

## Grundlagen

Die Lebens- und Umweltbedingungen des Menschen spiegeln sich in dessen Ernährung wider. Um diese Bedingungen zu rekonstruieren, werden Analysen der Spurenelemente und stabilen Isotope aus bodengelagerten menschlichen und tierischen Knochen herangezogen. Knochen enthalten in ihrer chemischen Element- und Isotopenzusammensetzung ein Archiv über die Lebens- und Umweltbedingungen, denen das Individuum zu Lebzeiten ausgesetzt war. Das Mittelalter in Deutschland wurde gerade in Bezug auf die Analyse der stabilen Isotope bisher äußerst spärlich beleuchtet. Für die vorliegende Arbeit war es von besonderem Interesse, die Grundernährung von drei mittelalterlichen Bevölkerungen in Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern zu ermitteln. Nach einer Rekonstruktion der allgemeinen Ernährungslage interessierten auch geschlechts- oder altersspezifische Unterschiede in der Nahrung, sowie der Abstillzeitpunkt der Kleinkinder.

### I Zusammensetzung der Knochen

Knochen ist eine spezielle Form von Bindegewebe, welche das phosphatische Endoskelett aller höheren Vertebraten bildet. Er besteht zu etwa 50 % aus Mineralien, zu 25 % aus Wasser und zu 25 % aus organischer Substanz. Der Hauptanteil der Mineralien sind Calciumverbindungen: zu 85 % Calciumphosphat (Ca-Hydroxylapatit, Ca-Carbonatapatit) und zu 10 %, zunehmend bei älteren Knochen, Calciumcarbonat. Dieser anorganische Bestandteil des Knochens sorgt für dessen Stabilität. Die organische Substanz besteht größtenteils aus Kollagen sowie weiteren Proteinen und Fetten, und sorgt so für Elastizität (FALLER, 1999).

Der Knochen der meisten Vertebraten ist zellulärer Knochen, in dem die extrazelluläre Matrix mineralisiert ist. Knochen ist ein Kompositgewebe aus einer anorganischen Calciumphosphat-Mineralphase von biogenem Apatit, dessen Kristallite in eine faserige organische Proteinmatrix aus Kollagen eingelagert sind.

Calciumphosphat kann im Knochen sowohl in kristalliner als auch in amorpher Form vorliegen (SILLEN, 1989). Die Kristalle, die in einem dreidimensionalen Muster als Kristallgitter angeordnet sind, liegen als Hydroxylapatit (HA)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  vor, mit einem molaren Ca/P-Verhältnis von 1,67 bzw. einem Massenverhältnis von 2,15. In der Regel liegt dieser Kristall im Knochen nicht vor, sondern ein „calcium deficient“ Hydroxylapatit (CDHA)  $\text{Ca}_{10-x}\text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  ( $x = 0,1,2$ ) mit einem molaren Ca/P-Verhältnis von 1,4 - 1,6, der aufgrund zahlreicher Substitutions- und Adsorptionsvorgänge entsteht (GRUPE, 1986a). Die Struktureinheiten des amorphen Calciumphosphats (ACP)  $\text{Ca}_9-x\text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6x\text{nH}_2\text{O}$  sind, im Gegensatz zu den HA-Kristallen, systemlos angeordnet. Während der Knochenreifung nimmt der ACP-Anteil

zugunsten des HA ab, wobei sich als ein Zwischenstadium das Octacalciumphosphat  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \times 5\text{H}_2\text{O}$  bildet (WUTHIER, 1984). Im adulten Knochen ist das ACP auf bestimmte Stellen begrenzt: Auf die Oberflächen des Endosteums, des Periosteums, der Trabeculae und der Haversschen Kanäle (BUIKSTRA ET AL., 1989).

Als lebendes Gewebe enthält der Knochen Zellen, die Osteozyten, welche Stoffwechsel betreiben. Die Osteozyten sind in eine Hartschubstanz eingebettet und stehen über Zellfortsätze (Knochenkanälchen) miteinander in Verbindung. Ein eigenes Blutgefäßsystem versorgt die Knochenzellen mit Nährstoffen und Sauerstoff. Das Knochengewebe wird ständig durch Osteoklasten abgebaut und mit Hilfe von Knochenbildungszellen, den Osteoblasten, wieder neu aufgebaut (FALLER, 1999).

