



UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI

Facultatea de Chimie Aplicată și Știința Materialelor

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Aplicațiile fizicii nucleare în datarea și caracterizarea materialelor

Applications of nuclear physics in dating and characterization of materials

Doctorand: Mihai (Gâza) Oana

Conducător de doctorat: Prof. dr. ing. Horia Iovu

COMISIA DE DOCTORAT

Președinte	Prof. dr. ing. Vasile Lavric	de la	Universitatea POLITEHNICA din București
Conducător de doctorat	Prof. dr. ing. Horia Iovu	de la	Universitatea POLITEHNICA din București
Referent	CS II Dr. Mihaela Enăchescu	de la	IFIN-HH
Referent	CS I Dr.ing. Călin Deleanu	de la	CCOCDN
Referent	Prof. dr. ing. Mircea Teodorescu	de la	Universitatea POLITEHNICA din București

București 2020

CUPRINS

INTRODUCERE	2
1. Datarea cu radiocarbon în contextul datării cu alte tehnici nucleare	5
1.1. Datarea cu radiocarbon	5
2. Aparatura și metodele experimentale folosite în datarea cu radiocarbon	6
2.1. Analizorul elemental	6
2.2. Sistemul de grafitizare	7
2.3. Sistemul de separare al aminoacizilor prin HPLC	8
2.4. Spectrometrul RMN	9
2.5. Instalația AMS	10
3. Datarea diverselor materiale cu radiocarbon folosind instalația AMS din IFIN-HH	13
3.1. Primele datări din România folosind metoda AMS	13
3.2. Datarea materialului osteologic	14
3.3. Datarea lemnului	16
3.4. Datarea cărbunelui	18
4. Folosirea cromatografiei de lichide de înaltă performanță în datarea cu radiocarbon	19
4.1. Caracterizarea standardelor de aminoacizi folosiți în datarea cu radiocarbon	19
4.2. Folosirea HPLC pentru datarea materialului osteologic care prezintă dificultăți în atribuirea vechimii	21
4.2.1. Descrierea experimentală	21
4.2.2. Rezultate și discuții	21
5. Caracterizarea colagenului osos prin spectrometrie de rezonanță magnetică nucleară	24
5.1. Determinarea parametrilor instalației RMN folosind standardele de aminoacizi analizați	24
5.2. Analiza RMN pentru colagenul extras din materialul osteologic	25
5.3. Stabilirea gradului de conservare a colagenului pentru materialului osteologic datat prin AMS	26
6. Concluzii și perspective	28
ANEXA I	31
PUBLICAȚIILE ȘI PARTICIPĂRILE LA CONFERINȚĂ ALE AUTOAREI	31
Articole științifice	31
Capitole în Cărți	31
Conferințe	32

Cuvinte cheie: Datare cu radiocarbon, AMS, os, lemn, cărbune, separare aminoacizi, HPLC, caracterizare, RMN

INTRODUCERE

De la descoperirea nucleului atomului de către Ernest Rutherford în 1911 până în prezent, progresele imense făcute în domeniul Fizicii atomice și nucleare au permis dezvoltarea de tehnici și metode de analiză care au stimulat multiple cercetări în diverse domenii.

Un domeniu important care folosește aceste tehnici este și datarea radiometrică. Pe baza modificării în timp a compoziției izotopice a anumitor elemente din materialele analizate, în urma dezintegrării lor radioactive, se poate determina vârsta acestora.

Datele radiometrice sunt singurele mijloace care pot măsura cantitativ timpul geologic și oferă o scară absolută de timp pentru evoluția sistemului solar și a Pământului.

Apariția Spectrometriei de masă cu ioni accelerați (Accelerator Mass Spectrometry - AMS) în 1979, reunește cele mai avansate tehnici și metodici din domeniul fizicii nucleare, și a revoluționat datarea radiologică. Marele său avantaj este că folosește cantități mult mai scăzute de probă și timpi mai scurți. Mai mult, prin această metodă se pot determina concentrații ale izotopilor cu timpi de înjumătățire foarte mari, fapt care era imposibil prin metoda dezintegrării radioactive.

În acest context au apărut multe centre de datare cu radiocarbon, iar datările artefactelor se fac cu precizie foarte bună încât s-a ajuns ca să se poată data, în anumite condiții, obiecte de până la 60.000 de ani vechime.

În anul 2012, în IFIN-HH a fost instalat un sistem compact AMS, bazat pe un Tandetron de 1MV, achiziționat de la firma High Voltage Engineering Europe (HVEE), Olanda și astfel au fost demarate activitățile specifice dezvoltării primului laborator de datare cu radiocarbon din România (RoAMS).

Teza de doctorat este structurată pe 5 capitole, începe cu o scurtă introducere și se termină cu concluzii generale, contribuțiile originale și perspectivele de dezvoltare ulterioară a autoarei.

În Capitolul 1 sunt prezentate pe scurt metodele empirice folosite de arheologi pentru obținerea vârstei unui vestigiu. Sunt prezentate apoi metodele radiometrice de datare bazate pe analize de laborator, cea mai folosită fiind metoda radiocarbon. Deoarece această metodă este cea folosită în studiile prezentate în această lucrare, în acest capitol au fost incluse informații utile care sunt esențiale pentru obținerea unor datări de încredere prin radiocarbon și cu o precizie ridicată.

În Capitolul 2 sunt descrise aparatele, instalațiile și metodele folosite punând accent pe aspecte importante în modul lor de funcționare astfel ca rezultatele obținute să satisfacă cerințele pentru care au fost alese. Dintre aceste aspecte se pot număra evitarea contaminării probelor în procesul de pre-tratare chimică și în timpul măsurării, eliminarea pe cât se poate a fracționării izotopice a carbonului și corecția acesteia în cazul când aceasta s-a produs. De asemenea alegerea aparatelor și metodelor trebuie să asigure un randament de extragere a carbonului din probă cât mai ridicat pentru a obține curenți suficienți de mari în sursa AMS.

În Capitolul 3 sunt prezentate primele preparări de probe realizate în cadrul laboratorului de chimie, nou înființat în cadrul centrului RoAMS. Pe baza acestor probe s-au elaborat protocoalele de tratament chimic, stabilite pe studii din literatura de specialitate și pe multiplele încercări de adaptare la condițiile noului laborator. Reușita acestor studii, teoretice și experimentale, a fost materializată prin obținerea primelor rezultate de datare, cu mare precizie și de încredere, pentru cele mai frecvente materiale: oase, lemne și cărbuni.

Capitolul 4 prezintă două studii utile pentru cazul în care probele ce urmează a fi date sunt prost conservate, fie pentru că nu conțin suficient collagen, fie prezintă contaminări cu ^{14}C din exterior. În ambele studii s-a folosit separarea prin HPLC. În primul studiu s-au caracterizat patru din cele mai comune standarde de aminoacizi folosite în datarea cu radiocarbon, în scopul de a stabili cum influențează utilizarea HPLC fracționarea izotopică a carbonului și s-a făcut pentru prima dată o corelare între vârsta obținută prin radiocarbon (atât

direct cât și utilizând HPLC) și modul de producere a fiecărui aminoacid studiat. Cel de-al doilea studiu a constat în datarea unor materiale osteologice, care au prezentat dificultăți în atribuirea vârstei, pe baza datării aminoacizilor constituenți. S-a făcut o comparație între datele obținute pe aminoacizi (în principal hidroxiprolină, dar și alții mai puțin studiați) în comparație cu colagenul brut.

În Capitolul 5, a fost descris studiul de caracterizare a gradului de conservare a colagenului osos folosind rezonanța magnetică nucleară (RMN). Rezultatele obținute au arătat că această tehnică nucleară este utilă în acest scop și abordarea unor studii viitoare folosind direct probele solide (fără un pretratament) pentru analiza RMN, vor aduce informații importante referitoare nu numai la gradul de conservare, dar și la degradarea colagenului în timpul procedurilor de pre-tratare realizate în procesul de preparare a probelor osoase în vederea datării cu ^{14}C prin AMS.

Originalitatea și complexitatea cercetărilor a permis ca rezultatele obținute să poată fi prezentate la conferințe și simpozioane internaționale. Astfel că, rezultatele studiilor obținute în această lucrare, precum și studiile ulterioare au fost prezentate la 38 de conferințe și simpozioane naționale și internaționale, 7 articole au fost publicate în reviste de specialitate cotate ISI și au fost subiect de capitol în șapte cărți de specialitate.

1. Datarea cu radiocarbon în contextul datării cu alte tehnici nucleare

Descoperirile arheologice furnizează informații importante pentru a înțelege cum au funcționat relațiile dintre oameni și cum s-au dezvoltat așezările omenești în perioade preistorice sau în regiuni sau grupuri de oameni care nu au avut importanță la acea vreme, pentru ca să fie menționate în scrierile istorice. Arheologia analizează vestigiile vechilor culturi, care cel mai adesea se găsesc în sol, dar și la suprafața acestuia sau sub apă. De obicei vestigiile constau în artefacte (obiecte întregi sau fragmente) și în subproduse (dărâmături, cenușă, cărbune), acestea din urmă provenind din distrugerea structurilor construite în vechime.

Arheologii au două modalități principale de a determina cronologia artefactelor și anume folosirea metodelor de datare relative și a metodelor de datare absolute.

Prin metodele de datare relative se evaluează vârsta unui artefact în raport și prin comparație cu alte obiecte găsite în vecinătatea sa. Acestea determină doar ordinea secvențială a evenimentelor din trecut dar nu determină perioadele de ani în care au avut loc.

Metoda stratigrafică este prima și cea mai importantă metodă de datare relativă, care este aplicată în etapa săpăturilor arheologice propriu-zise. Atunci când un sit arheologic este excavat, părțile laterale arată stratificarea așezărilor. Fosilele și rocile sedimentare, în care acestea se găsesc, sunt plasate în ordine pe verticală de la cele mai vechi până la cele mai noi.

Metoda tipologică se bazează pe faptul că stilul unui artefact se schimbă în timp, deși funcția sa rămâne aceeași. Cu ajutorul metodei tipologice se elaborează o schemă care stabilește succesiunea cronologică a artefactelor de la simplu la complex.

În cazul în care cele două metode nu au dat rezultate concludente, sau pentru informații suplimentare, se pot aplica și alte metode relative cum ar fi metoda comparativă, încrucișată sau cea cartografică.

Un sistem de datare mai exact al arheologiei este cunoscut ca datarea absolută, el putând să atribuie un interval calendaristic obiectului studiat.

Dintre metodele absolute de datare se pot enumera: tehnicile radiometrice (metoda carbonului radioactiv, datarea cu seriile uraniului, metoda potasiu – argon 40, datarea prin termoluminescență), dendrocronologia, metoda palinologică (analiza polenului), metoda rezonanței paramagnetice etc. Datările absolute depind în mare măsură de analizele de laborator.

1.1. Datarea cu radiocarbon

În urma studiilor făcute asupra influenței radiației cosmice asupra particulelor din atmosferă Willard Frank Libby descoperă că neutronii radiației cosmice interacționează cu nucleele atomilor de azot din atmosferă transformându-se în ^{14}C . Observația că toate ființele vii încorporează ^{14}C , din dioxidul de carbon din atmosferă prin fotosinteză sau prin lanțul alimentar, a dus la elaborarea metodei de datare cu radiocarbon.

Odată cu încetarea proceselor de nutriție (moartea organismelor) schimbul de ^{14}C cu mediul exterior dispare, permițând ca prin determinarea abundenței ^{14}C rămase (în urma dezintegrării) în organism să se determine timpul trecut de la moartea sa.

În momentul când un organism moare, el nu mai asimilează ^{14}C și concentrația acestuia scade în timp după legea dezintegrării radioactive unde: A_0 și A reprezintă numărul de atomi de ^{14}C la momentul $t=0$, respectiv, rămași după un anumit timp t , Λ este constanta de dezintegrare care este egală cu $\ln 2/T_{1/2}$, (Fig. 1.1).

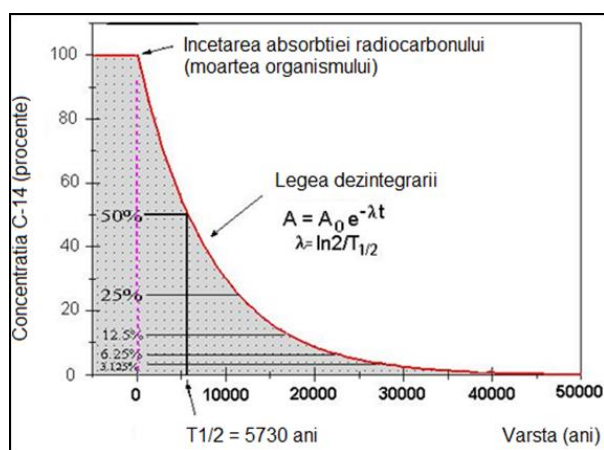


Fig.1.1. Principiul datării cu ^{14}C

Pentru datarea unei probe arheologice, se determină cantitatea de ^{14}C rămasă în aceasta și este comparată cu cantitatea de ^{14}C aflată într-un material standard.

Măsurarea concentrației de ^{14}C dintr-o probă se realizează fie folosind dispozitive de numărare a dezintegrării beta (contorul Geiger modificat folosit chiar de Libby, contorul proporțional cu gaz, cu scintilație în lichid etc.), fie numărarea atomilor folosind metoda Spectrometriei de masă cu ioni accelerați (AMS). Avantajul folosirii AMS este acela că se pot măsura, cu precizie foarte mare, probe de doar câteva miligrame într-un timp foarte scurt.

Se pot măsura probe având vârste cuprinse între câteva sute de ani până la 60.000 de ani. Materialele care pot fi datate prin radiocarbon sunt osul, lemnul, turba, sedimente organice din lacuri, rămășițe de plante și animale, cărbune, cochilii sau corali.

Cele mai renumite aplicații ale acestei metode sunt datarea Giului din Torino, manuscrisele de la Marea Moartă, și determinarea perioadei în care a trăit Ötzi, Omul Ghețurilor [1-6].

2. Aparatura și metodele experimentale folosite în datarea cu radiocarbon

Pentru probele prelevate din natură este necesară prelucrarea lor chimică pentru a putea fi transformate în probe specifice pentru măsurarea prin AMS.

În capitolul 2 este prezentată aparatura folosită în etapele de analiză a concentrației carbonului, azotului și a raportului dintre aceștia C/N, în procesul de grafitizare și separarea collagenului prin HPLC. Sunt prezentate pe scurt atât descrierea și principiul de funcționare al aparatelor cât și unele aspecte de care trebuie să se țină seama în timpul operării lor, pentru a se evita contaminările cu carbon străin și fracționarea izotopică a carbonului

În final, sunt prezentate pe scurt metodele și instalațiile RMN și AMS folosite pentru caracterizarea collagenului osos și respectiv, pentru determinarea conținutului de ^{14}C din probele studiate.

2.1. Analizorul elemental

Analizorul elemental folosit în studiile prezentate în această lucrare este Vario MICRO Cube de la firma Elementar (Fig. 2.1) în modul de lucru CN.



Fig. 2.1. Analizorul elemental de tip Vario MICRO Cube de la firma Elementar.

Analizorul se bazează pe combustia catalitică a probelor, eliminarea componentelor a căror concentrație nu interesează, separarea componentelor dorite și măsurarea concentrației acestora prin conductivitate termică.

Deoarece cu acest analizor elemental probele pot fi măsurate direct, așa cum sunt prelevate din natură, acest sistem este foarte util în determinarea cantităților de carbon din probă înainte ca aceasta să fie pre-tratată chimic.

Schema bloc a analizorului „Vario MICRO” cuprinde patru unități principale (notate în Fig. 2.2 cu cifre romane) [7]: unitatea de introducere mecanică a probelor și sistemul de dozare cu O₂ (I); cuptorul și zona de reacție (II); sistemul de separare pe componente a mixturii de gaz analizat (III); detectorul (IV).

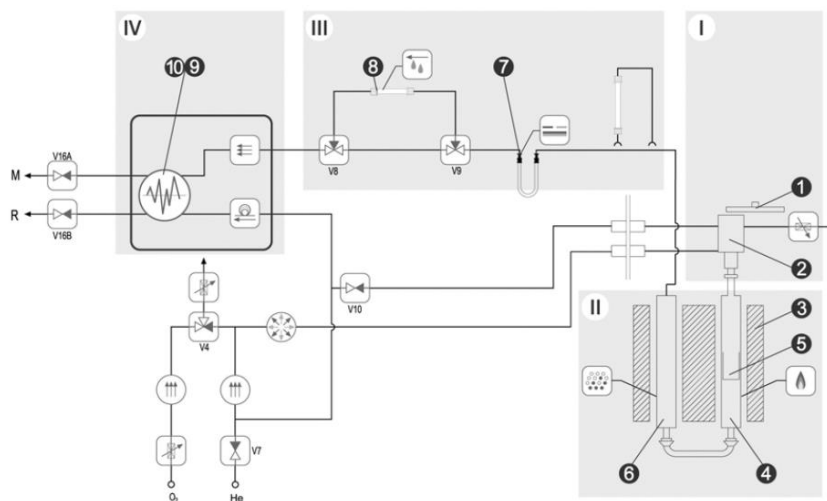


Fig. 2.2. Schema bloc a analizorului elemental „Vario MICRO”. Semnificația cifrelor este explicată în text.

