

**Molekularbiologische Parameter liegemilieubedingter
Knochenalterung
– Implikationen für die biologische Spurenkunde**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie
der Ludwigs-Maximilians-Universität München



von
Michaela Harbeck

Eingereicht zur Beurteilung am: 6.11.2006

Erstgutachter: Prof. Dr. Grupe

Zweitgutachter: Prof. Dr. Haszprunar

Tag der mündlichen Prüfung: 16.03.2007

Dankenswerterweise wurde die vorliegende Arbeit durch ein Begabtenstipendium der Christian-Albrechts-Universität Kiel, sowie ein Promotionsabschlußstipendium der Frauenbeauftragten der Ludwigs-Maximilian-Universität München gefördert.

***Manchmal besteht die beste Antwort
aus einer noch interessanteren Frage.***

Terry Pratchett, englischer Autor

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung	1
1	Zusammensetzung und Struktur von Knochen	3
1.1	Organische Grundsubstanz (Osteoid)	3
1.1.1	Kollagen	4
1.1.2	Nichtkollagene Proteine (NCPs) und Lipide	6
1.1.3	Desoxyribonukleinsäure (DNA)	7
1.2	Mineralische Matrix	8
1.3	Kollagen-Kristall-Komposition und Mikrostruktur des Knochens	10
2	Knochen als Informationsquelle	13
2.1	Lumineszenz/Fluoreszenzeigenschaften des Knochenquerschnitts	13
2.2	Informationsgehalt von Kollagen	15
2.2.1	Nahrungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope leichter Elemente (C, N)	15
2.2.2	Aminosäurerazemisierungsanalyse	17
2.3	Erbgut als Informationsquelle	19
2.3.1	Methodische Prinzipien und Problemfelder	19
2.3.2	Anwendungsgebiete	20
2.4	Spurenkundliche Informationen aus der mineralischen Matrix	21
2.4.1	Nahrungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope (C) aus Carbonat	22
2.4.2	Klima- und Migrationsstudien mittels stabiler Isotope (O) aus Carbonat	22
3	Taphonomie: Biostratonomie und Diagenese	23
3.1	Biostratonomie	24
3.1.1	Leichenbrand	25
3.1.2	Erhitzung von Knochen	26

Inhaltsverzeichnis

3.2	Diagenese	27
3.2.1	Diagenetische Veränderung der Mikrostruktur	27
3.2.2	Degradation von Kollagen	28
3.2.3	Degradation von DNA	30
3.2.4	Diagenese der mineralischen Matrix	31
3.2.5	Diagenesebeeinflussende Faktoren	33
3.3	Interstrukturelle Betrachtung und Diageneseindikatoren	34
4	Diagenese und Spurenkunde	36
4.1	Screeningverfahren	36
4.2	Qualitätskontrollen	37
5	Fragestellung und Ziel	39
5.1	Analyse diagenetischer Zusammenhänge	39
5.2	Spurenkunde und Diagenese: Spezielle Fragestellungen	43
II	Material	44
1	Archäologisches Material	45
1.1	Gebökli Tepe	45
1.2	Gürcütepe	46
1.3	Nevalı Çori	47
1.4	Panker	49
1.5	Eiderschädel	50
1.6	Trier	51
1.7	Etting	51
1.8	Kelheim und Unterigling	52
1.9	Hemmingstedt	53
1.10	Flensburg	54
2	Rezentes kremiertes Material	55
3	<i>In vitro</i> degradiertes Material	56
III	Methoden	57
1	<i>In vitro</i> Degradation	59
2	Histologie	61
2.1	Anfertigung von histologischen Präparaten	61
2.2	Mikroskopische Untersuchung und Bildbearbeitung	61
2.3	Bestimmung des Dekompositionsgrades	62
3	Fluoreszenzanalyse	67
3.1	Prüfung der Fluoreszenz und Bildbearbeitung	67
3.2	Beurteilung der Fluoreszenzeigenschaft	68
4	Extraktion von Kollagen	71
4.1	Vorbereitung des Knochenmaterials	71
4.2	Kollagen-Säureextraktion (SE)	71
4.3	Kollagen-Gelatineextraktion (GE)	72
5	Bestimmung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades	73
6	Aminosäureanalyse	75
7	Extraktion des mineralischen Anteils	77
8	Bestimmung des Kollagen- und Mineralgehaltes	77

9	Analyse stabiler Isotopenverhältnisse, C und N-Gehalt	78
9.1	Bestimmung der C- und N –Isotopenverhältnis sowie deren Gewichtsprozent in Kollagen	78
9.2	Bestimmung der C und O –Isotopenverhältnisse	79
10	Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA)	80
11	Molekulargenetische Analyse	82
11.1	Vorbereitung und Aufreinigung des Knochenmaterials	82
11.1.1	Archäologisches Material	82
11.1.2	Kremiertes Material	83
11.1.3	<i>In vitro</i> degradiertes Material	83
11.2	DNA-Extraktion	83
11.3	Agarosegelelektrophorese	84
11.4	Amplifikation mittels PCR	85
11.4.1	Duplex-PCR	86
11.4.2	Triplex-PCR	87
11.4.3	Autosomale Multiplex-PCR	89
11.5	Fragmentlängenanalyse und Allelbestimmung	90
12	Statistische Analysen	92
12.1	Zusammenhänge von Merkmalen	92
12.2	Multivariate Analysen	94
12.3	Signifikanztests	95
IV	Ergebnisse	97
1	Ausprägung, Verteilung und intrastrukturelle Zusammenhänge	98
1.1	Mikrostruktur	98
1.1.1	Oxford histologischer Index (OHI)	99
1.1.2	Doppelbrechung	102
1.1.3	Mikrofissuren	103
1.1.4	Bakterieller Befall	104
1.1.5	Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen	105
1.1.6	Diffuses exogenes Material	105
1.1.7	Braune Verfärbung unter Strukturerehalt	106
1.1.8	Zusammenhänge innerhalb der mikrostrukturellen Merkmale	108
1.2	Fluoreszenz	112
1.2.1	Blauindex	112
1.2.2	Zusätzliche Farbgebung	116
1.2.3	Zusammenhänge innerhalb der Fluoreszenzeigenschaften	120
1.3	Kollagen	123
1.3.1	Prozentualer Anteil des Kollagens in Gew%	123
1.3.2	C%,N% und C/N	126
1.3.3	Aminosäureprofile	129
1.3.4	Asparaginsäurerazemisierungsgrad (ARG)	140
1.3.5	Intramolekulare Zusammenhänge	142
1.4	DNA	151
1.4.1	Signale der Agarosegelelektrophorese	151
1.4.2	Amplifizierbarkeit mittels Duplex- bzw. Triplex-PCR	152
1.4.3	Inhibitortests	153
1.4.4	Multiplex-PCR: Fragmentierungsgrad	154
1.4.5	Intramolekulare Zusammenhänge	155

Inhaltsverzeichnis

1.5	Mineralische Matrix	157
1.5.1	Prozentualer Anteil anorganischer Substanz	157
1.5.2	Ca/P-Quotient	159
1.5.3	Elementkonzentrationen	160
1.5.4	Interne Zusammenhänge der Merkmale	162
1.6	Verhältnisse der stabilen Isotope von C, N und O	163
2	Interstrukturelle Zusammenhänge	166
2.1	Korrelation der Merkmale	166
2.1.1	Zusammenhänge von histologischen mit biomolekularen und mineralischen Merkmalen	166
2.1.2	Zusammenhänge biomolekularer Merkmale	172
2.1.3	Zusammenhänge von biomolekularen Merkmalen und mineralischer Matrix	175
2.2	Zusammenhang der Fluoreszenzeigenschaften mit anderen Merkmalen	176
2.3	Zusammenhänge mit Individualdaten	185
3	Diagenese und Spurenkunde: Spezielle Fragestellungen	188
3.1	Aminosäurerazemisierung und Erhitzungsvorgänge	188
3.2	Screeningmöglichkeiten	190
3.2.1	Kollagen	190
3.2.2	DNA	195
3.3	Kollagenqualitätskriterien	197
3.3.1	Überprüfung der Kollagenqualitätskriterien anhand des <i>in vitro</i> degradierten Materials	197
3.3.2	Überprüfung des archäologischen Materials	199
3.4	Überprüfung der stabilen Isotopenwerte des Carbonats	200
V	Diskussion	201
1	Diageneseprozesse	202
1.1	Diagenesestatus der analysierten Merkmale	202
1.1.1	Mikrostruktur	202
1.1.2	Fluoreszenz	208
1.1.3	Kollagen	213
1.1.4	DNA	223
1.1.5	Mineralische Matrix	225
1.2	Interstrukturelle Zusammenhänge	229
1.2.1	Zusammenhänge von histologischen mit biomolekularen und mineralischen Merkmalen	229
1.2.2	Zusammenhänge biomolekularer Merkmale	231
1.2.3	Zusammenhänge biomolekularer Merkmale und mineralischer Matrix	234
1.2.4	Diagenesetypologie	236
1.3	Einflussfaktoren	239
1.3.1	Externe Umweltfaktoren und Liegezeit	239
1.3.2	Interne Faktoren	244
1.4	Besondere biostratonomische Umstände	245
1.4.1	Kremiertes Material	245
1.4.2	Formalinbehandeltes Material und Huminstoffkonservierung	248
1.5	Resultierendes Bild taphonomischer Prozesse	252
1.6	Diageneseindikatoren	257

