dumont et al., 2011; Piga et al., 2011; Thompson et al., 2011; Fernandez-Carrasco et al., 2012; Figueiredo et al., 2012; Hollund et al., 2012; Stathopoulou et al., 2013; Bishop et al., 2014) αποδίδονται ακολούθως.

Ταινία απορρόφησης στους 470 cm^{-1} που αντιστοιχεί στη συμμετρική κάμψη των φωσφορικών ριζών $\nu_2(\text{PO}_4)^{3-}$.

Περιοχή 564 cm^{-1} - 605 cm^{-1} όπου παρατηρούνται οι δονήσεις ασύμμετρης κάμψης των φωσφορικών ριζών $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$, με τη δεύτερη να είναι ισχυρότερη σε όλα τα δείγματα, όπως απεικονίζεται στην εικόνα 3.105. Επιπλέον εμφανίζεται αμυδρά στα φάσματα μέσου υπερίθρου μία ενδιάμεση ταινία στους 576 cm^{-1} - 577 cm^{-1} , η οποία έχει συσχετιστεί βιβλιογραφικά με την παρουσία φθορίου (Shemesh, 1990 cited in Σταθοπούλου, 2008) και καθίσταται πλήρως διακριτή στα φάσματα δεύτερης παραγωγού, που θα αναφερθούν παρακάτω.

Περιοχή 865 cm^{-1} - 880 cm^{-1} όπου παρατηρούνται οι δονήσεις κάμψης (out-of-plane bending mode) των ανθρακικών ριζών $\nu_2(\text{CO}_3)^{2-}$. Στα φάσματα MIR εμφανίζεται στην περιοχή αυτή μία ταινία και συγκεκριμένα στους 866 cm^{-1} για την πλειονότητα των δειγμάτων αλλά όπως θα προκύψει από τα φάσματα δεύτερης παραγωγού, πρόκειται για τρεις ταινίες.

Ταινία απορρόφησης στους 963 cm^{-1} - 964 cm^{-1} , όπου παρατηρούνται οι δονήσεις συμμετρικής έκτασης των φωσφορικών ριζών $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$. Στα δείγματά μας όπως και γενικότερα στους πτωχά κρυσταλλωμένους βιολογικούς απατίτες (Turner-Walker, 1993) η ταινία αυτή εμφανίζεται ως ένας ωμίσκος της ευρείας ταινίας $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$.

Περιοχή 1000 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} όπου παρατηρούνται οι δονήσεις ασύμμετρης έκτασης των φωσφορικών ριζών $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$.

Περιοχή 1426 cm^{-1} - 1463 cm^{-1} όπου παρατηρούνται οι δονήσεις έκτασης των ανθρακικών ριζών $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$, με την πρώτη να εμφανίζεται ισχυρότερη.

Ταινία απορρόφησης στους 3435 cm^{-1} . Καθότι η συγκεκριμένη ταινία εμφανίζεται αρκετά ευρεία, όπως φαίνεται στην εικόνα 3.104, καταλήγουμε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Turner-Walker, 1993; Yubao et al., 1994; Wopenka & Pasteris, 2005; Chakraborty et al., 2006; Antonakos et al., 2007; Kourkoumelis & Tzaphlidou, 2010) στην απόδοσή της σε μόρια νερού. Η παρουσία νερού στο βιογενή απατίτη αποτελεί ακόμη μία σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τον άνυδρο ορυκτό υδροξυλαπατίτη. Δεν είναι λίγες οι εργασίες που έχουν ασχοληθεί με την παρουσία μοριακού νερού στο βιοαπατίτη ωστόσο η πρώτη εργασία που καταλήγει στη δομική ενσωμάτωση των μορίων του νερού είναι αυτή των Pasteris et al. (2014). Προτείνουν μάλιστα το χημικό τύπο $\text{Ca}_{(10-x)}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x](\text{OH})_{2-x} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n \sim 1,5$), από τον οποίο προκύπτει ότι τα μόρια νερού καταλαμβάνουν την ίδια κρυσταλλογραφική θέση με τα μόρια OH^- , σε αντίθεση με την αρχική υπόθεση ότι τοποθετούνται στην κενή θέση (vacancy) που δημιουργείται στους διαύλους των OH^- μετά την αντικατάσταση της φωσφορικής ρίζας από την ανθρακική. Η παρουσία δομικά ενσωματωμένου νερού (structurally incorporated molecular water) απεδείχθη αφενός με τη φασματοσκοπία Raman και αφετέρου με τη μέθοδο TGA (θερμιτοβαρυμετρία). Συγκεκριμένα, λήφθηκαν φάσματα Raman σε συνθετικά δείγματα ανθρακικών απατιτών, σε κανονικές συνθήκες (air) και στη συνέχεια σε ξηρό άζωτο (μετά από έκθεση 2.45 h). Στη δεύτερη περίπτωση (dry gas N_2) παρατηρήθηκε στο φάσμα η ευρεία ταινία του νερού ($\sim 3400\text{ cm}^{-1}$), η οποία είναι ενδεικτική

δομικής ενσωμάτωσης καθώς όσο νερό υπήρχε προσροφημένο είχε απομακρυνθεί. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε σύνθεση ανθρακικών απατιτών σε δευτέριο. Στην περίπτωση αυτή, το δομικά ενσωματωμένο νερό καταγράφηκε ως δευτέριο (ταινία στους 2500 cm^{-1}) ενώ το προσροφημένο στους 3400 cm^{-1} . Η τεχνική TGA κατέδειξε την απώλεια βάρους μεταξύ 200°C - 550°C σε δείγματα δύο ανθρακικών υδροξυλαπατιτών με 3,9 % w/t και 16,5 % w/t ανθρακικά, η οποία αποδίδεται σε δομικά ενσωματωμένο νερό καθώς το προσροφημένο νερό ‘‘χάνεται’’ πριν τους 200°C . Βέβαια, στην ένταση της ταινίας στους 2800 - 3800 cm^{-1} μπορεί κάλλιστα να συμβάλλει η έκταση του δεσμού O-H των μορίων νερού του κολλαγόνου. Για το λόγο αυτό οι Pasteris et al. (2014) εφάρμοσαν spectral stripping (αφαίρεση του φάσματος του κολλαγόνου τύπου -1 από το συνολικό φάσμα Raman) και chemical stripping (απομάκρυνση του κολλαγόνου από τον ιστό και λήψη φάσματος Raman μετά από έκθεση σε ξηρό άζωτο) σε βιογενή απατίτη (μηριαίο από αρουραίο και κέρατο από ελάφι). Καταλήγοντας, η ταινία στους 3435 cm^{-1} που παρατηρήθηκε στα φάσματα MIR όλων των δειγμάτων μας, αποδίδεται σε μόρια νερού μέρος των οποίων είναι προσροφημένα στην επιφάνεια των κρυστάλλων ή ευρισκόμενα εντός των κενών του πορώδους και τα υπόλοιπα δύναται να είναι ενσωματωμένα στο κρυσταλλικό πλέγμα του βιοαπατίτη. Η ταινία απορρόφησης των OH^- στο μέσο υπέρυθρο στους 630 cm^{-1} δεν εντοπίζεται στα δείγματά μας ενώ η δόνηση έκτασης του δεσμού O-H στην περιοχή 3570 - 3580 cm^{-1} παρατηρείται ως μία στενή, οξύληκτη και μικρής έντασης κορυφή μόνο στα δείγματα 110P32A και 21P14. Συνεπώς στην εικόνα 3.104 όπου προβάλλονται μαζί τα φάσματα απορρόφησης των δειγμάτων 33P102A και 110P32A (στο δείγμα 110P32A έχουν αφαιρεθεί πέντε μονάδες από την ένταση ούτως ώστε να μην επικαλύπτονται τα δύο φάσματα) στην περιοχή μέτρησης 1700 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} , γίνεται εμφανής η διάκριση μεταξύ των ταινιών απορρόφησης του OH^- και του H_2O . Να σημειωθεί ότι η απουσία από τα φάσματα της πλειονότητας των υπό μελέτη δειγμάτων των χαρακτηριστικών ταινιών απορρόφησης των OH^- δεν αποδεικνύει απαραίτητα την απουσία τους από τη δομή του βιοαπατίτη καθώς θα μπορούσαν να καλύπτονται και να μην καθίστανται ορατές λόγω της παρουσίας των προσροφημένων μορίων H_2O (Turner-Walker, 1993). Ενδέχεται ακόμη η αύξηση του αριθμού των σαρώσεων για τη λήψη των φασμάτων να καταστήσει ορατές τις ταινίες των OH^- .

Επίσης όλα τα υπό μελέτη δείγματα οστών εμφανίζουν μία ευρεία ταινία απορρόφησης στην περιοχή 1621 - 1635 cm^{-1} , όπως απεικονίζεται στο φάσμα της εικόνας 3.103. Ο Turner-Walker (1993) αποδίδει αντίστοιχη ταινία στους 1630 cm^{-1} στη δόνηση κάμψης των δεσμών H-O-H επιφανειακά προσροφημένων μορίων νερού. Ωστόσο σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Kourkoumelis & Tzaphlidou, 2010; Abdel-Maksoud & Abdel-Hady, 2011; Figueiredo et al., 2012; Hollund et al., 2012) στην ίδια περιοχή εντοπίζεται η τυπική ταινία απορρόφησης του αμιδίου I (Amide I) του μορίου του κολλαγόνου, η οποία προκύπτει κυρίως από τη δόνηση έκτασης του διπλού δεσμού C=O και δευτερευόντως από τη συμβολή του δεσμού C-N. Συγκεκριμένα οι Chadeaux et al. (2009a) προσδιόρισαν με τη βοήθεια της αποσβεννύμενης ολικής ανάκλασης (ATR-FTIR) έξι ταινίες απορρόφησης για το αμίδιο I (1610 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} , 1645 cm^{-1} , 1661 cm^{-1} , 1678 cm^{-1} , 1692 cm^{-1}). Καταλήγουμε επομένως ότι η απόδοση της συγκεκριμένης ταινίας απορρόφησης που εμφανίζουν τα υπό μελέτη δείγματα γίνεται με επιφύλαξη και απαιτεί μεγαλύτερο αριθμό σαρώσεων ή ακόμη καλύτερα την εφαρμογή της καινοτόμου τεχνικής ATR-FTIR ώστε να διευκρινιστεί εάν και σε ποιο βαθμό υπάρχει διατήρηση οργανικών συστατικών στα δείγματά μας. Πάντως στο πλαίσιο της

παρούσας εργασίας, μετά από αξιολόγηση της παραπάνω αναφερόμενης βιβλιογραφίας και πάντοτε βέβαια με επιφύλαξη αποδίδεται η εν λόγω ταινία απορρόφησης σε προσροφημένα στην επιφάνεια των κρυστάλλων μόρια νερού, δεδομένης και της ταινίας στους 3435 cm^{-1} .

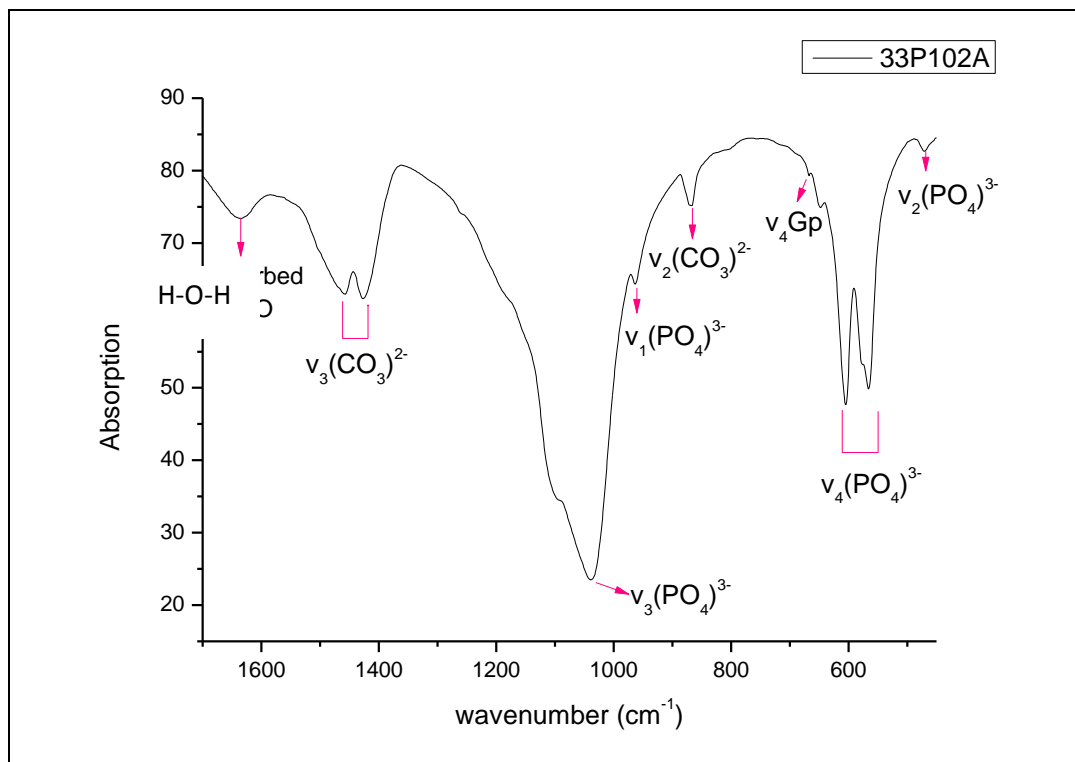
Επιπροσθέτως, από τα φάσματα MIR αντλούνται πληροφορίες για την παρουσία στα δείγματά μας επιπλέον ορυκτών φάσεων πλην της κύριας απατιτικής. Συγκεκριμένα, βάση της ταινίας απορρόφησης περίπου στους $667\text{-}669\text{ cm}^{-1}$ στα δείγματα 9P204, 33P102A, 10P28B, 20P31C, 110P32A, 21P14, 120P32A, 14P62A, P4A, 32P24A, 22P62A, 14P201 εντοπίζεται η παρουσία γύψου (εικ. 3.103). Η ταινία απορρόφησης στους $713\text{-}714\text{ cm}^{-1}$ στα δείγματα 110P32A, 128P32A, 120P32A, 14P62A αποδίδεται σε ασβεστίτη ενώ η παρουσία του χαλαζία, που είναι εμφανής σε όλα τα διαγράμματα περίθλασης, παρατηρείται στα φάσματα απορρόφησης (ταινίες περίπου στους 695 cm^{-1} , 799 cm^{-1}) μόνο στα δείγματα P4A, 120P32A, 22P62A και 14P201.