Unitatea I cuprinde caruselul (1) în care sunt introduse probele dintr-o serie de analiză și permite transferul probei în orificiul robinetului cu bilă (2). Unitatea II cuprinde cuptorul (3), coloana de combustie (4), creuzetul pentru cenușă (5) și coloana de reducere (6). Sistemul de separare pe componente a mixturii de gaz analizat (unitatea III) cuprinde coloana de adsorbție (7) și un tub de adsorbție adițional (8). Unitatea IV o reprezintă detectorul de conductivitate termică (TCD) care constă din două incinte: celula de măsurare (10) prin care se trece amestecul de gaze de analiză și celula de referință (9) prin care trece heliul.

2.2. Sistemul de grafitizare

După combustia probelor pre-tratate chimic cu ajutorul analizorului elemental, dioxidul de carbon trebuie transformat în grafit, pentru a putea fi măsurate prin AMS. Pentru aceasta s-a folosit un sistem de grafitizare complet automatizat (Automated Graphitization

Equipment 3) construit de L. Wacker și colab. [8]. O imagine a acestui sistem de grafitizare, folosit la RoAMS, este prezentată în Fig. 2.3.



Fig. 2.3. Sistemul automatizat de grafitizare AGE 3.

Schema bloc de funcționare a sistemului de grafitizare AGE 3, cuplat la analizorul elemental și sistemul de prelucrare a datelor, este prezentată în Fig. 2.4. Procedura de grafitizare cuprinde patru etape principale: combustia probelor folosind analizorul elemental (I), încărcarea reactoarelor (II), grafitizarea propriu zisă (III) și prelucrarea datelor (IV) [9].

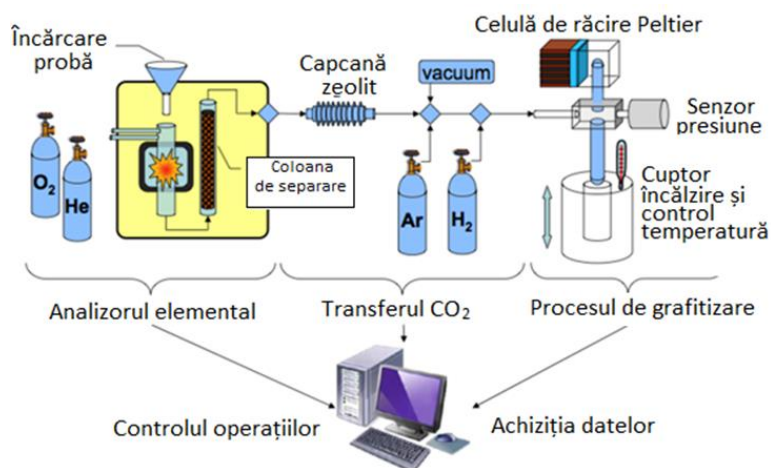


Fig. 2.4. Schema bloc de funcționare a sistemului de grafitizare [10].

2.3. Sistemul de separare al aminoacizilor prin HPLC

Pentru separarea aminoacizilor, Laboratorul RoAMS din cadrul IFIN-HH, a fost echipat cu un sistem HPLC modular de la firma Shimadzu. Acesta conține un sistem de controlare automată a modulelor, încărcător automat de probe (autosampler), o unitate de livrare a solventului, o coloană cromatografică, un detector cu rețea de fotodiode UV/VIS, un colector de fracții și un calculator (pentru înregistrarea și prelucrarea datelor). Componentele sistemului HPLC sunt închise separat în module independente (Fig. 2.5).

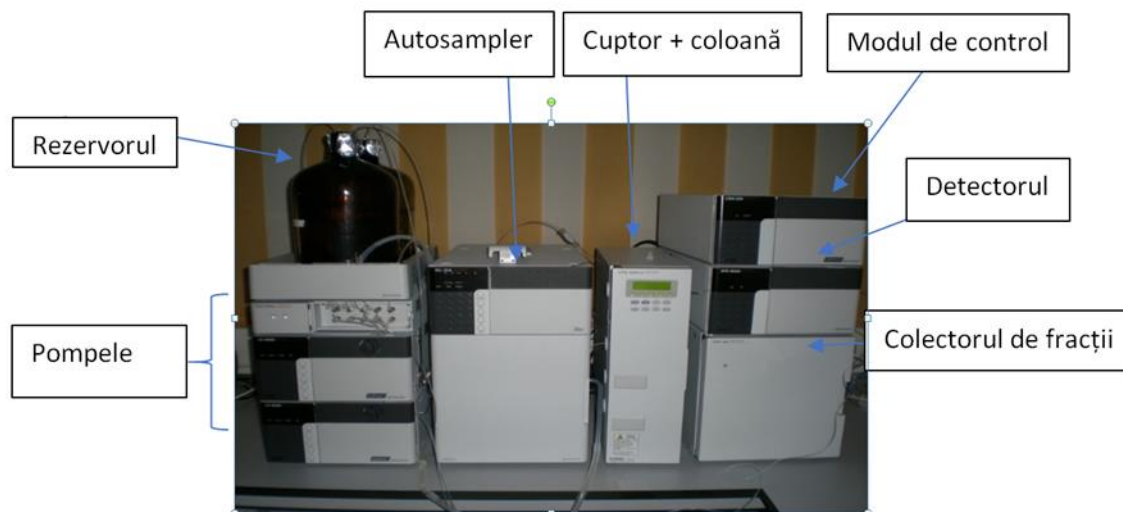


Fig. 2.5. Componentele sistemului HPLC folosit la separarea aminoacizilor.

Sistemul de control permite controlul tuturor modulelor folosite și oferă informații despre starea lor de funcționare și mentenanță. Pentru ridicarea preciziei și a unui timp minim de așteptare, s-a ales ca unitate de livrare a solventului să asigure un debit de circulare în mod cu gradient de înaltă presiune, utilizând două pompe.

Detectorul în cromatografia de lichide trebuie să aibă un răspuns rapid (în timp real) și valoarea măsurată trebuie să fie diferită pentru analiții de interes care eluează din coloană și componentele fazei mobile.

2.4. Spectrometrul RMN

Pentru caracterizarea gradului de conservare a colagenului osos și posibilitatea recuperării lanțurilor de colagen rupte în procesul chimic s-au folosit instalațiile RMN din cadrul IFIN-HH și Centrul de Cercetări Avansate pentru Materiale, Produse și Procese Inovative – CAMPUS, Universitatea „Politehnica” București.

Spectrometria de rezonanță magnetică nucleară (RMN) este o tehnică analitică cantitativă, nedistructivă, care oferă informații detaliate despre structura moleculară, procese dinamice și permite determinarea concentrației de molecule și observarea directă a reacțiilor chimice. Spectrometria RMN este utilizată în studii privind structura și interacțiunea dintre proteine, studii metabolice, pentru elucidarea numeroaselor procese biologice și răspunsurile lor la stimuli externi la nivel molecular [11].

Spectrometria RMN a fost dezvoltată prin analogie cu rezonanța electronică de spin, bazându-se pe conceptul din mecanica cuantică de spin nuclear, care este o formă intrinsecă a nucleelor atomilor.

Componentele principale ale unui spectrometru RMN sunt magnetul supraconductor, transmițătorul, receptorul și unitatea de achiziție și control (Fig. 2.6.). Magnetul RMN este cea mai importantă parte a spectrometrului RMN. Acesta cuprinde sonda în care este introdusă proba de analizat și alte câteva sisteme de omogenizare, stabilizare și sistemul de răcire cu heliu și azot lichid. Fixarea câmpului magnetic este realizată de către un spectrometru separat aflat în spectrometrul RMN, reglat la frecvența de rezonanță RMN a deuteriului. Semnalul de deuteriu provine din solventul de deuteriu utilizat pentru prepararea probei și furnizează totodată referința de zero. Sonda, introdusă în interiorul bobinelor magnetului, este interfața între probă și instrumentul în sine. Ea excită spinul nuclear (are rolul de transmițător) și detectează semnalul RMN (rolul de receptor) [12].

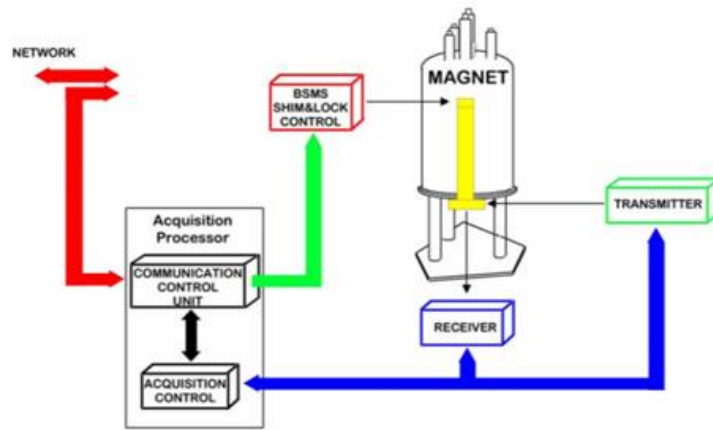


Fig. 2.6. Schema bloc a Spectrometrului RMN din IFIN-HH [13]

Calculatorul (unitatea de achiziție și control) controlează toate componentele spectrometrului. Componentele RF aflate sub controlul calculatorului sunt sursa de frecvență RF și programatorul de impulsuri.

În figura 2.7. este prezentat spectrometrul RMN Bruker tip Avance III 600MHz, din cadrul Centrul de Cercetări Avansate pentru Materiale, Produse și Procese Inovative – CAMPUS, Universitatea



Fig.2.7. Spectrometrul RMN Bruker Avance III 600MHz

2.5. Instalația AMS

Spectrometria de masă cu ioni accelerați (cu abrevierea AMS cunoscută în limba engleză „Accelerator Mass Spectrometry”), reprezintă astăzi metoda de determinare a concentrațiilor de ^{14}C cu cea mai bună precizie de măsură. Ea este o alternativă foarte puternică pentru metoda dezintegrării radioactive a ^{14}C , care pe lângă precizia de invidiat, are și avantajul folosirii unor cantități foarte mici de probă (de cca 1000 de ori mai mici) și timpii scurți de măsură.

În principiu, spectrometria de masă se bazează pe faptul că ionii cu aceeași energie sunt deviați în câmp magnetic în funcție de masa lor. Acest efect permite ionilor de diferite

mase să fie separați și astfel să poată fi determinată compoziția izotopică dintr-un material. Pentru a ridica sensibilitatea analizei, i s-a adăugat acestui spectrometru de masă un accelerator de particule și un sistem multiplu de filtre electrice și magnetice. Această nouă versiune îmbunătățită a devenit tehnica spectrometriei de masă cu ioni accelerați (AMS). Schema generală a unei instalații AMS este prezentată în Fig. 2.8.

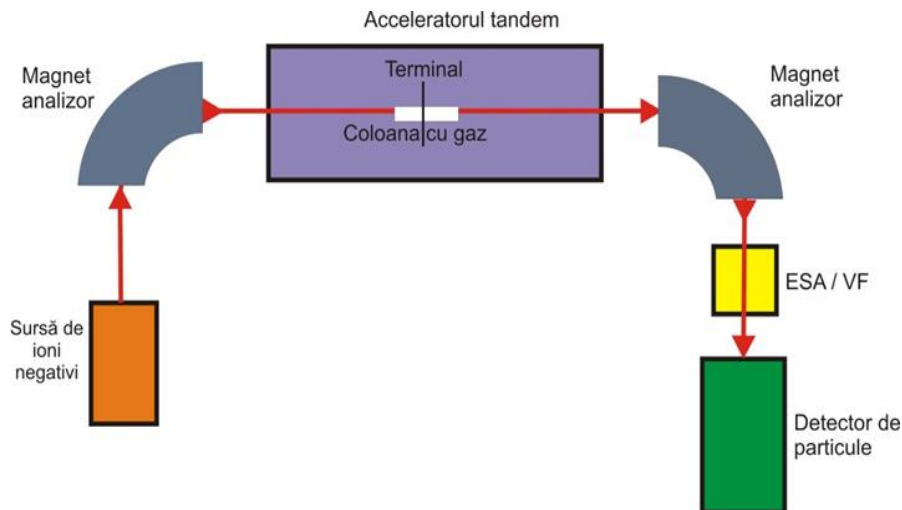


Fig. 2.8. Schema generală a unei instalații AMS.

Aplicarea metodicii AMS permite măsurarea concentrației unui izotop rar dintr-o probă de studiu. Deși atomii sunt identificați și numărați în mod individual, condițiile experimentale AMS fac ca în practică să se măsoare doar rapoarte izotopice. Pentru a determina concentrația unui izotop, rapoartele izotopice sunt normate la standarde de etalonare.

Instalația AMS de la IFIN-HH, construită de firma High Voltage Engineering Europe, din Olanda, se bazează pe un tandetron de 1MV pe care înalta tensiune este aplicată printr-o sursă de tip Cockroft-Walton. Schema bloc a acestei instalații este prezentată în (Fig. 2.9.). Ea cuprinde următoarele componente: (1) două injectoare de fascicul de ioni, (2) sistem de deviere electrostatică, (3) magnet injector cu schimbător de multiple fascicule, (4) cupă Faraday și dispozitivul Q-Snout, (5) accelerator tandetron de 1MV cu canal de stripare în gaz, (6) magnet analizor, (7) cupe Farady pentru măsurarea ^{12}C , ^{13}C și ^{14}C , (8) analizor electrostatic, (9) detector de particule și (10) sursa de alimentare de înaltă tensiune tip Cockroft-Walton [14].

Instalația are două injectoare echipate cu câte o sursă de ioni SNICS tip SO-110, un carusel de 50 de probe și lentile ionice de focalizare.

Pentru creșterea preciziei de măsurare prin magnetul analizor la 90° sunt injectați cvasi-simultan cei trei izotopi ai carbonului: ^{12}C , ^{13}C și ^{14}C . Aceasta se realizează printr-un sistem de pulsare rapidă (bouncer), astfel încât diferitele specii de ioni pot fi injectate în acceleratorul tandem în funcție de valoarea lor curentă.

După magnet, pe lângă cupa de măsură centrală, sunt plasate (excentric) două cupe Faraday, în care sunt măsurati curenții izotopilor stabili, una fixă pentru ^{12}C și una mobilă pentru ^{13}C .

Printr-un filtru electrostatic de 120° (ESA = electrostatic analizor) se face o nouă selecție a fasciculului de ioni, permițând ca prin el să treacă doar ionii caracterizați de același raport energie / stare de sarcină (E/q).

În cele din urmă, ionii sunt analizați de sistemul de detecție având o eficiență de detecție de aproape 100%. Acesta este o cameră de ionizare umplută cu gaz (metan), cu doi anodi pentru măsurarea ΔE -Eres (pierderea energetică și energia reziduală) și o fereastră de

intrare din nitrură de siliciu (Si_3N_4) cu grosimea de 75 nm care separă gazul detectorului de vid.

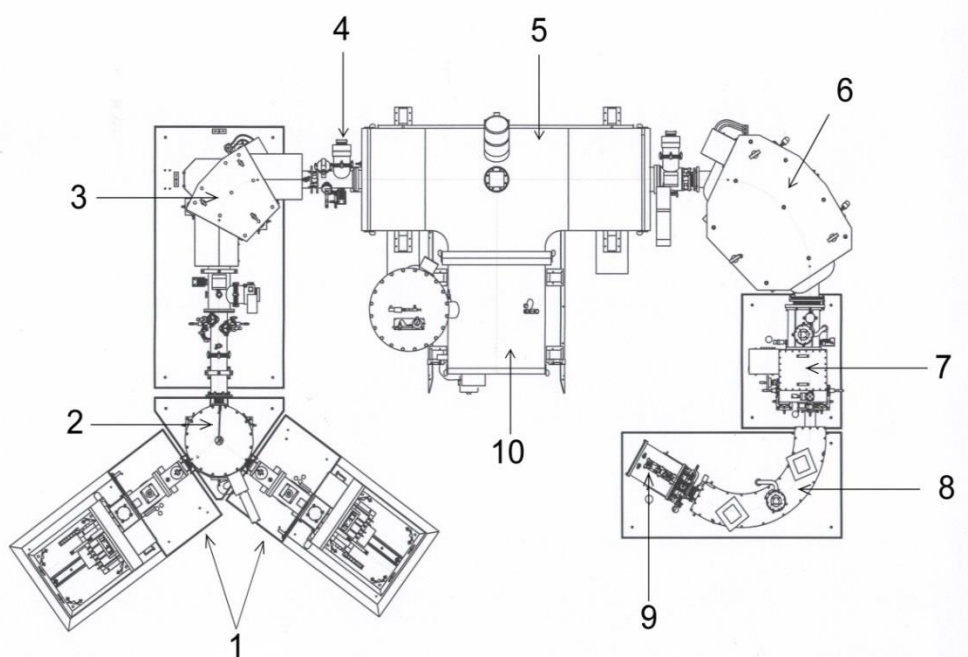


Fig. 2.9. Schema generală a instalației AMS de 1MV de la IFIN-HH.