2	Diagenese und Spurenkunde	259
2.1	Gewinnung von Biomolekülen	259
2.1.1	DNA	259
2.1.2	Kollagen	262
2.2	Nutzbarkeit von kremiertem Material in der Spurenkunde	263
2.3	Asparaginsäurerazemisierungsgrad als Anzeiger für Erhitzungsereignisse	265
2.5	Screeningmethoden	266
2.5.1	Screening auf Kollagenquantität und -qualität	266
2.5.2	Screening auf DNA-Amplifizierbarkeit	268
2.6	Kollagenqualitätskriterien	269
2.6.1	Diagenetische Modifikation von stabilen C- und N-Isotopenwerten	269
2.6.2	Überprüfung der Kollagenqualitätskriterien	270
2.6.3	Abschließende Beurteilung und Empfehlung	274
2.7	Validität der stabilen Isotopenverhältnisse des Carbonats	275
3	Schlussfolgerung, offene Fragen und Ausblick	278
VI	Zusammenfassung	283
VII	Literaturverzeichnis	285
VIII	Anhang	313
a)	Abkürzungsverzeichnis	313
b)	Rohdaten	314

Erklärung

Lebenslauf

Danksagung

I

Einleitung

Knochen- und Zahnmaterial ist häufig das letzte direkte Zeugnis vergangenen Lebens. Diese bedeutende Informationsquelle über Individuen vergangener Zeiträume und ihre Lebens- und Umweltbedingungen machen sich Disziplinen wie die Zooarchäologie, Evolutionsbiologie und Paläoanthropologie zu Nutze. Auch bei der Erforschung des *Homo sapiens* und seiner Lebensumstände in der prähistorischen Anthropologie stehen körperliche Relikte im Vordergrund. Sie stellen als einzige Informationsquelle keine kulturellen Artefakte dar, sondern ermöglichen einen direkten Zugang zur Rekonstruktion der physischen Interaktion des Menschen mit seiner Umwelt auf Populationsebene (Grupe et al. 2005). Knochenfunde sind darüber hinaus relevant für die Rechtsmedizin und forensische Anthropologie, wobei hier Fragen nach Einzelschicksalen und Rekonstruktionen von Kapitaldelikten im Fokus der Untersuchungen stehen.

Die Informationen aus Knochenmaterial sind vielfältig und stammen aus allen Ebenen seiner Organisation, über die Abschnitt I: 1. eine Übersicht bietet. Um sich diese Informationen nutzbar machen zu können, wurden und werden eine Reihe spurenkundlicher Methoden entwickelt. Die für die vorliegende Arbeit relevanten Verfahren werden in Abschnitt I: 2 besprochen.

Bei der Analyse nichtrezenten Materials besteht die Gefahr, dass dieses während seiner Liegezeit diagenetische Veränderungsprozesse durchlaufen hat, die eine Analyse erschweren, verhindern, oder, wenn sie nicht erkannt werden, zu falsch positiven Resultaten führen können (z.B. Brandt et al. 2002, Edward & Benfer 1993, Parsons & Weedn 1997). Abschnitt I: 3 fasst die Erkenntnis über diese postmortalen Knochenalterungsprozesse (Diagenese) zusammen.

I Einleitung

Die Erfolgsaussichten der in der biologischen Spurenkunde angewandten Methoden hängen folglich wesentlich von dem Ausmaß dieser diagenetischen Prozesse ab. Die Zusammenhänge zwischen Diagenese und Spurenkunde, sowie Möglichkeiten zur Identifikation diagenetischer Veränderungen wird in Abschnitt I: 4 behandelt. Die diagenetische Veränderung des Knochenmaterials kann darüber hinaus selbst zur Informationsquelle und damit zum Ziel spurenkundlicher Analysen werden. Dies ist bei verschiedenen Datierungsmethoden, wie z.B. der C^{14} -Datierung, der Fall (u. a. Hedges 2001, Sillen & Parkington 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst grundlegende Prinzipien diagenetischer Prozesse dargestellt und analysiert. Diese Prozesse wirken sich auf alle Ebenen des Knochenmaterials aus. Weiterhin sollte festgestellt werden, ob und inwieweit Zusammenhänge zwischen diagenetischen Veränderungen verschiedener Knochenebenen bestehen. Im Vordergrund stand dabei die Untersuchung von Biomolekülen (Kollagen, DNA) des humanen Knochens.

In einem zweiten Schritt wurden Aussagemöglichkeiten der biologischen Spurenkunde unter Berücksichtigung der über den diagenetischen Vorgang gewonnenen Erkenntnisse analysiert.

Informationen über Zusammenhänge diagenetischer Prozesse innerhalb einer und zwischen verschiedenen Knochenebenen sollten dazu dienen, Indikatoren bzw. Kriterien für den Erhalt von Biomolekülen zu evaluieren bzw. zu validisieren. Weiterhin wurde geprüft, ob Asparaginssäurerazemisierung als Informationsquelle genutzt werden kann, um biostratonomische Erhitzungsvorgänge zu detektieren.

1 Zusammensetzung und Struktur von Knochen

Knochen bildet als spezielle Form von Bindegewebe, das Endoskelett aller höheren adulten Vertebraten. Neben seiner Stützfunktion, hat das Knochengewebe eine Reihe weiterer physiologischer Aufgaben, wobei eine der wichtigsten die Speicherung und Mobilisierung von Mengen- (vor allem Calcium- und Phosphat) und Spurenelementen ist (Übersicht z.B. bei Rizzoli & Benjour 1999).

Lebender Knochen besteht, in abnehmender quantitativer Reihenfolge, aus Mineral, Kollagen, Wasser, nichtkollagenen Molekülen (NCPs), Lipiden, Gefäßen und Zellen (Boskey 1999).

Die absoluten Mengen, ihre Zusammensetzung und die Organisation dieser Bestandteile variieren nach Alter, Gesundheitszustand, Ernährung, Knochenstruktur und Spezies (z.B. Bailey et al. 1998, Boskey 1996, de Ricqlés 1993, Gertner 1999, Rosen 1999, Tzaphlidou 2005). Generell lässt sich sagen, dass der Knochen mit zunehmendem Alter Mineralien verliert, seine Masse abnimmt und poröser wird (Medina 1998), während sich auf biochemischer Ebene z.B. der Verknüpfungsgrad von Kollagen erhöht (Voet & Voet 1994).

Die Angaben zu den durchschnittlichen quantitativen mineralischen und organischen Anteilen im menschlichem Knochengewebe variieren dementsprechend je nach Quelle: Nach Sandford (1993) 65% mineralischer und 35% organischer Anteil, nach Sandford & Weaver (2000) 23% organischer und 77% anorganischer Anteil, nach Grupe et al. (2005) 70% mineralischer und 21% kollagener Anteil. Im Folgenden wird von einem Trockengewicht für kompakte Knochen adulter Individuen von ca. 70 Gewichtsprozenten (Gew%) anorganischer Mineralsubstanz und ca. 30 Gew% organischem Material ausgegangen (nach Lyman 1994).

Allen Knochen gemeinsam ist mineralisiertes Kollagen als Basiseinheit und ihre hochkomplexe Struktur, welche bis zu sieben hierarchische Organisationsgrade beinhaltet (Weiner & Traub 1992, Weiner & Wagner 1998). Die unterste Stufe der hierarchischen Struktur stellen die Hauptkomponenten der organischen und anorganischen Grundsubstanz (siehe I: 1.1 und I: 1.2), die sich zu mineralisierten Kollagenfibrillen organisieren und zusammen mit dem Gefäßsystem des Knochens Osteone bilden, welche die Mikrostruktur des Knochens bestimmen und übergeordnete Strukturen wie spongiösen bzw. kompakten Knochen bilden (siehe I: 1.3).

1.1 Organische Grundsubstanz (Osteoid)

Die Hauptkomponente der organischen Grundsubstanz (Osteoid) stellt mit ca. 90% Kollagen (ca. 21 Gew% des Gesamtknochengewichtes). Die restlichen 10% bestehen aus nichtkollagenen Proteinen und Lipiden (DeNiro & Weiner 1988), sowie sehr geringen Anteilen von Zellbestandteilen wie der Desoxyribonukleinsäure (DNA).

I Einleitung

1.1.1 Kollagen

Kollagen des reifen Knochens besteht hauptsächlich aus Kollagen Typ I. Die Kollagenmoleküle vom Typ I bestehen aus drei Polypeptidketten (eine $\alpha 2(I)$ -Kette und zwei identische $\alpha 1(I)$ -Ketten), die ca. 1000 Aminosäuren lang und in Form einer Tripelhelix (Tropokollagen) gewunden sind. Die Polypeptidstränge weisen die Aminosäuresequenz Glycin-X-Y in vielfacher Wiederholung auf, welche so die enge Windung der Helices ermöglicht. In der Position X und Y findet man häufig Prolin, die Position Y wird oft von Hydroxyprolin oder weniger häufig von Hydroxylysin eingenommen. Die hydroxylierten Aminosäuren sind charakteristische Bestandteile von Kollagen, werden erst nach der Proteinbiosynthese hydroxyliert und dienen der Stabilisierung. Die so gebildete Tripelhelix (Tropokollagen) hat eine Länge von 300nm und einen Durchmesser von 1,25nm. (von der Mark 1999, Weiner & Wagner 1998)

Kollagen besitzt aufgrund dieser speziellen Struktur ein typisches Aminosäureprofil. Ein solches wird in Tabelle I.1 (Daten nach Ambrose 1993, Grupe et al. 2000) dargestellt, neben dem prozentualen Anteil von Aminosäuren im Kollagen wird deren prozentualer Kohlenstoff (C)- und Stickstoff (N)- Anteil angegeben. Der aufgrund der typischen Elementverteilung theoretisch postulierbare C/N-Quotient von Kollagen entspricht gemäß dieser Aufstellung 3,21. Der gesamte Gewichtsanteil von Kohlenstoff im Kollagen entspricht 42,7%, der von Stickstoff 15,54%.