Συγκρίνοντας τα υπό μελέτη δείγματα οστών ανά φάση (λευκή, γκρι, γκρι-καφέ, καφέ και δείγματα που φέρουν επιφανειακή κρούστα) με κριτήριο την παρουσία δευτερογενών ορυκτών φάσεων όπως προκύπτει από τις ταινίες απορρόφησης στα φάσματα μέσου υπερύθρου και τις κορυφές στα διαγράμματα περίθλασης, καταλήγουμε στον πίνακα 3.13. Οι όποιες διαφοροποιήσεις οφείλονται στην παρουσία του ασβεστίτη καθώς χαλαζίας και γύψος σημειώνονται σε όλα τα δείγματα (εκτός από το 128P32A από το οποίο απουσιάζει η γύψος). Από τη σύγκριση των προερχόμενων από την ίδια θέση δειγμάτων (5P204-9P204, 10P28B-506P28, 110P32A-120P32A-128P32A και 14P62A-22P62A) παρατηρείται διαφοροποίηση στα δείγματα της θέσης P62 καθώς το 14P62A φέρει επιπλέον ασβεστίτη, και της θέσης P32 διότι από το δείγμα 128P32A απουσιάζει η γύψος.

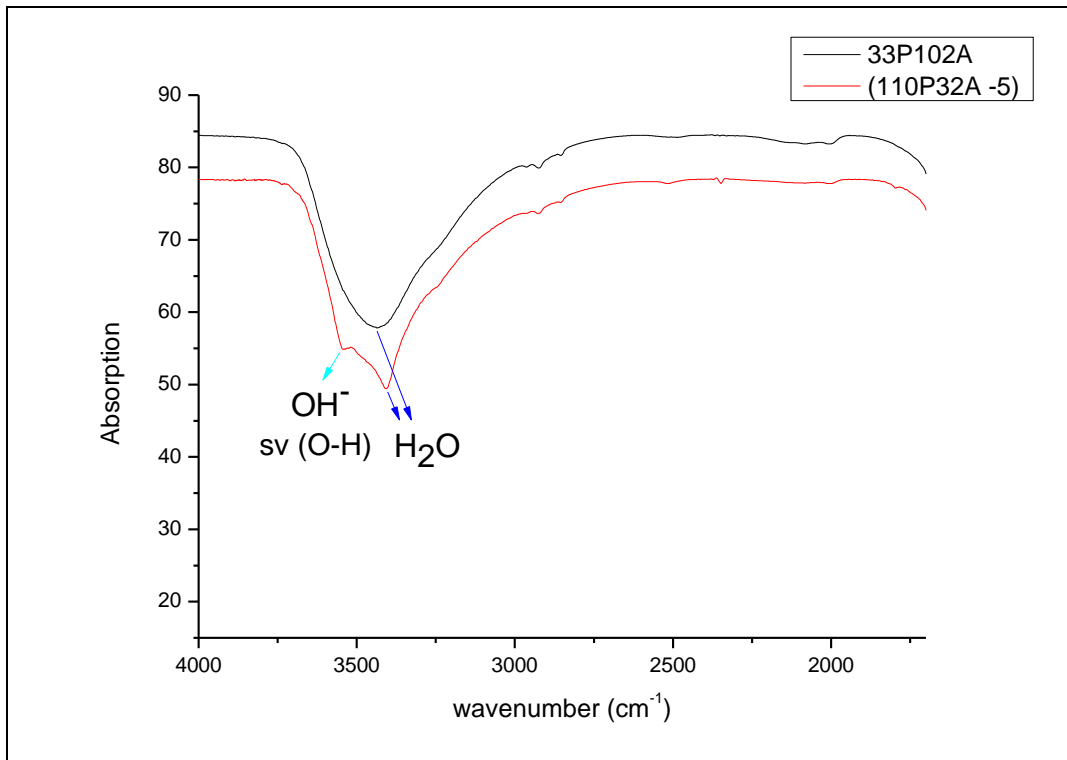
Πίνακας 3.13: Παρουσία δευτερογενών ορυκτών φάσεων (χαλαζίας, γύψος, ασβεστίτης) στα υπό μελέτη δείγματα οστών όπως προκύπτει από τα φάσματα μέσου υπερύθρου, τα φάσματα δεύτερης παραγωγού και τα διαγράμματα περίθλασης.

Sample	Qtz	Gp	Cal
ΛΕΥΚΗ			
5P204	√	√	
9P204	√	√	
33P102A	√	√	
ΓΚΡΙ			
10P28B	√	√	
20P31C	√	√	
110P32A	√	√	√
128P32A	√		√
ΓΚΡΙ-ΚΑΦΕ			
21P14	√	√	
120P32A	√	√	√
ΚΑΦΕ			
506P28	√	√	
14P62A	√	√	√
ΟΣΤΟ+ΚΡΟΥΣΤΑ			
P4A	√	√	
32P24A	√	√	

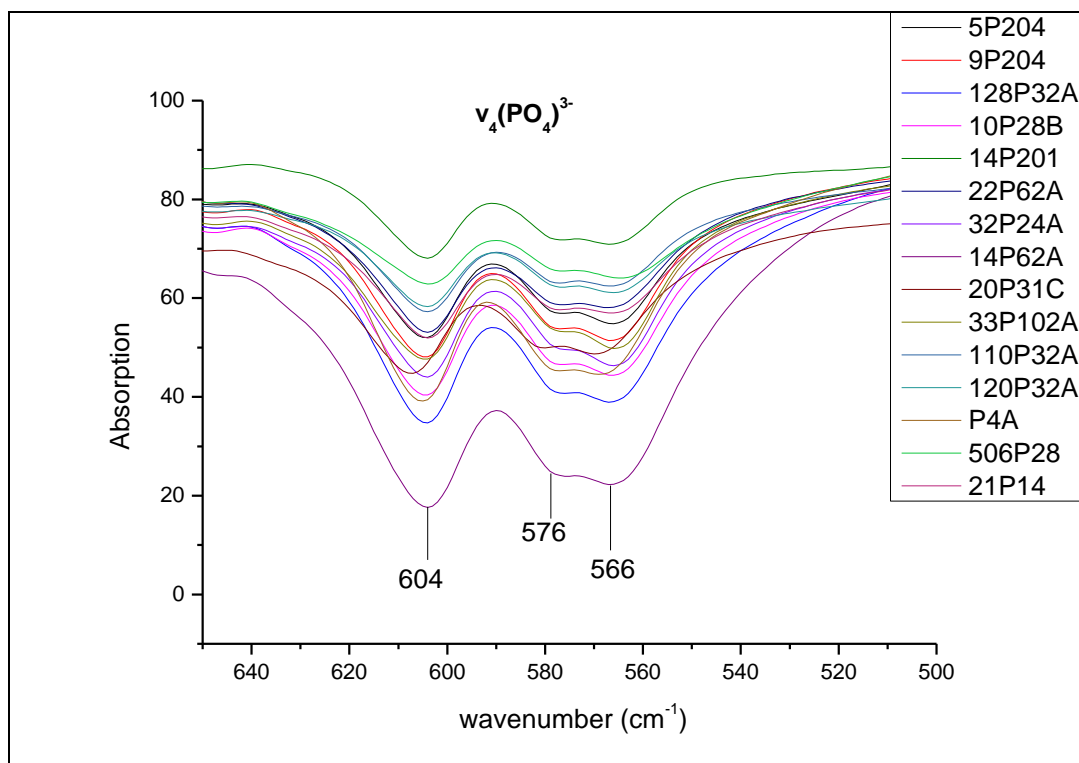
22P62A	√	√	
14P201	√	√	



Εικόνα 3.103: Φάσμα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για το δείγμα οστού 33P102A στην περιοχή μέτρησης 450 cm⁻¹-1700 cm⁻¹. Στο φάσμα σημειώνονται οι θεμελιώδεις δονήσεις στις κύριες περιοχές του φάσματος.



Εικόνα 3.104: Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα δείγματα 33P102A και 110P32A στην περιοχή μέτρησης 1700 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} . Στο φάσμα 110P32A παρατηρείται εκτός από την ταινία απορρόφησης του H_2O και αυτή των OH^- .



Εικόνα 3.105: Περιοχή των φασμάτων MIR όλων των δειγμάτων, όπου τυπικά παρατηρούνται οι δονήσεις των φωσφορικών ριζών $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$.

3.4.2 Φάσματα δεύτερης παραγωγού

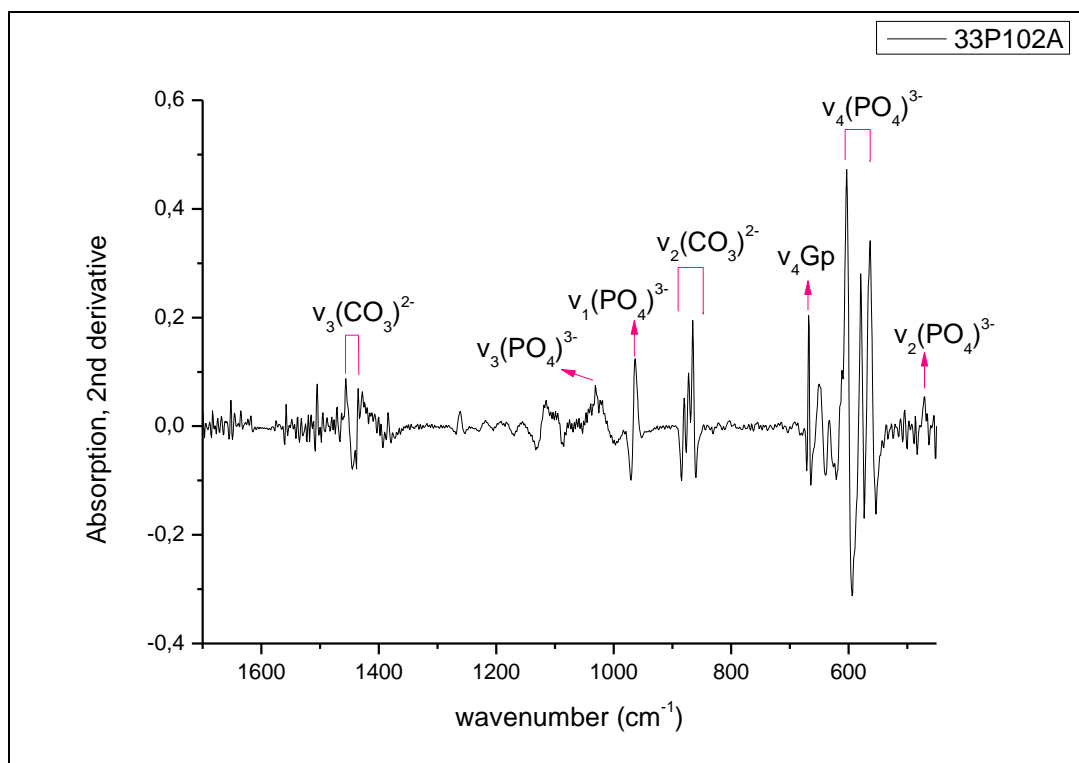
Εκτός από τα φάσματα απορρόφησης μέσου υπέρυθρου μελετήθηκαν και τα φάσματα δεύτερης παραγωγού, τα οποία καθιστούν δυνατή την παρατήρηση περιοχών του φάσματος που δεν ήταν ευδιάκριτες στα φάσματα απορρόφησης (Σταθοπούλου, 2008). Συγκεκριμένα σε σύγκριση με τα φάσματα απορρόφησης παρατηρούμε στα φάσματα δεύτερης παραγωγού την έντονη αύξηση της διακριτικής ικανότητας των στενών κορυφών και την απάλειψη των φαρδιών ταινιών (Σταθοπούλου, 2008). Έτσι πολύτιμη ήταν η συμβολή των φασμάτων δεύτερης παραγωγού για την καλύτερη παρατήρηση των δονήσεων $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$, $\nu_2(\text{CO}_3)^{2-}$, $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$ και $\nu_4\text{Gr}$ ενώ χαρακτηριστική ταινία που απαλείφεται είναι αυτή στους 1040 cm^{-1} .

