

3 Methoden

3.1 Paläodemographie

3.1.1 Altersdiagnose

Die individuell variierenden Altersveränderungen am Skelett bedingen Diskrepanzen zwischen dem biologischen (Skeletalter) und dem chronologischen (Zahl der Lebensjahre) Alter. Daher erfolgt eine Charakterisierung der individuellen Altersdiagnosen mit Fehlergrenzen, wobei davon ausgegangen wird, dass sich eventuelle Plus- und Minusfehler bei der paläodemographischen Populationsanalyse revidieren (Ferembach et al. 1979).

Folgende Einteilung in sechs Altersklassen zur Diagnose des erreichten Lebensalters an Skeletten wird vorgenommen (nach Herrmann et al. 1990, in Anlehnung an Martin 1928):

Altersklasse	Jahre	
infans I	: 0-6	(Geburt bis zum Durchbruch des ersten bleibenden Molaren)
infans II	: 7-12	(vom Durchbruch des ersten bis zum Durchbruch des zweiten bleibenden Molaren)
juvenil	: 13-20	(vom vollendeten Durchbruch des zweiten Molaren bis ungefähr zum Schluss der Synchondrosis sphenoccipitalis)
adult	: 20-40	(bis zum Beginn der Synostose größerer Abschnitte der Schädelnähte, die Abrasion der Kauflächen hat begonnen)
matur	: 40-60	(Synostose des weitaus größten Teils der Schädelnähte, Abrasion der Kauflächen der Zähne fortgeschritten)
senil	: 60-∞	(ausgedehnte bzw. vollständige Synostose der Schädelnähte, eventuell ausgedehnter Alveolenschluss infolge Zahnausfalls)

Zur Diagnose des Sterbealters wurden entsprechend der Entwicklungsphasen der Kinder, Juvenilen sowie Erwachsenen und unter Berücksichtigung des Erhaltungszustandes der jeweiligen Skelettelemente unterschiedliche Kriterien herangezogen.

Der Dentitionsstatus nach Ubelaker (1978) stellt die maßgeblichste Sterbealterdiagnose bei Kindern dar, da die Stadien der Zahnentwicklung (Zahnkrone, nachfolgend Zahnhals und Zahnwurzel) in einem zuverlässigen Rahmen eine Altersbestimmung von Kindern erlauben. Die Methode von Stloukal und Hanáková (1978) bedient sich des Faktums, dass das

Längenverhältnis von Langknochen auf ein charakteristisches Entwicklungsalter von Kindern hindeutet. Als elementarstes Kriterium für die Altersbestimmung der juvenilen und frühadulten Individuen ist die Synostose der Epiphysen und Apophysen des postcranialen Skeletts anzusehen (Brothwell 1981).

Die Diagnose des Sterbealters der erwachsenen Individuen erfolgte unter anderem nach Szilvássy (1988). Überwiegend ist die Methode von Nemeskéri et al. (1960) herangezogen worden, bei der in kombinierter Form altersvariable Veränderungen an der Facies symphyialis, an den endocranialen Schädelnähten sowie an der Spongiosastruktur der proximalen Humeri- und Femoraepiphysen betrachtet und in Bezug gesetzt werden, um ein rechnerisches Alter zu erhalten. Zur Ermittlung des Sterbealters dienten des Weiteren die Methode von Rösing (1977), bei der der ektocraniale Nahtverschluss einen Anhaltspunkt auf das Alter zum Zeitpunkt des Todes liefert sowie das Klassifikationsschema von Miles (1963), bei der der Abrasionsgrad der Zähne beurteilt wird. Der Verknöcherungsgrad der Gelenkflächen der Facies articularis sternalis (Szilvássy 1977) sowie des Schildknorpels (nach Vlček aus Loth & İşcan 1989) wurden ebenso zur Altersdiagnose herangezogen.

Von weiteren anthropologischen Bearbeitern gelangte die Methode nach İşcan und Loth (1989) zur Anwendung, bei der die Verknöcherung der sternalen Rippenenden bzw. des Rippenknorpels begutachtet wird. Dr. Holger Schutkowski bediente sich überwiegend einer histologischen Sterbealtersbestimmung (siehe Witzel et al. 2000).

Die ermittelten individuellen Sterbealter der Skelettindividuen, die zum Teil erhebliche Altersspannen umfassen, sind in Ein-Jahres-Stufen aufgeschlüsselt und anteilmäßig auf die Altersklassen verteilt worden. Es handelt sich bei den Anzahlsangaben der Altersklassen damit um rechnerische Größen, die keine ganzzahligen Werte darstellen.

Bei unzureichend vorliegenden Skelettelementen eines Individuums, welche jedoch zumindest entweder auf ein Alter von über 20 Jahren oder von über 30 Jahren hinwiesen, wurden die entsprechenden Individuen zur Auswertung und für die graphische Darstellung unter der Klassifizierung „erwachsen“ zusammengefasst.

Da die Kindersterblichkeit (Altersklassen infans I und infans II) einen wesentlichen Faktor zur Entschlüsselung der Lebensumstände von Populationen repräsentiert, wird sie gesondert dargestellt. Anhand einer Absterbekurve mit der relativen Zahl der überlebenden Kinder in den 1-Jahres-Altersstufen kann eine Reflektion des Gesundheitszustandes der Kinder und somit der von exogenen Faktoren determinierten Lebensbedingungen erfolgen (Schultz 1989b).