Separarea ionilor se bazează pe diferența dintre puterile lor de stopare în gaz. Electrozii pentru ΔE și Eres au lungimea de 10 cm și 20 cm. Separarea optimă se efectuează atunci când intersecția curbelor de putere de stopare are loc exact la limita de separare dintre cei doi electrozi [15]. Folosind semnalele de la cei doi electrozi se formează un spectru biparametric ca cel prezentat în Fig. 2.10.

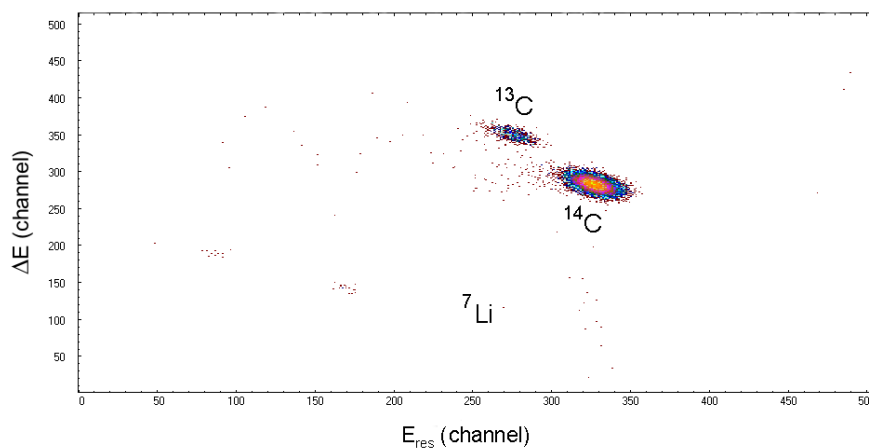


Fig. 2.10. Spectru biparametric obținut pentru o probă de grafit folosind starea de sarcină +2

3. Datarea diverselor materiale cu radiocarbon folosind instalația AMS din IFIN-HH

Prin achiziționarea în IFIN-HH a unui sistem compact AMS bazat pe un Tandetron de 1MV [16, 17], de la firma High Voltage Engineering Europe (HVEE), Olanda, în anul 2015 a luat ființă primul laborator de datare cu radiocarbon din România, care prin exercițiul de inter-comparare între centrele de radiocarbon (SIRI VI), a primit codul de laborator RoAMS [18].

În acest capitol sunt prezentate primele preparări de probe realizate în cadrul laboratorului de chimie nou înființat. Până în prezent au fost efectuate multiple studii privind modul de prelucrare a diverselor materiale în vederea datării lor prin radiocarbon. În mod curent se prelucrează materiale organice precum colagenul osos, cărbuni, lemne, resturi vegetale, și materiale anorganice precum apa și carbonați.

3.1. Primele datări din România folosind metoda AMS

Instalarea sistemului AMS de 1MV din IFIN-HH a reprezentat începutul unui program de dezvoltare a acestei metode de datare cu radiocarbon prin AMS (proiectul PNCDI II, nr. 7 PM/1/2008 [19-21]), prin care se dorește să se vină în sprijinul istoricilor și arheologilor din România în scopul datării a mii de probe arheologice.

După echiparea laboratorului de chimie, prima probă prelucrată a fost un fragment de un os de porc găsit în timpul lucrărilor de reabilitare și restaurare a fostului „Conac Oteteșanu” din Măgurele – Ilfov. O parte din osul brut a fost prelucrat și analizat printr-o altă metodă, metoda LSC (numărare cu scintilator lichid), la un alt laborator din IFIN-HH.

Pentru a estima cantitatea de colagen conținută în probă s-au realizat analize FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy), care au arătat că materia organică din os este în mare parte distrusă, dar totuși se situează la limita datării cu ^{14}C . Pe baza acestor rezultate, câteva miligrame din materialul brut au fost direct grafitizate, folosindu-se analizorul elemental și sistemul de grafitizare prezentate în Capitolul 2.

Primele rezultatele obținute prin cele două metode, AMS și LSC sunt în concordanță, iar convertite la vârste calendaristice aparțin perioadei neolitice, care corespunde intervalului 5000 – 4500 BC.

Curbele de calibrare pentru cele două metode de analiză AMS și LSC sunt prezentate în Fig 3.1 [22].

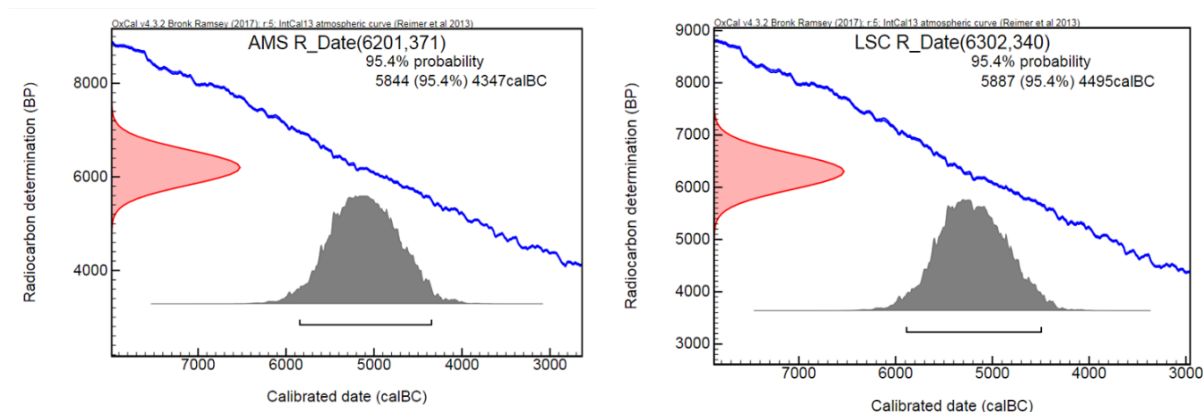


Fig. 3.1. Datele ^{14}C calibrate cu programul OxCal, obținute prin metoda AMS (stânga) și prin metoda LSC (dreapta).

Rezultatele obținute în urma calibrării datelor radiocarbon sunt cuprinse în Tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. Datele experimentale obținute pentru cele două metode de analiză

Metoda de analiză	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal BC)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
AMS	6201 ± 371	5844 – 4347	95,4
LSC	6302 ± 340	5887 – 4495	95,4

Premergător acțiunilor legate de obținerea codului internațional de laborator, s-a realizat o inter-comparare a rezultatelor obținute în laboratorul nostru cu datele obținute pe aceleași set de probe de către un laborator certificat [23].

Setul a constat din 10 probe rămase din materialul osteologic, (provenite de la șantierele arheologice de pe teritoriul României), antedat la Centrul AMS din Poznan, Polonia. Materialul și rezultatele obținute la Poznan ne-au fost prezentate de către arheologii de la Muzeul Național de Istorie a României.

Înainte de pre-tratării chimice propriu-zise, s-a realizat o analiză elementală a osului brut folosind analizorul elemental (pre-screening). Protocolul urmat pentru aceste tratamente a fost cel recomandat de către Laboratorul AMS din Zurich [24] și adaptat laboratorului nostru.

Probele grafitizate au fost măsurate prin metoda AMS. Rezultatele obținute pentru probele standard arată o măsurare de calitate la instalația AMS de la IFIN-HH, reflectată prin erori de reproductivitate și măsură în jur de 1%. Cele trei valori mai mari ale impreciziei, considerate acceptabile pentru perioadele istorice studiate, sunt generate de conținutul mic de grafit obținut. Rezultatele măsurării AMS sunt cuprinse în Tabelul 3.2.

Tabel 3.2. Valori măsurate la AMS obținute la IFIN-HH și la Poznan. Valoarea $\delta^{13}\text{C}$ prezentată în tabel este obținută la instalația AMS de la IFIN-HH.

Cod de identificare probă	Vârsta radiocarbon (BP)		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
	RoAMS	Poznan	
RoAMS 1	5528 ± 220	5355 ± 35	-20.70
RoAMS 2	6478 ± 200	6225 ± 35	-13.00
RoAMS 3	2230 ± 102	2090 ± 30	-16.01
RoAMS 4	6049 ± 80	6000 ± 40	-23.41
RoAMS 5	5022 ± 42	4830 ± 40	-19.41
RoAMS 6	5984 ± 30	6095 ± 35	-24.97
RoAMS 7	5587 ± 33	5440 ± 40	-19.18
RoAMS 8	6215 ± 50	6150 ± 40	-17.68
RoAMS 9	5385 ± 33	5445 ± 35	-21.42
RoAMS 10	N/A	4750 ± 40	N/A

Comparând rezultatele obținute la IFIN-HH cu cele date în centru autorizat de la Poznan, s-a tras concluzia că ele sunt în limita erorilor acceptabile. Erorile vârstelor obținute de noi au scăzut de la sute de ani (primele 3 rezultate) la câțiva zeci de ani datorită îmbunătățirii protocolului chimic de prelucrare a probelor.

3.2. Datarea materialului osteologic

Materialul organic din os care este datat prin radiocarbon este colagenul. Conținutul acestuia în oase este afectat de variațiile de temperatură, de umiditate, de pH și de activitățile microbiene din solul în care au fost găsite. Pe lângă aceste fenomene, vechii carbonați anorganici din sol și din apele subterane pot fi depozitați pe suprafața osului, în timp ce substanțele humice pot pătrunde prin materialul poros al osului, adăugând o influență nedorită asupra degradării. Îndepărtarea acestor contaminați până la obținerea unui colagen pur implică o serie de precauții și tratamente chimice, de care depinde exactitatea datărilor.

În funcție de stadiul de conservare, se impun diverse procedee de prelucrare a probelor. În acest capitol au fost studiate probe osoase, pentru care s-a aplicat protocolul standard [25] care s-a hotărât a fi folosit în mod curent în Laboratorul RoAMS (Fig.3.2.)

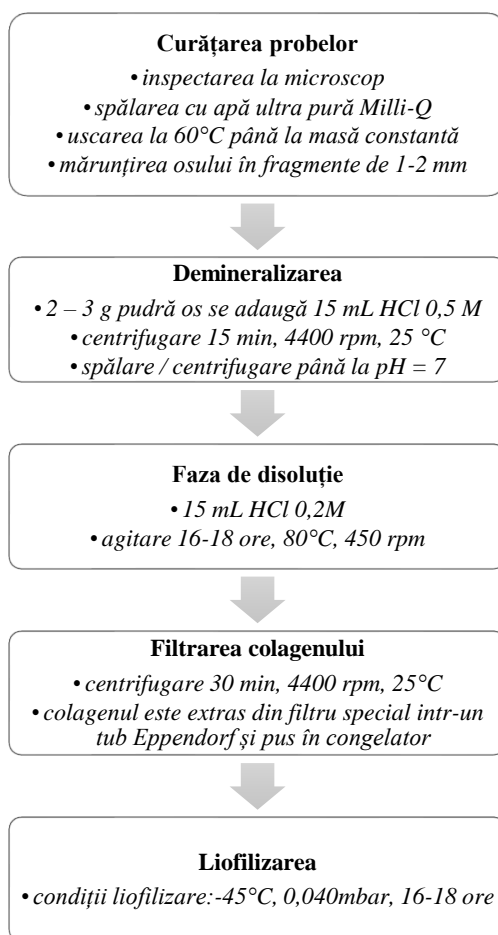


Fig. 3.2. Protocolul de extragere a colagenului din os.

Au fost studiate diverse probe osoase din trei situri arheologice, a căror vechime este necunoscută sau estimată pe baza celorlalte obiecte găsite în vecinătate (Tab. 3.3.).

Tabelul 3.3. Descrierea probelor osoase datate la RoAMS

Cod Probă	Descrierea probelor	Proveniența	Vârsta estimată
TAR	6 fragmente osoase animaliere	Situl Tărtăria, Județul Alba	Neestimată
LUD	6 fragmente osoase umane și animaliere	Situl Luduș, Județul Mureș	Sec. XVII-XII î. Hr.
SOI	Mandibulă de capră	Situl Șoimuș, Județul Hunedoara	Necunoscută (peste 10.000 de ani vechime)

Pentru cele șase fragmente osoase de la *Situl Tărtăria* (TAR 1 – TAR 6), vârstele radiocarbon obținute din măsurătorile AMS au grupat aceste probe ca datând din două perioade calendaristice, relativ distincte. Datele AMS obținute pentru probele TAR 1 – TAR 4 indică că provin din același context stratigrafic; și pentru probele TAR 5 și TAR 6 rezultatele arată că acestea sunt mai timpurii decât celelalte probe din sit chiar dacă au fost prelevate dintr-un complex în care stratigrafia indică o perioadă mai târzie.

Datele ^{14}C obținute prin AMS și calibrate pentru cele șase probe prelevate de la *Situl Luduș*, sunt destul de largi, de la începutul secolului al XVIII-lea î.Hr. până la sfârșitul secolului al XIII-lea. Pentru probele analizate de la Luduș datele radiocarbon indică două orizonturi ale așezărilor: unul mai timpuriu reprezentat de probele LUD 1, LUD 5 și LUD 6 și unul mai târziu reprezentat de probele LUD 2, LUD 3 și LUD 4.

Pentru fragmentul osos prelevat din *Situl de la Șoimuș*, s-a obținut un intervalul calendaristic de 5732 – 5637 BC cu probabilitatea de 95,4%. Acest rezultat a reprezentat cea

mai mare vârstă obținută în urma datării unui os în Laboratorul RoAMS, și anume 6796 ± 33 BP. Vârsta obținută este foarte apropiată de cea estimată de arheologi, aceea de 6950 BP, ceea ce confirmă că datarea, implicând: pre-tratarea, extragerea colagenului, grafitizarea și măsurătorile AMS, a atins un nivel comparabil cu al celorlalte laboratoare de radiocarbon din lume.

Vârstele radiocarbon și vârstele calibrate pentru toate probele de mai sus, sunt prezentate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Rezultatele și vârstele obținute prin AMS pentru probele din os de la Tărtăria, Luduș, Șoimuș

Sit arheologic	Cod probă	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal BC)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
TĂRTĂRIA	TAR 1	6082 ± 33	5204 – 5171	4,4
			5074 – 4897	89,6
			4866 – 4852	1,4
	TAR 2	6063 ± 33	5055 – 4878	90,5
			4871 – 4848	4,9
	TAR 3	6023 ± 32	5001 – 4834	95,4
TAR 4	5996 ± 32	4977 – 4796	95,4	
LUDUȘ	LUD 1	3346 ± 73	5207 – 5146	18,7
			5138 – 5093	6,8
			5082 – 4945	70,0
			TAR 6	5966 ± 32
	LUD 2	3186 ± 73	1876 – 1841	3,0
			1820 – 1797	1,6
LUD 3	3147 ± 66	1781 – 1492	88,6	
		1483 – 1452	2,3	
		1626 – 1277	95,4	
		LUD 4	3101 ± 66	1607 – 1583
LUD 5	3422 ± 36	1559 – 1553	0,4	
		1546 – 1257	92,0	
LUD 6	3345 ± 78	1250 – 1232	1,3	
		1506 – 1195	95,0	
		1141 – 1134	0,4	
		LUD 5	3422 ± 36	1876 – 1841
LUD 6	3345 ± 78	1821 – 1797	4,1	
		1782 – 1629	82,4	
		1876 – 1841	3,3	
ȘOIMUȘ	ȘOI	6796 ± 33	5732 – 5637	95,4

3.3. Datarea lemnului

Datarea obiectelor din lemn, papirusuri, resturi vegetale, presupune extragerea celulozei (având formula chimică $(C_6H_{10}O_5)_n$) din probă.

Metoda de extracție a celulozei se bazează pe procedura aplicată la centru ETH Zurich din Elveția [26], (Fig. 3.3.)