Στην εικόνα 3.106 παρατίθεται το φάσμα $2^{\text{ης}}$ παραγωγού στο μέσο υπέρυθρο του δείγματος 33P102A στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι κύριες θεμελιώδεις δονήσεις. Στην εικόνα 3.107 δίδεται το φάσμα $2^{\text{ης}}$ παραγωγού στο μέσο υπέρυθρο για όλα τα υπό μελέτη δείγματα οστών στην περιοχή μέτρησης 500 cm^{-1} - 650 cm^{-1} , όπου σε σύγκριση με τα φάσματα απορρόφησης παρατηρείται ευδιάκριτα η ενδιάμεση ταινία της δόνησης $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ στους 578 cm^{-1} . Επίσης η ασθενέστερη ταινία της συγκεκριμένης δόνησης αποτελείται από δύο κορυφές: στους 566 cm^{-1} , που είναι ορατή και στα φάσματα απορρόφησης, και στους 563 cm^{-1} , η οποία καθίσταται ορατή μόνο στα φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγωγού.

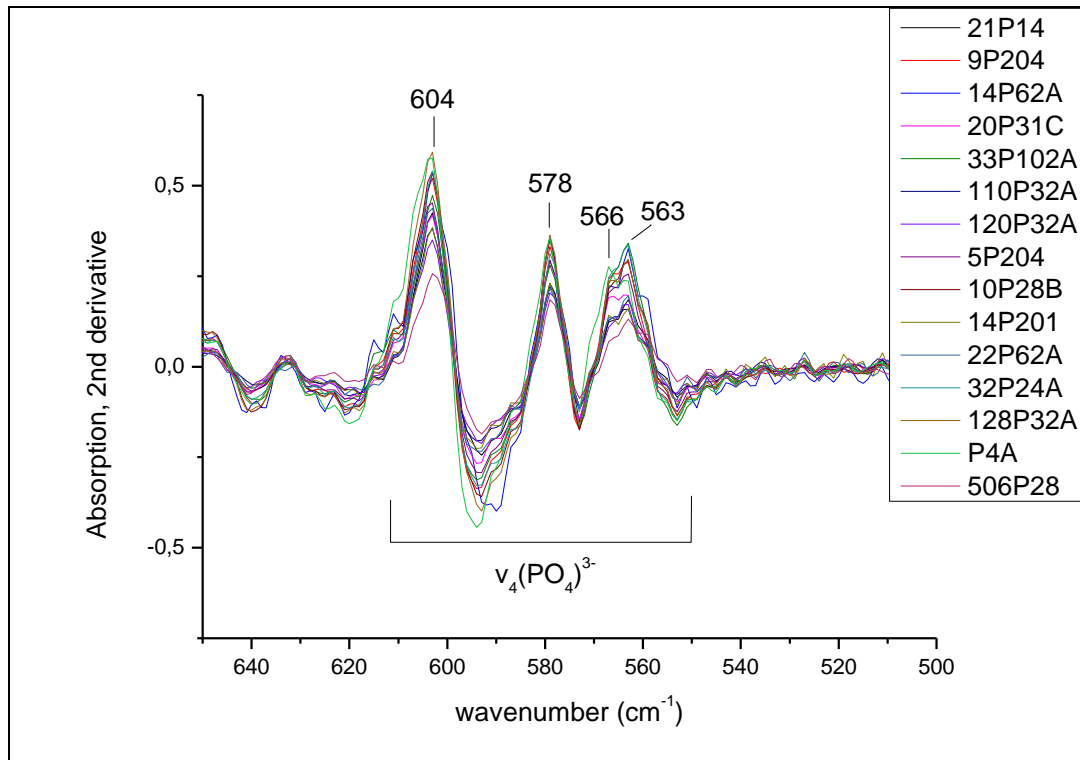
Στην εικόνα 3.108 παρατίθεται το φάσμα $2^{\text{ης}}$ παραγωγού στο μέσο υπέρυθρο για όλα τα υπό μελέτη δείγματα οστών στην περιοχή μέτρησης 840 cm^{-1} - 900 cm^{-1} . Σε αντίθεση με τα φάσματα απορρόφησης, όπου στην εν λόγω περιοχή παρατηρείται μία ταινία, στα φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγωγού σημειώνονται τρεις ταινίες ως εξής: στους 864 - 865 cm^{-1} , 872 - 873 cm^{-1} , 879 - 880 cm^{-1} . Οι ταινίες αυτές αποδίδονται αντιστοίχως σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Σταθοπούλου, 2008; Fleet, 2009; Guido et al., 2011) σε ανθρακικά ασταθή ή ευμετάβλητα (labile/unstable), σε ανθρακικά τύπου-B και ανθρακικά τύπου-A. Τα ανθρακικά τύπου-B και τύπου-A αντικαθιστούν όπως έχει αναφερθεί τη φωσφορική ρίζα και τα υδροξύλια εντός της δομής του βιοαπατίτη αντίστοιχα. Τα ασταθή ανθρακικά από την άλλη οφείλουν την ονομασία τους στο γεγονός ότι θεωρητικά μειώνονται με αύξηση της ωρίμανσης και/ή της κρυσταλλικότητας του οστού (Σταθοπούλου, 2008; Guido et al., 2011) κι επίσης φαίνεται ότι αποτελούν χαρακτηριστικό των βιογενών απατιτών. Η διατήρηση στα υπό μελέτη δείγματα των ασταθών ανθρακικών υποδεικνύει σύμφωνα με τους Guido et al. (2012) ήπια διαγενετική επίδραση. Από την εικόνα 3.108 προκύπτει ότι σε όλα τα δείγματα ισχυρότερη είναι η ταινία των ασταθών ανθρακικών και ακολουθούν αυτές των ανθρακικών τύπου-B και τύπου-A. Εξαίρεση αποτελεί το δείγμα 110P32A, το οποίο δεν εμφανίζει ανθρακικά τύπου-A ενώ διαφοροποιούνται και τα δείγματα 120P32A και 20P31C, στα οποία οι ταινίες των ανθρακικών τύπου-B και A είναι πολύ ασθενείς. Επιπλέον στο δείγμα 110P32A παρατηρείται μία ταινία στους $847,55\text{ cm}^{-1}$, η οποία αποδίδεται σε ασβεστίτη και η έντασή της είναι ανάλογη με αυτή στους 712 cm^{-1} (Σταθοπούλου, 2008).

Όσον αφορά την περιοχή της δόνησης $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$ σημειώνεται αρκετός θόρυβος λόγω του μικρού αριθμού σαρώσεων με αποτέλεσμα να μπορούμε με βεβαιότητα να αναφέρουμε την ύπαρξη μόνο τριών ταινιών: στους 1435 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} και 1505 cm^{-1} . Οι δύο πρώτες αποδίδονται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Regnier et al., 1994; Clasen & Ruyter, 1997; Fleet et al., 2004; Σταθοπούλου, 2008; Fleet, 2009) σε ανθρακικά τύπου-B ενώ η τρίτη θεωρητικά σε ανθρακικά τύπου-A (Fleet et al., 2004; Σταθοπούλου, 2008).

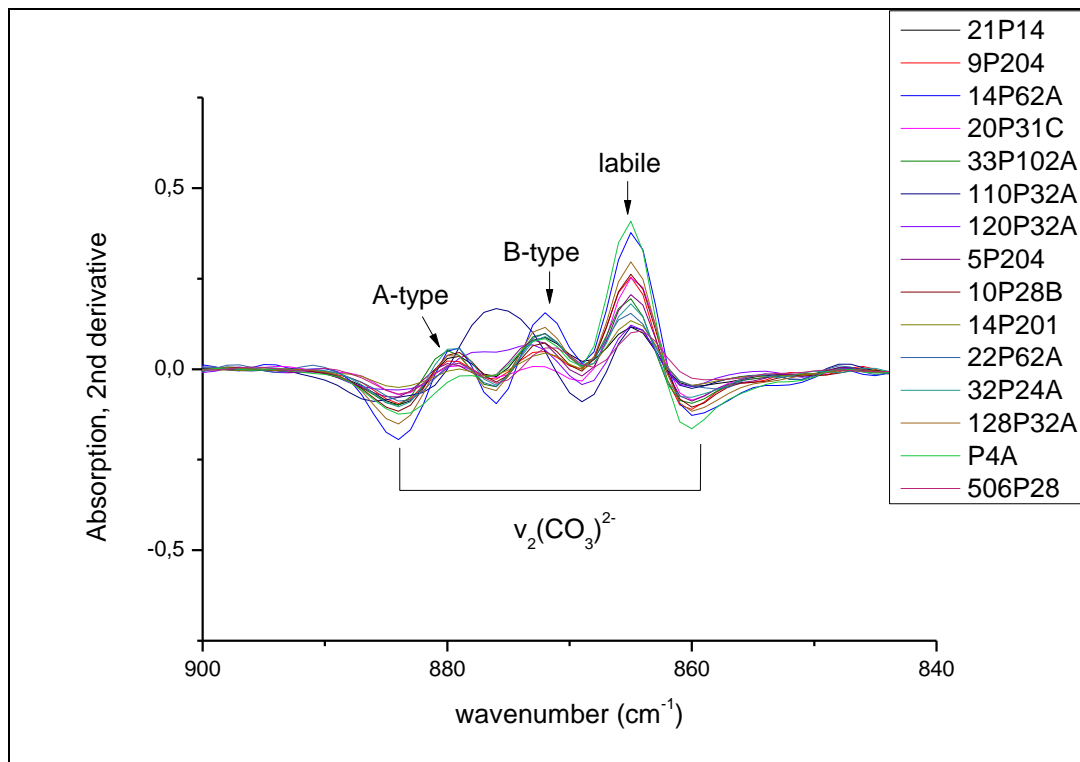
Σχετικά με την αναγνώριση δευτερογενών φάσεων από τις ταινίες των φασμάτων 2^{nd} παραγώγου σημειώνεται σε όλα τα δείγματα με εξαίρεση το 128P32A η παρουσία γύψου όπως παρατηρείται για το δείγμα 33P102A στην εικόνα 3.100. Ασβεστίτης εντοπίζεται στα δείγματα 110P32A, 120P32A και 128P32A και χαλαζίας στα P4A, 506P28, 110P32A, 120P32A, 128P32A, 22P62A, 14P201 και 5P204. Να επισημανθεί στο σημείο αυτό ότι από τη μέθοδο της περιθλασιμετρίας ακτίνων-Χ προκύπτει ότι ο χαλαζίας είναι η σημαντικότερη δευτερογενής ορυκτή φάση αλλά στα φάσματα απορρόφησης και 2^{nd} παραγώγου εντοπίζεται σε λιγότερα δείγματα, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην ύπαρξη θορύβου λόγω του μικρού αριθμού σαρώσεων.



Εικόνα 3.106: Φάσμα 2^{nd} παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο του δείγματος 33P102A στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι κύριες θεμελιώδεις δονήσεις.



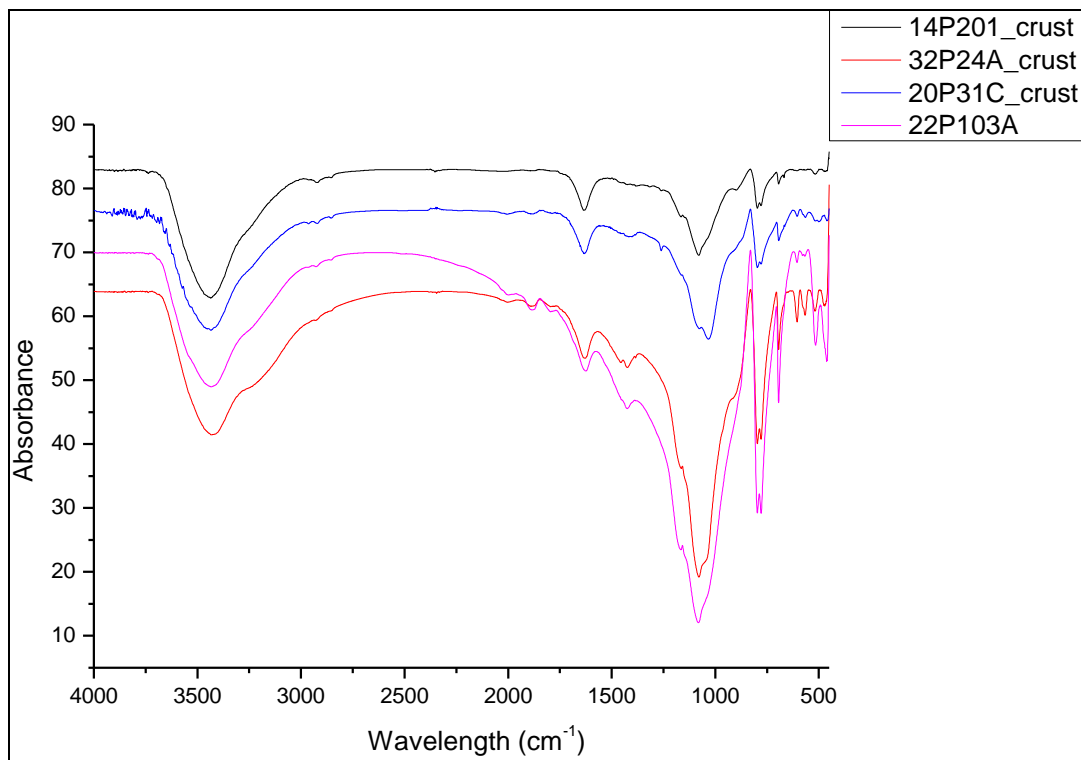
Εικόνα 3.107: Φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο των υπό μελέτη οστών στην περιοχή μέτρησης 500 cm^{-1} - 650 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι επιμέρους ταινίες της δόνησης $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$.