3.1.2 Repräsentanz

Die Repräsentanzerhebung dient der Begutachtung, ob das Gräberfeld sämtliche Gestorbene der Population für einen Zeitraum erfasst oder repräsentiert und die anhand der rekonstruierten demographischen Strukturen getroffenen Aussagen keine Beeinträchtigung erfahren. Die Bestatteten der Nekropole sollten der für eine Siedlung natürlichen Bevölkerungsstruktur entsprechen (Acsádi & Nemeskéri 1957, Acsádi & Nemeskéri 1970). Zur Überprüfung der Repräsentanz eines Skelettfundkomplexes werden nach Bocquet und Masset (1977) zwei Quotienten zugrunde gelegt:

$$\frac{D_{5-9}}{D_{10-14}} = \frac{\text{Anzahl der verstorbenen 5- bis 9-Jährigen}}{\text{Anzahl der verstorbenen 10- bis 14-Jährigen}} \rightarrow \geq 2$$
$$\frac{D_{5-14}}{D_{20-\infty}} = \frac{\text{Anzahl der verstorbenen 5- bis 14-Jährigen}}{\text{Anzahl der verstorbenen Erwachsenen}} \rightarrow \geq 0,1$$

Bei der Definition der Quotienten wurde davon ausgegangen, dass unter 5-jährige Kinder häufig in einem Fundkollektiv unterrepräsentiert sind und Kinder über dem 5. Lebensjahr sowie Juvenile die geringste Mortalität in einer Skelettpopulation aufweisen (Grupe et al. 2005). Der erste Quotient (≥ 2) stellt das Verhältnis der 5- bis 9-Jährigen zu den 10- bis 14-Jährigen mit der Voraussetzung fest, dass die 10- bis 14-Jährigen die Sterberisiken der Kindheit überlebt haben und den „gesündesten Bevölkerungsanteil“ verkörpern. Der Anteil der 10- bis 14-Jährigen in einer Skelettpopulation sollte demzufolge wesentlich geringer sein als der Anteil der 5- bis 9-Jährigen. Der zweite Quotient ($\geq 0,1$) zeigt den Bezug des sich im Stadium der Reproduktion befindlichen Populationsteils (Erwachsene) zu der Bevölkerungsgruppe (5- bis 14-Jährige) auf, die sich mutmaßlich reproduzieren wird, da die Risiken der frühen Kindheit überdauert wurden (Grupe 1997). Bei Erfüllung der Quotienten ist von einem Skelettfundkollektiv, das die Lebendpopulation repräsentiert, auszugehen (Grupe et al. 2005).

Ein eventuell existentes Säuglingsdefizit in einem Skelettfundkomplex bzw. in einer Population lässt sich mittels einer Kalkulation von Brothwell (1971) erfassen:

$$\frac{d_{0-20}}{d_{<1}} = 1,3 - 4$$

Um von einem für historische Verhältnisse repräsentativen Säuglingsanteil in einer Population ausgehen zu können, sollte der Anteil der unter Einjährigen in einem Gräberfeld einer Relation zu den unter 20-Jährigen von 1,3 - 4 entsprechen (Brothwell 1971).

3.1.3 Geschlechtsdiagnose

Die Geschlechtsdiagnose der erwachsenen Individuen orientierte sich an den Empfehlungen von Ferembach et al. (1979), an Sjøvold (1988) und an Acsádi und Nemeskéri (1970) bei der funktionale Merkmale am Becken sowie Robustizitätsmerkmale am Becken und am Schädel die Hauptkriterien zur Bestimmung des Geschlechts darstellen.

Die Diagnose des Geschlechts von Kindern beruhte auf den Methoden von Schutkowski (1983, 1989, 1993). Da diese Methoden erst in den 1990er Jahren etabliert wurden, resultiert eine begrenzte Anwendung der Methoden zur Geschlechtsbestimmung bei Kindern durch die anthropologischen Bearbeiter dieser Skelettserie.

Konnten aufgrund des Fragmentierungsgrades von Skelettelementen nur wenige geschlechtsdiagnostisch relevante Merkmale eines Skelettindividuums beurteilt werden, erfolgte eine tendenzielle Geschlechtszuweisung. Die infolge indifferenter Geschlechtsausprägung oder sehr reduziert existenten Skelettelementen als geschlechtsunbestimmt klassifizierten Individuen werden zusammengefasst als non det. deklariert.

3.1.3.1 Maskulinitätsindex

Mit dem Maskulinitätsindex lässt sich das zahlenmäßige Verhältnis von Frauen und Männern innerhalb einer Population darstellen. Dazu werden regulär ab der juvenilen Altersklasse alle geschlechtsdiagnostizierten Skelettindividuen mit folgender Gleichung erfasst (Herrmann et al. 1990):

$$\text{Maskulinitätsindex (MI)} = \frac{\text{Männer} \times 100}{\text{Frauen}}$$

Aufgrund des methodenbedingten Mangels geschlechtsdiagnostizierter juveniler Individuen dieses Fundkomplexes, erfolgt die Berücksichtigung ab der Altersklasse adult. Ein MI von 100 symbolisiert ein ausgeglichenes Geschlechtsverhältnis, ein MI von < 100

deutet auf einen Frauenüberschuss, ein $MI > 100$ auf einen Männerüberschuss in der Population hin (Herrmann et al. 1990).