Aminosäuren sind dadurch gekennzeichnet, dass sie an ihrem C_2 -Atom (α -C-Atom) vier verschiedene Substituenten tragen: eine Carboxylatgruppe (-COO), eine Ammoniumfunktion (-NH³⁺), ein Wasserstoffatom und eine von Aminosäure zu Aminosäure verschiedene Seitenkette. So stellt das α -C-Atom der Aminosäuren (mit Ausnahme von Glycin) ein chirales Zentrum dar, d.h. es gibt zwei verschiedene Enantiomere (D- und L-Aminosäuren). Aminosäuren werden von fast allen Lebewesen (mit Ausnahme von Bakterien) als L-Aminosäure produziert und so in die Proteine eingebaut (z.B. Bada 1991). Vom Zeitpunkt der Proteinbiosynthese an kann es zu einer spontanen, nicht enzymatischen Umwandlung von der L-Form in die D-Form kommen (Razemisierung).

Die einzelnen Aminosäuren werden durch die kovalente Bindung zwischen der Carboxylatgruppe des α -C-Atoms der einen Aminosäure und der Aminofunktion des α -C-Atom der anderen Aminosäure unter Wasserabspaltung zu den die Tripelhelix bildenden Peptidketten verknüpft (Peptidbindung).

Tab. I.1: Aminosäuren- und Elementkomposition von humanem Knochenkollagen (Kollagen I -Standard nach Grupe et al. 2000, restliche Angaben nach Ambrose 1993)

Aminosäure	Kollagen I Standard (nmol%)	Kollagen I, rezenter humaner Knochen (nmol%)	C-Atome pro Aminosäure	C% im Kollagen	N-Atome pro Aminosäure	N% im Kollagen
Asparaginsäure (asp)	1,31	4,4	4	4,61	1	3,69
Hydroxyprolin (OH-pro)	4,69	8,9	5	11,65	1	7,47
Threonin (thr)	0,86	1,7	4	1,78	1	1,43
Serin (ser)	0,24	3,6	3	2,83	1	3,02
Glutaminsäure (glu)	2,25	7,4	5	9,69	1	6,21
Prolin (pro)	12,01	13	5	17,02	1	10,91
Glycin (gly)	39,92	22,4	2	17,49	1	28,22
Alanin (ala)	18,19	11,2	3	8,8	1	9,4
Valin (val)	1,47	2,5	5	3,27	1	2,1
Methionin (met)	0,33	0,5	5	0,65	1	0,42
Isoleucin (ile)	1,04	0,9	6	1,41	1	0,76
Leucin (leu)	2,37	2,3	6	3,61	1	1,93
Tyrosin (tyr)	0,49	0,3	9	0,71	1	0,25
Phenylalanin (phe)	1,21	1,2	9	2,83	1	1,01
Hydroxylysin (OH-lys)	1,04	0,5	6	0,79	2	0,84
Lysin (lys)	1,82	2,7	6	4,24	2	4,53
Histidin (his)	0,36	0,5	6	0,79	3	1,26
Argenin (arg)	4,13	5	6	7,85	4	16,78

Die Tripelhelices lagern sich linear-parallel zu Mikrofibrillen zusammen. Dabei liegen die einzelnen Tripelhelices zwar linear hintereinander, aber zwischen ihren Enden sind Lücken von ca. 35nm. Weiterhin liegen die nebeneinander liegenden, benachbarten Tripelhelixmoleküle um 68nm versetzt (Siehe Abb. I.1). (Robins 1999, Weiner et al. 1999)

Die Tropokollagene in den Fibrillen werden durch trivalente Bindungsstellen ihrer Enden miteinander verbunden. Diese so genannten Hydroxypyridium-Bindungen sind sehr stabil und zeigen mit zunehmendem Alter des Knochens keine Veränderung (Zioupos et al. 1998). Weitere enzymatisch katalysierte Cross-links anderer Aminosäurereste (meist Hydroxylysin und Lysinreste) nehmen zunächst intermediäre Stadien ein, denen eine Reifung in stabilere kovalente Verbindungen folgt. Diese Cross-links, sowie ionische und hydrophobische Interaktionen von Seitenketten sorgen für zusätzliche Stabilität der Fibrillen. (Bailey et al. 1998, Miles et al. 2000). Der Durchmesser und die Länge dieser Fibrillen sind gewebe- und altersabhängig (Tzaphlidou 2005).

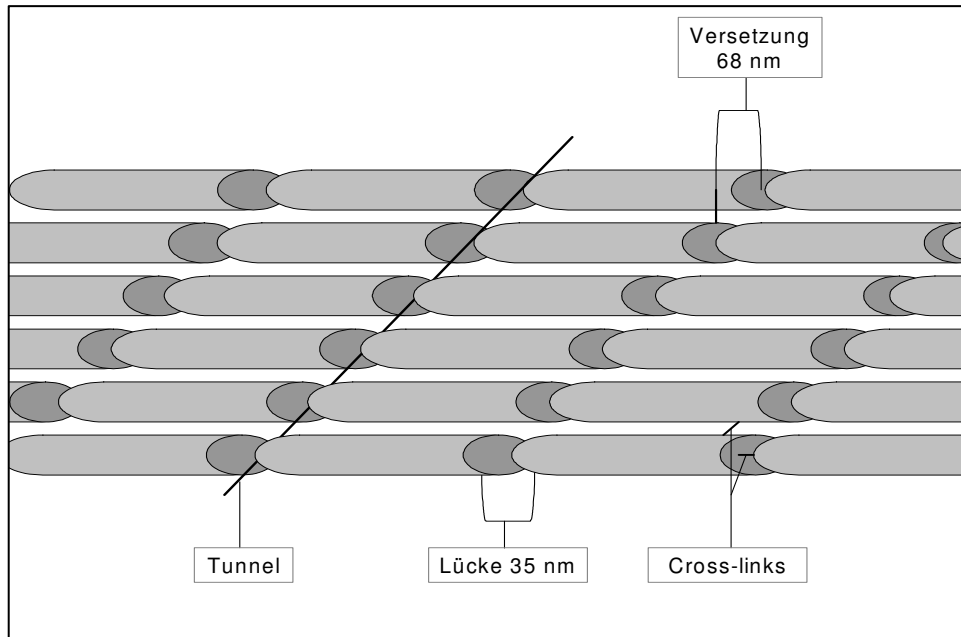


Abb. I.1: Zusammenlagerung der Tripelhelices (graue Zylinder) zu Fibrillen (verändert nach Robins 1999 und Weiner & Wagner 1999)

Kollagen Typ I im Knochenmaterial ist unter physiologischen Bedingungen aufgrund seiner hoch geordneten Struktur und den zusätzlich für Stabilität sorgenden Mechanismen wasserunlöslich. Wenn die Tropokollagen-Helix denaturiert wird (z.B. durch Erhitzen, extreme pH-Werte, Salz) werden die gestreckten Aminosäureketten gelockert, die Fibrillen schrumpfen in der Länge und expandieren im Durchmesser. Dies führt zum Öffnen der Helix und der Entstehung von löslicher Gelatine unter Neuordnung der Valenzen. Die Schmelztemperatur von unmineralisiertem Kollagen liegt bei 68°C, während beim mineralisierten Kollagen im Knochen diese Temperatur mit über 150°C viel höher liegt (Kronick & Cooke 1996, Miles & Ghelashvili 1999).

1.1.2 Nichtkollagene Proteine (NCPs) und Lipide

Knochen enthalten neben Kollagen eine Vielzahl von nichtkollagenen Proteinen (NCPs), die unter anderem aus den spezialisierten Knochenzellen und aus dem zirkulierenden Blutplasma stammen. Die Menge und Anzahl dieser NCPs variiert mit dem Alter der Individuen (Tuross 1993). Die Knochenproteine werden unterteilt in mineralgebundene und nichtmineralgebundene Proteine (hauptsächlich Serumproteine). Funktion und Wesen der mineralgebundenen Knochenproteine sind bis heute nicht geklärt, man weiß allerdings, dass zahlreiche NCPs eine Vermittlerrolle bei der strukturellen Organisation von Kollagen und Apatit spielen (Grupe et al. 2005). Eines der am häufigsten vorkommenden NCPs ist das Osteocalcin (ein bis zwei Gew%). Es ist ein aus 43 Aminosäuren bestehendes sehr kleines mineralgebundenes Protein, das sich im rezenten Knochen primär in der extrazellulären Matrix des Knochens und in kleinen Mengen auch im Blut befindet. Seine Funktion ist bis heute nicht ganz geklärt, eine Beteiligung an Knochenauf- bzw. umbauprozessen wird angenommen (Boskey 1998, Gundberg & Nishimoto 1999). Rezenter Knochen enthält weiterhin etwa 0,5 Gew% Lipide (Liden et al. 1995). Sie sind hier wie in anderen Geweben Bestandteile der Zellmembranen und Energiespeicher.

1.1.3 Desoxyribonukleinsäure (DNA)

Quantitativ vernachlässigbar, aber von großem Informationsgehalt sind die DNA-Moleküle der Knochenzellen.

DNA ist ein Polymermolekül, das aus sich wiederholenden Nukleotideinheiten besteht. Diese Nukleotideinheiten bestehen wiederum aus einer Base (aromatische Heterocyclus), die mit einem Zucker (Desoxyribose) über Glykosidbindung verbunden ist, der wiederum mit Phosphorsäure verestert ist. Über die Phosphorsäure sind die einzelnen Nucleoside zu einem DNA-Strang verbunden (Phosphordiester).

Die Phosphordiesterbindung befindet sich zwischen dem 3'-C eines Zuckerrestes und dem 5'-C des nächsten Zuckerrestes, so dass der DNA-Strang eine Linearität aufweist (5' und 3'-Ende).