### **I.I Aufbau des lamellären Knochens**

In Abbildung 1 ist der mikroskopische Aufbau menschlicher Knochenkompakta am Beispiel eines Querschnittes der Diaphyse eines Langknochens dargestellt. Der lamelläre Knochen wird innen, zum Markraum hin und außen, periostseitig, von Ringlamellen abgegrenzt (innere und äußere Generallamellen oder Grundlamellen). Das einzelne Osteon verkörpert die Grundeinheit des lamellären Knochens, es gleicht einem Schachtelsystem ineinander gesteckter Röhren. Im Schnittpräparat erscheinen diese als konzentrisch um die Blutgefäße geordnete Lamellen, welche „Speziallamellen“ genannt werden. Die Lücken zwischen den Osteonen werden durch Areale parallel verlaufender Generalamellen sowie durch Schaltlamellen gefüllt. Diese Schaltlamellen sind Reste einer älteren Osteonengeneration, die im Rahmen der Knochenentwicklung durch Osteoklasten teilweise abgebaut und durch neue Osteone ersetzt wurden. Der Kanal eines Osteons, in dem sich bei rezentem Material eine Arterie und Vene befinden, heißt Haversscher Kanal. Ein Osteon einschließlich des Haversschen Kanals wird als „Haverssches System“ bezeichnet. Diese Haversschen Systeme sind hauptsächlich entlang der Längsachse der Diaphyse orientiert und können eine Länge von 20 mm erreichen. Sie werden nach außen durch Kittlinien abgegrenzt, welche aus mineralisierter Grundsubstanz bestehen. Untereinander sind die Haversschen Systeme durch Volkmannsche Kanäle verbunden (EZZO, 1994a; HERRMANN ET AL., 1990). Die Volkmannschen Kanäle verlaufen querorientiert und sind nicht von Speziallamellen umgeben.

Das Dickenwachstum des Lamellenknochens erfolgt durch Abbau der Kompakta von innen bei gleichzeitigem Knochenbau von außen. Dabei werden Osteone teilweise oder ganz abgebaut und neu aufgebaut. Der Abbau des Knochens erfolgt durch die Osteoklasten – große, mehrkernige Riesenzellen, die wahrscheinlich durch Verschmelzung von Monozyten entstehen (ROHEN & LÜTJEN-DECROLL, 2000). Sie liegen immer in kleinen Knochenvertiefungen, welche Howship-Lakunen genannt werden. Die Osteozyten liegen zwischen den mineralisierten Faserbündeln in kleinen, mandelförmigen Aussparungen, den Osteozytenspalten. Sie sind miteinander durch Canaliculi verbunden. Durch dieses System kann ein Austausch von Ionen und kleinen Molekülen unterhalten werden, der nicht nur für die Stoffaustauschvorgänge im Knochen selbst, sondern auch für den Mineralhaushalt des gesamten Organismus von Bedeutung ist.