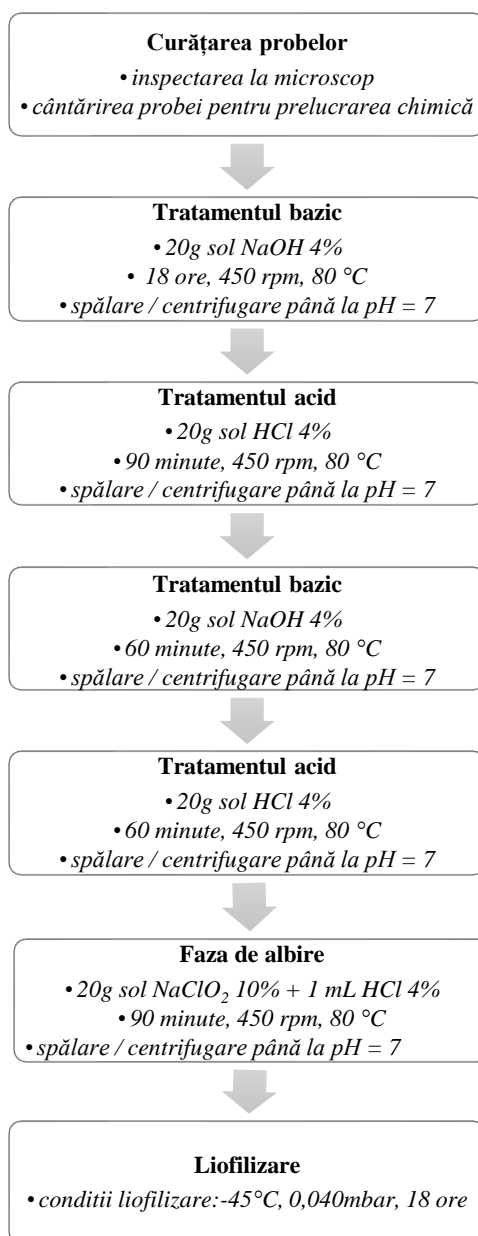


Fig. 3.3. Protocolul de extragere a alfa-celulozei.

Au fost studiate două probe de lemn, constând într-o trapeză (masă) de la Mânăstirea Corbii de Piatră, jud. Argeș, și monoxilă (barcă cioplită dintr-un singur trunchi de copac) descoperită în anul 2015 în localitatea Ostrov, jud. Constanța. Vârsta radiocarbon obținută pentru cele două probe se încadrează în intervalul calendaristic estimat de arheologi (Fig. 3.4).

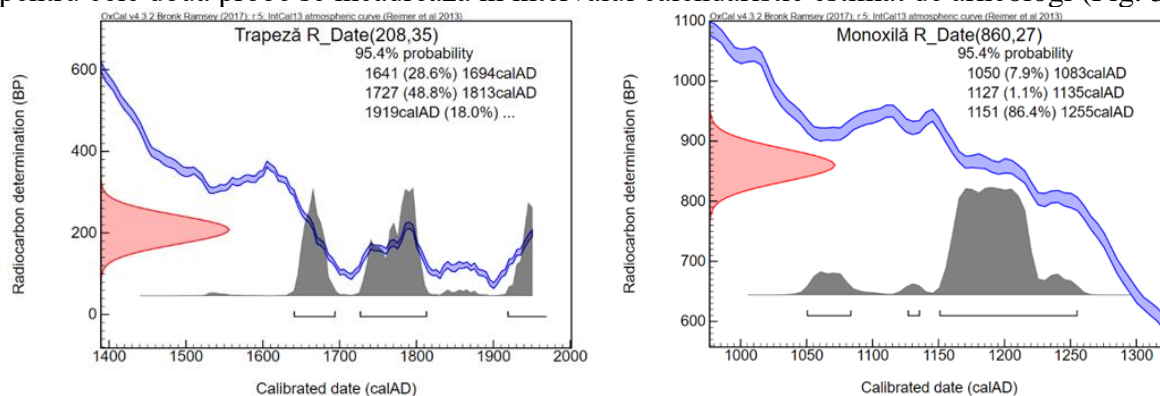


Fig. 3.4. Datele ¹⁴C calibrate pentru proba trapeză (stânga) și pentru proba monoxilă (dreapta).

3.4. Datarea cărbunelui

Tratarea chimică a cărbunelui s-a realizat prin metoda acid-bază-acid (ABA), având la bază metoda folosită la centrul radiocarbon de la Universitatea din Arizona și al cărui protocol este descris de A.J. Timothy Jull și colaboratorii în lucrarea [27]. Acest protocol este prezentat schematic în Fig. 3.5.

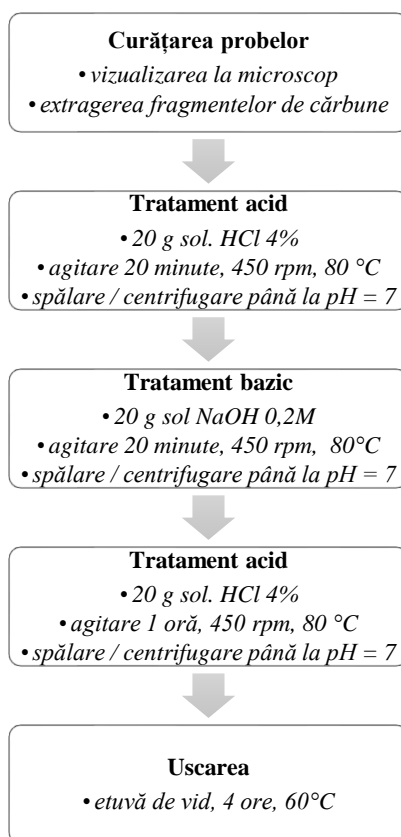


Fig. 3.5. Protocolul de tratare chimică a cărbunelui.

Au fost studiate două seturi de probe de cărbune, a căror vechime nu se cunoaște cu exactitate, prezentate în tabelul 3.5. Situl arheologic Poiana Cireșului reprezintă cea mai veche așezare omenească din România, de peste 10.000 de ani.

Vârstele obținute pentru cele 3 probe de cărbune de la Enisala – Palanca se grupează în jurul aceluiași interval calendaristic, sugerând că aparțin aceleiași perioade istorice, și este în concordanță cu cel estimat de arheologi.

Pentru proba de cărbune de la Poiana Cireșului s-a obținut o valoare care confirmă că acest sit este unul din cele mai vechi situri arheologice din Europa. Intervalul calendaristic obținut a fost de 18.580 – 18.151 calBC cu o probabilitate de 95,4%.

Tabelul 3.5. Descrierea probelor de cărbune datate la RoAMS

Proba	Descrierea probei	Proveniența	Vârsta estimată
PAL	Fragmente carbonizate	Situl Enisala – Palanca, Județul Tulcea	sec. XIV-XV
CIR	Proba de cărbune	Situl Poiana Cireșului, Județul Neamț	Necunoscută (peste 10.000 de ani vechime)

Obținerea unui interval cronologic atât de vechi cu o eroare de doar 60 de ani, confirmă că cărbunele a fost bine prelucrat iar măsurătorile AMS s-au realizat în condiții excelente.

Datele experimentale și vârstele obținute pentru probele de cărbuni de la cele două situri sunt prezentate în Tabelul 3.6.

Tabelul 3.6. Vârstele obținute prin AMS și calibrate pentru probele de cărbune

Situl arheologic	Cod probă	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal BC/AD)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
PALANCA	PAL 1	485 ± 31	1405 – 1 453	95,4
	PAL 2	397 ± 29	1435 – 1522 1575 – 1625	75,5 19,9
	PAL 3	410 ± 29	1431 – 1521 1592 – 1620	84,0 11,4
POIANA CIREȘULUI	CIR	16850 ± 63	18580 – 18151	95,4

Curbele de calibrare pentru cele două seturi de probe se regăesc în Fig. 3.6.

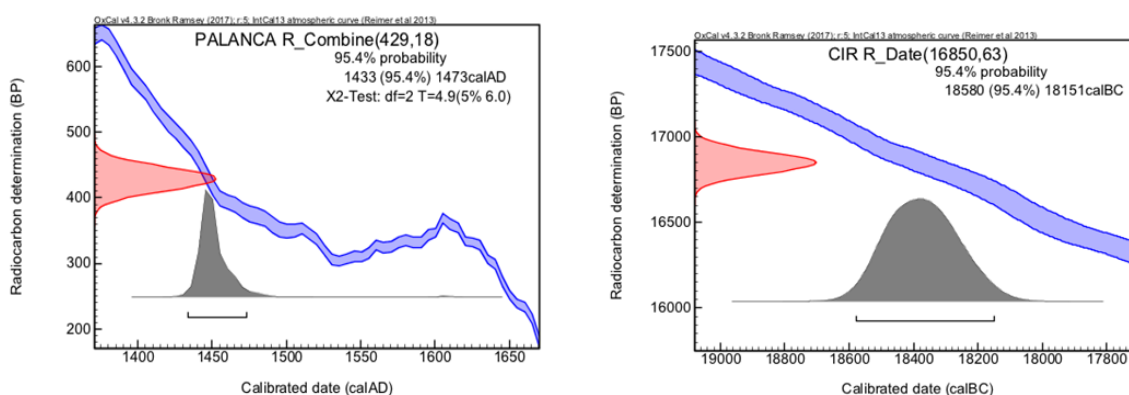


Fig. 3.6. Combinarea datelor ^{14}C calibrate, pentru probele din situl Enisala – Palanca (stânga) și pentru proba din situl Poiana Ciresului (dreapta)

4. Folosirea cromatografiei de lichide de înaltă performanță în datarea cu radiocarbon

În acest capitol sunt prezentate două studii în care a fost folosită cromatografia de lichide de înaltă performanță. Primul a avut ca scop caracterizarea a patru din cele mai comune standarde de aminoacizi folosite în datarea cu radiocarbon. Caracterizarea s-a realizat atât direct pe standarde cât și după trecerea lor prin instalația HPLC. Al doilea studiu a constat în datarea unor materiale osteologice, care au prezentat dificultăți în atribuirea vârstei, pe baza datării aminoacizilor constituenți. Au fost investigați cei mai abundenți aminoacizi din colagenul osos: glicina (Gly), prolina (Pro), hidroxiprolina (Hyp), alanina (Ala) și acidul glutamic (Glu). Deoarece în unele situații Gly nu a putut fi separată complet de Thr (treonină), a fost studiat amestecul acestora.

4.1. Caracterizarea standardelor de aminoacizi folosiți în datarea cu radiocarbon

Au fost realizate două seturi de experimente. Primul a inclus grafitizarea standardelor de aminoacizi și datarea lor directă prin AMS, iar cel de-al doilea a constat în trecerea separată a fiecărui standard de aminoacid prin HPLC, apoi grafitizare și datare.

În acest studiu au fost utilizate patru tipuri de standarde de aminoacizi furnizate de firma Sigma-Aldrich®: Gly, Ala, Pro și Hyp. Din fiecare standard au fost făcute soluții în concentrație de 10 mg/mL.

Analizele cromatografice au fost realizate cu sistemul Shimadzu, procentul de C și N și raportul masic C/N au fost determinate cu analizorul elementar varioMICRO Cube și analiza izotopilor stabili de carbon și datarea prin radiocarbon au fost efectuate utilizând acceleratorul tandetron de 1MV, din laboratorul RoAMS din IFIN-HH.

Pentru a verifica contaminarea cu ^{14}C în procesul de separare prin HPLC, toate standardele de aminoacizi, au fost grafitizate în același mod, atât direct cât și după ce au fost trecute prin coloana HPLC. În cazul utilizării HPLC contaminarea cu carbon străin poate proveni de la două surse, și anume: ^{14}C „mort” și efectul este de îmbătrânire a vârstei radiocarbon a probei, și de la *carbonul modern* iar efectul este de întinerire a vârstei radiocarbon a probei. [28].

Valorile experimentale ale raportului C/N obținute pentru fiecare aminoacid (analizat direct și trecut prin coloana HPLC) sunt foarte apropiate de valorile teoretice și de cele specificate de producător (tabelul 4.1.).

Tabelul 4.1. Comparație între datele experimentale și teoretice obținute pentru standardele de aminoacizi

Nr.	Amino acidul	C/N (direct)	C/N (HPLC)	C/N (teoretic)
1	Gly	1,718±0,018	1,8112±0,009	1,715
2	Ala	2,625±0,030	2,651±0,026	2,572
3	Hyp	4,323±0,075	4,423±0,007	4,287
4	Pro	4,258±0,002	4,338±0,039	4,287

În această lucrare s-a determinat și nivelul de fracționare a fiecărui standard de aminoacid trecut prin HPLC în raport cu valoarea $\delta^{13}\text{C}$ a standardelor de aminoacizi neprelucrate prin HPLC. În literatura de specialitate este menționată această fracționare dar există informații puține sau parțiale cu privire la fracționarea introdusă prin HPLC [29-32]. Din datele obținute a reieșit că utilizarea HPLC nu influențează semnificativ vârsta a trei dintre standardele de aminoacizi studiați. Doar în cazul alaninei a fost obținută o vârstă mai mică decât cea obținută pe același tip de aminoacid brut (tabelul 4.2.).

Tabelul 4.2. Vârstele și valorile $\delta^{13}\text{C}$ experimentale ale aminoacizilor măsurați prin AMS la 1MV

Nr.	Amino acidul	Aminoacidul brut			Aminoacidul după folosirea HPLC		
		Vârsta radiocarbon (ani BP)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Procent din Carbonul Modern (pCM, %)	Vârsta radiocarbon (ani BP)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Procent din Carbonul Modern (pCM, %)
1	Gly	25,370 ± 347	-45,7±0,38	4,25	24,395 ± 292	-18,0±0,39	4,80
2	Ala	31,930 ± 139	-24,4±0,33	1,88	24,077 ± 77	-11,1±0,38	4,99
3	Pro	-505 ± 30	-29,0±0,39	106,49	-531 ± 29	-17,3±0,39	106,83
4	Hyp	-419 ± 44	-20,8±0,31	105,35	-357 ± 44	-12,4±0,30	104,54

Analizând vârstele radiocarbon obținute s-a putut face o corelare între vârsta și procesul de fabricare a celor patru standarde de aminoacizi.

Deoarece pentru glicină și alanină s-au obținut vârste foarte mari, se poate spune că aceste standarde au fost produse prin sinteză chimică directă folosindu-se hidrocarburi care sunt derivate din petrol. Pe de altă parte, vârstele mici (moderne) obținute pentru prolină și hidroxiprolină confirmă faptul că acestea au fost produse prin metoda de fermentație care folosește CO_2 atmosferic contemporan (modern).

4.2. Folosirea HPLC pentru datarea materialului osteologic care prezintă dificultăți în atribuirea vechimii

4.2.1. Descrierea experimentală

Au fost studiate patru probe de os provenind din două situri arheologice, aflate în stări de conservare diferite, Tabelul 4.3.

Tabelul 4.3. Descrierea probelor osoase care au prezentat dificultăți în atribuirea vechimii

Situl arheologic	Cod Probă	Descrierea probei	Vârsta estimată
Capul Dealului, Constanța	CDE 1	Împungătoare din os	sec. XI-XII
	CDE 2	Astragal	sec. XI-XII
Curtea Domnească, Târgoviște	CDT 1	Fragment de os uman	Sec. XV
	CDT 2	Fragment de os uman	Sec. XV
	CDT 3	Fragment de os uman contaminat în laborator	Sec. XV

Probele au fost prelucrate conform procedurii chimice prezentată Fig. 3.3. Înainte de separarea aminoacizilor prin sistemul HPLC a fost necesară spargerea lanțului proteic din colagenul osos, în aminoacizii săi constituenți, prin reacția de hidroliză.

În funcție de cantitatea de aminoacid obținută, pentru măsurările de ^{14}C și $\delta^{13}\text{C}$ s-a folosit, fie instalația AMS (pentru cantitățile mai mari de 1mg de aminoacid) de la IFIN-HH, fie cea de la Laboratorul de Studii de Mediu Hertelendi (pentru probe cu cantități mai mici), Ungaria. Instalația de la Hertelendi este un sistem AMS de tip MICADAS (Mini Carbon Dating System). Acest sistem a fost dezvoltat pentru a permite nu numai măsurarea probelor sub formă de pulbere de grafit, ci și măsurarea CO_2 gaz direct din procesul de ardere a probelor.

Din fiecare probă prelucrată o parte a fost utilizată pentru datarea directă a colagenului brut, iar cealaltă parte a fost hidrolizată și injectată în coloana HPLC pentru separarea aminoacizilor individuali.

4.2.2. Rezultate și discuții

Pentru proba *împungătoare din os (proba CDE 1)*, au fost colectate prin HPLC două fracții: Hyp și un amestec de Pro+Gly. Pentru proba *astragal (proba CDE 2)* singurul aminoacid obținut prin HPLC și cu o rezoluție foarte bună și într-o cantitate suficientă a fost Thr. Cantitățile de probă de colagen și de aminoacizi utilizate pentru analiza AMS sunt prezentate în tabelul 4.4.