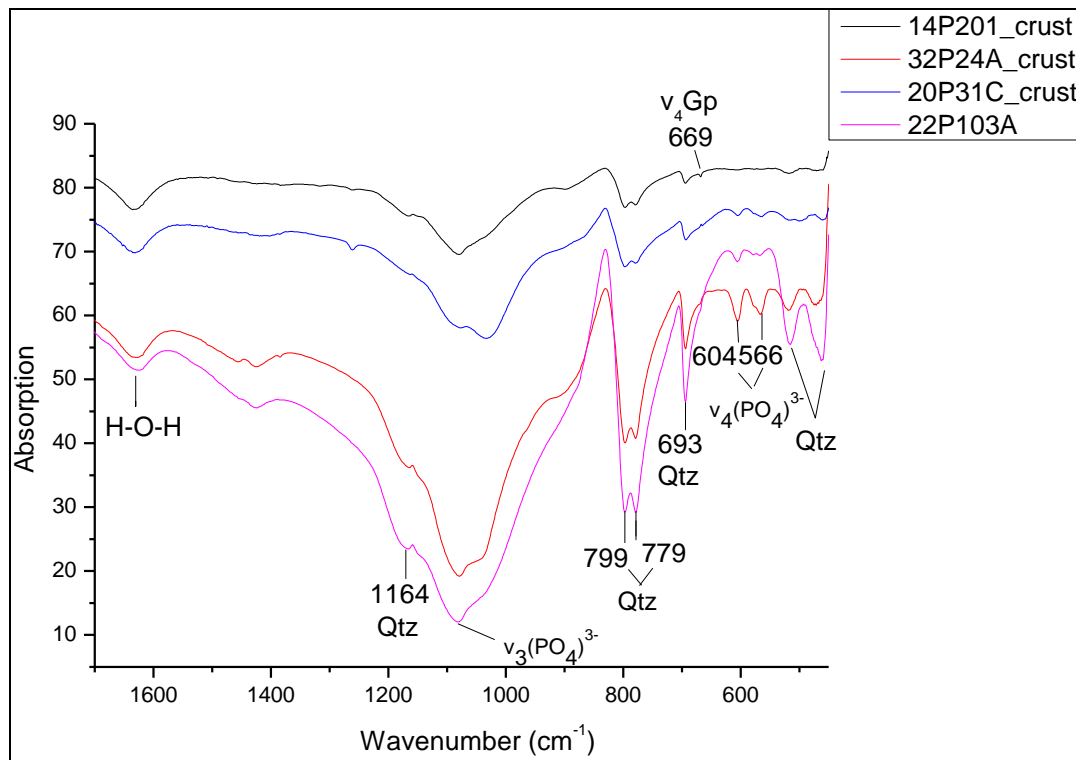
Εικόνα 3.108: Φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου στο μέσο υπέρυθρο των υπό μελέτη οστών στην περιοχή μέτρησης 840 cm^{-1} - 900 cm^{-1} , όπου σημειώνονται οι επιμέρους ταινίες της δόνησης $\nu_2(\text{CO}_3)^{2-}$.

3.4.3 Φαινομενολογική παρουσίαση των φασμάτων μέσου υπέρυθρου των υπό μελέτη δειγμάτων επιφανειακής κρούστας και ιζήματος

Στις εικόνες 3.109 και 3.110 παρατίθενται τα φάσματα απορρόφησης στο MIR για τις υπό μελέτη κρούστες στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} και 450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} αντίστοιχα. Να υπενθυμίσουμε ότι τα δείγματα 32P24A_crust, 20P31C_crust και 14P201_crust αποτελούν κρούστες που έχουν σχηματιστεί στην επιφάνεια των αντίστοιχων δειγμάτων οστών ενώ το δείγμα 22P103A συνιστά ίζημα εντός ενός τρήματος σπονδύλου. Παρατηρείται ότι έντονη είναι, όπως και στα δείγματα των οστών, η παρουσία του νερού που υποδεικνύεται από τις ταινίες στους 3435 cm^{-1} (εικ. 3.109) και 1630 - 1635 cm^{-1} (εικ. 3.110). Επίσης και στα τέσσερα δείγματα και ιδιαίτερα στα 22P103A και 32P24A είναι ισχυρές οι ταινίες του χαλαζία στους 693 cm^{-1} , 779 cm^{-1} , 799 cm^{-1} και ως ωμίσκος στους 1164 cm^{-1} . Σύμφωνα με τους Saikia et al. (2008) η ταινία στους 695 cm^{-1} , όπου παρατηρείται η συμμετρική δόνηση κάμψης του δεσμού Si-O, είναι ενδεικτική της κρυσταλλικότητας του SiO_2 καθώς απουσιάζει από το άμορφο διοξείδιο του πυριτίου. Επιπλέον στα δείγματα 32P24A και 22P1203A παρατηρούνται και οι ταινίες απορρόφησης του χαλαζία στους 515 cm^{-1} και 462 cm^{-1} . Όσον αφορά την ταινία απορρόφησης της γύψου στους 669 cm^{-1} γίνεται ελάχιστα διακριτή στο δείγμα κρούστας 14P201 ενώ στα φάσματα $2^{\text{ης}}$ παραγώγου εντοπίζεται και στα τέσσερα δείγματα με αυξημένη διακριτική ικανότητα. Επιπροσθέτως σημειώνονται στην εικόνα 3.110 οι θεμελιώδεις δονήσεις $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ και $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$ που χαρακτηρίζουν το οστό.



Εικόνα 3.109: Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα υπό μελέτη δείγματα κρούστων και ιζήματος στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} .



Εικόνα 3.110 Φάσματα απορρόφησης στο μέσο υπέρυθρο για τα υπό μελέτη δείγματα κρουστών και ιζήματος στην περιοχή μέτρησης 450 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} , στα οποία σημειώνονται οι δονήσεις που αναγνωρίστηκαν.

3.4.4 Φασματοσκοπικοί Δείκτες

Με βάση τις εντάσεις χαρακτηριστικών κορυφών των φασμάτων απορρόφησης υπολογίστηκαν για τα υπό μελέτη δείγματα ο δείκτης κρυστάλλωσης IRSF (Infrared Splitting Factor) κατά Weiner & Bar-Yosef (1990) καθώς και ο λόγος των ανθρακικών ριζών προς τη φωσφορική C/P (% ποσοστό των ανθρακικών) με βάση τις εντάσεις των κορυφών $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$ και $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ αντίστοιχα, όπως έχει περιγραφεί στη μεθοδολογία. Στον πίνακα 3.14 παρατίθενται οι τιμές των δεικτών κρυστάλλωσης και του ποσοστού των ανθρακικών για κάθε δείγμα. Για τον δείκτη κρυστάλλωσης προκύπτει η μέση τιμή 3.31 με τη μέγιστη τιμή να σημειώνεται στο δείγμα 14P201 και την ελάχιστη στο 14P62A. Για το φρέσκο οστό αναφέρονται οι τιμές 2,5-2,9 (Wright & Schwarcz, 1996), 2,9-3,1 (Σταθοπούλου, 2008) και 2.7 ± 0.1 (Chadefaux et al., 2009b). Όσον αφορά το λόγο ανθρακικών/φωσφορικών η μέση τιμή είναι 0,74 (μέγιστη τιμή το δείγμα 110P32A και ελάχιστη το 32P24A) με το φρέσκο οστό να δίνει τιμές 0,36 (Nielsen-Marsh & Hedges, 1997 cited in Hollund et al., 2012) και $0,38 \pm 0,03$ (Chadefaux et al., 2009b).

Στον πίνακα 3.15 δίνονται για λόγους σύγκρισης με την παρούσα εργασία τιμές των εν λόγω δεικτών από τη βιβλιογραφία. Να σημειωθεί ότι για τον λόγο C/P μόνο στις εργασίες που σημειώνονται με * ο τρόπος υπολογισμού είναι ο ίδιος με αυτόν της παρούσας εργασίας. Στις υπόλοιπες χρησιμοποιούνται οι εντάσεις των κορυφών $\nu_3(\text{CO}_3)^{2-}$ και $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$.

Πρέπει να αναφερθεί ότι η αξιοπιστία του δείκτη κρυστάλλωσης αμφισβητείται καθώς σύμφωνα με τους Hollund et al. (2012) η τιμή του επηρεάζεται από την προετοιμασία του δείγματος, το βαθμό λειοτρίβισης, τις εφαρμοζόμενες πιέσεις για τη δημιουργία του pellet, τις αντιδράσεις στερεάς κατάστασης μεταξύ του δείγματος και του KBr, τη συγκέντρωση του

δείγματος, τη διακριτική ικανότητα και το όργανο μέτρησης. Ως αποτέλεσμα οι συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών εργαστηριακών μετρήσεων είναι δύσκολες.

Αναφορικά με το λόγο C/P σημειώνεται στη βιβλιογραφία ότι επηρεάζει το δείκτη κρυστάλλωσης και συγκεκριμένα επιφέρει τη μείωσή του διότι η αντικατάσταση των φωσφορικών από τα ανθρακικά (αντικατάσταση τύπου-B) έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία κρυστάλλων με μικρότερο μέγεθος αλλά μεγαλύτερη τάση. Αντιθέτως η είσοδος φθορίου εντός της δομής (αντικαθιστώντας τα υδροξύλια) αυξάνει την κρυσταλλικότητα του βιοαπατίτη και άρα το δείκτη κρυστάλλωσης (Wright & Schwarcz, 1996; Thompson et al., 2011). Σε κάθε περίπτωση συνίσταται ο υπολογισμός των φασματοσκοπικών δεικτών από τα φάσματα 2^{ης} παραγώγου.

Πίνακας 3.14: Τιμές των δεικτών κρυστάλλωσης (IRSF) και του ποσοστού των ανθρακικών (C/P) για τα δείγματα υπό μελέτη.

Sample	IRSF	C/P
5P204	3,48	0,69
9P204	3,44	0,63
33P102A	3,44	0,61
10P28B	3,25	0,68
20P31C	3,25	0,68
110P32A	3,31	1
128P32A	3,08	0,68
21P14	3,13	0,72
120P32A	3,48	0,82
506P28	3,08	0,78
14P62A	2,7	0,75
P4A	3,21	0,81
32P24A	3,45	0,58
22P62A	3,11	0,72
14P201	4,27	0,88

Πίνακας 3.15: Τιμές των δεικτών κρυστάλλωσης (IRSF) και του ποσοστού των ανθρακικών (C/P) από τη βιβλιογραφία.

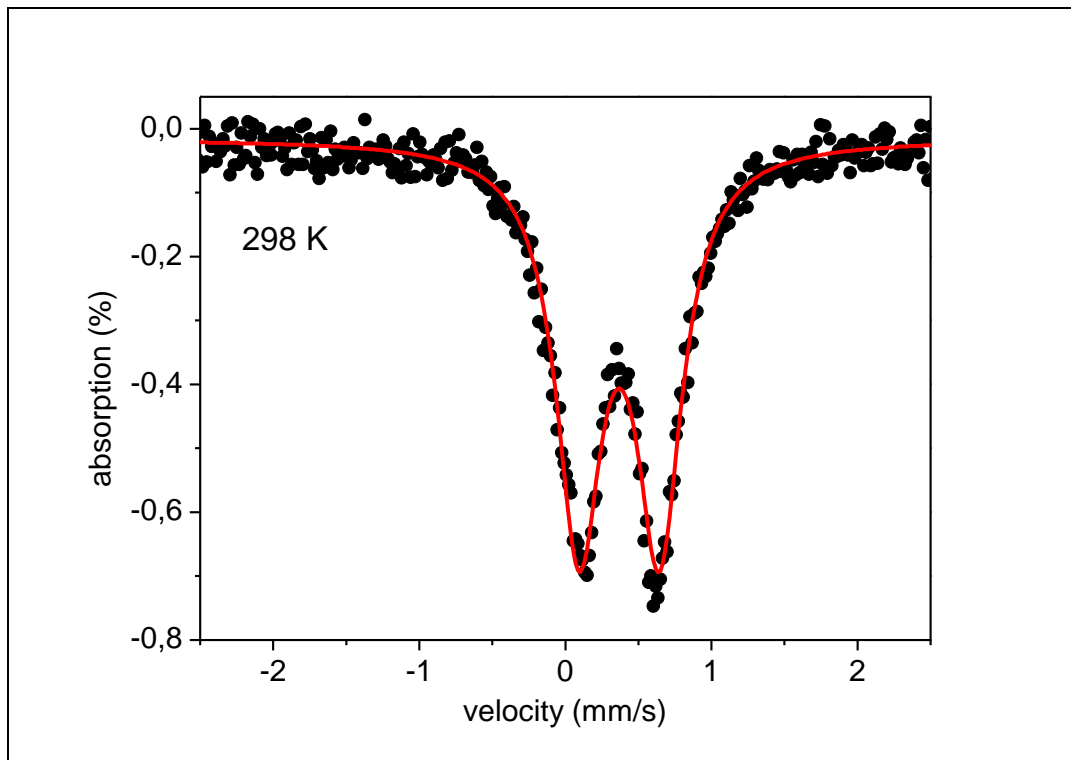
Study	IRSF	C/P
Turner-Walker, 1993	2,20-2,78	
Wright & Schwarcz, 1996 (αρχαιολογικό οστό αποπρωτεϊνωμένο και με χρήση οξέος)	3,44-4,17	0,14-0,30