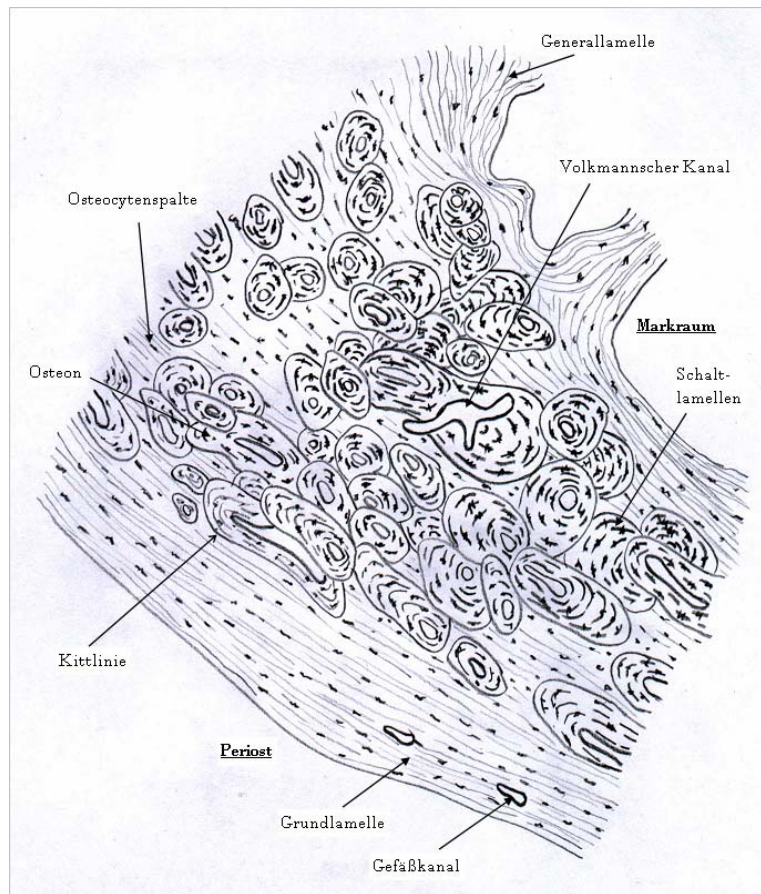


Abbildung 1: Mikrostruktureller Aufbau des Knochens

Die Osteoblasten sind für den Aufbau des Knochens zuständig. Sie sind meist direkt unter dem Periost zu finden. In einem im Aufbau befindlichen Osteon siedeln sich von innen Osteoblasten in großer Zahl an und bauen eine Schicht Knochensubstanz, ähnlich wie eine Tapete, an. Diese Knochensubstanz wird „Osteoid“ genannt und besteht zunächst hauptsächlich aus einer uncalcifizierten organischen Matrix, welche wiederum hauptsächlich aus Kollagen besteht. Die spiraligen Kollagenfasern werden in die Matrix parallel eingebaut. Zwischen den Fasern werden, in charakteristischer räumlicher Anordnung, anorganische Salze in Kristallform (Hydroxylapatit) eingelagert. Daraufhin wird von innen eine weitere Lamelle angelegt, in der die Kollagenfasern mit jeweils gekreuztem Verlauf zu den vorangegangenen Lamellen verlaufen, bis schließlich in dem verbleibenden Haversschen Kanal nur noch wenig Platz für etwas Bindegewebe und die für die Ernährung erforderlichen Blutgefäße bleibt (ARMELAGOS ET AL., 1989; HERRMANN ET AL., 1990; FALLER, 1999; WHITE UND FOLKENS, 1991).

Der histologische Aufbau menschlicher Knochenkompakta unterliegt altersabhängigen Veränderungen. Mit steigendem Individualalter werden die Generallamellen in zunehmendem Maße durch Osteone verdrängt. Gleichzeitig werden bereits existierende Osteone abgebaut, und eine neue Generation Haversscher Knochen wird gebildet. Dadurch steigt der Anteil der Schaltlamellen. Auch Nicht-Haverssche Kanäle werden sukzessive durch Osteone ersetzt (ARMELAGOS ET AL., 1989; HERMANN ET AL., 1990).

## I.II Spurenelemente im Knochen

Spurenelemente sind Elemente, die in einer Konzentration unterhalb 0,01 % der Körpermasse vorliegen. Sie werden größtenteils über die Nahrung aufgenommen. Prinzipiell erlauben die Spurenelementkonzentrationen in bodengelagerten Hartgeweben die Abschätzung mariner vs. terrestrischer Nahrungsbestandteile und Nahrungsmittel vegetabilen vs. animalischen Ursprungs (ARMELAGOS ET AL., 1989; BRÄTTER ET AL., 1989; GRUPE, 1987b; PRICE ET AL., 1985a; SANDFORD, 1992; SCHOENINGER, 1979). Studien von LAMBERT & WEYDERT-HOMEYER (1993) lassen präzise Schlussfolgerungen auf die Nahrungszusammensetzung zu. So können z.B. niedrige Strontium (Sr)- und Barium (Ba)-Werte im Knochen mit fleischlicher Ernährung in Verbindung gebracht werden. In den Knochen eines Herbivoren sind diese beiden Elemente angereichert, da pflanzliche Gewebe z.B. eine höhere Konzentration an Sr oder Ba enthalten, als die essbaren Teile eines Tieres. Da dieser Zusammenhang vielfältigen Transportmechanismen unterliegt ist er nicht linear. Die Nahrungsqualität definierter Bevölkerungsschichten sollte dadurch noch genauer bestimmt werden können. Aussagen können aber auch hinsichtlich der Ernährungsweise getroffen werden. So lässt sich feststellen, ob sich die betreffenden Bevölkerungsteile einheitlich oder unterschiedlich ernährt haben. Tierexperimente haben gezeigt, dass selbst bei vollständig einheitlicher Ernährung die Sr/Ca-Werte im Säugerskelett eine Variabilität von ca. 22 % aufweisen (PRICE ET AL., 1986).

Ein hoher Sr-Gehalt des Knochens kann jedoch auch aus mariner Ernährung herrühren. Daher sind Multielementspektren aussagekräftiger als die Betrachtung eines einzigen Elements (SCHUTKOWSKI, 1994a).