Tabelul 4.4. Datele experimentale obținute pentru proba CDE 1, CDE 2 după analiza AMS

Cod probă	Nume probă / Masă (mg)	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal AD)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
CDE 1	Colagen (3,38)	1354 ± 39	612 – 720	85,1
			741 – 767	10,3
	Hyp (10)	1398 ± 39	575 – 679	95,4
	Pro+Gly (7)	1523 ± 44	423 – 620	95,4
CDE 2	Colagen (3,20)	1378 ± 37	595 – 693	93,6
			748 – 762	1,8
	Thr (1,20)	1467 ± 45	434 – 455	2,6
469 – 488			2,6	
			534 – 657	90,1

Intervalul global obținut pentru proba CDE 1 arată că acest obiect de uz casnic este de aceeași vârstă ca și cele câteva fragmente de ceramică estimate de către arheologi a fi din secolele IV-VII și nu din secolele (sec. X-XII), estimate de istorici pe baza monedelor romane, mărgelilor din sticlă, oase umane, și alte obiecte casnice din os și fier, aparținând epocii medievale timpurie.

Datarea fracției Hyp izolată din colagenul brut poate conduce la o vârstă mai sigură, datorită purității și caracteristicii Hyp de a se găsi în cantități mari numai în oasele de mamifere [33]. În cazul nostru intervalul calendaristic pentru Hyp, se suprapune foarte bine cu cel estimat de arheologi pentru ceramica găsită în același loc.

Vârsta calendaristică obținută pentru mixul de aminoacizi, nu pare a fi o valoare plauzibilă, deoarece intervalul de timp este mult prea mare și mai timpuriu.

Pentru proba CDE 2, prin compararea vârstei calibrată cu ceramica datată în secolele IV-VII din același sit arheologic, putem spune că vârsta obținută pentru colagenul brut este plauzibilă.

Măsurătorile AMS pentru aminoacidul Thr nu au furnizat o vârstă de încredere a fragmentului tibiei (astragal), în ciuda cantității și a rezoluției de separare foarte bune obținute prin sistemul HPLC. Aceste vârste sunt mai mari decât vârsta obținută pentru colagenul brut.

Explicația ar putea fi aceea contaminare externă cu ^{14}C "carbon mort" care ar putea să fie introdus din cauza scurgerii defectuoase a fazei mobile prin coloana HPLC [34].

Din primul fragment osos (*proba CDT 1*) au fost separați cu o rezoluție bună patru aminoacizi individuali. Datele experimentale și cantitățile obținute sunt prezentate în Tabelul 4.5. Colagenul, Thr și Hyp au fost analizate în laboratorul RoAMS, iar ceilalți doi aminoacizi Pro și Ala, fiind în cantități mai mici (1,87 mg și 0,47 mg) au fost măsurate la Laboratorul Hertelendi.

Tabelul 4.5. Datele experimentale obținute pentru proba CDT 1 după analiza AMS

Numele probei	Masa (mg)	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal AD)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
Colagen	3,60	614 ± 33	1293 – 1404	95,4
Pro*	1,87*	603 ± 18	1300 – 1368 1381 – 1404	74,7 20,7
Thr	3,32	713 ± 37	1225 – 1234 1242 – 1310 1360 – 1387	1,7 79,9 13,8
Ala*	0,47*	677 ± 18	1276 – 1306 1363 – 1385	66,3 29,1
Hyp	3,37	557 ± 38	1303 – 1366 1383 – 1434	49,4 46,0

* indică că probele au fost analizate la Laboratorul Hertelendi

Intervalele calendaristice obținute pentru fiecare aminoacid sunt relativ apropiate și se încadrează în intervalul global 1225 – 1434 calAD, care este aproximativ același interval obținut pentru colagen 1293 – 1404 calAD.

Din cel de-al doilea fragment osos (*proba CDT 2*) Ala și Hyp au fost separate cu o rezoluție bună; Pro nu a putut fi separat complet de Gly și, prin urmare, au fost colectate împreună ca un amestec de aminoacizi. Datele experimentale și cantitățile obținute din fiecare aminoacid colectat sunt prezentate în Tabelul 4.6. Datorită cantității foarte mici numai 0,11 mg și 1,11 mg, Ala și Hyp au fost măsurate la Laboratorul Hertelendi unde, pentru analiza Ala s-a fost folosit sursa de gaz a instalației AMS.

Tabelul 4.6. Datele experimentale obținute pentru proba CDT 2 după analiza AMS

Numele probei	Masa (mg)	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal AD)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
Collagen	3,34	709 ± 31	1255 – 1308 1361 – 1387	83,2 12,2
Mix Gly+Pro	4,05	580 ± 39	1298 – 1421	95,4
Ala* [^]	0,11	888 ± 92	990 – 1279	95,4
Hyp*	1,11	713 ± 19	1264 – 1295	95,4

* indică că probele au fost analizate la Laboratorul Hertelendi și simbolul [^] arată că a fost folosită sursa de gaz

Din colagenul brut și Hyp, s-au obținut intervale aproape identice în ambele laboratoare, și anume 1255 – 1308 calAD pentru colagen și 1264 – 1295 calAD pentru Hyp.

Mormântul din care s-a colectat fragmentul CDT 2 este mai vechi (este mai adânc) decât cel din care s-a colectat fragmentul CDT 1 și rămășițele osoase din cele două morminte aparțin unor două perioade de timp diferite care diferă cu aproximativ 100 de ani.

Rezultatele obținute pentru aceste probe au condus la concluzia că cei doi indivizi nu au fost contemporani, ci au trăit în perioade separate de circa 100 de ani.

Pentru fragmentul osos uman contaminat în laborator (*proba CDT 3*) prin HPLC s-a separat Pro, Ala și Hyp. Datele experimentale și cantitățile obținute pentru acești aminoacizi sunt prezentate în Tabelul 4.7.

Tabelul 4.7. Datele experimentale obținute pentru proba CDT 3 după analiza AMS

Numele probei	Masa (mg)	Vârsta radiocarbon (ani BP)	Vârsta calibrată (cal AD)	Probabilitatea pentru $\sigma = 2$ (%)
Colagen	3,40	655 ± 31	1278 – 1325 1344 – 1394	45,5 49,9
Pro*	2,44	704 ± 18	1267 – 1299	95,4
Ala* [^]	0,55	569 ± 84	1268 – 1468	95,4
Hyp* [^]	0,15	748 ± 83	1049 – 1085 1124 – 1137 1150 – 1401	3,9 1,2 90,4
R_Combine (Pro*, Ala* [^] Hyp* [^])	N/A	700 ± 18	1268-1300 1370-1380	91.6 3.8

* indică că probele au fost analizate la Laboratorul Hertelendi și simbolul [^] arată că a fost folosită sursa de gaz.

Cei trei aminoacizi (Hyp, Pro, Ala) au fost datați la laboratorul Hertelendi, utilizând instalația MICADAS. Deoarece s-au obținut cantități foarte mici din fracțiile Hyp și Ala, acestea au fost măsurate utilizând sursa de ioni de gaz MICADAS.

Calibrarea vârstei radiocarbon utilizând curba de calibrare IntCal pentru colagen a condus la două intervale calendaristice: 1278 – 1325 calAD cu probabilitatea de 45,5% și 1344 – 1394 calAD cu o probabilitate de 49,9%.

Datarea Ala și Hyp a condus la perioade mai lungi calendaristice, datorită erorilor statistice mai mari, rezultate ca o consecință a cantității foarte mici de probă.

Intervalul obținut pentru Ala, 1268 – 1468 calAD (cu probabilitatea de 95,4%), încadrat într-un timp mai recent decât intervalul obținut pentru colagen, poate fi explicat printr-o posibilă contaminare în transferul direct de CO₂ de la reactorul AGE la sursa instalației AMS.

În cazul datării Hyp, intervalul global, care este foarte extins și mult mai vechi, poate fi explicat printr-o contaminare cu carbon "mort", datorată scurgerii defectuoase a fazei mobile prin coloana HPLC [28].

Totuși, folosind funcția R_Combine a programului OxCal v.3.2, s-a obținut că valorile ^{14}C pentru toți aminoacizii datați (Pro*, Ala*^ și Hyp*^) sunt convergente. Acestea sunt prezentate în tabelul 4.7. (ultima linie).

Comparând intervalele obținute pentru colagenul brut și aminoacizii constituenți reiese că ele sunt foarte apropiate, ceea arată că contaminarea cu mir a fost eliminată cu succes prin ultra filtrarea colagenului și că datarea directă a colagenului extras din probele CDT 1 și CDT 2 au furnizat informații plauzibile, chiar în ipoteza că ele ar fi fost tratate cu mir vechi.

5. Caracterizarea colagenului osos prin spectrometrie de rezonanță magnetică nucleară

Fracția organică a oaselor este compusă din proteine (majoritate colagen) și lipide. De-a lungul timpului, în funcție de condițiile de conservare, oasele pot încorpora carbon extern din surse biogenetice care conduc la o vârstă mai tânără în cazul datării acestora prin radiocarbon.

Studii asupra conservării fracției organice folosind spectrometria RMN sunt foarte puține sau aproape lipsesc [35- 37].

În acest capitol este prezentat un studiu privind caracterizarea gradului de conservare a colagenului extras din materialul osos studiat și datat în capitolul 4. Studiul se bazează pe compararea spectrelor RMN obținute pentru aminoacizii colagenului extras și filtrat prin Amicon Ultra Filter care reține doar moleculele cu masa moleculară mai mare de 30kDa și a celor proveniți din fragmente de lanțuri de colagen care au trecut prin filtru și au rămas în soluția de HCl 0,2M. Distrugerea lanțului de colagen poate avea loc din cauza factorilor externi în care a fost depozitat materialul osteologic, dar și în urma prelucrării chimice defectuoase a lui în vederea datării cu ^{14}C a acestuia.

5.1. Determinarea parametrilor instalației RMN folosind standardele de aminoacizi analizați

Pentru identificarea picurilor aminoacizilor din spectrele RMN au fost realizate mai întâi spectrele ^{13}C RMN individuale pentru aminoacizii care au fost analizați și datați în capitolul 4, precum și pentru mixtura acestora. Au fost utilizate cinci tipuri de standarde de aminoacizi furnizate de firma Sigma-Aldrich®: glicină, alanină, prolină, hidroxiprolină și treonină. Din fiecare standard au fost realizate soluții cu apă deuterată $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (1:9), în concentrație de aproximativ 0,1 mmol/mL.

Pentru a alege ce metodă va fi folosită pentru spectrometria RMN a colagenului, s-au realizat două spectre: spectrul de proton (^1H) și spectrul de carbon (^{13}C). Analizând cele două tipuri de spectre a rezultat că spectrul de ^{13}C prezintă picurile aminoacizilor cu o rezoluție mai bună și are un domeniu de frecvențe mai larg decât cel de ^1H .

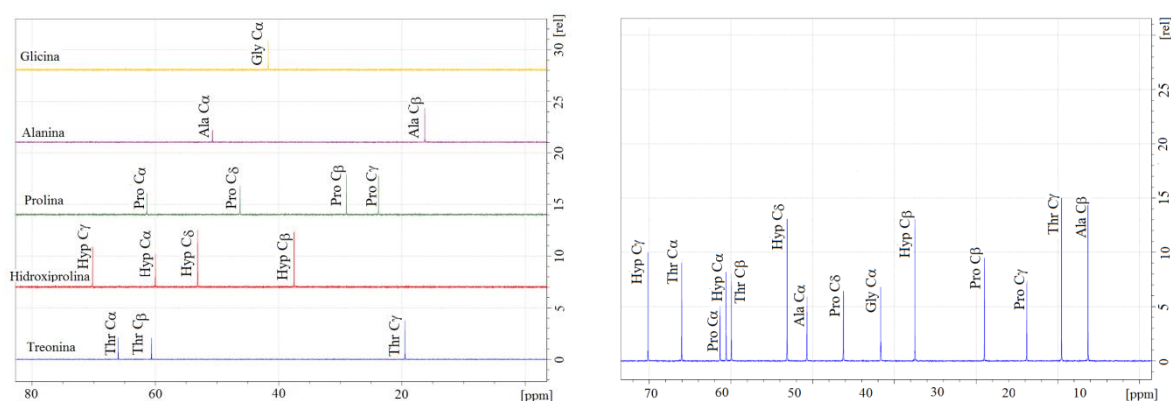


Fig. 5.1. Spectrele ^{13}C RMN individuale a standardelor de aminoacizi (stânga). Spectrul ^{13}C RMN a mixturii de standarde de aminoacizi (dreapta).

În Figura 5.1. sunt prezentate spectrele ^{13}C RMN pentru fiecare standard de aminoacid analizat și mixtura standardelor de aminoacizi folosiți

Pozițiile aproximative ale picurilor pentru fiecare tip de aminoacid de interes sunt prezentate în Tabelul 5.1. Poziția picurilor obținute este în concordanță cu datele din literatură [38, 39].

Tabelul 5.1. Poziția picurilor din spectrul ^{13}C pentru fiecare standard de aminoacid folosit

Nr.Crt.	Standard aminoacid	C α	C β	C γ	C δ
1	Glicină	41,69	-	-	-
2	Alanină	50,74	16,35	-	-
3	Prolină	61,37	29,02	23,81	46,27
4	Hidroxiprolină	60,58	37,50	70,19	53,17
5	Treonină	66,06	59,96	19,57	-

5.2. Analiza RMN pentru colagenul extras din materialul osteologic

Au fost studiate cele patru probe de oase provenind din două situri arheologice, prezentate în capitolul 4.

Studiul a început cu verificarea pozițiilor picurilor aminoacizilor de interes pentru o probă reală de colagen nealterat (contemporan). Pentru aceasta s-au comparat picurile corespunzătoare aminoacizilor de interes din spectrul ^{13}C RMN obținut pentru colagenul extras din osul contemporan cu cele obținute pentru mixtura de standarde a acestora.

Spectrele ^{13}C RMN obținute pentru colagenul extras din cele două probe (**CDE 1 și CDE 2**) prelevate de la situl Capul Dealului, Constanța, sunt prezentate în Figura 5.2. Pentru identificarea aminoacizilor constituenți, spectrul mixtului de standarde de aminoacizi este prezentat deasupra spectrului colagenului.

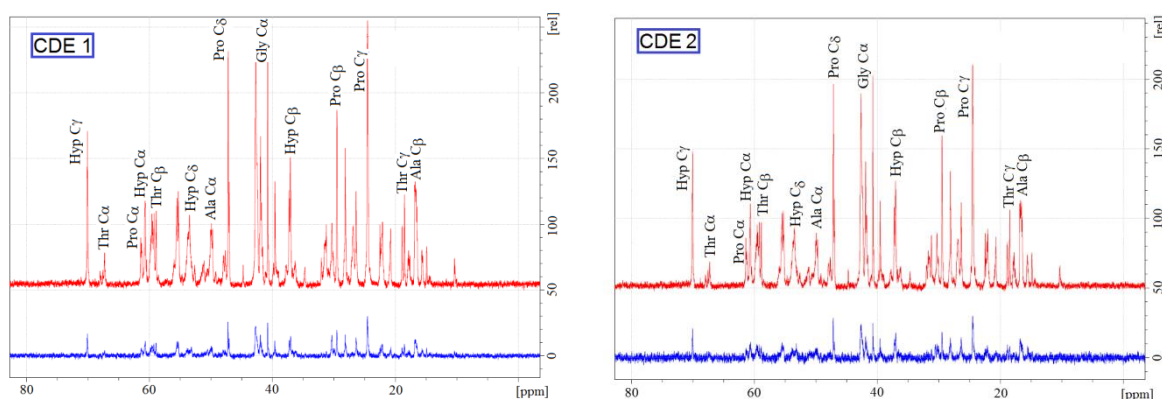


Fig. 5.2. Spectrul ^{13}C RMN obținut pentru colagenul extras din proba CDE 1 (stânga) și din proba CDE 2 (dreapta).

Din spectrele obținute pentru colagenul extras din cele două probe, se observă că sunt prezente toate picurile corespunzătoare acestor standarde de aminoacizi.

Devierea pozițiilor picurilor obținute pentru colagenul celor două probe este sub 0,89% ceea ce confirmă că aminoacizii au fost corect identificați.

Pentru evaluarea conținutului de aminoacizi din colagenul osos extras din aceste probe, s-a calculat și raportul maselor picurilor corespunzătoare aminoacizilor. Valoarea medie a raportului de $1,00 \pm 0,07$ arată că conținutul de aminoacizi din cele două probe este aproape identic.

Pe lângă picurile aminoacizilor de interes, spectrele ^{13}C RMN mai conțin și picuri ale altor aminoacizi, care nu au fost indexate pentru că nu fac obiectul studiului realizat.

Spectrele ^{13}C RMN obținute pentru colagenul extras din cele două probe (*CDT 1* și *CDT 2*) prelevate de la situl Curtea Domnească din Târgoviște, sunt prezentate în Figura 5.3. Pentru identificarea aminoacizilor constituenți, spectrul mixtului de standarde de aminoacizi este prezentat deasupra spectrului colagenului.