Das DNA-Molekül liegt als Doppelhelix vor, in dem sich zwei DNA-Einzelstränge (mit unterschiedlichen Polaritäten) in Form eines Doppelstranges zu einer Schraube verdrehen. Die Basen liegen im Inneren der Doppelhelix, dabei ist jede Base in einem Strang mit einer komplementären Base in einem anderen Strang durch Wasserstoffbrücken verknüpft (Adenin komplementär zu Thymin, Guanin zu Cytosin). Die Bindung zwischen Cytosin und Guanin ist aufgrund dreier Wasserstoffbrückenbindungen etwas stärker als die nur zwei Wasserstoffbrückenbindungen aufweisende Verbindung zwischen Adenin und Thymin. Der Bereich der Basenpaarung ist unpolar, während die Oberfläche des Moleküls wegen der Zucker- und Phosphat-Reste des Rückgrates polar und negativ geladen ist. Die Länge eines DNA-Moleküls wird mit der Anzahl seiner Basenpaare (bp) beschrieben.

Da die beiden Stränge durch nichtkovalente Wechselwirkung zusammengehalten werden, kann die DNA-Doppelhelix durch Erhitzen, dem Aussetzen extremer pH-Werte oder der Präsenz von chemischen Denaturanten wie Formamid bzw. Harnstoff bei Anwesenheit von Wasser leicht in Einzelstränge getrennt werden (Denaturierung). Die Schmelztemperatur von DNA in Lösung entspricht 70 bis 90°C (abhängig von der Basensequenz). Unter geeigneten Bedingungen renaturieren sich denaturierten DNA-Abschnitte wieder.

Die Zellen im Knochen enthalten, wie jede Zelle des menschlichen Körpers (mit wenigen Ausnahmen wie den roten Blutkörperchen), einen Zellkern, 46 Chromosomen (22 Paare autosomaler Chromosomen und ein Paar Geschlechtschromosomen (XX oder XY)). Jedes Chromosom enthält wiederum ein einzelnes DNA-Molekül mit einer Länge von 55 bis 250 Millionen Basenpaaren. Die DNA-Moleküle in Chromosomen sind mit Histonen und anderen strukturellen Proteinen assoziiert und so in einer dichten, kompakten Form gelagert.

Einzelne zusammengehörige Abschnitte des DNA-Moleküls werden als Gene bezeichnet (Information einer Merkmalsausprägung), sie sind durch das Auftreten der Chromosomen in Paaren (je ein väterliches und ein mütterliches) in zwei Ausführungen vorhanden. Ein Gen kann in zwei oder mehreren Versionen existieren, jedes mit kleinen Unterschieden in der Nukleotidsequenz, aber mit derselben Funktion. Diese Variationen werden Allele genannt. Beim Vorhandensein von zwei unterschiedlichen Allelen in einem Chromosomensatz spricht man von Heterozygotie, sind beide Gene gleich ausgeprägt von Homozygotie (Kleinig & Sitte 1999).

Ein großer Anteil dieser nukläeren DNA hat keine expressive Funktion (nicht-codierende Sequenzen), während nur ca. 5% der DNA genetische Informationen enthalten (protein-codierende Sequenzen). Etwa 20 bis 30% des humanen Genoms enthalten repetitive Sequenzen, also stetige Wiederholungen des gleichen Nucleotid-Motivs (Parson & Weedn 1997).

I Einleitung

Liegen diese Wiederholungseinheiten strukturell hintereinander geschaltet (Tandem-Repeats) und ist das wiederholte Motiv größer als sieben Basenpaare, spricht man von Minisatelliten oder VNTRs (variable number of tandem repeat). Sind die Motive kurz, werden die repetitiven DNA-Abschnitte als Mikrosatelliten (ein bis sechs bp) oder STRs (Short tandem repeats, zwei bis sieben bp) genannt (Brinkmann & Wiegand 1997). Da diese repetitiven Elemente nichtcodierend sind, werden Mutationen von der natürlichen Selektion toleriert, so können sich viele Varianten in einer Population über die Zeit anreichern. Repetitive Sequenzen haben deshalb typischerweise viele Allele, mit dem Ergebnis, dass viele Individuen heterozygot sind.

DNA-Moleküle befinden sich außer im Nukleus auch in den Mitochondrien der Zellen (mitochondriale DNA, mtDNA). In jeder Zelle existieren über 800 Mitochondrien, jedes Mitochondrium hat über 10 DNA-Moleküle, so dass mt-DNA-Moleküle in einer sehr hohen Anzahl vorliegen. mtDNA ist ein nur 16569bp langes, zirkuläres Genom, kodiert für 37 Gene und wird mütterlicherseits vererbt (Anderson et al. 1991). Die tierische mtDNA ist sehr kompakt und enthält keine oder nur wenig nichtkodierender DNA zwischen den Genen (codierende Sequenzen). Die einzige nichtkodierende DNA-Sequenz der humanen mtDNA befindet sich in dem sog. displacement loop (D-Loop). Im humanen mt-Genom sind die polymorphesten Abschnitte der nichtkodierenden DNA-Sequenzen in zwei hypervariablen Regionen konzentriert, die jeweils ca. 300bp lang sind (HV 1 und HV 2) (Parson & Weedn 1997).

1.2 Mineralische Matrix

Die Hauptkomponente der mineralischen Matrix im rezenten Knochen bildet biogener, carbonathaltiger Hydroxylapatit (im Folgenden auch nur als Apatit bzw. Bioapatit bezeichnet). Die ideale Formel für Hydroxylapatit lautet $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Charakteristisch für diese Verbindung ist ihre kristalline Struktur, in der prinzipiell die Möglichkeit der Substitution besteht. Im Knochen tritt folglich kein stöchiometrischer Hydroxylapatit auf, sondern er ist mit Calcium- und Hydroxylionen abgereichert und durch zahlreiche Substitutionen, vor allem Carbonat (CO_3^{2-}) gekennzeichnet (LeGeros 1981). Das Carbonat (drei bis vier Gew%) kann die Hydroxidionen oder Phosphationen ersetzen und/oder an der Oberfläche des Apatit absorbieren (lösliches Carbonat). Weitere Substituenten können Magnesium, Kalium, Fluor, Phosphat und Citrate sein (Boskey 1999).

Aufgrund der Stoffwechsellabhängigkeit der Knochenzusammensetzung und der Funktion des Knochens als Speicher bestimmter für den Stoffwechsel notwendiger Elemente schwanken die unterschiedlichen Anteile des Hydroxylapatits. Auch Individualalter, Tierspezies, Knochentyp und Geschlecht spielen eine Rolle (Becker et al. 1968, Boskey 1996, D'Haese et al. 1999, Price et al. 1985).

Tabelle I.2 zeigt die Referenzwerte für den Elementgehalt in rezenten Knochen nach verschiedenen Autoren. Die Angabe der Werte erfolgt in ppm (parts per million) und als Konzentrationsquotient (Elementgehalt bezogen auf den Calciumwert multipliziert mit 1000). Abweichend hiervon wird, wie in der Literatur üblich, der Calciumwert auf Phosphat bezogen und bildet so das Masseverhältnis von Calcium zu Phosphat (Ca/P). Nach Herrmann et al. (1990) zeigen rezente Knochen (Trockengewicht) Werte zwischen 2,1 bis 2,3.

I Einleitung

Tab. I.2: Durchschnittliche Elementkonzentrationen (in ppm bzw. als Konzentrationsquotient bezogen auf den Calciumwert x 1000) in Knochen nach verschiedenen Autoren.

Element	Substitutionsstelle	nach Tütken 2003: rezente Säugetierknochen		nach Hancock et al. 1993: rezente, entfettete, humane Femoraköpfe		nach Gawlik et al. 1982: rezente, entfettete Proben der Crista illiaica		nach Hancock et al. 1993 und Becker et al. 1968 (mit *gekennzeichnete Werte): veraschte rezente Femorapoben	
		Konzentration in ppm	Element/ Ca x 1000	Konzentration in ppm	Element/ Ca x 1000	Konzentration in ppm	Element/ Ca x 1000	Konzentration in ppm	Element/ Ca x 1000
Calcium (Ca)	Ca	380 000		206 000 +/- 2100		210 000		397 000 +/- 12 000	
			Ca/P: 2,26		Ca/P: 2,26		Ca/P: 2,14		Ca/P: 2,21
Phosphat (P)	PO ₄	168 000 +/- 8500		91 000 +/- 9000		98 000		180 000 +/- 70 000	
Magnesium (Mg)	Ca	3000 - 11 0000	8 - 29	2250 +/- 400	10,9 +/- 1,9			3800 +/- 400	9,57 +/- 1
Kalium (K)	Ca	< 100 - 750	< 0,26 - 1,97	< 430	< 2,1				
Chlor (Cl)	OH	1000	2,63	5400 +/- 7900	26,21			1600 +/- 500	4 +/- 1,26
Eisen (Fe)	Ca	9 - 111	0,02 - 0,29	< 33	< 0,16	183	0,87	< 90	< 0,22
Mangan (Mn)	Ca	< 5	< 0,01	< 0,17	< 0,02			< 1,5	0,004
Zink (Zn)	Ca	70 - 550	0,18 - 1,45	131 +/- 14	0,63 +/- 0,06	151	0,71	310 +/- 20	0,78 +/- 0,05
Silicium (Si)	PO ₄	80 - 160	0,21 - 0,42					26*	
Flour (F)	OH	200	0,53			62,6	0,3		
Strontium (Sr)	Ca	100 - 4400	0,26 - 11,6	< 126	< 0,6	79	0,38	170 +/- 30	0,43 +/- 0,07
Aluminium (Al)	PO ₄	15 - 130	0,04 - 0,34	< 10	< 0,05	19,5	0,09	< 20	< 0,05
Barium (Ba)	Ca	5 - 570	0,01 - 1,5	< 43	< 0,2			< 110	< 0,27
Natrium (Na)	Ca	7700 - 15200	20,26 - 40	5100 +/- 400	24,76 +/- 1,94	4900	23,3	9700 +/- 1400	24,43 +/- 3,53
Schwefel (S)	PO ₄ ; Kollagen	300 - 1100	0,8 - 2,9						
Titan (Ti)	Ca			< 33	< 0,16			< 60	< 0,15
Uran (U)	Ca	0,01 - 0,09	0,00003	< 0,3	< 0,004			< 0,7	0,002

Im Stoffwechselgeschehen werden Haupt- von Spurenelementen unterschieden. Hauptelemente sind Elemente, die in größeren Mengen in tierischen und menschlichen Körpern gefunden werden, wie Kohlenstoff (C), Wasserstoff (H), Stickstoff (N), Calcium (Ca), Phosphor (P), Sauerstoff (O), Kalium (K), Schwefel (S), Chlor (Cl), Natrium (Na) und Magnesium (Mg).