3.1.4 Lebenserwartung

Eine vollständige Erfassung der Nekropole war aufgrund des unvollständig ergrabenen Gräberfeldes nicht praktikabel. Infolge einer nicht existenten Arealkonzentration von Subgruppen im Gräberfeld sowie des hohen Umfangs der Stichprobe, kann entgegen der von Acsádi und Nemeskéri (1970) postulierten Bedingung, nur vollständig ergrabene Nekropolen zur Sterbetafelberechnung heranzuziehen, eine Rekonstruktion der Lebenserwartung mittels derselbigen erfolgen.

Voraussetzung bei der Erstellung von Sterbetafeln ist die Annahme einer stationären Bevölkerung mit konstanten sowie kongruenten Geburten- und Sterberaten (Acsádi & Nemeskéri 1970, Drenhaus 1992).

Zur Erhebung der Mortalitätsverhältnisse und der Ermittlung der Lebenserwartung dienten Sterbetafeln, in die alle Skelettindividuen mit Ausnahme der als pränatal diagnostizierten einfließen. Des Weiteren sind getrennte Sterbetafeln für Frauen und Männer der parthisch/römischen Population erstellt worden, wobei die Berechnung aufgrund der reduzierten Geschlechtsdiagnose bei Kindern und Juvenilen erst mit der Altersklasse 20 - 24 Jahre beginnt.

Die substantiellen Altersspannen der Skelettindividuen wurden aufgeschlüsselt auf die 5-Jahres-Altersklassen der Sterbetafel übertragen. Demzufolge stellt die Zahl der Skelette einer Altersklasse keinen ganzzahligen Wert dar. Die relative Anzahl der in einer Altersklasse gestorbenen Individuen, welche einer Berechnung auf 1.000 Individuen einer Periode zugrunde liegt, diente als Basis der Sterbetafel. Da d_x insgesamt den Wert 1.000 aufzeigt, sind Rundungsfehler gegeben.

Die 73 erwachsenen Individuen ohne differenziertem Sterbealter wurden in die Berechnung einbezogen, indem eine gleichmäßige Verteilung auf die Altersklassen adult, matur und senil erfolgte. Desgleichen wurden vier als geburtsreif definierte Individuen bei der Kalkulation berücksichtigt.

Die Berechnung der Sterbetafel erfolgte durch die folgenden Formeln nach Acsádi und Nemeskéri (1970):

$\mathbf{d}_x =$ relativer Anteil der Gestorbenen je Altersklasse

$$d_x = \frac{D_x \times 1000}{D}$$

$x =$ Altersklasse

$D =$ Gesamtzahl der Skelette

$D_x =$ Anzahl der Skelette einer Altersklasse

$\mathbf{l}_x =$ relativer Anteil der Überlebenden je Altersklasse

$$l_x = \frac{\sum_{i=x}^j d_i}{j - x + 1}$$

$j =$ Anzahl Altersklassen - 1

$\mathbf{q}_x =$ Sterbewahrscheinlichkeit innerhalb der Altersklasse

$$q_x = \frac{d_x}{l_x}$$

$\mathbf{p}_x =$ Überlebenswahrscheinlichkeit innerhalb der Altersklasse

$$p_x = 1 - q_x$$

$\mathbf{L}_x =$ Anzahl der durchlebten Jahre je Altersklasse

$$L_x = \frac{l_x + l_{x+1}}{2} \times A$$

$A =$ Länge der Zeitspanne

$\mathbf{T}_x =$ Gesamtzahl der noch zu durchlebenden Jahre

$$T_x = \sum_{i=x}^j L_i$$

$\mathbf{e}_x =$ Durchschnittliche Lebenserwartung mit Eintritt in die Altersklasse

$$e_x = \frac{T_x}{l_x}$$

Die Lebenserwartung e_x definiert die Zahl der Jahre, die ein Individuum der entsprechenden Altersklasse mit Beginn der Altersklasse erwarten kann. Die durchschnittliche Lebenserwartung zum Zeitpunkt der Geburt entspricht der Lebenserwartung der Population (Drenhaus 1992).

3.1.5 Bestattungssitten

Es wurde eine Alters- und Geschlechtsverteilung auf die zur Bestattung genutzten Grabformen Lehmziegelgrab, Erdgrab, Topfgrab und Sarkophaggrab vorgenommen, um eventuell existente alters- und geschlechtsabhängige Unterschiede in den Bestattungssitten aufzeigen zu können. Dazu erfolgte eine Berechnung, in welchem Umfang die jeweilige Grabform zur Beisetzung der Individuen des Gräberfeldes genutzt wurde. Für diese Analysen wird das Individuum aus der Gruft (LZG - Sonderform) der parthisch/römischen Zeit mit der Grab Nr. 03/030 zu den Sarkophagbestattungen gezählt.

Bezüglich der Bestattungsformen Hocker- und Streckerposition erfolgte eine Ermittlung der Geschlechtsverteilung. Die im Grab in gestreckter Bauchlage positionierten Kleinkinder wurden auswertungstechnisch zu der Streckerposition gezählt, die regulär in dieser Skelettpopulation eine Rückenstreckerhaltung darstellt.