Puceat et al., 2004 (οδοντικοί ιστοί) *	3,76-6,04	0,16- 0,605
Σταθοπούλου, 2008	4,58± 0,7	
Trueman et al., 2008 *	2,76-4,1	0,57-1,36
Chadefaux et al., 2009b *	4,6	0,65
Fernandez-Jalvo et al., 2010	2,84-3,48	0,2-0,49
Thompson et al., 2011	2,36	0,28
Hollund et al., 2012 (αρχαιολογικά δείγματα)	2,7-3,49	0,21-0,43
Stathopoulou et al., 2013	3,4-4	

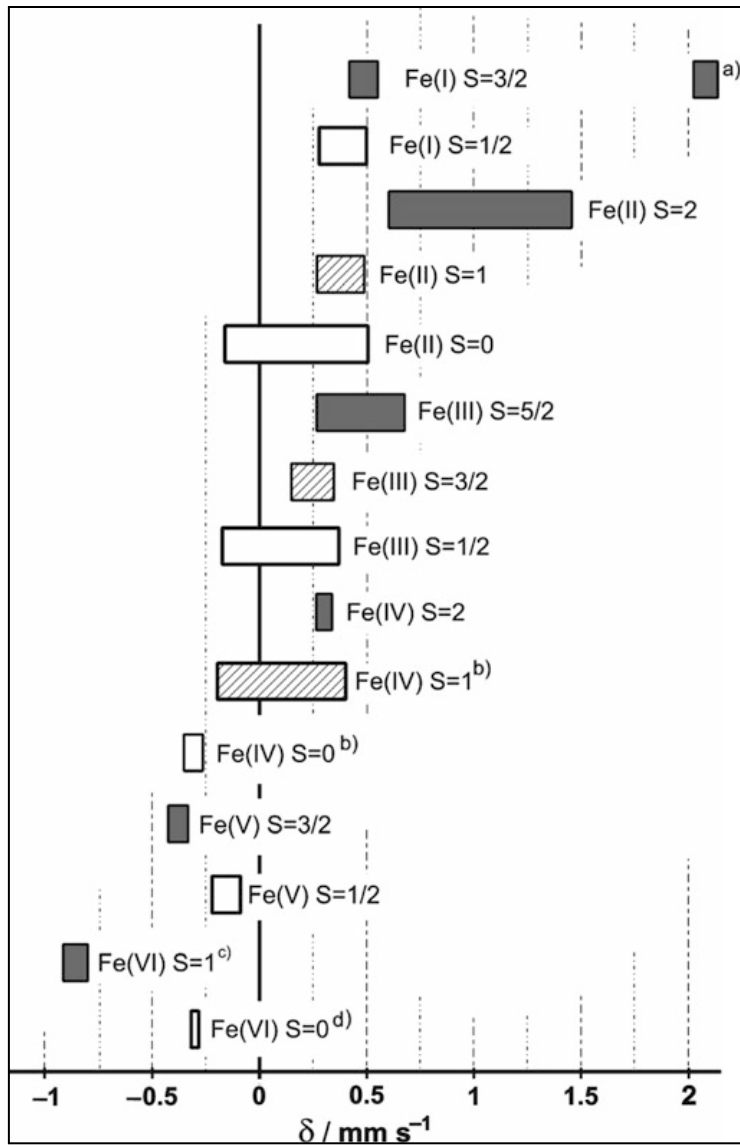
3.5 Φασματοσκοπία Moessbauer

Δεδομένου ότι το ελεύθερο ιόν δισθενούς σιδήρου έχει κατά 0.85 mm/s μεγαλύτερη ισομερή μετατόπιση από αυτή του τρισθενούς σιδήρου, η φασματοσκοπία Moessbauer καθίσταται η πλέον αξιόπιστη τεχνική για τον καθορισμό του σθένους του σιδήρου.

Στην παρούσα εργασία λήφθηκε το φάσμα Moessbauer (εικ. 3.111) για το δείγμα 32P24A, στο οποίο καταγράφηκε με τις ποσοτικές χημικές αναλύσεις με EPMA η υψηλότερη συγκέντρωση σιδήρου. Από την επεξεργασία του προέκυψαν οι τιμές 0.37 mm/s για την ισομερή μετατόπιση και 0.55 mm/s για την τετραπολική αλληλεπίδραση. Οι συγκεκριμένες τιμές και ιδιαίτερα αυτή της ισομερούς μετατόπισης είναι ενδεικτικές της παρουσίας ιόντος τρισθενούς σιδήρου υψηλού σπιν, όπως συνάγεται από το διάγραμμα της εικόνας 3.112 και τη βοήθεια της βιβλιογραφίας (Mayer et al., 1992; Gross et al., 2002). Συνεπώς, αναφορικά με το ερώτημα που προέκυψε για τη συμμετοχή ή μη του σιδήρου στη δομή του βιοαπατίτη μπορούμε να υποστηρίξουμε, με ποσοστό σφάλματος μικρότερο του 5%, ότι δεν παρατηρείται αντικατάσταση του ασβεστίου από ιόντα δισθενούς σιδήρου αλλά αντιθέτως πιθανολογείται η παρουσία τρισθενούς σιδήρου υπό μορφή εγκλεισμάτων γκαιτίτη (FeOOH), ορατών όμως μόνο σε κλίμακα nm και συνεπώς με τη χρήση TEM. Το συμπέρασμα αυτό υποστηρίζουν και οι μετρήσεις σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (ακόμη και στους 285 K), που έδειξαν μαγνητική διάσπαση.



Εικόνα 3.111: Το προκύπτον για το δείγμα $^{32}\text{P}24\text{A}$ φάσμα Moessbauer σε θερμοκρασία δωματίου.



Εικόνα 3.112: Εύρος τιμών της ισομερούς μετατόπισης που παρατηρείται για τα διάφορα ιόντα σιδήρου ^{57}Fe σε θερμοκρασία δωματίου και ως προς α -Fe (Greenwood & Gibb, 1971 in Guetlich et al., 2011).

Κεφάλαιο 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν με τις μεθόδους SEM-EDX, EPMA, XRD-Rietveld και τη φασματοσκοπία FTIR και Moessbauer δεκαπέντε απολιθωμένα μετακρανιακά σκελετικά θραύσματα αρτιοδαχτύλων, ως επί το πλείστον, θηλαστικών από τη Νεογενή θέση Sahabi της ΒΑ Λιβύης. Μελετώντας τα αποτελέσματα των παραπάνω τεχνικών και σύμφωνα με τον αρχικό στόχο για μελέτη των μεταβολών που υφίστανται τα ιστολογικά, ορυκτολογικά, χημικά, φασματικά και δομικά χαρακτηριστικά του οστίτη ιστού κατά τη διαγένεση, καταλήγουμε στα παρακάτω:

Ιστολογικές μεταβολές και Μικροβιακή Δράση

Από τη λεπτομερή παρατήρηση των δειγμάτων μας στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε δείγματα με ανάγλυφο παρατηρήθηκε σε γενικές γραμμές μέτρια διατήρηση των δειγμάτων, με περιοχές εντός τους που επέτρεψαν την καλή παρατήρηση των λεπτομερειών της εσωτερικής μικρομορφολογίας του οστίτη ιστού, δηλαδή των χαβερσιανών καναλιών, των ελασμάτων, των συστημάτων οστεώνων και της μεταξύ τους σχέσης (πρωτογενείς-δευτερογενείς) και των οστικών κοιλοτήτων. Οι περιοχές αυτές εναλλάσσονταν με τμήματα του οστού όπου τα ιστολογικά χαρακτηριστικά δεν ήταν ευδιάκριτα. Στις περιπτώσεις δειγμάτων με καλή διατήρηση της ιστολογίας τους κατέστη δυνατή η παρατήρηση της τυπικής μορφής των ελασμάτων, με την "πακεταρισμένη" δομή των ινών κολλαγόνου και των κρυστάλλων του οστού. Επίσης, στα δείγματα της λευκής φάσης παρατηρήθηκαν στα τοιχώματα χαβερσιανών καναλιών αλλά και οστικών κοιλοτήτων οι ορυκτοποιημένες ίνες κολλαγόνου. Στα δείγματα, τώρα, με κακή ιστολογική διατήρηση (5P204, P4A) ήταν σημαντικό το ποσοστό του πορώδους που οφείλεται πιθανώς στην παρουσία σπογγώδους οστού παρότι κατά τη λήψη των προς ανάλυση θραυσμάτων, γινόταν προσπάθεια για λήψη μόνο του συμπαγούς οστού. Να σημειωθεί, ακόμη, η διαφορετική εικόνα που παρουσιάζουν όλες οι ιστολογικές οπές του δείγματος P4A (σπόνδυλος από οστεϊχθύ), δίνοντας την εικόνα κόκκων στο εσωτερικό τους, η οποία ωστόσο με σημειακές ημι- ποσοτικές αναλύσεις δε φάνηκε να διαφοροποιείται σημαντικά από τη βασική χημική σύσταση του οστού μας. Χρήζει λοιπόν περαιτέρω μελέτης η συγκεκριμένη διαφορά. Επιπρόσθετα, στα δείγματα μας συναντήσαμε πολλές φορές επιφάνεια υγιούς οστού, που ομοιάζει με την εικόνα που δίνει το φρέσκο οστό ενώ μεμονωμένες ήταν οι περιπτώσεις όπου το οστό έφερε οπές και τούνελ, η διάνοιξη των οποίων αποδίδεται σε μικροοργανισμούς. Ωστόσο, η μικροβιακή δράση ήταν περιορισμένη σε πολύ μικρά τμήματα των δειγμάτων (20P31C, 22P62A, 128P32A), είχε δηλαδή παραμείνει σε πρωταρχικό στάδιο και δεν είχε επεκταθεί. Δεδομένης της ανάγκης των μικροβίων για παρουσία συγκεκριμένων γεωχημικών συνθηκών (pH= 4-9, σχετικά υγρές συνθήκες και σχετικά υψηλή θερμοκρασία) καταλήγουμε σύμφωνα με τα ως τώρα δεδομένα μας, ότι στο τοπικό γεωχημικό περιβάλλον επικρατούσε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία ή ένα ξηρό ή υγρό ανοξικό περιβάλλον. Να επισημανθεί όμως, η αναφορά της Σταθοπούλου (2008) για διαφοροποίηση των συνθηκών του παλαιο-μικροπεριβάλλοντος ταφής σε πολύ μικρή κλίμακα με αποτέλεσμα τη δυνατότητα ύπαρξης διαφορετικής τοπικής γεωχημείας εντός της ίδιας θέσης.

Δευτερογενείς Ορυκτές Φάσεις

Σύμφωνα με τη σημειακή ημι- ποσοτική ανάλυση στα μη στιλπνά δείγματα αλλά και τα στιλβωμένα μπλοκ και τη χρήση της περιθλασιμετρίας ακτίνων-X και της φασματοσκοπίας

υπερύθρου εντοπίστηκαν χαλαζίας, γύψος και ασβεστίτης ως κύριες δευτερογενείς ορυκτές φάσεις.

- Ο χαλαζίας εντοπίστηκε στο XRD σε όλα τα δείγματα, με υψηλότερο ποσοστό, βάσει της έντασης της χαρακτηριστικής κορυφής του, στα 120P32A και 14P201. Αποτελεί επίσης την κύρια ορυκτή φάση για τις κρούστες και το ίζημα που μελετήθηκαν. Οι χαρακτηριστικές ταινίες του χαλαζία παρατηρήθηκαν με τη μέθοδο FTIR, κυρίως όμως στα φάσματα της δεύτερης παραγωγού. Κόκκους χαλαζία ‘‘χτυπήσαμε’’ και με το EDS στα δείγματα κρούστας 20P31C και 32P24A. Η είσοδος εγκλεισμάτων χαλαζία στον οστίτη ιστό πραγματοποιείται υπό μορφή διαλυμάτων.
- Η γύψος εντοπίστηκε σε όλα τα φάσματα MIR με εξαίρεση το φάσμα του δείγματος 128P32A ενώ στο XRD παρατηρήθηκε μόνο στα 110P32A, 21P14, 14P62A και 22P62A. Βλέπουμε συνεπώς την ανάγκη εφαρμογής διαφορετικών τεχνικών. Επίσης, κρύσταλλοι γύψου εντοπίστηκαν με το EDS στις κρούστες 20P31C και 32P24A και στο δείγμα 14P62A ως εγκλείσματα στα ιστολογικά κενά του οστού.
- Ασβεστίτης εντοπίστηκε μόνο στα δείγματα 110P32A, 120P32A, 128P32A και 14P62A με τις μεθόδους XRD και FTIR. Παρατηρούμε δηλαδή την παρουσία του στη θέση P32 αλλά συνολικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι δεν είναι σημαντική η παρουσία του στα δείγματά μας.
- Με τη συμβολή του EDS αναγνωρίστηκαν επιπλέον δευτερογενείς ορυκτές φάσεις ως εγκλείσματα όπως: χημικό καθίζημα S, Sr, Ba, Ca, Fe (110P32A), μείγμα ασβεστίτη και αργιλικών (110P32A), ασβεστίτης με εγκλείσματα σιδήρου (110P32A), σελεστίνης SrSO_4 (506P28), φάση Fe-Si (10P28B), φάση Ca, P, Al, Si, Na (120P32A). Τα παραπάνω στοιχεία, εκτός φυσικά από τα Ca, P, προέκυψαν πιθανότατα από την καθίζησή τους από τα κυκλοφορούντα υδατικά διαλύματα. Επιπλέον, η παρουσία εγκλεισμάτων φάσης σιδήρου – οξυγόνου γίνεται εμφανής από την ανάλυση των στιλπνών τομών με το EDS. Φάση σιδήρου σημειώνεται και στην κρούστα 32P24A.
- Από τη λήψη φάσματος Moessbauer για το δείγμα 32P24A προέκυψε η παρουσία τρισθενούς σιδήρου, πιθανώς υπό μορφή εγκλεισμάτων γκαϊτίτη νανομετρικής όμως κλίμακας ώστε να δικαιολογεί την ανίχνευση ποσοστού σιδήρου με EPMA ενώ η ανάλυση γινόταν επί της επιφάνειας του οστού και όχι στις ιστολογικές κοιλότητες αυτού.