I Einleitung

Spurenelemente kommen in geringen Konzentrationen vor (weniger als 50mg pro Kilogramm Körpergewicht), einige von ihnen sind essentiell, wie Eisen (Fe), Zn (Zn), Kupfer (Cu), Mangan (Mn), Fluor (F) und Selenium (Se). Sie sind oft assoziiert mit Enzymen und übernehmen so eine Funktion bei der Katalyse chemischer Reaktionen (nach Sandford & Weaver 2000).

Die Kristalle des Hydroxylapatits sind ca. 4 bis 10nm breit, 2 bis 4nm hoch und 13 bis 150nm lang (Reiche et al. 2002, Wess et al. 2001). Entgegen der normalerweise hexagonalen Struktur von Apatitkristallen bildet Bioapatit dünne Platten, die morphologisch unregelmäßig ausgebildet und von geringer kristalliner Ordnung sind (Camacho et al. 1999, Newesely 1989, Plate et al. 1998). Durch die geringe Größe der Kristalle ergibt sich für das Knochenmineral insgesamt eine sehr große Oberfläche. Alter und Spezies bestimmen die Größe der Bioapatitkristalle, wobei die Kristallgröße mit dem Alter zunimmt (Rey et al. 1996). Da Hydroxylapatit isomorph mit einer Reihe von anderen Apatiten ist, können oben genannte Substitutionen stattfinden, ohne dass es zu einer Strukturänderung der Kristalle kommt, während die große reaktive Apatitoberfläche mit zum Teil nicht gesättigter Oberflächenladung adsorbtive Elementbindungen wie z.B. von Carbonat (s. o.) ermöglicht.

1.3 Kollagen-Kristall-Komposition und Mikrostruktur des Knochens

Kollagen und Kristall sind im Knochen eng miteinander verbunden. Die Kollagenmoleküle (Tropokollagen) aggregieren sich zu Kollagenfibrillen (Mikrofibrillen), welche das makromolekulare Kollagengerüst für das biogene Hydroxyapatit bilden. Kleinere Bioapatit-Kristalle befinden sich in den Löchern oder Lücken innerhalb der Kollagenmikrofibrillen (siehe Abb. I.2), größere Bioapatitkristalle sind zwischen den tripelhelicalen Molekülen oder außerhalb der Fibrillen parallel zu deren Achse angeordnet. (Glimcher 1990, Landis 1996, Weiner et al. 1999) Die enge strukturelle Verbindung von organischer Kollagenphase und der mikrokristallinen Mineralphase hat einen starken Einfluss sowohl auf die Knochenstruktur- und eigenschaften in vivo (z.B. Weiner & Wagner 1998) als auch auf die wechselseitige Erhöhung der Resistenz beider Phasen gegen diagenetische Alterungsprozesse.

Im lebenden Knochengewebe findet ein ständiger Umbau (Remodeling) durch Auflösung und Wiederausfällung der mineralischen Phase statt, wobei die Umbaurate 2 bis 3% pro Jahr in kompakten Knochen beträgt (Übersicht z.B. bei Dempster 1999).

Die mineralisierten Kollagenmikrofibrillen lagern sich zu Bündeln zusammen (Fibrillen), diese Bündel sind allerdings nicht diskret: Die Mikrofibrillen können von einem Bündel in das nächste laufen. Diese Fibrillen können sich wiederum zu Fasern und anschließend zu Faserbündeln zusammenschließen (siehe Abb. I.2). Je nach Funktion und mechanischer Beanspruchung des Knochens bilden diese Fasern und Faserbündel unterschiedliche Muster aus (Weiner & Wagner 1998).

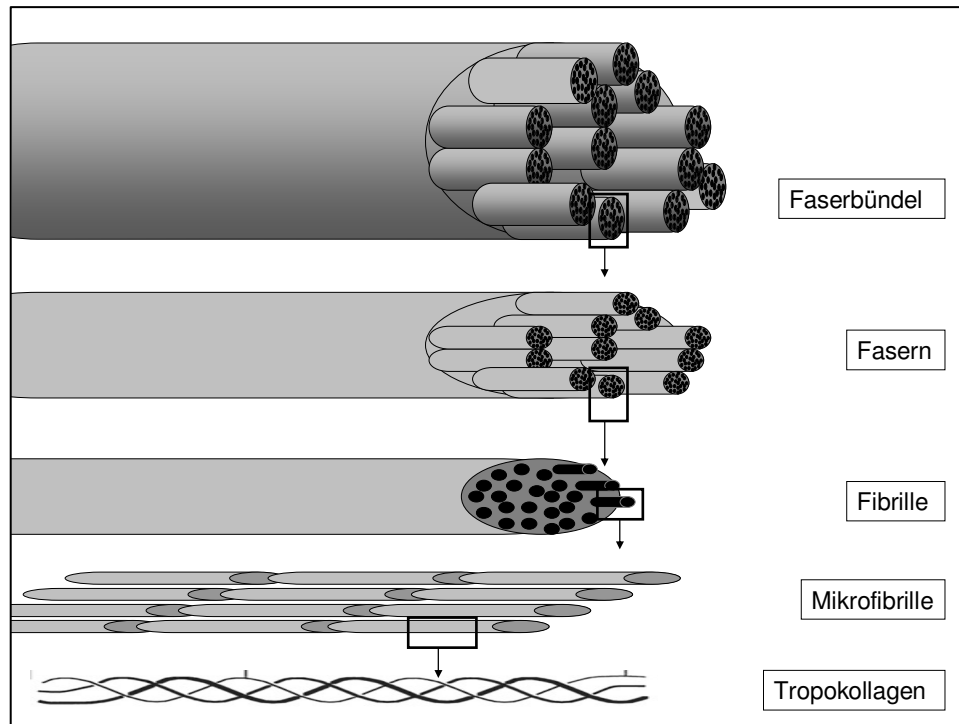


Abb. I.2: Verschiedene Ebenen der Kollagenorganisation

Die Mikrostruktur des Knochengewebes kann anhand der verschiedenen Strukturen, welche die Kollagenfasern auf verschiedenen Ebenen ausbilden können klassifiziert werden.

Nach Schultz (1997b) werden in der Praxis auf der untersten Organisationsebene bei Menschen Geflechtknochen und lamelläre Knochen unterschieden.

Der humane Geflechtknochen formt sich schnell, hat zufällig orientierte Kollagenfasern und Mineralkristalle. Er ist die erste Knochenform in fetalem Zustand und nach einer Knochenfraktur. Im adulten Zustand wird er durch lamellären Knochen ersetzt, der sich langsamer formt. Lamellärer Knochen hat eine organisierte Struktur, in dem die mineralisierten Kollagenfasern in klar definierten Schichten liegen, wobei Richtung und Winkel der Kollagenfaser einer Schicht gegen die nächste Schicht alternieren.

Lamellärer Knochen bildet wiederum unterschiedliche Formen aus. Die am häufigsten vorkommenden Typen sind nebeneinander liegende, zylindrische Strukturen von 0,2mm Durchmesser (Havers'sche Systeme oder Osteone). Sie verlaufen parallel zur Longitudinalachse des Knochens. Jedes Osteon wird durch gleichlaufende Lagen von Kollagenfibrillen gebildet (Lamellenschicht), die helical um einen zentralen Gefäßkanal (Havers'scher Kanal) verlaufen. Dabei alterniert die Richtung der Kollagenfasern der unterschiedlichen Lamellenschichten. Die Haversschen Kanäle werden untereinander durch die Volkmannschen Kanäle verbunden, die querorientiert verlaufen und nicht von Lamellen umgeben sind (Giraud Guille et al. 2005). Die Anzahl der Osteone in einem Knochen ist altersabhängig (Uytterschaut 1993).

Auf einer höheren Organisationsebene unterscheidet man kompakten von spongiösem (bzw. trabekulären) Knochen. Kompakter Knochen ist massiv und wird von lamellären und Geflechtknochentypen gebildet, während spongiöser Knochen große Lücken aufweist und nur lamellär strukturiert ist. Bei allen Säugern sind die Lücken des spongiösen Anteils mit

I Einleitung

Knochenmark gefüllt. Der Ausmaß und die Verteilung von kompaktem und spongiösem Knochengewebe sind abhängig von der individuellen Knochenstruktur und mechanischen Funktionen. Langknochen haben zumeist an ihren Enden (Epiphysen) eher spongiöse Knochenanteile, während kompakter Knochen der Hauptanteil des Schaftes ist (Diaphyse)(Übersicht bei Martin et al. 1998).