3.2 Histologie

Zur qualitativen Kontrolle des Erhaltungszustandes der Knochen sind stichprobenartig Knochendünnschliffe zur histomorphologischen mikroskopischen Untersuchung angefertigt worden. Die Knochendünnschliffherstellung wurde am Zentrum für Anatomie, Universität Göttingen von dem Präparator Michael Brandt nach der Methode von Prof. Dr. Dr. Michael Schultz und Michael Brandt (Schultz & Drommer 1983, Schultz 1988) durchgeführt.

Dazu erfolgte eine Probenentnahme aus den Femoradiaphysen, welche anschließend mit dem Kunstharz Biodur E 12 eingebettet und einem Schliffvorgang unterzogen wurden.

Die Begutachtung der Dünnschliffe im Lichtmikroskop einfach und mit polarisiertem Durchlicht unter Verwendung eines Hilfsobjekt Rot 1. Ordnung (Quarz) als Kompensator fand mit freundlicher Unterstützung von Prof. Dr. Dr. Michael Schultz am Zentrum für Anatomie, Universität Göttingen, statt.

Zur Betrachtung der Knochendünnschliffe diente ein Zeiss Mikroskop 3 und für die Fotoaufnahmen kam eine Intras Digital-Kamera zum Einsatz.

3.3 Chemische Analysen

3.3.1 Kollagen-Gelatine-Extraktion

Aus Knochen gewonnenes lyophilisiertes Kollagen wird zur Analyse der stabilen Stickstoff- und Kohlenstoffisotopenverhältnisse herangezogen. Der Isolierung von Kollagen aus dem Knochen dient die Kollagen-Gelatine-Extraktion nach Longin (1971) modifiziert von Schoeninger und DeNiro (1984). Zur Kollagen-Gelatine-Extraktion sind überwiegend Rippen herangezogen worden, da es sich um die diagnostisch irrelevantesten Skelettelemente handelt. Jedoch lagen nicht bei allen ausgewählten Individuen Rippen vor; demzufolge wurde verschiedentlich auf andere Skelettpartien zurückgegriffen²².

Insgesamt sind Knochenproben von 134 Individuen einer Kollagen-Gelatine-Extraktion unterzogen worden. Nach einer Reinigung mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad und anschließender Trocknung wurden die Proben manuell homogenisiert. Auf eine Einwaage von rund 500 mg pro Probe (Ohaus Analysenfeinwaage Analytical Plus, AP 250 D) wirkten etwa 20 Minuten auf dem Rollenschüttler 10 ml 1 M Salzsäure (HCl) ein, um mineralische Anteile sowie adsorbierte Karbonate zu entfernen. Daraufhin ist das Knochenmehl mehrmals für 5 Minuten bei 3.000 U/min zentrifugiert (Hettich Universal Zentrifuge) und jeweils bis zur pH-Neutralität gespült worden. Die Teflonröhrchen mit dem Pellet sind anschließend mit 10 ml 0,125 M Natronlauge (NaOH) versetzt, aufgeschüttelt und 20 Stunden auf dem Rollenschüttler inkubiert worden, so dass sich aus dem demineralisierten Knochen Huminsäuren und Fette lösen konnten. Erneut ist das Knochenmehl zentrifugiert und bis zur pH-Neutralität gewaschen worden. Maximal 17 Stunden ist das Pellet dann mit 10 ml 0,001 M Salzsäure (HCl) 90 °C im Wasserbad (Fa. Memmert) ausgesetzt, da sich Gelatine in warmer HCl löst. Mittels Filternutschen (Fa. Schott Duran, 100 ml) wurde das im Übersatz gelöste Kollagen abfiltriert, so dass sich organische Substanzen wie zum Beispiel Mikroorganismen entfernen ließen. Die aufbereiteten und in Schnappdeckelgläschen überführten Proben zeigten folgend nach ca. drei Tagen Gefriertrocknung (Fa. Christ, Gefriertrocknungsanlage ALPHA 2-4 LDC-1M, Vakuumpumpe RZ-2) eine wattige Konsistenz.

Die lyophilisierten Proben wurden zur Bemessung der prozentualen Kollagenkonzentration gewogen, bevor sie einer Isotopenverhältnismessung im Massenspektrometer unterzogen wurden. Das Kriterium der prozentualen Kollagenausbeute dient als Qualitätsüberprüfung

²² Siehe Kapitel 4.3.1 „Die Kollagen-Gelatine-Extraktion“.

des Erhaltungszustandes der Knochen, da Knochen mit einem gutem Erhaltungszustand mindestens 5 % Kollagen aufweisen sollten (Ambrose 1993).

3.3.2 C/N-Verhältnis

Um den Erhaltungszustand der Knochen und damit verbunden die Aussagefähigkeit der gemessenen Ergebnisse abschätzen zu können, erfolgten verschiedene Analysen.