Im Mineral kann es an allen Plätzen im Kristall zu isomorphen Substitutionen kommen, solange die Unterschiede in den Ionenradien der Elemente 15 % nicht überschreiten (NEWESELY, 1988). Heteroionische Substitutionen von Calcium finden bevorzugt mit den Elementen der Hauptgruppe IIa (Be, Mg, Sr, Ba, Ra) statt, wobei besonders Sr als knochensuchendes Element gilt. Ba kann trotz seines relativ großen Radius im Skelett gespeichert werden (vgl. BRÄTTER, 1989; GRUPE, 1991a). Auch Zn wird in den Apatitkristall eingebunden, wobei nach anfänglicher Oberflächenadsorption die Ca-Substitution folgen kann (SAMACHSON, 1967). Die OH-Gruppe kann

durch Fe und Cl, die PO<sub>4</sub>-Gruppe durch SiO<sub>4</sub> und CO<sub>3</sub> substituiert werden (NEWESLY & HERRMANN, 1980; NEWESLY, 1988).

Das Skelett ist sowohl Stütz- als auch Speicherorgan. Der Spurenelementgehalt des menschlichen Skelettes ist prinzipiell auf den Elementgehalt der Nahrung und des Trinkwassers zurückführbar – vorausgesetzt, das untersuchte Element wird im Knochen gespeichert. Dabei werden alle Schritte, die ein Element auf seinem Weg bis in den Knochen zurücklegt, sowohl von zahlreichen externen Faktoren (Nahrungsauswahl, Nahrungsaufbereitung, gruppenspezifisches Nahrungsverhalten, usw.), als auch von internen Größen (Alter, Geschlecht, Pathologien, usw.) beeinflusst (GRUPE, 1987b; PRICE ET AL., 1985a). Nicht-essentielle Spurenelemente sind leichter in einen Bezug zur Nahrung zu setzen als essentielle Spurenelemente. Letztere unterliegen der homöostatischen Kontrolle, so dass der Skelett-Gehalt hier in sehr viel engeren Grenzen variiert (GRUPE, 1991a; SANDFORD, 1992). Für die vorliegende Arbeit sind vor allem folgende Ergebnisse interessant: Eine proteinreiche Ernährung führt zu niedrigen Sr- und Ba-Gehalten im Knochen und spiegelt sich auch in hohen Zn-Werten wider.

Prinzipiell gilt, dass die Elemente Sr und Ba überwiegend aus vegetabilen Nahrungsmitteln bezogen werden, die Elemente Zn und Cu dagegen aus Fleisch, Milch und Milchprodukten. Um herauszufinden, welche Information der Elementgehalt bodengelagerter Knochen in Bezug auf die Nahrungszusammensetzung bietet, führten LAMBERT & WEYDERT-HOMEYER (1993) Fütterungsexperimente mit Laborratten durch. Sie konnten feststellen, dass der Sr-Gehalt des Knochens durch das Nahrungsangebot an Ca und durch den Fasergehalt der Nahrung beeinflusst wird. Die Einlagerung des Spurenelements Sr in die Knochen hängt von der Menge des in der Nahrung angebotenen Ca ab: Ist in der Nahrung viel Ca enthalten, so wird wenig Sr in die Knochen eingelagert und umgekehrt. Auch faserreiche Nahrung erhöht die Einlagerung von Sr, da die Fasern das in der Nahrung vorhandene Ca binden und somit seine Verfügbarkeit limitieren. Proteinreiche Ernährung dagegen, z.B. mit Fleisch, führt zu niedrigen Sr-Werten im Knochen (BURTON & WRIGHT, 1995; PRICE ET AL., 1985a).

Nahrungsmittel, die arm an Ca und Sr sind sowie faserreiche Ernährung erhöhen die Einlagerung von Ba in den Knochen. Gemüse z.B. enthält mehr Ba als Getreide und Fleisch. Zn dagegen ist in hohem Maße in Fleisch oder auch in Eiern enthalten. Das bedeutet, der Verzehr pflanzlicher Produkte führt bei einem herbivoren Konsumenten zu einem erhöhten Gehalt an Sr und Ba im Knochen. Omnivore oder karnivore Organismen zeigen im Gegensatz dazu höhere Zn- bzw. Cu-Gehalte (BURTON & WRIGHT, 1995; BURTON & PRICE, 2000; GRUPE 1990a; GRUPE, 1990b). Spurenelemente im Skelett sind also als grundlegende Tendenzen geeignet, die Relation vegetabiler

Nährstoffe zum Fleischverzehr in der Grundnahrung einer untersuchten Bevölkerung abzuschätzen.

Während der Bodenlagerung der Knochensubstanz können jedoch Konzentrationsänderungen nicht ausgeschlossen werden. Eine Diagenese des Knochens muss in Betracht gezogen werden (siehe 5.1.1 Problematik der Diagenese, Seite. 138 ff). Diagenese definiert für die weiteren Betrachtungen die Summe aller bodenchemisch bedingten und mikrobiellen Veränderungen der Knochensubstanz. Ebenfalls als diagenetische Veränderung sind substanz-respektive Elementeinträge infolge postmortaler Auflagerungen auf die Knochenoberfläche bzw. Einträge in Hohlräume der Knochensubstanz, die keine chemische Wechselwirkung einschließen, mit einzu-beziehen (FABIG, 2002).