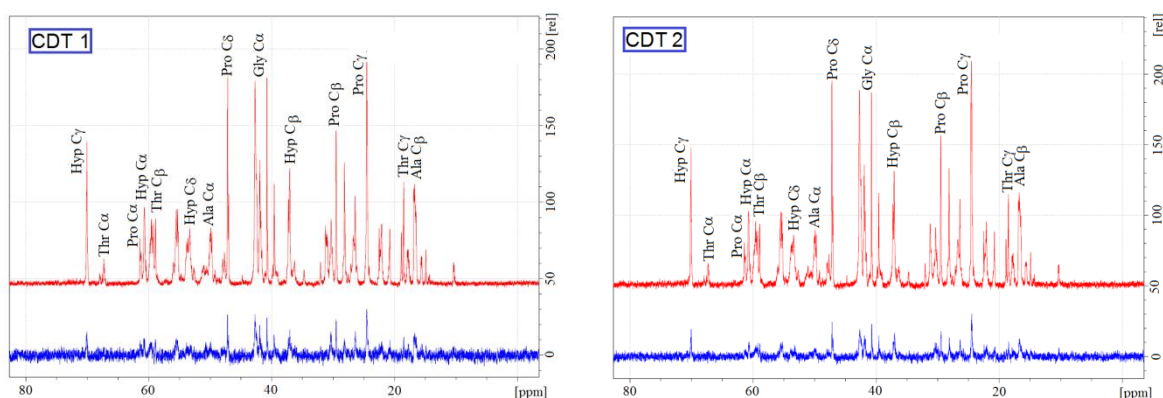


Fig. 5.3. Spectrul ^{13}C RMN obținut pentru colagenul extras din proba CDT (stânga) și din proba CDT 2 (dreapta).

Din spectrele obținute pentru colagenul extras din cele două probe, se observă că sunt prezente toate picurile corespunzătoare acestor standarde de aminoacizi.

Devierea pozițiilor picurilor obținute pentru colagenul celor două probe este cel mult 1% ceea ce confirmă că aminoacizii au fost corect identificați.

Pentru evaluarea conținutului de aminoacizi din colagenul osos extras din aceste probe, s-a calculat și raportul maselor picurilor corespunzătoare aminoacizilor. Valoarea medie a raportului de $1,00 \pm 0,04$ arată că conținutul de aminoacizi din cele două probe este aproape identic, dar ponderea lor este diferită.

Pe lângă picurile aminoacizilor de interes, spectrele ^{13}C RMN mai conțin și picuri ale altor aminoacizi, care nu au fost indexate pentru că nu fac obiectul studiului realizat.

5.3. Stabilirea gradului de conservare a colagenului pentru materialului osteologic datat prin AMS

Pentru a stabili gradul de conservare a colagenului a fost necesară prelucrarea reziduurilor din fiecare probă de colagen nehidrolizată. După separarea colagenului și ultra-filtrarea prin Amicon Ultra Filter 30kDa, reziduu rămas a fost evaporat. Pentru analiza RMN reziduu uscat a fost apoi reconstituit în 1 mL soluție $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (1:9).

Pentru a pune în evidență cantitatea fracțiilor de colagen ce au trecut în soluție după filtrare, în Figura 5.4 au fost adăugate și spectrele obținute pentru colagenul extras din fiecare probă. În acest mod se poate face o comparație calitativă a fracției de colagen care s-a pierdut prin filtrul 30kDa.

Se poate observa că și în spectrele obținute pentru fragmentele de colagen din reziduu sunt prezente toate picurile corespunzătoare standardelor de aminoacizi, mai puțin picurile $\text{C}\alpha$ corespunzătoare alaninei și prolinei pentru proba CDE2 și $\text{C}\alpha$ corespunzătoare treoninei pentru ambele probe. Devierea pozițiilor picurilor obținute pentru colagenul celor două probe este cel mult 1,23% ceea ce confirmă că aminoacizii au fost corect identificați.

Valoarea medie a raporturilor intensităților picurilor corespunzătoare aminoacizilor de interes pentru fragmentele de colagen este de $1,78 \pm 0,68$ și arată că conținutul de aminoacizi care au trecut prin filtru în cazul probei CDE1 este mai mare decât pentru proba CDE2.

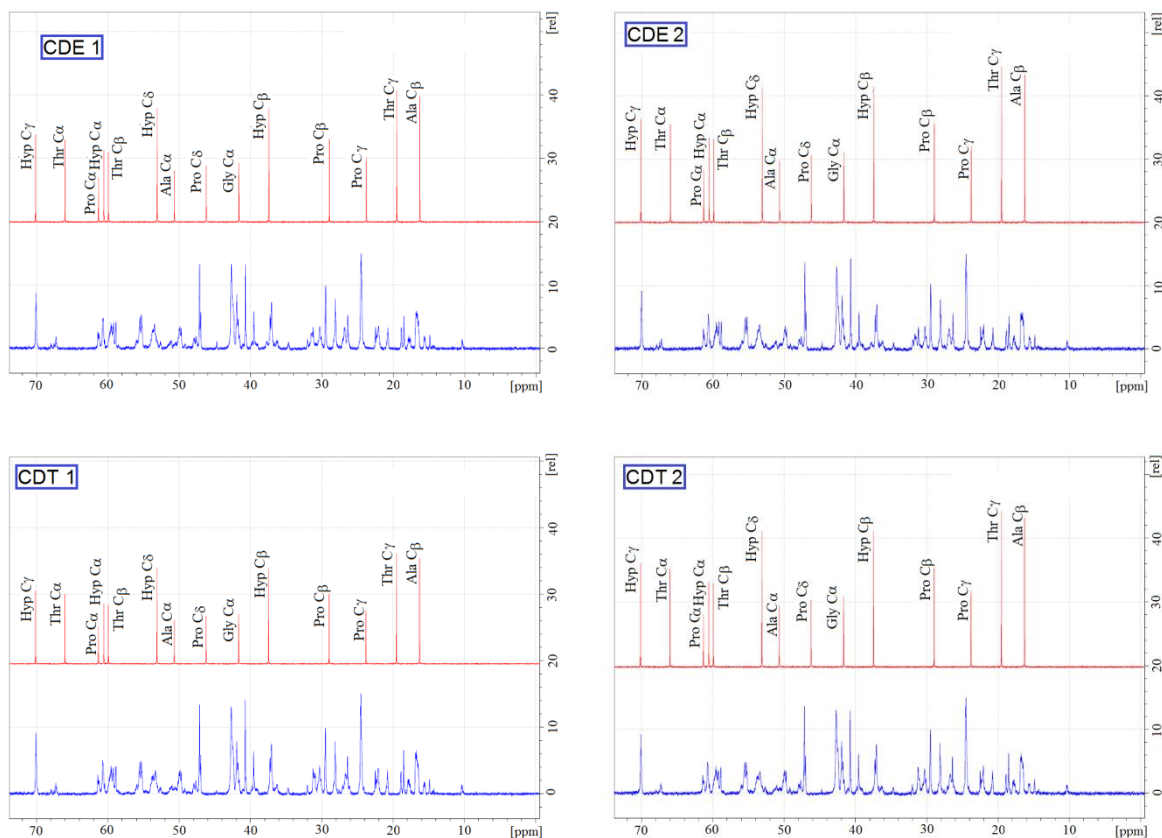


Fig. 5.4. Spectrele ^{13}C RMN obținute pentru fragmentele de colagen rămase în reziduu acid după filtrare.

Din spectrele pentru CDT 1 și CDT 2 se observă, că în fragmentele de colagen din reziduu sunt absente foarte multe picuri (alanina și treonina lipsind complet). Deviarea pozițiilor picurilor obținute pentru colagenul celor două probe este cel mult 0,55% ceea ce confirmă că aminoacizii au fost corect identificați. Valoarea medie a raportului de $0,96 \pm 0,23$ arată că fragmentele de colagen prezente în reziduu de sunt aproximativ în aceeași concentrație.

Deși datarea prin radiocarbon a colagenului și a unor aminoacizii individuali a condus la faptul că probele CDE 1 și CDE 2 aparțin aceleiași perioade istorice [40], prin analiza ^{13}C RMN a colagenului și fragmentelor de colagen a rezultat că colagenul probei CDE 1 este mai degradat față de cel a probei CDE 2. O posibilă explicație este că primul, reprezentând un obiect casnic realizat dintr-un fragment de os de animal, a fost supus unor agresii prin folosirea lui, în timp ce cel de-al doilea reprezentând un fragment de os, pur și simplu îngropat.

Referitor la probele din cel de-al doilea sit arheologic, rezultatele au arătat că colagenul este mai puțin deteriorat, fapt ce era de așteptat ele fiind mult mai tinere. Colagenul CDT 1 arată a fi cel mai bine conservat. O altă explicație pentru gradul de conservare ușor diferit al probelor CDT 1 și CDT 2 poate fi că bucățile de os din care au fost extrase probele nu au fost de același tip (de ex. femur, tibie, craniu etc.) și cantitatea de colagen din acestea diferă, fapt ce explică și diferența între proporțiile fiecărui tip de aminoacid din probă.

Pentru a verifica dacă cantitățile de aminoacizi individuali ce ar putea fi separați din fragmentele de colagen care au trecut prin filtru, pot fi datați prin ^{14}C , s-au calculat cantitățile aminoacizilor cei mai reprezentativi din probele studiate (Tabelul 5.2).

Tabelul 5.2. Cantitățile aminoacizilor databili conținuți în colagenul și fragmentele de colagen extrase din probele studiate

	Colagen (mg)				Fragmente colagen (mg)			
	CDE1	CDE2	CDT1	CDT2	CDE1	CDE2	CDT1	CDT2
Gly	1.411	1.213	1.755	1.170	0.439	0.219	0.181	0.239
Ala	0.810	0.708	0.960	0.659	0.348	0.160	0.094	0.110
Pro	7.333	6.159	8.917	6.254	2.164	1.051	0.756	0.952
Hyp	8.192	6.925	10.514	7.236	2.196	1.241	0.825	1.092
Thr	4.173	3.422	5.096	3.552	1.154	0.564	0.309	0.469

Pentru datarea aminoacizilor separați din fragmentele de colagen care au trecut prin filtru sunt necesare din fiecare cantități de peste 2 mg. Din tabelul 5.2 rezultă că doar din proba CDE 1 se pot separa doi aminoacizi ce pot da o cantitate suficientă de grafit pentru a putea fi datată prin AMS [⁴¹].

6. Concluzii și perspective

C1. CONCLUZII GENERALE

Înființarea centrului de datare prin radiocarbon RoAMS, de la Institutul de Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulubei”, a deschis orizontul spre noi aplicații ale Fizicii nucleare, printre care, datarea prin radiocarbon este una dintre cele mai utilizate.

Pe lângă efortul financiar făcut pentru achiziționarea instalației AMS bazată pe un Tandetron de 1 MV, un efort deosebit a fost depus pentru echiparea laboratorului de chimie dedicat acestor măsurători.

Au fost elaborate protocoalele de pre-tratare chimică a probelor, specifice pentru fiecare material și stare de degradare sau contaminare.

Pentru o verificare preliminară a protocoalelor de pre-tratarea a probelor, a performanțelor instalației AMS și a calculelor și corecțiilor aplicate pentru determinarea vârstelor, s-a făcut un studiu de inter-comparare a rezultatelor obținute în centrul RoAMS cu cele obținute într-un centru AMS certificat, cel de la Poznan, Polonia. În acest studiu, am fost sprijiniți de istorici de la Muzeul Național de Istorie a României, care ne-au oferit un set de 10 oase și vârstele acestora, determinate de cei de la Poznan. În urma acestui studiu au fost îmbunătățite procesul de grafitizare a probelor și tehnica de măsurare prin AMS a conținutului de ¹⁴C, ducând la erori de măsurare statistice și de repetabilitate foarte scăzute.

Odată cu certificarea acestor rezultate, au fost stabilite protocoalele finale de lucru pentru pre-tratarea osului și s-au pus la punct celelalte metode de pre-tratare, mai simple, de prelucrare a lemnului (celulozei în general) și a cărbunelui. În același scop, colaborarea cu cercetătorii de la ETH Zurich a oferit oportunitatea de a dezvolta și îmbunătății protocoalele de pre-tratare a probelor analizate.

Centrul AMS de la Debrecen, Ungaria ne-a sprijinit în cazul măsurătorilor AMS a probelor cu conținut foarte scăzut de carbon, ei dispunând de o instalație AMS echipată cu o sursă de ioni în care este introdus direct gazul CO₂ rezultat din combustia probelor în analizorul elemental.

Procedeele chimice elaborate și parametrii stabiliți pentru echipamentele tehnice folosite au fost validate prin datarea cu succes a 13 fragmente osoase, 2 obiecte din lemn și 4 probe sub formă de cărbune. Prin datarea lor s-au obținut informații valoroase pentru arheologii și istoricii care ni le-au furnizat.

Pentru probele osoase care au prezentat dificultăți în atribuirea vârstei, s-a folosit separarea și datarea individuală a aminoacizilor din colagenul constituent. În acest scop au fost necesare studii privind influența folosirii sistemului HPLC asupra fracționării izotopice a

carbonului și asupra datării folosind concentrația de ^{14}C măsurată prin AMS. Studiile au arătat că fracționarea izotopică există dar nu influențează semnificativ datarea prin radiocarbon.

Prin folosirea separării aminoacizilor colagenului s-a verificat și gradul de eliminare a contaminanților de ^{14}C extern, prin contaminarea controlată, în laborator, a unui fragment osos. S-a obținut că folosirea filtrului special Amicon Ultra, care reține doar moleculele cu masa moleculară peste 30kDa, a fost foarte eficient.

Rezultatele obținute folosind ^{13}C RMN pentru analiza conținutului de aminoacizi prezenți în reziduu după filtrarea cu Amicon, au arătat că această tehnică nucleară este utilă în estimarea cantității de aminoacizi din colagenul alterat și este utilă pentru a decide dacă acesta merită să fie separat prin HPLC și apoi fiecare aminoacid individual rezultat să fie datat cu ^{14}C . Studiu a fost realizat în premieră și reprezintă un pas important în caracterizarea gradului de conservarea colagenului osos folosind RMN, în cazul când prelucrarea uzuală a condus la o cantitate mică de carbon databil

C2. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Prezenta lucrare reprezintă o premieră științifică pentru țara noastră, fiind prima care abordează datarea cu radiocarbon prin AMS. Chiar dacă nu este o noutate pe plan mondial, punerea la punct și folosirea acestei metode aduce contribuții importante și originale la cunoașterea științifică în arheologie și istorie în general.

La realizarea studiilor am folosit aparatură și metode de ultimă oră și pentru obținerea performanțelor necesare unor datări cât mai exacte, a trebuit să consult cele mai recente publicații din literatura de specialitate.

Am participat la toate studiile prezentate în această teză alături de colectivul Departamentului de Acceleratori Tandem (DAT).

Am participat la testele și încercările de pre-tratări ale probelor realizate pentru elaborarea în final, a protocoalelor care se folosesc azi în mod curent. Aceste teste au înglobat atât tratamentele chimice din laborator, cât și prelucrarea automată folosind analizorul elemental, sistemul de grafitizare și sistemul HPLC.

Studiile legate de separarea aminoacizilor din colagen au fost realizate exclusiv de mine, dar am fost sprijinită de colectiv în etapele privind determinarea conținutului de izotopi ai carbonului la instalația AMS. În urma acestui studiu a reieșit că separarea aminoacizilor individuali din colagen aduce o contribuție importantă la datarea osului, în cazul când colagenul din acesta este deteriorat sau contaminat.

Pentru prima dată, la inițiativa mea, s-a făcut o corelare între vârsta aminoacizilor standard și procedura de producerea a acestora, sinteză sau fermentație.

Pe lângă participarea la studiile pe materialele prezentate în această lucrare, dar pe baza experienței și protocoalelor dobândite din acestea, am participat în cadrul colectivului și la alte studii abordate, precum datarea apelor subterane, mortarului pe bază de var hidrolic, semințe, inelele copacilor (utile în dendrocronologie).

Am participat, contribuind la partea de prelucrare chimică a probelor, la studii privind performanțele instalației AMS din centrul nostru, nu numai privind măsurători ale concentrațiilor de carbon, dar și de ^{26}Al , ^{10}Be și actinide (^{236}U , ^{239}Pu , ^{240}Pu etc.).

Rezultatele studiilor obținute în această lucrare, precum și studii ulterioare au fost prezentate la 38 de conferințe și simpozioane naționale și internaționale (vezi Anexa I).

Am contribuit la partea de prelucrare chimică a probelor care au făcut obiectul celor 7 articole publicate în reviste de specialitate, unele cotate ISI, și a celor șapte capitole de cărți de specialitate.

Articolele având subiect separarea aminoacizilor prin HPLC și caracterizarea colagenului osos prin RMN au fost elaborate în proporție de 80% de către mine, drept pentru care am fost primul autor și autor corespondent.