In rezentem Knochenkollagen ist ein Stickstoffanteil von 15,54 % und ein Kohlenstoffanteil von 42,70 % ermittelt worden; Konzentrationen in analysierten Knochen sollten diesen Proportionen entsprechen (Ambrose 1993). Gut erhaltenes Kollagen zeichnet sich durch ein molares C/N-Verhältnis von 2,9 bis 3,6 aus (DeNiro 1985). Verminderte Verhältniswerte reflektieren degeneriertes Kollagen bedingt durch Mikroorganismenzersetzung. Höhere C/N-Verhältnisse dagegen lassen die Vermutung auf Kontaminationen durch Mikroorganismen zu (Balzer et al. 1997). Daher fließen nur Probenergebnisse mit einem ermittelten C/N-Verhältnis von 2,9 bis 3,6 in die Auswertung ein. Allerdings sollte Ambrose (1993) zufolge beachtet werden, dass auch schon C/N-Verhältnisse von 3,4 bis 3,6 leichte Verunreinigungen, verursacht durch Lipide, Huminsäuren oder kohlenstoffreiche Substanzen, aufzeigen können.

3.3.3 Aminosäureanalyse

Bedingt durch verschiedene Faktoren, wie zum Beispiel Hitze, Mikroorganismen, Pflanzenwurzeln oder das Bodenmilieu kann ein Kollagenverlust im Knochen oder eine Modifikation in der Isotopenzusammensetzung der einzelnen Aminosäuren im Kollagen erfolgen. Die Reduktion oder der partielle Abbau von Aminosäuren und die damit assoziierten Veränderungen der jeweiligen charakteristischen Isotopenverhältnisse reflektieren sich in dem gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{K}_0}$ -Wert und $\delta^{15}\text{N}$ -Wert eines Individuums (Schwarcz & Schoeninger 1991, Balzer et al. 1997).

Ambrose (1993) zufolge ist von einem intakten Knochenkollagen bei einer Lyophilisat- ausbeute von über 5 % auszugehen. Knochenproben mit einer Lyophilisat- ausbeute zwischen 1 % und 5 % können in die Auswertung einfließen, wenn ein charakteristisches Spektrum der Aminosäuren im Kollagen des Knochens nachweisbar ist (Schwarcz & Schoeninger 1991). Knochenproben, deren Lyophilisat- ausbeute zwischen 1 % und 5 % betrug, wurden infolgedessen zur Qualitätsüberprüfung des Kollagens einer Aminosäure-

analyse unterzogen. Knochenproben mit einer Lyophilisat- ausbeute von < 1 % wurden nicht zur Untersuchung hinzugezogen, sondern verworfen, da qualitätsdefektes Kollagen anzunehmen ist und eine Veränderung des $\delta^{15}\text{N}$ - Wertes von bis zu +15 ‰ in Betracht zu ziehen ist (Schwarcz & Schoeninger 1991).

Aus Kostengründen sind zur Qualitätskontrolle des Kollagens nur folgende fünfzehn Aminosäuren herangezogen worden:

Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin, Hydroxylysin, Hydroxyprolin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Valin.

Aufgrund ihres äußerst geringen Anteils im Kollagen sind die Aminosäuren Histidin (0,5 %), Methionin (0,5 %) und Tyrosin (0,3 %)²³ ausgenommen.

Durch die Firma aminoNova (Hennigsdorf, Berlin) erfolgte eine Hydrolyse sowie eine qualitative und quantitative Untersuchung der Lyophilisatproben (ca. 500 µg Einwaage je Probe), wobei eine Konzentrationsmessung der einzelnen Aminosäuren durchgeführt wurde. Als interner Standard wurde Norleucin herangezogen.

Die aufgeführten Faktoren dienen der Überprüfung der Kollagenqualität:

- Eine prozentuale Zusammensetzung der Aminosäuren im Kollagen entsprechend seinem physiologischen Charakter - Vergleich mit Werten von nativem Kollagen nach Ambrose (1993)
- Etwa ein Drittel aller Aminosäuren im Kollagen umfasst allein Glycin (Grupe 1992)
- Etwa ein Drittel des Kollagens bilden zusammen die Aminosäuren Alanin, Hydroxyprolin und Prolin (DeNiro & Weiner 1988)
- Erhöhte Anteile der Aminosäuren Serin und Asparaginsäure signalisieren Kontaminationen (DeNiro & Weiner 1988)
- Der prozentuale Anteil von Prolin und Hydroxyprolin im Kollagen soll sich ungefähr auf 20 % - 25 % belaufen (Schwarcz & Schoeninger 1991).

Besonderer Betrachtung unterlagen als Indikatoren einer Kollagen- degradation auch die Konzentrationen der Aminosäuren Alanin und Prolin. Bei Alanin, als Bestandteil der Bakterienzellwand, kann bevorzugt ein bakterieller Abbau beobachtet werden (Grupe & Turban-Just 1998). Prolin ist für den strukturellen Zusammenhalt des Kollagens als nicht

²³ Anteil im Kollagen nach Ambrose (1993).

unerheblich anzusehen und eine Konzentrationsänderung fördert die fortschreitende Zersetzung des Kollagens (Balzer et al. 1997).

Proben von Menschen- und Tierknochen sind im Ergebnisteil zusammengefasst, da bei Säugetieren das Kollagen Typ I durch einen dem Menschen kongruenten Aufbau repräsentiert ist (Hare 1980, Balzer et al. 1997).