Es ist durch vergleichende Analyse in Knochenkollagen- und mineral belegt worden, dass der Kollagenanteil im Knochen biologische Signale noch erhält, die im mineralischen Teil bereits nicht mehr konserviert sind (SCHOENINGER, 1985).

Die Spurenelementgehalte werden in parts per million (ppm) oder  $\mu\text{g/g}$  angegeben.

## II Stabile Isotope

Das Atom als Grundeinheit der Materie besteht aus subatomaren Partikeln, den Elektronen, Protonen und Neutronen.

Die chemischen Eigenschaften eines Elements, werden durch die Anzahl an Protonen im Atomkern bestimmt. Die Anzahl der Protonen wiederum legt die Anzahl an Elektronen fest, die die Hülle des Atoms bilden (z.B. POLLARD & HERON, 1996).

Da nur die Protonen über positive Elementarladungen verfügen, entspricht die Ordnungszahl (OZ) der Zahl der Protonen im Kern.

In einem „neutralen“ Atom ist auch die Zahl der negativen Elektronen, die sich in der Atomhülle befinden, gleich der Ordnungszahl. Die Massenzahl (MZ) ist die Gesamtzahl der Nukleonen, d.h. der Protonen und der ungeladenen Neutronen. Sie entspricht näherungsweise der Atommasse, die Masse der Elektronen ist vernachlässigbar.

Alle Atome desselben Elements haben die gleiche Ordnungszahl. Atome gleicher Ordnungs-, aber unterschiedlicher Massenzahl nennt man Isotope. Die unterschiedliche Massenzahl ergibt sich durch eine unterschiedliche Anzahl an Neutronen, wobei die

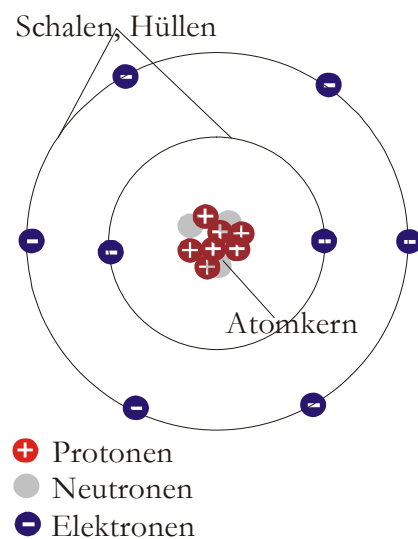


Abbildung 2: Das Atommodell von Niels Bohr.

seltene Isotope zusätzliche Neutronen besitzen. „Isotop“ kommt aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie „am gleichen Platz stehend“ (gemeint ist das Periodensystem der Elemente). Die unterschiedliche Anzahl von Neutronen bestimmt das Verhalten der einzelnen Isotope. Es sind derzeit ca. 2400 verschiedene Isotope bekannt. Davon sind 249 stabil, also nicht radioaktiv.

Die Kennzeichnung eines Isotops geschieht entweder durch die vor dem Symbol hochgestellte oder die mit einem Bindestrich an das Symbol angehängte Massenzahl; die Massenzahl gibt die Anzahl der Nukleonen an.

Das bekannteste Isotop ist  $^{14}\text{C}$ , welches zur Altersbestimmung von organischen Materialien in der Archäologie benutzt wird. Kohlenstoff (C) liegt hauptsächlich als stabiles Isotop  $^{12}\text{C}$  vor, wobei die hochgestellte Zahl die Massenzahl darstellt. Weitere gut bekannte Formen der Atome sind beispielsweise: Wasserstoff ( $^1\text{H}$ ), Kohlenstoff ( $^{12}\text{C}$ ), Stickstoff ( $^{14}\text{N}$ ) und Sauerstoff ( $^{16}\text{O}$ ), sowie deren Isotope  $^2\text{H}$  und  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$  und  $^{18}\text{O}$ .

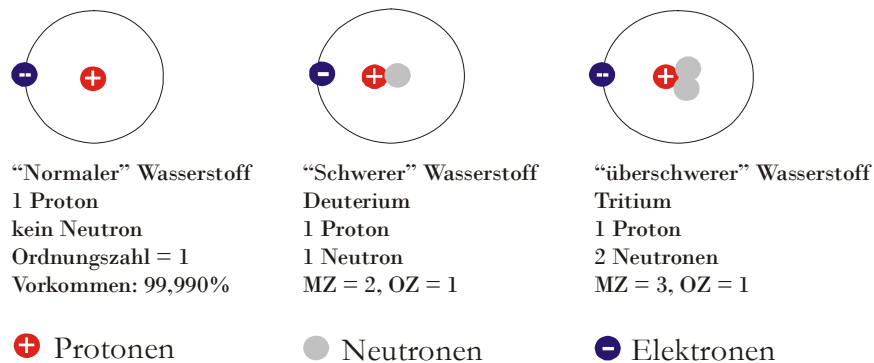


Abbildung 3: Isotope des Wasserstoffs.