C3. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ

Experiența din primii cinci ani de funcționare ai laboratorului a pus în evidență complexitatea și practic unicitatea fiecărei probe în parte – și deci nevoia unei abordări variate a pre-tratării în vederea decontaminării ei, în funcție de caracteristicile inițiale.

Materialul osteologic de natură animală sau umană se prezintă adeseori în grade diferite de degradare și/sau contaminare, devenind probe care prezintă dificultăți în atribuirea vechimii. Rezolvarea acestor probleme o reprezintă folosirea separării aminoacizilor individuali din colagen și reprezintă pentru mine un subiect important pe care doresc să îl dezvolt în continuare.

Pe baza primelor studii și a rezultatelor obținute doresc să continui studiul folosirii procedurii de izolare a aminoacizilor constituenți colagenului osos, în vederea obținerii unei eficiențe crescute dar și o separare mai bună, astfel încât datarea să poată să se facă pe baza mai multor aminoacizi.

Acest studiu implică folosirea altor faze mobile (altele decât apa ultra pură care a fost folosită până în prezent) pentru a evita micile contaminări produse prin „scurgere coloanei” sau introducerea unei fracționări izotopice a carbonului. De asemenea îmi doresc un studiu prin care să determin fondul de ^{14}C , contemporan sau vechi, introdus prin folosirea separării prin HPLC. Acest lucru va fi posibil doar prin datarea unor probe de os cu o vechime foarte mare și pentru care există informații foarte exacte privind vârsta lor. Aceste probe sunt foarte rare și scumpe, astfel că aceste determinări nu le-am putut realiza în studiile prezentate în această lucrare de doctorat.

Studiile pe care mi le-am propus să le abordez sunt importante prin faptul că un număr semnificativ de probe, care nu pot fi datate folosind protocoalele chimice curente, vor putea fi datate prin datarea aminoacizilor constituenți. Vor fi „salvate” pentru datare acele probe care au de exemplu lanțurile de colagen distrus, și care trec prin filtru special de 30 kDa. Deci eu, voi recupera soluțiile în care acestea trec, voi separa prin HPLC aminoacizii constituenți colagenului, chiar dacă lanțul este distrus, și îi vom data individual pe fiecare. Datarea aminoacizilor individuali are un mare viitor.

Voi continua studiul folosind ^{13}C RMN direct pe materialului osteologic solid pentru determinarea cantității aminoacizilor de interes în datarea prin radiocarbon, punând accent pe hidroxipolină. Această analiză îmi va fi utilă să aleg fracțiunea de os care să asigure o cantitate de carbon suficientă pentru datarea lui cu o precizie ridicată. Abordarea unor studii viitoare folosind direct probele solide (fără un pre-tratament) pentru analiza ^{13}C RMN, îmi vor aduce informații importante referitoare și la degradarea colagenului în pre-tratările realizate în procesul de preparare a probelor osoase în vederea datării cu ^{14}C .

PUBLICAȚIILE ȘI PARTICIPĂRILE LA CONFERINȚĂ ALE AUTOAREI

Articole științifice

1. Verifying the influence of the HPLC method on carbon isotopic fractionation of amino acids standards for radiocarbon dating, *Oana Gaza*, Tiberiu B. Sava, Catalin S. Tuta, Corina A. Simion, Doru Ghe. Pacesila, Dan G. Ghita, Horia Iovu, U.P.B. Sci. Bull., Series B, Vol. 80, Iss., 2, 2018.
2. Comparative radiocarbon dating study of individual amino acids isolated from archaeological bone collagen towards bulk collagen, *O. Gâza*, C.S. Tuță, C.A. Simion, T.B. Sava, G.O. Sava, M. Molnar, H. Iovu, Romanian Reports in Physics, vol.71, no.3, 2019.
3. Ion beam optic simulations at the 1 MV TandetronTM from IFIN-HH Bucharest, D. Păceșilă, D. Ghiță, T. Sava, M. Straticiuc, V. Moșu, A. Rotaru, A. State, *O. Gâza*, G. Cătă-Danil, Romanian Reports in Physics, vol. 71, no. 2, 2019.
4. Holocene fluvial history of Romanian Carpathian rivers, Maria Rădoane, Ioana Perșoiu, Francisca Chiriloaei, Tiberiu Sava, Constantin Nechita, Nicolae Rădoane, *Oana Gâza*, Quaternary International, vol. 527, 2019, pp 113-129
5. Status report on the sample preparation laboratory for radiocarbon dating at the new bucharest roams center, Tiberiu B. Sava, Corina A. Simion, *Oana Gâza*, Iuliana M. Stanciu, Doru G. Păceșilă, Gabriela O. Sava, Lukas Wacker, Bianca Ștefan, Vasile D. Moșu, Dan G. Ghiță, Alexandru Vasiliu, Radiocarbon, vol. 61, no.2, 2019, pp. 649 – 658.
6. NMR characterization of bone collagen used for 14C dating of osteological material, Oana GAZA, Mihaela ENACHESCU, Catalin S. TUTA, Cristina STAVARACHE, Horia IOVU, Romanian Reports in Physics, vol.71, no. 4, 2019.
7. Using radiometric and non radiometric methods for a complex characterization of a historical monument ensemble; Otetelesanu ex-mansion from Măgurele town, Romania, Case Study, C.A. Simion, T.B. Sava, O. Gaza, D.Pacesila, N.M. Florea, D.G. Ghita, M.M. Manea, M. Straticiuc, R.F. Andrei, M.R. Calin, I. Radulescu, A. Lukacs, D.D. Ionescu, R. Nemteanu, E.E. Sabo, Romanian Journal of Physics vol. 64, no 5-6, 904 (2019)

Capitole în Cărți

1. Brukenthal Acta Musei XI.1, Sibiu / Hermannstadt, 2016, Editura Muzeului Național Brukenthal, ISSN: 1842-2691, Radiocarbon Data for Level III form Tărtăria-Gura Luncii (Preventive Researches from 2014-2015), Sabin Adrian Luca, Tiberiu Bogdan Sava, Doru Pacesila, Iuliana Stanciu, *Oana Gaza*, Gabriela Sava, Bianca Stefan.
2. The Bronze Age site from Luduș, Bibliotheca Musei Marisiensis, Seria Arheologică X, Ed. MEGA, Cluj-Napoca, 2016
3. Influence of Thermal Treatments on Radiocarbon Dating of Groundwater Samples, Iuliana Madalina Stanciu, Tiberiu Bogdan Sava, Doru Gheorghe Pacesila, *Oana Gaza*, Corina Anca Simion, Bianca Maria Stefan, Gabriela Odilia Sava, Dan Gabriel Ghita and Vasile Mosu, AIP Conf.Proc. 1852 (2017) no.1, 080010.
4. Radiocarbon dating and object biography: the case of a medieval cemetery and church from the argeș county (Southern Romania), Corina Anca Simion, Nona Palincăș, Gabriela Odilia Sava, *Oana Gâza*, Tiberiu Bogdan Sava, Doru Gheorghe Păceșilă, Bogdan Constantinescu, Daniela Stan, Mihaela Maria Manea, Laurențiu Dragomir, Spiridon Cristocea, Marius Păduraru, Ion Dumitrescu, Acte 5 BSA: “Bridging Heritage and Science in the Balkans. Proceedings of the 5th Balkan Symposium of Archaeometry (September 25-29, 2016, Sinaia, Romania)”, ed. Nona Palincas, Corneliu Ponta, in press, (2018) Archaeopress (Oxford, UK).

5. Radiocarbon dating of single amino acids isolated by HPLC method from archaeological bones samples, *Gaza O.*, Sava, T.B., Simion, C.A., Tuta, C.S., Pacesila, D.G., Mosu, D.V., AIP Conf. Proc., vol 2076, (2019), 060004.

6. Radiocarbon dating, a versatile tool for archaeology, environmental studies and cultural heritage at Bucharest RoAMS laboratory, Sava, T.B., Mănăilescu, C., Sava, G.O., Ilie, M.V., *Gâza, O.*, Păceșilă, D., Robu, A., AIP Conf. Proc., vol 2076, (2019), 050003.

7. Radiocarbon dating of mortar based on hydraulic lime. Advantages, disadvantages, limitations, Simion, C., Stanciu, I., *Gaza O.*, Sava, T., Pacesila, D., Ilie, M. Manailescu, C. Robu, A., AIP Conf. Proc., vol 2076, (2019), 050003.

Conferințe

1. Research Infrastructure for Applied Physics in IFIN HH, *Corina A. Simion, Nicoleta M. Florea, Oana Gaza*, Workshop dedicat datării cu C-14, Biblioteca Națională de Fizică, Aprilie, 2013

2. Utilizarea datării cu Carbon-14 și a altor tehnici complementare în cercetările de pe șantierul arheologic de la Fostul Conac Oteteleşanu din Măgurele Ilfov, *Corina Anca Simion, Mihaela Enachescu, Nicoleta Mihaela Florea, Oana Gaza, Catalin Stan-Sion, Alexandru Razvan Petre, Catalin Ionut Calinescu, Dan Gabriel Ghita, Antal Lukacs*, Al Doilea Simpozion Național al Societății Române de Arheometrie (ARCHAEOMET 6), 17 octombrie 2013, Biblioteca Națională de Fizică, București-Măgurele.

3. Using of Radiocarbon Dating and other associated techniques for the archaeological research at Otetelesanu Mansion in Magurele Ilfov county, *Corina Anca Simion, Mihaela Enăchescu, Nicoleta Mihaela Florea, Oana Gâza, Cătălin Stan-Sion, Alexandru Răzvan Petre, Cătălin Ionuț Călinescu, Dan Gabriel Ghiță and Antal Luckacs*, 1st International Workshop Nuclear Techniques for Study and Preservation of Cultural Heritage, IFIN-HH, IRASM, National Physics Library, November 7-8, 2013, Magurele, Romania.

4. C-14 dating by AMS, *Oana Gaza*, DAT, Sesiunea de comunicări științifice a tinerilor cercetători din IFIN-HH, 2013, Biblioteca Națională de Fizică, 18.12.2013.

5. The 1MV Cockcroft-Walton Tandetron Accelerator Dedicated to Accelerator Mass Spectrometry (AMS) - 14c dating, *O. Gaza*, C. Simion, T. Sava, D. Ghita, D. Pacesila, I. Calinescu, A. Vasiliu, H. Iovu, 14th International Balkan Workshop on Applied Physics, Constanța, Romania, July 2-4, 2014.

6. AMS Dating of the Danube fluvial terraces in the Romanian Plain, *Enachescu Mihaela, Stan-Sion Catalin, Constantin Florin, Enciu Petru, Simion Corina Anca, Gaza Oana, Petre Alexandru Razvan, Calinescu Catalin Ionut, Ghita Dan Gabriel*, 13th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry (AMS13), Aix-en-Provence, France, 24-29 Aug 2014.

7. A New and Compact System at the AMS Laboratory in Bucharest, *Stan-Sion Catalin, Enachescu Mihaela, Ghita Dan Gabriel, Simion Corina, Petre Alexandru Razvan, Calinescu Catalin Ionut, Gaza Oana*, Mosu Vasile Daniel, 13th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry (AMS13), Aix-en-Provence, France, 24-29 Aug 2014.

8. Separarea prin metoda HPLC a aminoacizilor in vederea datarii colagenului din oase, *Oana Gaza – DAT*, Sesiunea de comunicări științifice a tinerilor cercetători din IFIN-HH, Biblioteca Națională de Fizică, 18.12.2014.

9. Status of the Bucharest AMS facility, T. B. Sava, C. A. Simion, *O. Gaza*, D. G. Ghita, C. Calinescu, D. Pacesila, B. Stefan, I. M. Stanciu, The 3rd European Nuclear Physics Conference (EuNPC2015), Groningen, The Netherlands, August 31 - September 4, 2015.

10. Sample Preparation to Obtain the International Code of Radiocarbon Dating RoAMS, *Oana Gaza*, Sesiunea de comunicări științifice a tinerilor cercetători din IFIN-HH, Biblioteca Națională de Fizică, 17.12.2015.2016

11. RoAMS – a radiocarbon dating laboratory, T. Sava, C. Simion, *O. Gâza*, D. Păceșilă, I. Stanciu, D. Ghiță, B. Ștefan, A. Vasiliu, C. Călinescu, French – Romanian

symposium on cultural heritage preservation by nuclear techniques, Institut Français, Bucharest, Romania, January 25, 2016.

12. Radiocarbon dated samples at Bucharest RoAMS Laboratory – Placing the results into the archeological context throughout the Romanian territory, *O. Gaza*, T. Sava, C. Simion, D. Pacesila, B. Ștefan, I. M. Stanciu, G. Sava, The 8th International Symposium on 14C & Archaeology, Edinburgh, Scotland, June 27 - July 1, 2016.

13. Sample preparation at the new Bucharest Radiocarbon Dating Laboratory, B. Ștefan, T. Sava, C. Simion, *O. Gaza*, D. Pacesila, I. M. Stanciu, G. Sava, The 8th International Symposium on 14C & Archaeology, Edinburgh, Scotland, June 27 - July 1, 2016.

14. Influence of thermal treatments on radiocarbon dating of groundwater samples, I. M. Stanciu, T. Sava, D. Pacesila, *O. Gaza*, C. Simion, B. Ștefan, G. Sava, D. Ghita, V. Mosu, Carpathian Summer School of Physics, Sinaia, Romania, June 26 - July 09, 2016.

15. Radiocarbon dating of archaeological bone samples belonging to Vinča Culture, I. M. Stanciu, S. A. Luca, T. Sava, D. Pacesila, *O. Gaza*, C. Simion, B. Ștefan, G. Sava, D. Ghita, V. Mosu, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

16. AMS 14C dating measurements for single amino acids isolated by HPLC method from archaeological bone samples, *O. Gaza*, T.B. Sava, D.G. Ghita, C.A. Simion, C. Tuta, I.M. Stanciu, D.GH. Pacesila, V. Mosu, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

17. Searching for a Medieval Cemetery and Church in Arges County; a radiocarbon dating story, C.A. Simion, Gabriela Odilia Sava, *Oana Gaza*, Tiberiu Bogdan Sava, Doru Gheorghe Pacesila, Bogdan Constantinescu, Daniela Stan, Mihaela Maria Manea, Spiridon Cristocea, Marius Paduraru, Ion Dumitrescu, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

18. Archeological charred seeds; an introduction for a better understanding of off-sets, C.A. Simion, M. Enachescu, T.B. Sava, C. Stan-Sion, O. Gaza, D.Gh. Paceșilă, I.M. Stanciu, B.M. Ștefan, A.R. Petre, C.I. Calinescu, N.M. Florea, D.G. Ghita, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

19. Using radiometric and nonradiometric methods for a complex characterization of an historical monument Ensemble; Otetelesanu ex-Mansion from Magurele county Romania case study, Corina Anca Simion, Tiberiu Bogdan Sava, *Oana Gaza*, Doru Gheorghe Pacesila, Nicoleta Mihaela Florea, Dan Gabriel Ghita, Mihaela Maria Manea, Mihai Straticiuc, Radu Andrei, Marian Romeo Calin, Ileana Radulescu, Antal Lukacs, Dan D. Ionescu, Ruxandra Nemteanu, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

20. RoAMS - Status of the new Bucharest AMS center, T. Sava, D. Ghita, C. Simion, *O. Gaza*, D. Pacesila, I. Stanciu, G. Sava, B. Ștefan, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

21. Raman spectroscopy and associated techniques used in the pre-screening stage of radiocarbon dating process, Maria-Mihaela MANEA, Corina-Anca SIMION, *Oana Gaza*, Gabriela-Odilia Sava, Tiberiu Bogdan Sava, Silvana Vasilca, Corneliu-Catalin Ponta, Livius-Marian TRACHE, 11th Conference on Lasers in the Conservation of Artworks was hold in Cracow, Poland, 19th to 23rd September 2016.

22. RoAMS radiocarbon dating of a series of Paleolithic archeological samples, G. Sava, T. Sava, D. Ghita, C. Simion, *O. Gaza*, D. Pacesila, I. Stanciu, B. Ștefan, 5th Balkan Symposium of Archaeometry, Sinaia, Romania, September 25-29, 2016.

23. The new AMS center in Bucharest, T. Sava, D. Ghita, C. Simion, *O. Gaza*, D. Pacesila, I. Stanciu, G. Sava, B. Ștefan, 24th Conference on Application of Accelerators in Research and Industry (CAARI 2016), Fort Worth, Texas, USA, October 30th-November 4th, 2016.

24. AMS 14C dating measurements for single amino acids isolated by HPLC method from archaeological bone samples, Oana Gaza, Sesiunea Stiintifica 2016 a Tinerilor Cercetatori din IFIN-HH 20-21 Decembrie 2016, Biblioteca Nationala de Fizica.