3.3.4 Karbonatextraktion

Für die Karbonatextraktion nach Balasse et al. (1999) sind von 136 im Ultraschallbad gereinigten und anschließend manuell homogenisierten Knochenproben, die wie bei der Kollagen-Gelatine-Extraktion überwiegend von Rippenelementen entnommen wurden, jeweils etwa 100 mg abgewogen worden. Dieses Knochenmehl ist mit 5 ml 4%iger NaOCl-Lösung auf dem Rollenschüttler 2-3 Tage inkubiert worden, bis sich keine Bläschenbildung mehr feststellen ließ. Mittels Oxidation erfolgte so eine Entfernung der organischen Matrix des Knochens.

Daraufhin wurden die Proben mit Aqua dest. bis zur pH-Neutralität mit 2100 g (3.800 U/min) zentrifugiert und gewaschen. Die Pellets sind folgend mit 5 ml 1 M Ca-Acetat-Essigsäure-Puffer (pH 4,75) versetzt und rund fünf Stunden auf dem Rollenschüttler inkubiert worden, da Calcium-Acetat-Essigsäurepuffer der Elimination von adsorbiertem Karbonat dient. Nach einer Zentrifugation und Waschung mit Aqua dest. bis zur pH-Neutralität sind die Knochenproben mit einer geringen Menge Wasser in Schnappdeckelgläsern überführt und anschließend lyophilisiert worden. Zur Reduktion eines störenden Wasserhintergrunds bei der Massenspektrometrie sind die in Eppendorf-Cups eingewogenen Proben nach dem Gefriertrocknen für einige Stunden mit geöffnetem Deckel einer Trocknung bei 50 °C im Trockenschrank unterzogen worden. Zur prozentualen Ausbeutebestimmung erfolgte eine Auswaage der lyophilisierten Karbonatextrakte.

3.3.5 Die Messung der stabilen Isotope

Die mittels einer Kollagen-Gelatine-Extraktion und Karbonatextraktion aufbereiteten Knochenproben sind im Massenspektrometer (Fa. Finnigan, DELTAplusXL, Carlo-Erba CN2500-Elementanalysierer) des GeoForschungsZentrums Potsdam nach einer Einwaage in Zinnkapseln auf ihre Isotopenverhältnisse gemessen worden. Die Kalibrierung für die Messung der Isotopenverhältnisse im Kollagen erfolgte anhand IAEA (International

Atomic Energy Agency) Standard CH-7 (eine Polyethylenfolie) sowie USGS24 (Graphit-Standard) für $\delta^{13}\text{C}_{\text{K}_o}$ und für $\delta^{15}\text{N}$ mit IAEA N1 (ein Ammoniumsulfat). Zur Messung der Isotopenverhältnisse der Sauerstoff- und Kohlenstoffisotope im Karbonat wurden die Referenzmaterialien IAEA CO8, CO1 und Marmor sowie die Laborstandards V-PDB für $\delta^{13}\text{C}$ und NBS19 für $\delta^{18}\text{O}$ herangezogen. Die analytische Präzision beläuft sich für $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ im Kollagen auf $< 0,2 \text{ ‰}$ sowie für C [%] und N [%] auf $< 5 \text{ ‰}$ und für $\delta^{18}\text{O}$ und $\delta^{13}\text{C}$ im Karbonat auf $< 0,01 \text{ ‰}$ (persönliche Mitteilung Dr. Birgit Mingram).

Aufgrund des geringen Anteils von schweren Isotopen eines Elements erfolgt eine Angabe des Verhältnisses von schwerem und leichtem Isotop gegenüber einem Standard (McKinney et al. 1950). Die Konzentration der stabilen Kohlenstoffisotope aus dem Kollagen und dem Karbonat wird als Verhältnis des schweren zum leichten Kohlenstoffisotop ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in der Probe im Verhältnis zum PDB Standard (Peedee-Belemniten = fossiles marines Kalkgestein „*Belemnitella americana*“ aus der Peedee-Formation in South Carolina/USA) ausgedrückt und in Promille angegeben (Craig 1957):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{Probe}} = \left[\left(\frac{^{13}\text{C}_{\text{Probe}}/^{12}\text{C}_{\text{Probe}}}{^{13}\text{C}_{\text{PDB}}/^{12}\text{C}_{\text{PDB}}} \right) - 1 \right] \times 1000 \text{ [‰]}$$

Für Sauerstoff gilt folgende Gleichung (Faure 1986):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{Probe}} = \left[\left(\frac{^{18}\text{O}_{\text{Probe}}/^{16}\text{O}_{\text{Probe}}}{^{18}\text{O}_{\text{PDB}}/^{16}\text{O}_{\text{PDB}}} \right) - 1 \right] \times 1000 \text{ [‰]}$$

Enthalten Proben im Verhältnis zum Standard einen geringeren Anteil ^{13}C oder ^{18}O zeigen sich negative $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bzw. $\delta^{18}\text{O}$ -Werte (Faure 1986), so wie in dieser Untersuchung.