Die chemischen Eigenschaften von Isotopen sind ähnlich, so dass sie oft chemisch nicht unterschieden werden können (MORTIMER, 1996). Das zusätzliche Gewicht führt aber zu einer langsameren Bewegungs- und Diffusionsrate im Vergleich zu leichteren Isotopen (kinetische Isotopen-Effekte). Außerdem gehen leichte Isotope schneller chemische Reaktionen ein als schwere. Es kann zu einer Änderung des Schmelz-, Gefrier-, Kristallisations-, Kondensations- und Evaporationspunktes kommen.

Da stabile Isotope nicht radioaktiv sind, können sie nicht für radiochemische Datierungen eingesetzt werden. Sie verändern sich also nicht mit der Zeit und zerfallen nicht wie radioaktive Isotope. Letztere besitzen einen instabilen Atomkern, der laufend Energie abgibt, um letztendlich in einen stabilen Atomkern mit anderer Ordnungszahl und Massenzahl überzugehen.

Auch an ihren Spektrallinien können bei entsprechend hoher Auflösung verschiedene Isotope eines Elements unterschieden werden (Isotopieverschiebung) (POLLARD & HERON, 1996).

Die Isotopenzusammensetzung in einer Probe wird in der Regel mit einem Massenspektrometer bestimmt. Isotope spielen ferner eine Rolle in der NMR<sup>1</sup>-Spektroskopie. So werden beispielsweise in der NMR-Spektroskopie organischer Verbindungen <sup>13</sup>C Isotope spektroskopiert, da sie im Gegensatz zum <sup>12</sup>C einen detektierbaren Kernspin haben. Isotope werden auch in der Aufklärung von Reaktionsmechanismen oder Metabolismen mit Hilfe der sog. Isotopenmarkierung verwendet (POLLARD & HERON, 1996).

Die Isotopenzusammensetzung des Wassers ist an verschiedenen Orten der Welt verschieden und charakteristisch. Diese Unterschiede erlauben es etwa bei Lebensmitteln wie Wein oder Käse, die Deklaration des Ursprungsortes zu überprüfen.

Einige Lebewesen zeigen außerdem eine „Vorliebe“ für bestimmte Isotope lebenswichtiger Elemente (wie N, Ca), so dass das Isotopenverhältnis im Organismus sich von dem der Umwelt unterscheiden kann.

Schwere stabile Isotope machen nur einen geringen Teil in jedem Element aus. Das Prinzip der Messung stabiler Isotope liegt im Messen des Verhältnisses schwerer zu leichten Isotopen bezogen auf das entsprechende Verhältnis in einem Vergleichsmaterial. Die Gewichtsunterschiede zwischen den Isotopen eines Elements sind so gering, dass sie in Werten pro Tausend (‰) massenspektrometrisch gemessen und im Vergleich zu einem internationalen Standard als sog.  $\delta$ -Werte berechnet werden.

Die  $\delta$ -Notation wird wie folgt definiert:

$$\delta(\text{‰}) = [(R_{\text{Probe}}/R_{\text{Standard}})-1] \times 1000 \text{ (AMBROSE, 1993)}$$

R bezeichnet dabei das Verhältnis des schweren zum leichten Isotop. Die  $\delta$ -Werte der stabilen Isotope sind Daten einer Intervall-Skala, die relativ zu einem Nullpunkt ausgedrückt werden. Sie können somit positiv oder negativ sein. Je positiver der  $\delta$ -Wert einer Probe ist, desto mehr ist diese mit dem schweren Isotop angereichert. Ein negativer Wert dagegen bedeutet, dass eine Abreicherung vorliegt.

---

<sup>1</sup> Kernspinresonanz (NMR von engl. Nuclear Magnetic Resonance = Kernmagnetische Resonanz). Der Spin eines Atomkernes (Kernspin) richtet sich nach dem äußeren Magnetfeld aus. Werden die Kernspins durch Radiostrahlung aus dem Gleichgewicht gebracht, präzedieren sie um das Magnetfeld. Wie rotierende Magnete in einem Motor induzieren sie in einer Spule eine messbare Wechselspannung.



