Material complementario: Protocolos de extracción y análisis de los lípidos

Los fragmentos de cerámica se lavaron con el solvente de extracción para eliminar posibles contaminantes y se molieron hasta obtener un polvo fino (ca. 10 g). Las muestras modernas fueron pesadas y molidas hasta obtener productos homogéneos (ca. 5 g). La extracción de lípidos se realizó con una mezcla de cloroformo: metanol (2:1) (Folch et al. 1957).

Una alícuota de la muestra de lípidos fue saponificada siguiendo un protocolo adaptado de Colombini (2005). Se utilizó una solución de hidróxido de potasio al 4% en etanol:agua (2:1) a 60 ºC durante 120 min. Mediante sucesivas extracciones se separaron la fracción conteniendo los compuestos neutros (alcoholes de cadena larga o esteroles) y la fracción conteniendo los ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres fueron derivatizados añadiendo una solución de trifluoruro de boro al 20% en metanol para obtener los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Se realizaron derivados trimetilsililados (TMS) de las fracciones neutras utilizando el reactivo BTSFA con 1% TMCS (Supelco).

 Los FAME se analizaron por GC-MS con un equipo Shimadzu GCMS-QP5050A (Kyoto, Japón) equipado con una columna capilar ZB5 (Phenomex, f.e. 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano, d.i. 0,25 mm, film 0,5 µm, l. 30 m). El gas *carrier* fue helio a un flujo continuo de 0,9 ml/min. La inyección fue manual a una temperatura de 250 ºC. El programa de temperatura fue: 100 ºC, 10 ºC/min hasta 280 ºC (45 min). El espectrómetro de masa fue operado a 70 eV y temperatura de fuente a 290 ºC. La identificación de los compuestos se basó en la comparación con los estándares, los tiempos de retención y la interpretación de los patrones de fragmentación. La abundancia de cada FAME relativo al total de los FAME fue calculada a partir de las áreas de los picos del cromatograma de iones totales.

Los derivados TMS se analizaron por GC-MS con un equipo Shimadzu GCMS-QP5050A (Kyoto, Japón) equipado con una columna capilar Ultra 2 (Agilent, f.e. 5% fenil-metilpolisiloxano, d.i. 0,20 mm, film 0,11 µm, l. 50 m). El gas *carrier* fue helio a un flujo continuo de 0,9 ml/min. La inyección fue manual a una temperatura de 250 ºC. El programa de temperatura fue: 100 ºC, 10 ºC/min hasta 240 ºC y 4 °C/min hasta 280° (30 min). El espectrómetro de masa fue operado a 70 eV y temperatura de fuente a 290 ºC.

Para el análisis isotópico los extractos lipídicos fueron pesados (ca. 150 µg), transferidos a cápsulas de estaño y combustionados en un analizador elemental Carlo Erba acoplado vía una interfaz CONFLO IV a un espectrómetro de masa de relaciones isotópicas Thermo Delta-V Advantage (EA-IRMS). Un estándar de CO2 puro fue medido previamente a cada muestra. Se midieron asimismo tres estándares de referencia calibrados que cubren el rango completo de 13C de las muestras analizadas. La incertidumbre interna es de ± 0.2‰. Los valores isotópicos fueron expresados en notación delta (δ) como por mil (‰) y calculados como desviación de la relación isotópica de la muestra con respecto del estándar internacional “Vienna Peedee Belemnite Limestone” (V-PDB) cuyo valor fue definido en 0.0‰ en la escala δ (Coplen et al. 2006; Gonfiantini 1978). El porcentaje de aporte de C4 en cada muestra fue estimado utilizando la ecuación planteada por Morton y Schwarcz (2004). Se consideró que por el efecto Suess las muestras modernas se encuentran empobrecidas en 1.6‰ en comparación con las muestras arqueológicas que datan del período preindustrial (Sonnerup et al. 1999). Todos los valores de las muestras modernas fueron corregidos.

**Referencias Citadas**

Colombini, María, Gianna Giachi, Francesca Modugno y Erika Ribechini

2005 Characterisation of organic residues in pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt). *Microchemical Journal* 79(1-2):83–90.

Coplen, Tyler, Willi Brand, Matthias Gehre, Manfred Groning, Harro Meijer, Blaza Toman y Michael Verkouteren

2006 New Guidelines for δ13C Measurements. *Analytical Chemistry* 78(7):2439–2441.

Folch, Jordi, Marjorie Lees y Gerald Sloane Stanley

1957 A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226:497–509.

Gonfiantini, Roberto

1978 Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature* 271:534–536.

Morton, June, y Henry Schwarcz

2004 Paleodietary Implications from Stable Isotopic Analysis of Residues on Prehistoric Ontario Ceramics. *Journal of Archaeological Science* 31:503–517.

Sonnerup, Rolf, Paul Quay, Ann McNichol, John Bullister, Tania Westby y Heather Anderson

1999 Reconstructing the oceanic 13C Suess Effect. *Global Biogeochemical Cycles* 13(4):857–872.