Die Konzentration der stabilen Stickstoffisotope wird ebenso als Verhältnis des schweren zum leichten Stickstoffisotops in der Probe gegen das Verhältnis im Luftstandard (AIR, Ambient Inhalable Reservoir) gesetzt. Definitionsgemäß zeigt die Luft einen $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von 0 ‰ (Mariotti 1983):

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{Probe}} = \left[\left(\frac{^{15}\text{N}_{\text{Probe}}/^{14}\text{N}_{\text{Probe}}}{^{15}\text{N}_{\text{Air}}/^{14}\text{N}_{\text{Air}}} \right) - 1 \right] \times 1000 \text{ [‰]}$$

Positive $\delta^{15}\text{N}$ -Werte weisen auf eine höhere Konzentration des schwereren Isotops in der Probe im Verhältnis zum Standard hin (Faure 1986).

Es erfolgten Doppelmessungen von insgesamt 40 und Dreifachmessungen von vier Karbonatproben (ca. $\frac{1}{3}$ der Proben). Hier zeigte sich eine Standardabweichung im Mittel von $0,20 \text{ ‰}$ für $\delta^{13}\text{C}$ und für $\delta^{18}\text{O}$. Die Kollagenproben sind durch zwei Doppel- und drei Dreifachmessungen überprüft worden. Die durchschnittliche Standardabweichung beträgt für $\delta^{15}\text{N}$ $0,04 \text{ ‰}$, für $\delta^{13}\text{C}$ $0,24 \text{ ‰}$, für N [%] $0,54 \text{ ‰}$ und für C [%] $0,75 \text{ ‰}$. Aufgrund der ge-

ringen Standardabweichung wurde auf weitere Mehrfachmessungen verzichtet. Aus den Mehrfachmessungen der Knochenprobe eines Individuums ist der gebildete Mittelwert als Endergebnis herangezogen worden²⁴.

3.3.6 Spurenelementanalyse

Einer Spurenelementanalyse sind 119 Menschen- und 13 Tierproben nach der Methode von Grupe (1992) unterzogen worden. Sofern Femoradiaphysen vorhanden waren, gelangten ungefähr 2 - 3 g von diesen, in Fragmenten vorliegenden Knochen konventionsgemäß zur Anwendung (Grupe & Piepenbrink 1988, Grupe 1992). Vereinzelt sind mangels Femorapräsenz andere Skelettelemente herangezogen worden²⁵.

Zur Sedimententfernung sind die Proben im Ultraschallbad mit Aqua dest. gewaschen worden, um sie anschließend im Soxhlet (Fa. Schott-Duran) einer vierstündigen Knochenentfettung mit Diethylether auszusetzen. Einer Elimination von möglichen liegemilieu-bedingten Rekrystallisationsprodukten in den Hohlräumen der Knochen sowie Kontaminationen der Knochenoberflächen diene die Anätzung der Proben mit 98%iger Ameisensäure (HCOOH) und folgender Reinigung mit Aqua dest. im Ultraschallbad bis zur pH-Neutralität. Bedingt durch die aufsteigende pH-Reihe erfolgt eine Lösung der Rekrystallisationsprodukte.

Über Nacht verblieben die Knochenproben zur Trocknung im Trockenschrank. Vor der zwölfstündigen Veraschung bei 500 °C im Muffelofen (Heraeus Labor-Muffelofen, M 104, Fa. Kendro Laboratory Products) ist die jeweilige Probe eingewogen worden. Die Veraschung diene der Entfernung des organischen Anteils im Knochen. Desgleichen wird eine Verflüchtigung der analyserelevanten Elemente und eine thermische Modifikation der mineralischen Knochenkomponente inhibiert. Vor einer anschließenden manuellen Homogenisierung der Proben erfolgte zur Überprüfung des Umfangs des organischen Anteils im jeweiligen Knochen eine erneute Gewichtsmessung der Proben.

Rund 100 mg des Knochenmehls sind mittels Seif-Apparatur einem sechsstündigen Druckaufschluss mit 1 ml konzentrierter suprapurer Salpetersäure (HNO₃) im Trockenschrank bei 160 °C unterzogen worden, um die Knochen in Lösung zu bringen. Die Probensubstanz

²⁴ Siehe Kapitel 9.4 „Ergebnisse der Mehrfachmessungen - Kollagen“, Tabelle 28, Tabelle 29 und Kapitel 9.5 „Ergebnisse der Mehrfachmessungen - Karbonat“, Tabelle 30.

²⁵ Siehe dazu Kapitel 4.3.7 „Quantitative Auswertung der Spurenelementanalyse“.

ist dann mit 5 ml Aqua dest. aufgefüllt worden. Als Referenzmaterial wurde der Laborstandard Bone Ash 1400 einem Druckaufschluss unterzogen und gemessen.

Zur Vermeidung einer Kontamination sind alle für die chemischen Analysen genutzten Glasgefäße mit 65%iger Salpetersäure ausgedämpft und die Kunststoffbehältnisse mit 0,2%iger Salpetersäure im Ultraschallbad gereinigt worden. Abschließend erfolgte eine Reinigung der Materialien mit Aqua dest. und eine Trocknung bei 50 °C im Trockenschrank.

Mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) sind folgende Elemente am Institut für Geologische Wissenschaften der Freien Universität Berlin durch Frau Elke Heyde gemessen worden:

Kalzium (Ca), Phosphor (P), Strontium (Sr), Barium (Ba), Kupfer (Cu), Zink (Zn), Blei (Pb), Arsen (As), Cadmium (Cd), Eisen (Fe), Magnesium (Mg), Mangan (Mn), Nickel (Ni), Aluminium (AL) und Kobalt (Co).