Die meisten biologischen Proben enthalten weniger  $^{13}\text{C}$  und  $^{18}\text{O}$  als der Standard PDB<sup>2</sup>, d.h. sie haben einen negativen  $\delta$ -Wert. Bei Messungen des  $^{15}\text{N}$ -Gehaltes sind die Werte biologischer Substanzen häufig positiv, weil diese mehr  $^{15}\text{N}$  enthalten als der Luft-Standard (AIR) (POLLARD & HERON, 1996; MAYS, 2000).

Die Messgenauigkeit der Bestimmung der stabilen Isotope wird über die Standardabweichung ermittelt. Gewöhnlich gelten Genauigkeiten von weniger als  $\pm 0,1\text{‰}$  für Kohlenstoffisotope, von weniger als  $\pm 0,4\text{‰}$  für Stickstoffisotope, und von  $\pm 0,2\text{‰}$  für Sauerstoffisotope.

### III Kollagen

Die Familie der Kollagene<sup>3</sup> bezeichnet eine heterogene Gruppe von Proteinen, welche etwa ein Viertel der Gesamtproteinmenge im menschlichen Organismus ausmachen. Kollagen ist der wichtigste Faserbestandteil von Haut, Knochen, Sehnen, Knorpel, Blutgefäßen und Zähnen. Zum heutigen Zeitpunkt sind 25 Kollagenpolypeptide beschrieben, welche über 18 unterschiedliche Kollagentypen in der extrazellulären Matrix aufbauen (BABRAJ ET AL., 2002; BETZ ET AL., 1991; POLLARD & HERON, 1996). Insgesamt macht Kollagen 20 - 25 % des Trockengewichts eines Knochens aus (EZZO, 1994a; HARE, 1980).

Aus durch Säure oder Hitze denaturiertem, tierischem Kollagen wurde in der Vergangenheit „Knochenleim“ hergestellt. Heute werden aus Kollagenfasern z.B. resorbierbare Nahtmaterialien und Hauttransplantate synthetisiert.

Kollagen enthält einen besonders hohen Anteil der Aminosäuren Glycin (jede dritte Position) und Prolin, daneben eine Reihe hydroxylierter Aminosäuren wie Hydroxyprolin und Hydroxylysin, die eine Quervernetzung der Proteine und die Ausbildung einer stabilen Kollagenmatrix ermöglichen. Kollagenfasern bestehen aus drei  $\alpha$ -helikalen Proteinketten, von denen jeweils drei Moleküle sich in Form einer Superhelix umeinander winden und auf diese Weise Fasern ausbilden.

Durch den regelmäßigen und häufigen Einbau der kleinsten Aminosäure Glycin – sie trägt keine Seitengruppe – entsteht die sehr enge Windung der stabförmigen Tripel-

---

<sup>2</sup> Als internationaler Standard für  $^{13}\text{C}$  fungiert ein Kalk aus der Pee Dee Formation in South Carolina eines *Belemnitella americana* (PDB). Belemniten (*Belemnoides*), auch Donnerkeile oder Teufelsfinger, sind eine ausgestorbene Gruppe von Kopffüßern. Sie ähnelten im Aussehen den heutigen Kalmaren, hatten 10 Fangarme und einen Tintenbeutel, besaßen jedoch keine Saugnäpfe an den Fangarmen, sondern Haken. Belemniten waren im Erdmittelalter so weit verbreitet, dass sie heute zum Teil als Leitfossilien verwendet werden können. Sie starben am Ende der Kreidezeit vor rund 65 Millionen Jahren aus.

<sup>3</sup> *kólla* (gr.): Leim, *-gen* (gr.): Wortteil für werden, entstehen

helix, sowie die gegenseitige Stabilisierung durch intermolekulare Wasserstoffbrücken (EZZO, 1994; HART, 1989; POLLARD & HERON, 1996).

Das im reifen Knochen hauptsächlich vorhandene Kollagen „Typ I“, besteht aus zwei identischen  $\alpha_1(I)$ -Ketten und einer  $\alpha_2(I)$ -Kette, die zu einer Tripelhelix verbunden sind (ROHEN & LÜTJEN-DRECOLL, 2000). Die zentralen Regionen dieser drei Ketten von jeweils 1014 Aminosäuren enthalten also 338 Tripeptide vom Typ Gly-X-Y. Etwa ein Drittel aller dem Glycin benachbarten Aminosäuren bestehen im Bereich des C-terminalen Kettenendes aus Prolin, am N-terminalen Ende befindet sich meistens Hydroxyprolin (POLLARD & HERON, 1996).