Κάνοντας τώρα μία προσπάθεια αναφοράς στις συνθήκες pH-Eh του τοπικού περιβάλλοντος ταφής με βάση το διάγραμμα των Krumbain & Garrels (1952), ο συνδυασμός χαλαζία, γύψου και ασβεστίτη υποδεικνύει pH μεγαλύτερο του επτά (αλκαλικές συνθήκες) και δυναμικό οξειδοαναγωγής $> -0,1$.

Ποσοτική Χημική Ανάλυση

Από τις ποσοτικές χημικές αναλύσεις με τη μέθοδο EPMA προκύπτουν τα εξής εύρη τιμών: Ca: 43.34% - 48.89%, P: 26.96% - 32.81%, F: 2.56% - 3.71%, Cl: 0.06% - 0.82%, S: 2.99% - 4.71%, Fe: 0.02% - 2.63% (προσοχή: μη κανονικοποιημένες τιμές). Οι παρατηρούμενες συγκεντρώσεις (%w/t) φθορίου μαρτυρούν τη διατήρηση των δειγμάτων μας ως ανθρακικοί φθοριοαπατίτες ενώ η αρχική ανόργανη σύσταση περιγράφηκε ως ανθρακικός υδροξυλαπατίτης. Στην κρυσταλλογραφική θέση δηλαδή των διαύλων OH^- έγινε αντικατάσταση αυτών από ανιόντα φθορίου. Η ανωτέρω αντικατάσταση επιφέρει σύμφωνα

με τη βιβλιογραφία μεταβολή στην κρυσταλλικότητα του βιοαπατίτη, αυξάνοντας το μέγεθος των κρυστάλλων του. Να σημειωθεί το υψηλό ποσοστό φθορίου στα δείγματά μας, το οποίο πλησιάζει τη θεωρητικά μέγιστη περιεκτικότητα του στο απολιθωμένο οστό (3.8% κ.β.). Υψηλές είναι και οι συγκεντρώσεις θείου σε σύγκριση με αυτές σε μη απολιθωμένο οστό, οι οποίες απαντούν ωστόσο στο οργανικό τμήμα του ιστού. Η παρουσία του θείου στα δείγματά μας οφείλεται πιθανώς στην παρουσία της γύψου ως υλικό πλήρωσης ρωγμών στην περιοχή μελέτης αλλά φυσικά και ως έγκλεισμα στα ιστολογικά κενά του οστίτη ιστού, όπως αναφέρεται παραπάνω. Δεν μπορεί να αποκλειστεί όμως, λόγω του ότι οι σημειακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στην επιφάνεια του συμπαγούς, η πιθανότητα εισόδου του θείου στη δομή υπό μορφή SO_4^{2-} , αντικαθιστώντας τη φωσφορική ρίζα. Απαιτείται δηλαδή να προσδιοριστεί το σθένος του στοιχείου (με S K-edge XANES για παράδειγμα). Υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου σημειώθηκαν μόνο στα δείγματα 32P24A, 14P62A (δείγματα από Bovidae) και αποδίδονται πιθανότερα, μετά και από τη συμβολή της φασματοσκοπίας Moessbauer, σε νανοεγκλείσματα γκαϊτίτη. Για την επιβεβαίωση της υπόθεσής μας απαιτείται η χρήση TEM. Αναφορικά με τους λόγους Ca/P, που υπολογίστηκαν, προκύπτουν μικρότεροι από τις θεωρητικές τιμές στο φρέσκο οστό και τον ορυκτό απατίτη (2.14% και 2.16% αντίστοιχα), στοιχείο ενδεικτικό απόπλυσης ασβεστίου, το οποίο πιθανώς να οφείλεται στο βαθμό κορεσμού (ακόρεστα) των υδατικών διαλυμάτων στο στοιχείο αυτό. Ωστόσο αναλύσεις με τη μέθοδο αυτή έγιναν μόνο σε έξι δείγματα επομένως τα συμπεράσματά μας εξάγονται με κάθε επιφύλαξη.

Δομικές Παράμετροι- Χημεία

Με την εφαρμογή της μεθόδου Rietveld υπολογίστηκε το συντεταγμένο μήκος κατά τη διεύθυνση των αξόνων c και a και ο όγκος της κυψελίδας (V_{cell}) και προέκυψε αντίστοιχα το εύρος τιμών: 6.8928 Å - 6.9017 Å, 9.3641 Å - 9.3888 Å, 523.886 Å³ - 526.373 Å³. Παρατηρείται επομένως ότι ο άξονας c δεν είναι ευαίσθητος στις δομικές μεταβολές σε αντίθεση με τον άξονα a και τον όγκο της κυψελίδας, που παρουσιάζουν συστηματικές διαφοροποιήσεις. Ωστόσο, διαφοροποίηση από τα υπόλοιπα δείγματα παρουσιάζουν οι τιμές των δειγμάτων 128P32A (a= 9.325 Å, c= 6.8607 Å, V_{cell} = 516.644 Å³) και P4A (a= 9.3396 Å, V_{cell} = 520.713 Å³). Επίσης, με τη βοήθεια των ανωτέρω τιμών κατασκευάστηκε διάγραμμα δομικών παραμέτρων, από το οποίο προκύπτει ισχυρότερη επίδραση στα δείγματα μας του φθορίου και των ανθρακικών τύπου-B. Τα συγκεκριμένα δεδομένα συμφωνούν με αυτά της μεθόδου EPMA και της φασματοσκοπίας FTIR.

Κρυσταλλικότητα- Μέγεθος Κρυσταλλιτών

Δεδομένα για την κρυσταλλικότητα του βιοαπατίτη των δειγμάτων μας παρέχει η μέθοδος Rietveld, με το μέγεθος κρυστάλλων που υπολογίζει, καθώς και οι τεχνικές XRD, FTIR μέσω του υπολογισμού των δεικτών κρυστάλλωσης C.I. και IRSF αντίστοιχα. Η ανάλυση Rietveld προτείνει βελονοειδές σχήμα κρυστάλλων, με το μεγάλο άξονα των βελόνων παράλληλα στον c. Το μέγεθος των κόκκων κυμαίνεται μεταξύ 168.01 Å - 341.08 Å. Διαφοροποίηση εμφανίζει η τιμή που δίνει το δείγμα P4A (645.68 Å, με αβεβαιότητα όμως ~2.15). Να τονίσουμε όμως ότι αφενός η μέθοδος Rietveld υπολογίζει το μέγεθος της μικρότερης τέλει οργανωμένης περιοχής του κρυσταλλίτη και αφετέρου στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκε το μέσο φαινόμενο μέγεθος σε όλες τις διευθύνσεις (ισοτροπικό μέγεθος). Φυσικά απαιτείται και στην περίπτωση αυτή η χρήση του μικροσκοπίου διέλευσης

ηλεκτρονίων, που αποτελεί τη μόνη μέθοδο ακριβούς προσδιορισμού του μεγέθους των απατιτικών κρυσταλλιτών. Για το δείκτη κρυστάλλωσης C.I. προκύπτει μέση τιμή 0.48, με τη μέγιστη τιμή να σημειώνεται στο δείγμα P4A ενώ για τον δείκτη IRSF η μέση τιμή είναι 3.31 με τη μέγιστη να καταγράφεται στο δείγμα 14P201. Τα αποτελέσματα για τους δείκτες μας εμπίπτουν εντός των βιβλιογραφικών τιμών. Μεταξύ των δύο δεικτών περισσότερο αξιόπιστος βιβλιογραφικά θεωρείται ο δείκτης που υπολογίζεται από τα διαγράμματα περίθλασης αν και στην παρούσα εργασία λόγω θορύβου στο διάγραμμα, υπεισέρχεται σίγουρα κάποιο μικρό ποσοστό σφάλματος. Για τον υπολογισμό του IRSF προτείνεται να γίνεται μέσω των ταινιών στα φάσματα δεύτερης παραγωγού και να ληφθεί υπόψη η ταινία στους 577 cm^{-1} (δόννηση $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$).

Διαγενετικό προφίλ του ορίζοντα U1 του σχηματισμού Sahabi

Συνοψίζοντας, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, τα δείγματα από τον ορίζοντα U1 του σχηματισμού Sahabi αποτελούνται από ανθρακικό φθοριοαπατίτη με την παρουσία εκτός από τα ανθρακικά τύπου B και των ανθρακικών τύπου A καθώς και των ασταθών ανθρακικών. Οι κυριότερες δευτερογενείς ορυκτές φάσεις είναι ο χαλαζίας και η γύψος με πιθανή την παρουσία νανοεγκλεισμάτων γκαϊτίτη και γύψου. Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις για εμπλουτισμό των κυκλοφορούντων υδατικών διαλυμάτων σε F και Na. Επιπροσθέτως, εικάζεται ένα τοπικό παλαιοπεριβάλλον με χαμηλή θερμοκρασία ή ένα ξηρό ή υγρό ανοξικό περιβάλλον, με $\text{pH} > 7$ και $\text{Eh} > -0,1$.

Αναφορικά με τον αρχικό μας στόχο για τη διερεύνηση της πιθανής απόδοσης του διαφορετικού χρωματισμού των οστών σε διαφορετικές διαγενετικές διεργασίες, τα αποτελέσματα μας δεν δείχνουν κάποια ισχυρή διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων των αρχικά ορισθεισών "φάσεων". Ωστόσο αυτό δεν αποκλείει την αρχική μας υπόθεση αλλά οφείλεται πιθανώς στο μικρό αριθμό δειγμάτων και στις τεχνικές που εφαρμόστηκαν.

Προτάσεις

Η παρούσα εργασία κατέληξε σε ορισμένα πρώτα συμπεράσματα που αφορούν τα ταφονομικά και ορυκτοχημικά χαρακτηριστικά απολιθωμένου βιοαπατίτη από τη θέση Sahabi ωστόσο αρκετά ήταν τα ερωτήματα που προέκυψαν. Για τη συνέχιση της έρευνας μας προτείνεται η εφαρμογή των μεθόδων: XANES, για προσδιορισμό του σθένους του θείου, καθώς και NIR (φάσματα στο εγγύς υπέρυθρο) και FTIR-ATR (τεχνική αποσβεννύμενης ολικής ανάκλασης) για λεπτομερέστερη μελέτη της παρουσίας OH^- και νερού στη δομή και τη διερεύνηση της διατήρησης οργανικών συστατικών. Ακόμη, η παρατήρηση των απατιτικών κρυστάλλων στο TEM (προετοιμασία δειγμάτων με ion milling) αλλά και χημική ανάλυση στη νανοκλίμακα. Επιπλέον, χημική ανάλυση με τη μέθοδο XRF ή ICP-AES δύναται να μας βοηθήσει στην προσπάθεια αιτιολόγησης του διαφορετικού χρώματος που φέρουν τα δείγματά μας μακροσκοπικά.

Κλείνοντας, με δεδομένο τον περιορισμό που θέτει η μοναδικότητα των απολιθωμένων οστών ως προς ανάλυση γεϋλικό, επιδιώξαμε η παρούσα εργασία να συμβάλλει από τη μεριά της στην ανάδειξη της πολυπλοκότητας της διαγένεσης αλλά και της σπουδαιότητας μελέτης της στους τομείς της παλαιοντολογίας, ταφονομίας, βιο-ορυκτολογίας αλλά και μελέτης ισοτόπων και χρονολόγησης των οστών. Συγκεκριμένα για τη θέση στο Sahabi ευελπιστούμε να επανεκκινήσει η γεωλογική και παλαιοντολογική έρευνα στο πλαίσιο του ELNRP κ.αι να καταστεί δυνατή η πρόσβαση σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων απολιθωμένων οστών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abdel- Maksoud, G., Abdel- Hady, M. (2011) 'Effect of burial environment on crocodile bones from Hawara excavation, Fayoum, Egypt', *Journal of Cultural Heritage* 12, 180-189.

Álvarez-Lloret, P., Rodriguez-Navarro, A.B., Romanek, CH.S., K.F. Gaines, K.F., Congdon, J. (2006) 'Quantitative analysis of bone mineral using FTIR', *Macla* 6 XXVI REUNIÓN (SEM) / XX REUNIÓN (SEA).

Antonakos, A., Liarokapis, E., Leventouri, Th. (2007) 'Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites', *Biomaterials* 28, 3043-3054.