Der Querschnitt eines humanen Langknochens ist unabhängig von der Knochenart mikrostrukturell immer ähnlich aufgebaut. Es treten drei verschiedene Lamellensysteme auf: Periostseitig verlaufen parallel angeordnet die äußeren Grundlamellen, zur Mitte hin kommt es zur Ausbildung von Osteonen. Die Lücken zwischen den Osteonen werden durch Schaltlamellen gefüllt, welche die Reste einer älteren Osteonengeneration darstellen. Im inneren Bereich des Querschnitts und auch zwischen den Osteonen werden parallel verlaufende Generallamellen ausgebildet, die wie Osteone längs- und querverlaufende Gefäße enthalten. Zum Markraum gehen die inneren Generallamellen in die Spongiosa über.

Alle drei Lamellenformen sind durch Kittlinien getrennt. Zwischen oder in den Knochenlamellen liegen Knochenzellen (Osteozyten) in Osteocytenspalten, die durch feine Ausläufer miteinander verbunden sind (Herrmann et al. 1990).

Wenn Knochendünnschliffe unter polarisiertem Licht betrachtet werden, wird ein durch Doppelbrechung des Lichtes verursachtes Muster sichtbar. In den zirkulären Lamellen eines Osteons bilden diese Muster ein charakteristisches sog. Brewster-Kreuz (kreuzförmige hell-dunkel-Unterschiede). Die Intensität der Doppelbrechung ist abhängig von der Quantität und Orientierung der Kollagenfibrillen und dem Vorhandensein von Knochenmineral (Giraud Guille 1988 nach Jans et al. 2002). Bei decalcifizierten Knochen ist die Doppelbrechung mit reduzierter Intensität immer noch sichtbar (Garland 1989).

2 Knochen als Informationsquelle

Mittels naturwissenschaftlicher Analysemethoden können aus Knochenmaterial Informationen gewonnen werden. So bieten makroskopische Methoden die Möglichkeit von den morphologischen Merkmalen des Skelettes auf Individualinformationen wie z.B. das biologische Alter, das Geschlecht, Pathologien und metrische Merkmale wie Körperhöhe und Proportionen zu schließen (Übersicht bei Grupe et al. 2005, Herrmann et al. 1990).

Histologische Untersuchungen können zu zusätzlichen und/oder präziseren Informationen, vor allem bei makromorphologisch schlecht erhaltenem Material, führen (Herrmann 1993). Unter anderem kann die Mikrostruktur von Zähnen und Knochen die Bestimmung der Spezies (Harsányi 1993), des chronologischen bzw. biologischen Alters (z.B. Fitzgerald & Rose 2000, Kagerer & Grupe 2001, Robling & Stout 2000) ermöglichen und eine Erweiterung der Diagnose des Gesundheitszustandes darstellen (z.B. Boyce 1993, Gonzáles-Reimers & Arney-de-la-Rosa 1992, Velasco-Vázquez et al. 1999).

In den letzten Jahren hat die naturwissenschaftliche Analyse der molekularen, submolekularen und kristallinen Ebene des Knochens an Bedeutung gewonnen. Vor allem die Analyse von Kollagen (siehe I: 2.2), die molekulargenetische Untersuchung des DNA-Moleküls (siehe I: 2.3) und die chemische Zusammensetzung (insbesondere hinsichtlich der Isotopenkomposition) der mineralischen Komponente (siehe I: 2.4) bieten hochgradiges Informationspotential, während Studien an Lipiden (z.B. Evershed et al. 2001), sowie an NCPs (z.B. Brandt 2002, Collins et al. 2000) weniger vertreten sind.

2.1 Lumineszens-/Fluoreszenzeigenschaften des Knochenquerschnittes

Unter Lumineszenz versteht man das Phänomen, dass ein Material eine Form von Energie absorbiert und als elektromagnetische Strahlung wieder abgibt, welche sich größtenteils im sichtbaren Farbspektrum des Lichtes befindet. Die Erscheinung der Lumineszenz ist dabei unabhängig von der Energiequelle.

Wenn Energie in Form von Lichtphotonen zugeführt wird, spricht man von Photolumineszenz. Man unterscheidet zwei Formen der Photolumineszenz nach der Langlebigkeit der Lumineszenzrückstrahlung: Erfolgt eine sofortige Abstrahlung der absorbierten Energie, spricht man von Fluoreszenz. Von Phosphoreszenz spricht man bei allen Vorgängen, bei denen eine zeitverzögerte Abstrahlung erfolgt (Blasse & Grabmaier 1994).

Frisch angeschliffene Knochenquerschnitte lumineszieren bei Betrachtung im UV-Licht, es erfolgt eine sofortige Abstrahlung der absorbierten Energie. Bei den Knochenquerschnitten handelt es sich dementsprechend um Fluoreszenz.

Eines der größten Probleme der forensischen Praxis ist die Bestimmung der Liegezeit des Skelettmaterials, da sich aus der Liegezeit die Zuständigkeit forensischer bzw. anthropologischer

I Einleitung

Einrichtungen ergibt (z.B. Scheuer 2002). Knochenmaterial mit einer Liegezeit von über 50 Jahren fällt im Regelfall nicht mehr in den forensischen Bereich, da nach diesem Zeitraum meist keine kriminaltechnischen Ermittlungserfolge mehr zu erwarten sind. Eine in der forensischen Praxis häufig genutzte Methode zur Schätzung der Liegezeit ist die Prüfung der Fluoreszenz des Knochenquerschnittes nach frischem Anschliff bei Betrachtung unter UV-Licht.

Erste umfangreiche systematische Analysen erfolgten 1958 durch Berg & Specht, sie stellen eine Abnahme von Fluoreszenz mit zunehmender Liegezeit fest. Allerdings fluoreszieren Knochen mit über 1000 Jahren Liegezeit aufgrund der starken Sekundärmineralisierung auffallend intensiv. Tabelle I.3 zeigt die Befunde von Berg & Specht.

Tab. I.3: UV-Fluoreszenz von Femurquerschnitten in Abhängigkeit von Liegedauer in Jahren nach Berg & Specht (1958)

Liegedauer (Jahre)	UV-Fluoreszenz frisch hergestellter Femurquerschnitte	
	Ausprägung	Farbgebung
0	mittelstark oder schwach	Violett, oft etwas rötlich
2	sehr stark	weißlich mit nur geringem bläulichem Unterton
3	stark	bläulichviolett
5	sehr stark	bläulich
9	mittel	grauviolett bzw. sehr stark weißlichviolett
10	gut	bläulich bzw. sehr stark, weißbläulich
11	gut	bläulich, etwas fleckig
14	gut	weißlichviolett
18	stark	weißbläulich
20	stark,	weißlichviolett
36	gut	bläulich, bräunliche Außen- und Innenzone
56	stark	weißlich mit bläulichem Ton
200 – 500	meist noch recht gut	bläulich, teilweise fleckig graubräunlich
1200	stark	weiß
1400	schwach	graugelblich mit breiter brauner Außenzone
1900	schwach	weißlich
4000	schwach	graugelblich, ohne braune Außenzone
6000	keine bis schwach	grauweißlich mit schmaler brauner Außenzone

Spätere Untersuchungen (Berg 1962, Hunger & Leopold 1978, Knight & Lauder 1969) stellten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Liegezeit und UV-Fluoreszenzeigenschaft des Knochenquerschnittes her, konnten aber keine feinstufige Abstufung wie bei Berg & Specht 1958 bestätigen. Generell sind sich die Autoren einig, dass beim Vorhandensein einer zusammenhängenden bläulichvioletten Fluoreszenz im Gesamtbereich der Kompakta von einer Liegezeit von unter 100 Jahren ausgegangen werden kann, wobei eine nähere Datierung innerhalb dieses Zeitraumes schwierig ist. Ein kompletter Verlust der Fluoreszenzeigenschaften weist nach diesen Autoren auf mindestens 500 Jahre alte Knochen hin. Ein Zusammenhang zwischen Fluoreszenzausprägung und Liegezeit kann anhand von Studien der Fluoreszenz archäologischen Materials nicht bestätigt und ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz auch bei Knochenproben mit einer Liegezeit weit über 100 Jahren festgestellt werden (Harbeck 2002).

Die Fluoreszenzeigenschaft des Knochens wird ebenfalls für andere Fragestellung verwendet, sie wird von Eymann (1964) genutzt um Skeletteile ihren Individuen zuzuordnen. Warren et al. (1999) beschreiben, dass Leichenbrand aus verschiedenen Urnen mit Hilfe von UV-Licht unterschieden werden kann, da Leichenbrand desselben Alters auf gleiche Weise fluoresziert. Die Bestimmung der Liegezeit mittels UV-Fluoreszenz wird in Literatur und Lehrbüchern der Forensik zumindest als Teil umfassenderer Untersuchungen empfohlen (z.B. Berg & Prötsch von Zieten 1998, Raimann et al. 1990, Verhoff & Kreutz 2004, Scheuer 2002), obwohl genaue Ursache und mögliche Umwelteinflüsse auf die Fluoreszenzeigenschaften des Knochenmaterials ungeklärt sind. Weiterhin kann bei archäologischem Knochenmaterial kein Zusammenhang mit der Liegezeit des Knochens festgestellt werden, sondern eher mit seinem Erhaltungszustand (Harbeck 2002). Folglich ist die Liegezeitbestimmung mittels UV-Fluoreszenz kritisch zu betrachten. Die UV-Fluoreszenz von Knochenproben wurde in der vorliegenden Arbeit auf ihre Eignung als Diageneseindikator geprüft (vgl. I: 3.3, sowie I: 5.1).

2.2 Informationsgehalt von Kollagen

Kollagen als Zielmolekül spurekundlicher Analysen wird neben seiner Bedeutung bei der ^{14}C -Datierung (z.B. Taylor 2001) vor allem für die Rekonstruktion der Lebensbedingungen vergangener Zeiträume mittels Analyse stabiler Isotope leichter Elemente in der prähistorischen Anthropologie eingesetzt (Ambrose & Krigbaum 2003). In der Forensik steht die Sterbealtersbestimmung mittels Aminosäurerazemierungsanalysen (Ritz-Timme 1999) im Vordergrund.