Die Kollagen-I-Synthese findet in den Osteoblasten statt und beginnt mit der Produktion von Polypeptidketten an membrangebundenen Ribosomen. Sie werden als pro- $\alpha$ -Ketten in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums transportiert. Dort erfolgt die Hydroxylierung eines Teils von Prolin und Lysin. Jede einzelne  $\alpha$ -Kette bildet eine linksgewundene Helix, die drei  $\alpha$ -Ketten finden sich zu einer rechtsgewundenen Tripelhelix von 293 nm Länge zusammen. Nachdem dieses Prokollagenmakromolekül in den Extrazellulärraum abgegeben wurde, werden C- und N-terminale Telopeptide abgespalten. Das eigentliche Kollagenmolekül verbleibt in der Nähe der Zelloberfläche und bildet mit gleichartigen Molekülen Fibrillen (ARMELAGOS ET AL., 1989; POLLARD & HERON, 1986; GRUPE, 1995).

Kollagen eignet sich gut zur Analyse stabiler Isotope. Es kann den Tod des Individuums Tausende von Jahren überdauern und ist extrem widerstandsfähig gegenüber post-mortalen Veränderungen seines Aufbaus. Zudem wird das Kollagen im lebenden Organismus nur etwa alle 10 bis 30 Jahre vollständig erneuert, so dass mittels Isotopenanalyse eine Aussage über das Nahrungsverhalten während einer relativ langen Zeitspanne im Leben eines Individuums getroffen werden kann (AMBROSE & AMBROSE, 1993).

Im Kollagen wird hauptsächlich der Proteinanteil der Nahrung repräsentiert. Der Baustoffwechsel bedingt eine „Unterrepräsentation“ der Kohlenhydrate im Kollagen. Besonders ins Gewicht fällt dies, wenn sich eine Population proteinreich ernährt, wie z.B. bei mariner Kost. Sind Proteine allerdings nur mäßig in der Nahrung vertreten, wird auch der Kohlenstoff aus Kohlenhydraten für eine Analyse ausreichend im Kollagen widergespiegelt (AMBROSE, 1987 & 1993; AMBROSE & NORR, 1993).

Da die Aminosäure-Zusammensetzung im Kollagen bei Säugetieren gleich ist (ARMSTRONG ET AL., 1993), kann man die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und die  $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Tiere miteinander vergleichen und für ein Ökosystem ein Nahrungsnetz konstruieren.

#### IV Karbonat

Ausgewachsener Knochen und Dentin bestehen zu 70 %, Zahnschmelz zu 98 % aus anorganischem Mineral, das in die organische Matrix eingelagert ist. Dieses anorganische Material ist eine kristalline Form von Apatit und Hydroxylapatit mit der idealen Strukturformel  $(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (SILLEN, 1989).

Karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$  bzw.  $\text{HCO}_3^-$ ) kommt in zwei Formen im biologischen Apatit vor. Als strukturelles Karbonat, welches als Substituent für Phosphat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) oder der Hydroxylgruppe ( $\text{OH}^-$ ) innerhalb der kristallinen Form fungiert sowie als adsorbiertes Karbonat auf der Kristalloberfläche (LEE-THORP, 2000). Das adsorbierte Karbonat ist löslich und dient als Reservoir für das Bikarbonat im Blut. Es ist weniger angereichert an  $^{13}\text{C}$  als das strukturelle Karbonat. Das adsorbierte Karbonat sollte bei der Extraktion zur Analyse der stabilen Isotope vollständig entfernt werden, da sonst andere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als die des strukturellen Karbonats gemessen werden: Adsorbiertes Karbonat besitzt negativere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als das strukturelle Karbonat. Zudem ist strukturelles Karbonat gegenüber Verunreinigungen durch Calciumkarbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) aus Boden und Grundwasser besser geschützt als adsorbiertes Karbonat. Auch dieses  $\text{CaCO}_3$  muss bei der Extraktion entfernt werden. Apatit enthält etwa zwei bis vier Gewichtsprozent Karbonat (MAYS, 2000). Der vollständige Austausch des Knochenkarbonats dauert sieben bis zehn Jahre. Somit dient auch Karbonat als Langzeitindikator für die Nahrungsbestandteile der jeweiligen Individuen, wenn es auch eine kürzere Zeitspanne repräsentiert als das Kollagen. Analysen des Zahnschmelzes und des Dentins geben Auskunft über die Ernährung in der Kindheit, da sie metabolisch nicht bzw. weniger aktiv sind und keine Umbauten mehr stattfinden (vgl. SHIN ET AL., 2005).

Die stabilen Kohlenstoffisotope des Karbonats spiegeln praktisch die ganze Nahrung wider und nicht nur deren Proteinanteil (MAYS, 2000).