25. Comparație între vârstele obținute prin datare cu radiocarbon și cele obținute prin analiza dendrocronologică pe probe de inele de copaci pentru ultimii aproximativ 1000 ani AD, Tiberiu Sava, Ionel Popa, Gabriela Sava, Iuliana Stanciu, Corina Simion, Oana Gâza, Doru Păceșilă, Maria Ilie, Bianca Ștefan, Alexandru Vasiliu, Vasile Moșu, Sesiunea anuală a Institutului de Arheologie „Vasile Pârvan”: „Metodă, teorie și practică în arheologia contemporană”, București, 29-31 martie 2017.

26. Informații noi pe baza săpăturilor arheologice și a datărilor radiocarbon asupra unor morminte la Curtea Domnească din Târgoviște, Gheorghe Olteanu, Florin Petrică, Adrian Ioniță, Gheorghe Cantacuzino, Gabriela Sava, Doru Păceșilă, Oana Gâza, Sesiunea anuală a Institutului de Arheologie „Vasile Pârvan”: „Metodă, teorie și practică în arheologia contemporană”, București, 29-31 martie 2017.

27. Dating in Romanian archaeology: comparison between radiocarbon and dendrochronology methods spanning over the last 1000 years, T. Sava, I. Popa, G. Sava, A. Ion, M. Ilie, I. Stanciu, C. Simion, B. Ștefan, O. Gâza and D. Păceșilă, ENVIRA Vilnius, Lithuania, 29 May – 2 June 2017.

28. Radiocarbon Dating of Single Amino Acids Isolated by HPLC Method from Archaeological Bone Samples, O. Gaza, C. S. Tuta, T. B. Sava, D. G. Ghita, C. A. Simion, I. M. Stanciu, D. G. Pacesila, V. Mosu, XIVth Workshop of the European Society for Isotope Research, Băile Govora, Romania, June 25 – 29, 2017.

29. Radiocarbon Dating of Putineiu and Peretu Organic Sediments as a Pre-screening Tool in Palynology; Limes Transalutanus Case Study, C. A. Simion, C. Haită, T. B. Sava, I. M. Stanciu, O. G. Sava, O. Gaza, D. Pacesila, B. M. Ștefan, E. S. Teodor, XIVth Workshop of the European Society for Isotope Research, Băile Govora, Romania, June 25 – 29 2017.

30. Advances in Radiocarbon Dating at RoAMS Laboratory, G. O. Sava, I. Stanciu, O. Gaza, T. B. Sava, C. A. Simion, D. Pacesila, B. Stefan, A. Vasiliu, V. Mosu, XIVth Workshop of the European Society for Isotope Research, Băile Govora, Romania, June 25 – 29, 2017.

31. Dating in Romanian archaeology: comparison between radiocarbon and dendrochronology results for the last 1000 years, T. Sava, I. Popa, G. Sava, A. ION, M. Ilie, I. Stanciu, C. Simion, B. Ștefan, O. Gâza, D. Păceșilă, 2nd Radiocarbon in the Environment Conference, Debrecen, Hungary, July 3 – 7, 2017.

32. Radiocarbon dating applications of accelerator mass spectrometry, Maria-Valentina Ilie, Tiberiu Bogdan SAVA, The 17th International Balkan Workshop on Applied Physics, Constanta, Romania, July 11 – 14, 2017.

33. Dating in Romanian archaeology: comparison between radiocarbon and dendrochronology results for the last 1000 years, T. Sava, I. Popa, G. Sava, A. Ion, M. Ilie, I. Stanciu, C. Simion, B. Stefan, O. Gâza, D. Pacesila, 14th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry, Ottawa, Canada, AUGUST 12 - 20, 2017

34. Săpături noi la Curtea Domnească din Târgoviște și date arheometrice. Studiu comparat asupra rezultatelor radiocarbon obținute pe material osteologic și pe mortarele din zidărie, Gheorghe Olteanu, Florin Petrică, Petre Diaconescu, Adrian Ioniță, Gheorghe Cantacuzino, Corina Simion, Iuliana Stanciu, Oana Gaza, Tiberiu Sava, Sesiunea anuală a Institutului de Arheologie „Vasile Pârvan”: „Metodă, teorie și practică în arheologia contemporană”, dedicată Centenarului Marii Uniri (1918 - 2018), Bucuresti, 28-30 martie 2018.

35. The use of romanite amber originating from Buzau County Romania as an AMS Background material, Corina A. Simion, Maria M. Manea, Tiberiu B. Sava, Silvana Vasilca, Marian Virgolici, Iuliana M. Stanciu, Oana Gaza, Gabriela O. Sava, Doru Gh. Pacesila, Cristian Manaiescu, Maria V. Ilie, Andrei Robu, Bianca M. Stefan, Vasile Mosu, 13th

International Symposium on the Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds, June 3rd-7th in the capital of the Czech Republic – Prague. 2018.

36. Datarea mortarului pe bază de var hidraulic prin metoda radiocarbon; avantaje, dezavantaje, limitări. Cazul mortarelor de la Cetatea Marienburg / Feldioara și Curtea Domnească din Târgoviște, Corina Anca Simion, Iuliana Mădălina Stanciu, *Oana Găza*, T.B. Sava, Maria Valentina Ilie, C. Manăilescu, A. Robu, Contribuții IFIN-HH la Studiul și Conservarea Patrimoniului Cultural – 2018. Workshop dedicat centenarului României și Anului European al Patrimoniului, Biblioteca Națională de Fizică, Platforma Măgurele, 14 iunie 2018.

37. Datarea cu radiocarbon a aminoacizilor individuali separați prin metoda HPLC, din materialul osteologic de la Curtea Domnească din Târgoviște, *Oana Găza*, T.B. Sava, Corina Anca Simion, C. Tuță, Contribuții IFIN-HH la Studiul și Conservarea Patrimoniului Cultural – 2018, Workshop dedicat centenarului României și Anului European al Patrimoniului, Biblioteca Națională de Fizică, Platforma Măgurele, 14 iunie 2018.

38. Radiocarbon dating of individual aminoacids, *Oana Găza*, Tiberiu B. Sava, Corina A. Simion, Cătălin S. Tuță, Doru.Ghe. Păceșilă, Vasile D. Moșu, Carpathian Summer School of Physics 2018 Exotic Nuclei and Nuclear/Particle Astrophysics (VII). Physics with small accelerators, July 1 st - 14 th, 2018, Sinaia, Romania.

BIBLIOGRAFIE

-
- ¹ P.E. Damon et al., „Radiocarbon Dating of the Shroud of Turin”, *Nature*, **vol. 337**, no. 6208, 1989, pp. 611-615.
- ² Timothy A.J. Jull, Douglas J. Donahue, Magen Broshi, Emanuel Toy, „Radiocarbon Dating of Scrolls and Linen Fragments from the Judean Desert”, *Radiocarbon*, **vol.37**, no. 1, 1995, pp.11-19.
- ³ Georges Bonani, Susan Ivy, Willy Wolfli, Magen Broshi, Israel Carmi, John Strugnell, „Radiocarbon Dating of Fourteen Dead Sea Scrolls”, *Radiocarbon*, **vol. 34**, no. 3, 1992, pp. 843-849.
- ⁴ G. Bonani, S. Ivy, I. Hajdas, T.R. Niklaus, and M. Suter, „AMS 14C age determinations of tissue, bone and grass samples from the Ötztal Ice Man”, *Radiocarbon* **vol. 36**, no. 2, 1994, pp. 247-250.
- ⁵ Walter Kutchera, „Radiocarbon dating of the Iceman Ötzi with accelerator mass spectrometry”, <http://www.nupec.org/iai2001/report/B44.pdf>
- ⁶ W. Rom, R. Golser, W. Kutschera, A. Priller, P. Steier, and E.M. WILD, „AMS 14C dating of equipment from the Iceman and of spruce logs from the prehistoric salt mines of Hallstatt”, *Radiocarbon*, **vol. 41**, no. 2 ,1999, pp. 183-197.
- ⁷ *** Operating instructions, CHNOS Elemental Analyzer vario MICRO, Elementar Analysensysteme GmbH.
- ⁸ L. Wacker, M. Němec, J. Bourquin, „A revolutionary graphitisation system: Fully automated, compact and simple”, *Nucl. Instr. and Meth. Phys. Res. B*, **vol. 268**, no. 7-8, 2010, pp. 931-934.
- ⁹ M. Němec, L. Wacker, H. Gäggeler, „Optimisation of the graphitization process at AGE-1”, *Radiocarbon*, **vol. 52**, no. 2-3, 2010, pp. 1380-1393.
- ¹⁰ ***AGE 3 user manual v4.0 02.13, Ionplus AG, ETH Zurich, Scafmatstrasse 20, Zurich
- ¹¹ [https:// www.bruker.com/products/mr/nmr.html](https://www.bruker.com/products/mr/nmr.html)
- ¹² <https://www.bruker.com/products/mr/nmr/probes/probes.html>
- ¹³ TopSpin 3.x, Introduction to NMR Methods User Manual, Version 001, BRUKER Biospin Corporation.
- ¹⁴ M.G. Klein, D.J.W. Mous, A. Gottdang, „A compact 1 MV multi-element AMS system”, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, **vol. 249**, 2006, pp. 764-767.
- ¹⁵ C. Stan-Sion, M. Enachescu, D.G. Ghita, C.I. Calinescu, A. Petre, D.V. Mosu, M. Klein, „A New AMS Facility based on A Cockcroft-Walton type 1 MV tadetron at IFIN-HH Magurele, ROMANIA”, *Nucl. Instr. and Meth. Phys. Res. B*, **vol. 319**, 2014, pp. 117-122.
- ¹⁶ C. Stan-Sion, M. Enachescu, A.R. Petre, C.A. Simion, C.I. Calinescu, D.G. Ghita, „A new and compact system at the AMS laboratory in Bucharest”, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, **vol. 361**, 2015, pp. 105-109.
- ¹⁷ Stan-Sion Catalin, Enachescu Mihaela, Ghita Dan Gabriel, Simion Corina, Petre Alexandru Razvan, Calinescu Catalin Ionut, **Gaza Oana**, Mosu Vasile Daniel, A New and Compact System at the AMS Laboratory in Bucharest, 13th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry (AMS13), Aix-en-Provence, France, 24-29 Aug 2014.
- ¹⁸ T.B. Sava, C. A. Simion, **O. Gâza**, I.M. Stanciu, D.G. Păceșilă, G.O. Sava, L. Wacker, B. Ștefan, V.D. Moșu, D.G. Ghiță, A. Vasiliu, „Status report on the sample preparation laboratory for radiocarbon dating at the new Bucharest RoAMS center”, *Radiocarbon*, 2018, in press.
- ¹⁹ Dezvoltarea infrastructurii pentru cercetari de frontiera in fizica nucleara si domenii conexe http://proiecte.nipne.ro/pn2-capacitati_mari/
- ²⁰ C.A. Simion, N.M. Florea, **Oana Gaza**, Research Infrastructure for Applied Physics in IFIN HH., Workshop dedicat datării cu C-14, Biblioteca Națională de Fizică, Aprilie 2013.

-
- ²¹ T. Sava, D. Ghita, C. Simion, O. Gaza, D. Pacesila, I. Stanciu, G. Sava, B. Ștefan, The new AMS center in Bucharest, 24th Conference on Application of Accelerators in Research and Industry (CAARI 2016), Fort Worth, Texas, USA, October 30th-November 4th, 2016.
- ²² C.A. Simion, T.B. Sava, O. Gaza, D.Pacesila, N.M. Florea, D.G. Ghita, M.M. Manea, M. Straticiu, R.F. Andrei, M.R. Calin, I. Radulescu, A. Lukacs, D.D. Ionescu, R. Nemteanu, E.E. Sabo, Using radiometric and non radiometric methods for a complex characterization of a historical monument ensemble; Otetelesanu ex-mansion from Măgurele town, Romania, Case Study, , Romanian Journal of Physics, **vol. 64**, (5 – 6), (2019)
- ²³ Raport de cercetare asupra setului de probe „10 oase antedatate MNIR” (Proba ROMAG-30/3), întocmit de Corina Anca Simion, în data de 01.10.2014.
- ²⁴ I. Hajdas, A. Michczyński, G. Bonani, L. Wacker, H. Furrer, „Dating Bones near the Limit of the Radiocarbon Dating Method: Study Case Mammoth from Niederweningen, ZH Switzerland”, Radiocarbon, **vol. 51**, no. 2, 2009, pp. 675-680.
- ²⁵ R. Longhin, „New method of collagen extraction for radiocarbon dating”, Nature **vol. 230**, no. 5291, 1971, pp. 241–242.
- ²⁶ M. Němec, L. Wacker, I. Hajdas, H. Gäggeler, „Alternative methods for cellulose preparation for AMS measurement”, Radiocarbon, **vol. 52**, no. 3, 2010, pp. 1358-1370.
- ²⁷ A.J.T. Jull, G.S. Burr, J.W. Beck, G.W.L. Hodgins, D.L. Biddulph, J. Gann, A.L. Hatheway, T.E. Lange, N.A. Lifton, „Application of accelerator mass spectrometry to environmental and paleoclimate studies at the University of Arizona”, Radioactivity in the Environment, **vol. 8**, 2006, pp. 3-23.
- ²⁸ S. Nalawade-Chavan, J. McCullagh, R. Hedges, C. Bonsall, A. Boronean, C.B. Ramsey, T. Higham, “Compound Specific Radiocarbon Dating of Essential and Non-Essential Amino Acids: Towards Determination of Dietary Reservoir Effects in Humans”, Radiocarbon, **vol. 55**, no. 2-3, 2013, pp. 709-719.
- ²⁹ M. Walker, “Quaternary Dating Methods II”, John Wiley & Sons Ltd, 2005, pp 113-115.
- ³⁰ T.C. O’Connell, R.E.M. Hedges, “Isolation and isotopic analysis of individual amino acids from archaeological bone collagen: a new method using RP-HPLC”, Archaeometry **vol. 43**, no. 3, 2001, pp. 421-438.
- ³¹ J.S.O. McCullagh, D. Juchelka, R.E.M. Hedges, “Analysis of amino acid ^{13}C abundance from human and faunal bone collagen using liquid chromatography/ isotope ratio mass spectrometry”, Rapid Commun. Mass Spectrom., **vol. 20**, no. 18, 2006, pp 2761–2768.
- ³² J. McCullagh, J. Gaye-Siessegger, U. Focken, “Determination of underivatized amino acid $\delta^{13}\text{C}$ by liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry for nutritional studies: the effect of dietary non-essential amino acid profile on the isotopic signature of individual amino acids in fish”, Rapid Commun. Mass Spectrom., **vol. 22**, no. 12, 2008, pp. 1817-1822.
- ³³ S. Nalawade-Chavan, G. Zazulab, F. Brock, J. Southonc, R. Macphee, P. S. Druckenmiller, „New single amino acid hydroxyproline radiocarbon dates for two problematic American Mastodon fossils from Alaska”, Quaternary Geochronology, **vol. 20**, 2014, pp. 23-28.
- ³⁴ R. Fernandes, T. Koudelka, A. Tholey, A. Dreves, „A novel tertiary prep-HPLC method for the isolation of single amino acids for AMS-radiocarbon measurement”, Journal of Chromatography B, **vol. 1058**, 2017, pp. 85-92.
- ³⁵ Zhu P, Xu J, Sahar N, Morris MD, Kohn DH, Ramamoorthy A, „Time-resolved dehydration-induced structural changes in an intact bovine cortical bone revealed by solid-state NMR spectroscopy”, J. Am. Chem. Soc., **vol. 131**, no. 47, 2009, pp. 17064-17065.
- ³⁶ A. Allerhand, K. Dill, E. Berman, J. M. Lacombe, A. A. Pavia, „Natural-abundance ^{13}C -n.m.r. spectra of some model compounds for uncommon glycopeptide linkages in glycoproteins, Carbohydrate Research, **vol. 97**, no. 2, 1981, pp. 331-336.

³⁷ S. K. Sarkar, P. E. Young, C. E. Sullivan, D. A. Torchia, „Detection of cis and trans X-Pro peptide bonds in proteins by ¹³C NMR: application to collagen”, Proc.Natl.Acad.Sci USA., **vol. 81**, no. 15, 1984 , pp. 4800-4803.

³⁸ <http://triton.iqfr.csic.es/guide/eNMR/proteins/chempro4.html>

³⁹ http://www.hmdb.ca/spectra/nmr_one_d/1179

⁴⁰ Oana GAZA, Tiberiu B. SAVA, Catalin S. TUTA, Corina A. SIMION, Doru Ghe. PACESILA, Dan G. GHITA, Horia IOVU, “Comparative radiocarbon dating study of individual amino acids isolated from archaeological bone collagen towards bulk collagen”, Romanian Reports in Physics, **vol. 71** (3) (2019).

⁴¹ Oana GAZA, Mihaela ENACHESCU, Catalin S. TUTA, Cristina STAVARACHE, Horia IOVU, NMR characterization of bone collagen used for ¹⁴C dating of osteological material, Romanian Reports in Physics, **vol. 71** (4) (2019).