Argyriou, T., Otero, O., Pavlakis, P., Boaz, N.T. (2012) 'Description and paleobiogeographical implications of new Semlikiichthys (Teleostei, Perciformes) fish material from the Late Miocene deposits of Sahabi, Libya', *Geobios* 45, 429 - 436.

Βαλαβανίδης, Α.Π. (2006) 'Φασματοσκοπία Οργανικών ενώσεων'. Αθήνα.

Ballmann, P. (1987) 'A Fossil Bird Fauna from the Pliocene Sahabi Formation of Libya' , in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 113-117.

Barr, F.T. & Walker, B.R. (1973) 'Late Tertiary channel system in northern Libya and its implication on Mediterranean sea level changes', in Ryan, W.B.F., Hsu, K.J et al. (eds), *Initial Report Deep Sea Drilling Project, Leg 13*, pp. 1244-1251.

Bernor, R. & Pavlakis, P. (1987) 'Zoogeographic Relationships of the Sahabi large mammal fauna (Early Pliocene, Libya)', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 349-383.

Bernor, R. & Scott, R. (2003) 'New interpretations of the Systematics, Biogeography and Paleoecology of the Sahabi hipparions (latest Miocene) (Libya)', *Geodiversitas*, 25 (2), pp. 297-319.

Bernor, R. & Rook, L. (2008) 'A current view of As Sahabi large mammal Biogeographic Relationships', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 283-290.

Beyer, C. (2008) 'Establishment of a Chronostratigraphical Framework for the As Sahabi Sequence in Northeast Libya', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 59-69.

Bishop, J.L., Lane, M.D., DarbyDyar, M., King, S.J., Brown, A.J., Swayze, G. (2014) 'What Lurks in the Martian Rocks and Soil? Investigations of Sulfates, Phosphates, and Perchlorates.

Spectral Properties of Ca-sulfates: Gypsum, Bassanite and Anhydrite', *American Mineralogist* Vol. 99, Issue 10, 2105–2115.

Boaz, N.T. (1996) 'Vertebrate palaeontology and terrestrial palaeoecology of As Sahabi and Sirt Basin', in Salem, M.J., Mouzoughi, A.J. & Hammuda, O.S. (eds), *Geology of Sirt Basin*. Amsterdam, Elsevier I, pp. 531-539.

Boaz, N.T. (2009) *Libya before the Sahara: The vanished world of the Eo- Sahabi valley*. International Institute for Human Evolutionary Research. Occasional Papers, No 1.

Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Agusti, J., Bernor R.L., Pavlakis, P. & Rook, L. (2008a) 'Temporal, Lithostratigraphic and Biochronologic Setting of the Sahabi Formation, North-Central Libya', in *Geology of East Libya*, volume 3, pp. 959-972.

Boaz, N.T., El- Arnauti, A. & Pavlakis, P. (2008b) 'A brief history of As Sahabi research and collections', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 1-11.

Boskey, A.L. (2007) 'Mineralization of Bones and Teeth', *Elements* 3, 385-391.

Bruker AXS (2001) '*Introduction to Power X-Ray Diffraction- History, Basic Principles*'.

Carmignani, L., Salvini, R., Bonciani, F. (2009) 'Did the Nile River flow to the Gulf of Sirt during the late Miocene?', *Bollettino della Societa Geologica Italiana* 218, 403–408.

Cassella, A.R., Campos, R.C., Garrigues, S., de la Guardia, M., Rossie, A. (2000) 'Fourier transform infrared determination of CO₂ evolved from carbonate in carbonated apatites', *Fresenius J Anal Chem* 367, 556–561.

Chadefaux, C., Le Ho, A.S., Bellot- Gurlet, L., Reiche, I. (2009a) 'Curve - Fitting Micro-ATR - FTIR Studies of the Amide I and II bands of type I collagen in archaeological bone materials', *Bone amide IR band curve fitting, e-PS*, 2009, 6, 129-137.

Chadefaux, C., Vignaud, C., Chalmin E., Robles- Camacho, J., Arroyo- Cabrales, J., Johnson, E., Reiche, I. (2009b) 'Color origin and heat evidence of paleontological bones: Case study of blue and gray bones from San Josecito Cave, Mexico', *American Mineralogist* 94, 27-33.

Chakraborty, S., Bag, S., Pal, S., Mukherjee, A.K. (2006) 'Structural and microstructural characterization of bioapatites and synthetic hydroxyapatite using X-ray powder diffraction and Fourier transform infrared techniques', *J. Appl. Cryst.* 39, 385–390.

Cooke, H.B.S. (1987) 'Fossil Suidae from Sahabi, Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 255-266.

Currey, J. D (1990) 'Physical characteristics affecting the tensile failure properties of compact bone', *J. Biomech* 23 (8), 837–844.

Dechant Boaz, D. (1987) 'Taphonomy and Paleoecology at the Pliocene site of Sahabi, Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 337-348.

De Geyter, G. & Stoops, G. (1987) 'Petrography of Neogene Sediments of the Sahabi Area: A Preliminary Report', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 23-36.

De Heinzelin, J. & El- Arnauti, A. (1982) 'Stratigraphy and geological history of the Sahabi and related formations'. *Garyounis Sci. Bull.*, Spec. Issue 4, pp. 5-12.

De Heinzelin, J. & El- Arnauti, A. (1983) *Geology of the Sahabi area with a geological map at scale 1:25.000*. Research Centre Garyounis University, Benghazi, Libya. (Edited by the Section of Cartography and Photo-Interpretation of the Royal Museum for Central Africa, Tervuren, Belgium) in commission of the Research Centre, Garyounis University, Benghazi, Libya. 59 p with Annexes.

De Heinzelin, J. & El- Arnauti, A. (1987) 'The Sahabi Formation and related deposits', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 1-21.

Delfino, M. (2008) 'New Remains of *Crocodylus checchiai* Maccagno 1947 (Crocodylia, Crocodylidae) from the Late Miocene of As Sahabi, Libya', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp.111-118.

Δούβαλης, Α 'Φασματοσκοπία Mossbauer', διδακτικές σημειώσεις, Παν/μιο Ιωαννίνων.

Dumont, M., Kostka, A., Sander, P.M., Borbely, A., Kaysser- Pyszalla, A. (2011) 'Size and size distribution of apatite crystals in sauropod fossil bones', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 108–116.

El- Arnauti, A. & El Sogher, A. (2004) *Geology of East Libya. Short notes and guidebook on the geology of Qasr As Sahabi area*. Tripoli: Earth Science Society of Libya.

Elliott, JC, Wilson, RM, Dowker, SEP (2002) 'Apatite Structures', International Centre for Diffraction Data, *Advances in X-ray Analysis*, Volume 45.

El- Shawaihdi, M.H., Muftah, A.M., Mozley, P.S. & Boaz, N.T. (2014) 'New Age Constraints for Neogene sediments of the Sahabi area, Libya (Sirt Basin) using strontium isotope ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) geochronology and calcareous nannofossils', *Journal of African Earth Sciences* 89, 42-49.

Fernandez- Carrasco, L., Torrens- Martin, D., Morales, L.M., Martinez – Ramirez, S. (2012) 'Infrared Spectroscopy in the Analysis of Building and Construction Materials', *Infrared Spectroscopy – Materials Science, Engineering and Technology*, Prof. Theophanides

Theophile (Ed.), ISBN: 978-953-51-0537-4, InTech, Available from:
<http://www.intechopen.com/books/infrared-spectroscopy-materials-science-engineering-and-technology/infrared-spectroscopy-of-cementitious-materials>.

Fernandez- Jalvo, Y., Andrews, P., Pesquero, D., Smith, C., Marin-Monfort, D., Sanchez, B., Geigl., E.M., Alonso, A. (2010) 'Early bone diagenesis in temperate environments Part I: Surface features and histology', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 288, 62–81.

Figueiredo, M.M., Gamelas, J.A.F., Martins, A.G. (2012) 'Characterization of Bone and Bone-Based Graft Materials Using FTIR Spectroscopy', *Infrared Spectroscopy - Life and Biomedical Sciences*, Prof. Theophanides Theophile (Ed.), ISBN: 978-953-51-0538-1, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/infrared-spectroscopy-life-and-biomedical-sciences/characterization-ofbone-and-bone-based-graft-materials-using-ftir-spectroscopy>.

Fleet, M.E. (2009) 'Infrared spectra of carbonate apatites: ν_2 -Region bands', *Biomaterials* 30, 1473-1481.

Fleet, M.E., Liu, X., King, P.L. (2004) 'Accommodation of the carbonate ion in apatite: An FTIR and X-ray structure study of crystals synthesized at 2–4 GPa', *American Mineralogist* 89, 1422-1432.

Gaudant, J. (1987) 'A preliminary report on the Osteichthyan Fish-Fauna from the Upper Neogene of Sahabi, Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 91-99.

Gaziry, A.W. (1987a) 'Remains of Proboscidea from the Early Pliocene of Sahabi, Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 183-203.

Gaziry, A.W. (1987b) 'Hexaprotodon sahabiensis (Artiodactyla, Mammalia): A new Hippopotamus from Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 303-315.

Gentry, A.W. (1999) 'A fossil hippopotamus from the Emirate of Abu Dhabi, United Arab Emirates', in Whybrow, P.J & Hill, A. (eds), *Fossil Vertebrates of Arabia*. New Haven: Yale Univ. Press, pp. 271-289.

Giglia, D. (1984) Geological map of Libya 1:250.000. Sheet Ajdabiya, (NH 34-6), Explanatory Booklet. *Ind. Res. Cent.*, Tripoli, 93p.

Glimcher, M.J. (2006) 'Bone: Nature of the calcium phosphate crystals and cellular, structural and physical chemical mechanisms in their formation', in Sahai, N., Schoonen MAA (eds), *Medical Mineralogy and Geochemistry*. Reviews in Mineralogy & Geochemistry 64, 223-282.

- Greenwood, N.N., Gibb, T.C.(1971) '*Moessbauer Spectroscopy*', Chapman and Hall, London.
- Griffin, D.L. (2002) 'Aridity and humidity: two aspects of the late Miocene climate of North Africa and the Mediterranean.' *Palaeogeogr., Palaeoclimatol, Palaeoecol*, 182, pp.65-91.
- Griffin, D.L. (2006) 'The late Neogene Sahabi rivers of the Sahara and their climatic and environmental implications for the Chad Basin', *Journal of the Geological Society* 163, 905–921.
- Gross, K.A., Jackson, R., Cashion, J.D., Rodriguez- Lorenzo, L.M. (2002) 'Iron Substituted Apatites: a resorbable biomaterial with potential magnetic properties', *European Cells and Materials* Vol. 3. Suppl. 2, 114-117.
- Grupe, G. (2007) 'Taphonomic and Diagenetic Processes', in Henke, W., Tattersall, I. (eds), *Handbook of Paleoanthropology*. Berlin: Springer, pp. 241-260.
- Guido, A., Marra, A.C., Mastandrea, A., Tosti, F., Russo, F. (2011) 'Micromorphological, geochemical, and diagenetic characterization of sirenian ribs preserved in the Late Miocene paleontological site of Cessaniti (southern Calabria, Italy)', *Facies* DOI 10.1007/s10347-011-0284-y.
- Guetlich, P., Bill, E., Trautwein, A.X. (2011) '*Moessbauer Spectroscopy and Transition Metal Chemistry- Fundamentals and Applications*', Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2011.
- Handschin, R.G., Stern, W.B. (1992) 'Crystallographic lattice refinement of human bone', *Calcified Tissue International* 51, 11–120.
- Haverty, D., Tofail, SAM, Stanton, TK, McMonagle, JB (2005) 'Structure and stability of hydroxyapatite: density functional calculation and Rietveld analysis', *Phys Rev B* 71, 094103–9.
- Hecht, M. (1987) 'Fossil Snakes and Crocodylians from the Sahabi Formation of Libya', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp.101-106.
- Hollund, H.I., Ariese, F., Fernandes, R., Jans, M.M.E., Kars, H. (2012) 'Testing an alternative high- throughput tool for investigating Bone Diagenesis: FTIR in Attenuated Total Reflection (ATR) mode', *Archaeometry*, doi: 10.1111/j.1475-4754.2012.00695.x.
- Huang, C.K., Kerr, P.F. (1960) 'Infrared Study of the Carbonate Minerals', *American Mineralogist*, 45.
- Hughes, J.M., Cameron, M., and Crowley, K.D. (1989) 'Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites', *American Mineralogist* 74, 870–876.