Um das Kollagen zu analysieren muss es zunächst aus dem Knochenmaterial extrahiert werden. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Methoden entwickelt (Übersicht und Diskussion z.B. in Ambrose 1993, Katzenberg 2000), deren Produkte in unterschiedlicher Reinheit und Quantität vorliegen.

2.2.1 Nahrungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope leichter Elemente (C, N)

Isotope sind Atome desgleichen Elements mit gleicher Protonenanzahl, aber unterschiedlicher Neutronenanzahl und folglich unterschiedlicher Masse. Die stabilen Isotope bleiben im Gegensatz zu den instabilen, bzw. radioaktiven (wie z.B. ^{14}C) Isotopen mit der Zeit unverändert.

Die, bezogen auf ihr Gesamtatomgewicht, leichten Elemente Kohlenstoff (C) und Stickstoff (N) machen über 32 Gew% des Knochenkollagens aus. Sie kommen in jeweils zwei stabilen Isotopen vor, die sich um nur eine Masseinheit unterscheiden: ^{12}C (98,9%) und ^{13}C (1,1%), ^{14}N (99,6%) und ^{15}N (0,4%) (Prozentangaben aus Katzenberg 2000).

Isotope haben gering differierende chemische und physikalische Eigenschaften. Das schwere Isotop (z.B. ^{13}C) reagiert langsamer als das leichtere Element (^{12}C), so dass es bei dem Transport der Elemente durch biogeochemische Zyklen zu kinetischen Isotopeneffekten kommt (Pate 1994, Pollard & Wilson 2001). Weiterhin sind viele Enzyme (z.B. Enzyme der Photosynthesekomplexe) in der Lage, zugunsten der leichten Moleküle zu diskriminieren

I Einleitung

(z.B. Abelson & Hoerig 1961). Aus diesen Prozessen resultierende Isotopenfraktionierungen führen zu Unterschieden in den Isotopen verschiedener biologischer Materialien, Ökosystemen und Teilen von Ökosystemen. Da die Unterschiede in den Isotopenwerten meist sehr klein sind, werden die Isotopenverhältnisse relativ zueinander betrachtet und in der sog. δ -Notation, gemessen in Promille, angegeben (siehe III: 9). Je positiver ein δ -Wert, desto mehr des schweren Isotopes, ist bezogen auf das leichtere Isotop, in der untersuchten Probe vorhanden.

Generell besteht ein Zusammenhang zwischen den Isotopenraten der (in den Isotopenwerten variierenden) aufgenommenen Nahrung und den im Knochenkollagen beobachteten stabilen Isotopenraten (Balasse et al. 1999, Hare et al. 1991). Da das Knochenkollagen die Aminosäuren hauptsächlich aus dem Nahrungsprotein rekrutiert, zeigen seine Isotopenwerte die Herkunft pflanzlichen und tierischen Proteins an (Ambrose & Norr 1993, DeNiro & Epstein 1978).

Die Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in pflanzlicher Nahrung entstehen durch die unterschiedliche Isotopenfraktionierung von C_3 - und C_4 -Pflanzen, welche verschiedene Photosynthesewege betreiben. C_3 -Pflanzen diskriminieren stärker gegen das atmosphärische ^{13}C (stabiles Isotopenverhältnis des atmosphärischen Kohlenstoffs: $-7,7\text{‰}$) als C_4 -Pflanzen und weisen so niedrigere Werte auf (van der Merwe 1982). Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von C_3 -Pflanzen variieren von -37‰ bis -22‰ , die Werte von C_4 -Pflanzen von -13‰ bis -10‰ (Grupe et al. 2005). Die C-Isotopen-Raten des Kollagens von Herbivoren sind im Bezug auf ihre Nahrung um ca. 5‰ angereichert. Karnivore besitzen um bis zu 8‰ höhere Isotopenraten als ihre Beute (Lee Thorp et al. 1989). Diese Zusammenhänge ermöglichen die Beurteilung von Tieren hinsichtlich ihres Nahrungsverhaltens, C_3 - und C_4 -Pflanzen fressende Herbivore oder Mischformen lassen sich folglich unterscheiden.

Süßwasserpflanzen haben ähnliche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wie terrestrische C_3 -Pflanzen (Pate 1994). Ein Unterschied hinsichtlich der Isotopenverhältnisse zeigt sich ebenfalls zwischen terrestrischen und marinen Pflanzen. Dieser ist bedingt durch die Differenz von ca. 7‰ zwischen atmosphärischem CO_2 und marinem Bicarbonat, so dass marine Pflanzen höhere Werte aufweisen (Katzenberg 2000) und $\delta^{13}\text{C}$ Werte zwischen jenen von C_3 - und C_4 -Pflanzen zeigen (Mays 2000).

Viele Umweltfaktoren können die C-Isotopen-Raten der Flora beeinflussen, was sich ebenfalls auf alle höheren Trophieebenen auswirkt (Übersicht bei van Klinken et al. 2000). Neben klimatischen und physiologischen Gegebenheiten sind vor allem die so genannten fossil-fuel- und Baldachin-Effekte zu nennen. Der fossil-fuel-Effekt beruht auf der Verbrennung fossiler Brennstoffe und Biomasse ($\delta^{13}\text{C}$ von -28‰), was zu einer Abnahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte um $1,4\text{‰}$ in den weltweiten Ökosystemen geführt hat (Keeling 1973, Pate 1994). Unter dem Baldachin-Effekt versteht man die Tatsache, dass das Recycling von CO_2 und somit die Anreicherung von $^{12}\text{CO}_2$ in einem dichtgeschlossenen Wald die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Pflanzen erniedrigt (van der Merwe & Medina 1991).

Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Pflanzen variieren je nach Stickstofffixierungsmöglichkeit zwischen -5‰ und $+20\text{‰}$, Leguminosen haben dabei niedrigere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (Ambrose 1991). Wie auch beim Kohlenstoff reichert sich das schwere Isotop von einer Trophiestufe zur nächsten an, die Unterschiede betragen dabei im Mittel $+4\text{‰}$ (Grupe et al. 2005). Dementsprechend zeigen Herbivore die geringsten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, während Ominivore höhere zeigen und Carnivore die

höchsten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte aufweisen (Ambrose 1991, Sealy 2001). Solche Trophiestufeneffekte werden auch bei laktierenden Säugern innerhalb des eigenen Körpers erzeugt, was zu einem Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in der Milch führt (Katzenberg 2000). In den marinen Ökosystemen sind die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte höher als in terrestrischen (mit Ausnahme von ariden Gebieten), was vor allem an Denitrifikationsprozessen und den längeren marinen Nahrungsketten liegt (Sealy 2001).

Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte sind sehr klimasensitiv und können in trockenen Regionen (u. a. physiologisch bedingt durch Wasserstress bei Tieren) sowie bei ungenügender Proteinaufnahme erhöht sein (Ambrose 1991, Lee Thorp et al. 1993, Heaton et al. 1986).

Die Analyse stabiler leichter Isotope aus Kollagen ermöglicht gemäß dieser Zusammenhänge die Rekonstruktion von Ernährungsmustern (C3- vs. C4-Pflanzen, marine vs. terrestrisch basierter Ernährung), die Trophielevelbestimmung der Spezies und die Bestimmung des Entwöhnungsalters historischer Populationen (z.B. Ambrose et al. 1997, Ambrose et al. 2003, Asam et al. 2004, Balasse & Tresset 2002, Bocherens 2006, Borić et al. 2004, Dittmann & Grupe 2000, Drucker & Bocherens 2004, Dürrwächter et al. 2005, Grupe et al. 2003, Lilie & Richards 2000, Polet & Katzenberg 2003, Privat et al. 2002, Jay & Richards 2006, Richards et al. 2003, Tauber 1981, Yoneda et al. 2001).

2.2.2 Aminosäurerazemisierungsanalyse

Wie in Abschnitt I (1.1.1) beschrieben durchlaufen Aminosäuren nach der Proteingenesese eine spontane Razemisierung, was mit der Zeit zu einer Akkumulation der so entstehenden D-Aminosäuren führt. Dies bildet die Grundlage verschiedener spurenkundlicher Analysemethoden.

Der Razemisierungsvorgang wird von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst: Die Struktur des Proteins, sein biochemisches Umfeld und Metabolismus spielen hierbei eine Rolle. In großen, räumlich aufgebauten Proteinen verläuft der Razemisierungsprozess langsamer als in kleinen Proteinen oder Peptiden (Matsu'ura & Ueta 1980, Ohtani et al. 2000, Ritz-Timme 1999). Die verschiedenen Aminosäuren razemisieren darüber hinaus unterschiedlich schnell. Die schnellste Razemisierungskinetik findet sich bei Asparagin bzw. Asparaginsäure (Asp). Die Razemisierung von L-Asparagin und Asparaginsäure verläuft über ein Zwischenprodukt (Amino-Succinyl-Rest) und endet in beiden Fällen in D-Asparaginsäure.

Die Bildung des Succimids ist innerhalb des Proteins von der lokalen Umgebung abhängig: Seine Bildung erfolgt besonders leicht in terminalen, flexiblen und oberflächlich gelegenen Bereichen des Proteins (Gineyts et al. 2000, van Duin & Collins 1998).

Weitere die Razemisierung begünstigende Faktoren, sind hohe Temperaturen, niedrige pH-Werte und Schwermetallionen (Canoira et al. 2003, Ohtani 1995, Ohtani et al. 2003, Pfeiffer et al. 1995, Smith et al. 1978, Tyler-Cross & Schirch 1991).