Eine Verdünnung vor den Messungen gelangte folgendermaßen zur Anwendung:

Al, Ba, Cu, Fe, Mg, Mn, Sr und Zn 1:5; Ca und P 1:1000; Cd, Co, Ni und Pb 1:10. Bei Arsen erfolgte keine Verdünnung, da die Messung mittels einer Fließinjektion resultierte.

Entsprechend der Empfindlichkeit des jeweiligen zu messenden Elements und des zu erwartenden Gehalts wurde die Messung mittels ICP (Inductive Coupled Plasma), Graphitrohr- bzw. Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie durchgeführt.

Die Messungen der Elemente Kalzium und Phosphor im Knochen nutzten der Bestimmung des Ca/P-Quotienten. Bedingt durch den ungenügenden Erhaltungszustand der Knochen gelangten nur die Elemente Strontium und Barium in Form des Sr/Ca- und Sr/Ca_{Nahrung}-Quotienten sowie des Ba/Ca-Quotienten zur Auswertung, da diese Elemente direkt Gitterplätze im Hydroxylapatit anstelle von Kalzium einnehmen können und als nicht essentielle Spurenelemente keiner homöostatischen Kontrolle unterliegen (Grupe 1987).

Magnesium und Aluminium wurden als Diagenese-Indikatoren aufgenommen. Da Aluminium nur in geringem Umfang im Knochen vorliegt, sollen erhöhte Konzentrationen in Knochen indikatorisch für Kontaminationen stehen (Lambert et al. 1985b, Fabig 2002). In Knochen mit schlechtem Erhaltungszustand stellte Fabig (2002) eine Reduktion der Magnesiumkonzentration fest. Die Elimination von Magnesium aus dem bodengelagerten Knochen wird dadurch gefördert, dass dieses Element nur mittels einer leichtlöslichen Knochenkomponente im Knochen strukturiert vorliegt oder an die Apatitoberfläche gebunden ist (Neumann & Mulryan 1971, Driessens 1980).

Als Gütekriterium des Erhaltungszustandes der Knochen dient der prozentuale organische Anteil im Verhältnis zum mineralischen Anteil der Knochenproben (vor und nach dem Veraschen ermittelt) sowie der Ca/P-Quotient. Das stöchiometrische Massenverhältnis von Kalzium und Phosphor im Hydroxylapatit wird durch den Ca/P-Quotient dargestellt, der sich im Mittel auf 2,17 beläuft (Gawlik et al. 1982). Anhand der Daten von Gawlik et al. (1982) geht Fabig (2002) von einem ermittelten akzeptablen Schwankungsbereich von 2,0 bis 2,36 aus.

Da nur etwa ein Viertel des in der Nahrung angebotenen Strontiums absorbiert wird, ist folgender Diskriminierungsfaktor bei der Auswertung des Elements Strontium hinsichtlich der konsumierten Nahrung einzubeziehen:

$$\text{Sr}/\text{Ca}_{\text{Knochen}} : 0,25 = \text{Sr}/\text{Ca}_{\text{Nahrung}} \text{ (Comar 1963).}$$

Für die Ermittlung des Sr/Ca_{Nahrung}-Quotienten der Kinder sind aufgrund der geringeren Diskriminierung von Kleinkindern gegenüber Strontium²⁶ folgende Diskriminierungsfaktoren herangezogen worden:

Bis ca. 0,5 Jahre: 0,9; von ca. 0,5 Jahre bis ca. 1 Jahr: 0,5; von ca. 1 Jahr bis ca. 2 Jahre: 0,4 (Grupe 1990a).

3.3.7 Die Messung der Bodenproben

Es erfolgte eine Konzentrationsmessung der aufgeführten Spurenelemente in vier Bodenproben. Die Messung der Bodenproben ist ebenso am Institut für Geologische Wissenschaften der Freien Universität Berlin durch Frau Elke Heyde mittels eines Druckaufschlusses mit Königswasser durchgeführt worden.

Eingewogen sind jeweils von Grab Nr. 93/087: 212 mg Bodenmaterial, Grab Nr. 00/023: 221 mg Bodenmaterial, Grab Nr. 03/023: 209 mg Bodenmaterial und Grab Nr. 03/030: 258 mg Bodenmaterial.

Zum Vergleich zu den Spurenelementkonzentrationen der Bodenproben sind Sollwerte bezogen auf einen Standard (marines Sediment) vom messenden Institut angegeben worden.

²⁶ Siehe Kapitel 1.7 „Spurenelemente“.

3.4 Statistische und graphische Auswertung

Die als Rohdaten vorliegenden Messergebnisse wurden mittels SPSS für MS Windows (Version 12.0) mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet. Da keine Normalverteilung vorlag, ist der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test mit dem Signifikanzniveau 5 % herangezogen worden. Überschreitungswahrscheinlichkeiten sind mit $p \leq 0,05$ (signifikant), $p \leq 0,01$ (hoch signifikant) und $p \leq 0,001$ (höchst signifikant) angegeben. Die Korrelationsanalyse erfolgte anhand der Pearson-Korrelation ebenso mit SPSS für MS Windows (Version 12.0). Graphiken sind mit Microsoft Office Excel 2000 erstellt worden.