- Ivanova, TI, Frank-Kamenetskaya, OV, Kol'tsov, AB, Ugolkov VL (2001) 'Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite. Thermal decomposition', *J Solid State Chem* 160, 340–9.
- Jiangling, L. (2009) 'Structural Characterisation of Apatite- like materials', MRes thesis, University of Birmingham Research Archive, e-theses repository.
- Kirchner, M.T., Edwards, H.G.M., Lucy, D., Pollard, A.M. (1997) 'Ancient and Modern Specimens of Human Teeth: a Fourier Transform Raman Spectroscopic Study', *Journal of Raman Spectroscopy* 28, 171-178.
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L. (1997) 'The Effects of Sample Treatment and Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite', *Journal of Archaeological Science* 24, 417-429.
- Κορδοπάτης, Π., Μαγκαφά, Β. (2005) 'Μεθοδολογία απομόνωσης και ταυτοποίησης φυσικών προϊόντων – Εργαστηριακός Οδηγός'. Πάτρα.
- Kourkoumelis, N., Tzaphlidou, M. (2010) 'Spectroscopic Assessment of Normal Cortical Bone: Differences in Relation to Bone Site and Sex', *The Scientific World JOURNAL* 10, 402 – 412 ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2010.43.
- Krumbein, W.C., Garrels, R.M. (1952) 'Origin and Classification of chemical sediments in terms of pH and oxidation- reduction potentials', *Journal of Geology* 60, 1-33.
- Leventouri, Th. (2006) 'Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions', *Biomaterials* 27, 3339-3342.
- Lihoreau, F., Boisserie, J.R., Viriot, L., Coppens, Y., Likius, A., Mackaye, H.T., Tafforeau, P., Vignaud, P., Brunet, M. (2006) 'Anthracothere dental anatomy reveals a late Miocene Chad-Libyan bioprovince.' *PNAS* 103 (23), 8763–8767.
- Lutterotti, L. 'Introduction to Diffraction and the Rietveld Method', Corso: Laboratorio Scienza e Tecnologia dei Materiali.
- Magne, D., Pilet, P., Weiss, P., Daculsi, G. (2001) 'Fourier Transform Infrared Microspectroscopic Investigation of the Maturation of Nonstoichiometric Apatites in Mineralized Tissues: A Horse Dentin Study', *Bone* 29 (6), 547-552.
- Mayer, I., Diab, H., Felner, I. (1992) 'Ferric Iron in Synthetic Carbonate Apatites: A Moessbauer Effect Study', *Journal of Inorganic Biochemistry* 45, 129-133.
- McKee MD, Addison WN, Kaartinen MT (2005) 'Hierarchies of extracellular matrix and mineral organization in bone of the craniofacial complex and skeleton', *Cells Tissues Organs* 181, 176-188.
- Michailidis, D. (2008) 'Overview of the fossil Avian fauna from the Sahabi Formation', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 119-128.

Muftah Alkowafi A.M. (2013) 'Biostratigraphic and Temporal Relations between the Neogene Sahabi and Maradah formations, Libya. Contribution to the age determination of their contained Mammalian paleofaunas', unpublished doctoral thesis.

Muftah, A.M., Salloum, F.M., El- Shawaihdi, M.H. & Al- Faitouri, M.S. (2008a) 'A contribution to the stratigraphy of formations of the As Sahabi area, Sirt Basin, Libya', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp.33-45.

Muftah, A.M., Pavlakis, P., Godelitsas, A., Gamaletsos, P. & Boaz, N. (2013) 'Paleogeography of the Eosahabi River in Libya: New insights into the mineralogy, geochemistry and paleontology of Member U1 of the Sahabi Formation, northeastern Libya', *Journal of African Earth Sciences* 78, 86–96.

Müller, K., Chadeaux, C., Thomas, N., Reiche, I. (2011) 'Microbial attack of archaeological bones versus high concentrations of heavy metals in the burial environment. A case study of animal bones from a mediaeval copper workshop in Paris', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 39–51.

Natali, I., Tempesti, P., Carretti, E., Potenza, M., Sansoni, S., Baglioni, P., Dei, L. (2014) 'Aragonite Crystals Grown on Bones by Reaction of CO₂ with Nanostructured Ca(OH)₂ in the Presence of Collagen. Implications in Archaeology and Paleontology', *Langmuir* 30, 660-668.

Newesely, H. (1989) 'Fossil Bone Apatite', *Applied Geochemistry* 4, 233-245.

Nielsen-Marsh, C. M., Hedges, R. E. M. (1997) 'Dissolution experiments on modern and diagenetically altered bone and the effect on the infrared splitting factor', *Bulletin de la Société géologique de France*, 168, 485–90.

Paschalis, E.P., DiCarlo, E., Betts, F., Sherman, P., Mendelsohn, R., Boskey, A.L. (1996) 'FTIR Microspectroscopic Analysis of Human Osteonal Bone', *Calcified Tissue International* 59, 480-487.

Paschalis, E.P., Betts, F., DiCarlo, E., Mendelsohn, R., Boskey, A.L. (1997a) 'FTIR Microspectroscopic Analysis of normal human cortical and trabecular bone' *Calcified Tissue International* 61, 480-486.

Paschalis, E.P., Betts, F., DiCarlo, E., Mendelsohn, R., Boskey, A.L. (1997b) 'FTIR Microspectroscopic Analysis of human iliac crest biopsies from untreated osteoporotic bone', *Calcified Tissue International* 61, 487-492.

Paschalis, E.P. , Verdelis, K., Doty, S.B., Boskey, A.L., Mendelsohn, R. Yamauchi, M. (2001) 'Spectroscopic Characterization of Collagen Cross-Links in Bone', *Journal of Bone and Mineral Research* Vol. 16, No. 10.

- Pasero, M., Kampf, A.R., Ferraris, C., Pekov, I., Rakovan, J., White, T.J. (2010) 'Nomenclature of the apatite supergroup minerals', *Eur. J. Mineral.* 22, 163–179.
- Pasteris, J.D., Wopenka, B., Valsami-Jones, E. (2008) 'Bone and Tooth Mineralization: Why Apatite?', *Elements* 4, 97-104.
- Pasteris, J.D., Yoder, C.H., Wopenka, B. (2014) 'Molecular water in nominally unhydrated carbonated hydroxylapatite: The key to a better understanding of bone mineral', *American Mineralogist* 99, 16-27.
- Παυλάκης, Π. (2002) 'Εισαγωγή στην Ταφονομία', διδακτικές σημειώσεις, Τμήμα Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Pavlakis, P. (2008) 'Rediscovered Hippopotamid Remains from As Sahabi', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 179-187.
- Pellegrini, M., Lee-Thorp, J.A., Donahue, R.E. (2011) 'Exploring the variation of the $\delta^{18}\text{O}_p$ and $\delta^{18}\text{O}_c$ relationship in enamel increments', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 71–83.
- Person, A., Bocherens, H., Saliege, J.F., Paris, F., Zeitoun, V., Gerard, M. (1995) 'Early Diagenetic Evolution of bone phosphate: an X-Ray Diffractometry analysis', *Journal of Archaeological Science* 22, 211-221.
- Petrocchi, C. (1943) 'Il giacimento fossilifero di Sahabi.' *Collezione Scientifica e Documentaria a cura del Ministero dell' Africa Italiana*, 12, pp.1-162.
- Petrocchi, C. (1952) 'Notizie generali sul giacimento fossilifero di Sahabi. Storia degli scavi i risultati.' *Rend. Accad. Naz. Quaranta*, Ser. 4(3), pp.9-34.
- Petrocchi, C. (1954) 'Paleontologia di Sahabi (Cirenaica). I proboscidi di Sahabi.' *Rend. Accad. Naz. Quaranta*, 4/5, pp.1-66.
- Pfretzschner, H.U., Tütken, T. (2011) 'Rolling bones – Taphonomy of Jurassic dinosaur bones inferred from diagenetic microcracks and mineral infillings', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 117–123.
- Piga, G., Santos - Cubedo, A., Brunetti, A., Piccinini, M., Malgosa, A., Napolitano, E., Enzo, S. (2011) 'A multi-technique approach by XRD, XRF, FT-IR to characterize the diagenesis of dinosaur bones from Spain', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 92–107.
- Posner, A.S. (1985) 'The mineral of bone', *Clinical Orthopaedics* 200, 87–99.

Puceat, E., Reynard, B., Lecuyer, C. (2004) 'Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites?', *Chemical Geology* 205, 83-97.

Quattropiani, L., Charlet, L., De Lumley, H., Menu, M. (1999) 'Early Palaeolithic Bone Diagenesis in the Arago cave at Tautavel, France', *Mineralogical Magazine* 63 (6), 801-812.

Rook, L. (2008) 'The Discovery of the As Sahabi site: Ardito Desio or Carlo Petrocchi?', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 13-21.

Reed, S.J.B. (2005) '*Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology*', Cambridge University Press, New York.

Regnier, P., Lasaga, A.C., Berner, R.A. (1994) 'Mechanism of CO₃²⁻ substitution in carbonate-fluorapatite: Evidence from FTIR spectroscopy, ¹³C NMR, and quantum mechanical calculations', *American Mineralogist* Volume 79, 809-818.

Rook, L. & Sardella, R. (2008) 'An overview of the As Sahabi Carnivore guild with description of new specimens from E.LN.R.P. field surveys', in Boaz, N.T., El-Arnauti, A., Pavlakis, P. & Salem, M.J. (eds), *Garyounis Scientific Bulletin Special Issue 5*. Benghazi: University of Garyounis, pp. 257-263.

Saikia, B.J., Parthasarathy, G., Sarmah, N.C. (2008) 'Fourier transform infrared spectroscopic estimation of crystallinity in SiO₂ based rocks', *Bull. Mater. Sci.*, Vol. 31, No. 5, 775-779.

Severin, K.P. (2004) '*Energy Dispersive Spectrometry of Common Rock Forming Minerals*', Kluwer Academic Publishers, USA.

Shemesh, A. (1990) 'Crystallinity and diagenesis of sedimentary apatites', *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 2433-2438.

Sonju Clasen, A.B., Ruyter, I.E. (1997) 'Quantitative Determination of Type A and Type B Carbonate in Human desiduous and permanent enamel by means of Fourier Transform Infrared Spectrometry', *Adv Dent Res* 11(4), 523-527.

Σταθοπούλου, Ε.Θ. (2008) 'Μελέτη της Εσωτερικής Μικρομορφολογίας και Απολίθωσης Καινοζωικών Σπονδυλοζώων μέσω Ραδιοαναλυτικών Τεχνικών', Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Δημοσιεύματα του Τμήματος Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος. Γαία No 19.

Stathopoulou, E.T., Psycharis, V., Chryssikos, G.D., Gionis, V., Theodorou, G. (2008) 'Bone diagenesis: New data from infrared spectroscopy and X-ray diffraction', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266, 168-174.

Stathopoulou, E., Theodoropoulou, T., Phoca- Cosmetatou, N. (2013) 'Black Fish Bones in Waterlogged Deposits: The Case of the Neolithic Lake Settlement of Dispilio, Greece', *Archaeofauna* 22, 51-74.

Stodder, A.L.W. (2008) 'Taphonomy and the nature of archaeological assemblages', *Biological anthropology of the human skeleton*, second ed., John Wiley & Sons, Inc..

Thomas, D.B., McGoverin, C.M., Fordyce R.E., Frew R.D., Gordon, K.C. (2011) 'Raman spectroscopy of fossil bioapatite - A proxy for diagenetic alteration of the oxygen isotope composition', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 62-70.

Thompson, T.J.U., Islam, M., Piduru, K., Marcel, A. (2011) 'An investigation into the internal and external variables acting on crystallinity index using Fourier Transform Infrared Spectroscopy on unaltered and burned bone', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 299, 168–174.

Trueman, C.N., Privat, K., Field, J. (2008) 'Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral?', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266, 160–167.

Trueman, C.N., Kocsis, L., Palmer, M.R., Dewdney, C. (2011) 'Fractionation of rare earth elements within bone mineral: A natural cation exchange system', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 124–132.

Turner-Walker, G. H. (1993) 'The characterisation of fossil bone', Durham theses, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: <http://etheses.dur.ac.uk/5700/>.

Tütken, T., Vennemann, T.W. (2011) 'Preface- Fossil bones and teeth: Preservation or alteration of biogenic compositions?', *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 1–8.

UW- Madison Geology 777 'Electron Probe Microanalysis (EPMA)- Energy Dispersive Spectrometry (EDS)', version last revised: 10/4/06.

Weiner, S., Bar-Yosef, O. (1990) 'States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: a survey', *Journal of Archaeological Science* 17, 187–196.

White, E.M., Hannus, L.A. (1983) 'Chemical Weathering of Bone in Archaeological Soils', *American Antiquity* 48(2), 316-322.

Whybrow, P. & Hill, A. (1999) *Fossil Vertebrates of Arabia*. New Haven: Yale University Press, 523p.

Willems, W. & Meyrick, R. (1982) 'Preliminary report on the marine microfauna (Foraminifera, Ostracoda) of the Sahabi and related formations in northern Libya.' *Garyounis Sci. Bull.*, Spec. Issue 4, pp.5-25.

Wood, R.C. (1987) 'Fossil Turtles from the Sahabi Formation', in Boaz, N.T., El- Arnauti, A., Gaziry, A.W., De Heinzelin, J. & Dechant Boaz, D. (eds), *Neogene Paleontology and Geology of Sahabi*. New York: Alan R. Liss, Inc., pp. 107-112.

Wopenka, B., Pasteris, J.D. (2005) 'A mineralogical perspective on the apatite in bone', *Materials Science and Engineering C* 25, 131-143.

Wright, L.E., Schwarcz, H.P. (1996) 'Infrared and Isotopic Evidence for Diagenesis of Bone Apatite at Dos Pilas, Guatemala: Palaeodietary Implications', *Journal of Archaeological Science* 23, 933-944.

Yerramshetty, J.S., Akkus, O. (2008) 'The associations between mineral crystallinity and the mechanical properties of human cortical bone', *Bone* 42, 476-482.

Yubao, L., Klein, C.P.A.T., De Wijn, J., Van De Meer, S., De Groot, K. (1994) 'Shape change and phase transition of needle- like non- stoichiometric apatite crystals', *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 5, 263-268.