Im forensischen Bereich hat sich die Feststellung des Grades der Razemisierung von Aminosäuren als Möglichkeit zur Lebensaltersbestimmung durchgesetzt (Übersicht bei Ritz-Timme 1999, siehe auch Rösing et al. 2005, Waite et al. 1999). Es wird das Verhältnis von D- zu L- Asparaginsäure in permanenten Proteinen (z.B. Kollagen) festgestellt, bei denen ein direkter

I Einleitung

Zusammenhang zwischen Proteinalter und Razemisierungsgrad besteht (Ohtani et al. 1998, Ritz-Timme & Collins 2002). Bei Kenntnis des Proteinalters bzw. aufgrund von statistischen Erhebungen kann so auf das Lebensalter geschlossen werden (Ohtani 1998, Ohtani et al. 2004, Pfeifer et al. 1995, Ritz-Timme et al. 2002).

Auch nach dem Tode eines Individuums findet eine Razemisierung der Aminosäuren statt. Die Razemisierungsreaktion verlangsamt sich allerdings durch das Absinken der Körpertemperatur, so dass es in forensisch relevanten Zeiträumen (siehe I: 2.1) nur zu einer geringfügigen postmortalen Anreicherung von D-Formen kommt, die eine Lebensalterschätzung nicht beeinträchtigen.

Bei längeren Liegezeiten findet eine Akkumulation von Razematen statt, wobei insbesondere die Proteindegradation (vgl. I: 3.2.2) eine Rolle spielt, da sie zu höheren Razemisierungsgeschwindigkeiten führt.

Die zeitabhängige, postmortale Zunahme von D-Formen stellt die Basis für die Datierung von organischen Materialien mittels der so genannten Aminosäuredatierung. Dieses Verfahren ist für geschlossene Systeme, die wenig von Umweltfaktoren betroffen sind (z.B. Schneckenhäuser und Eierschalen) erfolgreich anwendbar (z.B. Goodfriend 1991, Miller et al. 1999, Robins et al. 2001). Die Methode wurde in den 1970er Jahren ebenfalls für die Datierung von menschlichem Skelettmaterial als viel versprechendes Verfahren diskutiert (z.B. Bada & Schroeder 1975, Bada et al. 1974, Bada 1985, 1987). Nachdem die Anwendung der Methode aber zu spektakulären Fehldatierungen führte, wird sie bis heute heftig kritisiert (z.B. Brown 1985, Hedges 2001, Marshall 1990). Auch neuere Versuche, mittels abgewandelter Verfahren oder genau definierten Zielproteinen eine Datierungsmöglichkeit von Knochenmaterial auf der Grundlage der Aminosäurerazemisierung (z.B. Csapó 1994, Elster et al. 1991) zu etablieren, sind nach Dobberstein (2005) kritisch zu betrachten.

Bei Kenntnis der Razemisierungskinetik des Zielproteins, sowie der Liegezeit des Untersuchungsguts kann die Feststellung des Aminosäurerazemisierungsgrades zur Rekonstruktion der Temperaturgeschichte von organischem Material genutzt werden (Johnsen & Miller 1997, Katz et al. 1979, McCoy 1987), da die Razemisierungsreaktion stark temperaturabhängig ist.

Das gleiche Prinzip wird in der Nahrungsmittelindustrie verwendet, um die thermale Historie von Lebensmitteln zu bestimmen (z.B. Luzzana et al. 1999).

Es konnte ebenfalls genutzt werden, um die Identifikation der skeletalen Überreste des germanischen Königs Lothar III. (1075 - 1137) vorzunehmen, welche sich in einer Krypta mit zeitgleich niedergelegten Individuen befindet. Nach historischer Überlieferung wurde der Leichnam des Königs Lothar III. vor dem Begräbnis über einen längeren Zeitraum gekocht. Dementsprechend konnte man seine Überreste anhand des höheren Razemisierungsgrades von den Überresten der anderen Individuen unterscheiden (Bada et al. 1989).

Weiterhin kann der Aminosäurerazemisierungsgrades zur Feststellung von neuzeitlichem organischem Material in archäologischen Proben genutzt werden. Eine auffallend niedriger Aminosäurerazemisierungsgrad weist auf neuzeitliche Kontaminationen hin (z.B. Armstrong et al. 1983).

2.3 Erbgut als Informationsquelle

Seit 1989 erste Analysen von „alter“ DNA (ancient DNA, aDNA) aus humanem Knochenmaterial (Hagelberg et al. 1989) publiziert wurden, fand und findet eine rasende Entwicklung, vor allem der Methodik (siehe I: 2.3.2) und damit einhergehend der Einsatzmöglichkeiten (siehe I: 2.3.2), auf diesem Gebiet statt. Eine Übersicht über frühe Arbeiten und Geschichte der aDNA-Forschung bieten Brown 2000, Willerslev & Cooper 2005, sowie Wayne et al. 1999.

2.3.1 Methodische Prinzipien und Problemfelder

Zwei Verfahren stehen im Zentrum der DNA-Analyse: Die Extraktion, um die DNA von Proteinen und anderen organischen Komponenten des Knochens zu separieren und die Polymerasekettenreaktion (PCR), die der Vervielfältigung der meist nur spärlich vorhandenen Ziel-DNA-Abschnitte dient (detaillierte Übersicht von Methoden bei Carracedo 2005, Kaestle & Hornsburch 2002, O'Rourke et al. 2000).

Es existieren eine Vielzahl von Methoden zur Extraktion von aDNA, welche alle auf zwei prinzipiell unterschiedlichen Techniken (Phenol/Chloroform und Silika-Extraktion) beruhen oder eine Mischform (z.B. Krings et al. 1997) darstellen (Vergleiche z.B. bei MacHugh et al. 2000). Das Prinzip der Phenol/Chloroform-Extraktion besteht in einem enzymatischen Proteinverdau (Proteinase K) und anschließenden Waschschritten mit einem Phenol/Chloroform-Gemisch. Die Extraktion nach dieser Methode resultiert in einer hohen DNA-Ausbeute. Problematisch ist die Coextraktion von PCR-Inhibitoren (vgl. I: 2.2.3) (z.B. Stone 2000). Bei der Silika-Methode (Höss & Pääbo 1993, z.B. Zierdt et al. 1996) bindet die DNA an eine Silikamatrix und wird nach Waschrissen von dieser eluiert. Auf dem gleichen Prinzip beruht die in dieser Arbeit verwendete Extraktionsmethode (InVisorb Forensic Kit, siehe III: 11.2). Diese Methode soll im Vergleich zur Phenol/Chloroform-Methode zu einer geringeren DNA-Ausbeute führen, allerdings mögliche Inhibitoren besser entfernen (Cattaneo et al. 1997, Stone 2000).

Nach der Extraktion von DNA wird die PCR (Prinzip siehe III: 11.4) genutzt, um das Ziel-DNA-Fragment millionenfach zu kopieren (amplifizieren). Diese Methode stellt heute eine Standard-Labortechnik dar (Für eine detaillierte Übersicht von PCR-Techniken und Protokollen siehe Müller 2001, Newton & Graham 1997).

Degradationsschäden des DNA-Moleküls und die niedrige Anzahl von Startmolekülen machen die Amplifikation von aDNA mittels PCR sehr schwierig und erfordern die Entwicklung von speziellen Analyseprotokollen (Handt et al. 1994, Schultes et al. 1997b, Pääbo 1989). Weiterhin kommt es vermehrt zu PCR-Fehlern, wie der Formung von rekombinanten PCR-Produkten (jumping PCR, Parson & Weedn 1997), dem Ausfall der Amplifikation eines Allels (allelic-drop-outs, Schmerer et al. 1997, 2000) und der Bildung von einer oder mehrere Banden (Stotterbanden bzw. Shadow bands), die bei Auftrennung von PCR-Produkten in der Nachbarschaft der Hauptbande liegen (Schmerer et al. 1997, 2000). Diese PCR-Fehler können zu falschen Resultaten bei der molekulargenetischen Analyse führen.

Ein großes Problem der aDNA-Analytik ist die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren in aDNA-Extrakten (z.B. Cattaneo 1995), die eine erniedrigte oder völlig fehlende Effizienz der Amplifikationsreaktion durch Hemmung der PCR-Polymerase bewirken. Als inhibierende Substanzen werden bei bodengelagertem Material vor allem Huminstoffe angenommen (Arraoyo-Pardo et al. 2002, Hummel 2003, Tuross 1994). Weiterhin werden Maillard-Produkte (Hänni 1995a, b, Pääbo 1989, Poinar et al. 1998), Porphyrinringe (Montiel et al. 1997), sogar Kollagen (Scholz et al. 1998) oder extreme Degradation der aDNA selbst (Rogan & Salvo 1990 in Montiel et al. 1997) diskutiert. Ähnlich wie PCR-Inhibitoren verhindern auch große Mengen nichtendogener DNA (v. a. mikrobielle DNA) die Amplifikation (z.B. Montiel et al. 1997, Rankin et al. 1996).

Die Kontaminierungsgefahr mit rezenter DNA bei der Analyse von aDNA-Proben ist enorm, dementsprechend kommt es immer wieder zu falsch positiven Ergebnissen, da die Authentizität des Zielmoleküls nicht überprüft werden kann (vgl. Gilbert et al. 2005, Kemp & Smith 2005, Nicholson 2002). In der prähistorischen Anthropologie wird über die zu erfüllenden Authentizitätskriterien und Kontrollmaßnahmen debattiert (Cooper 2000, Handt et al. 1996, Haack et al. 2000, Hummel et al. 2000b, Kolman & Tuross 2000, Lindahl & Poinar 1993, Richards et al. 1995, Pääbo et al. 2004). Im forensischen Bereich wurden hingegen weitgehend akzeptierte Richtlinien (z.B. Bär et al. 1997, Bär et al. 2000, Gill et al. 2001, Gusmão et al. 2005) aufgestellt sowie eine Qualitätssicherung mittels Ringversuchen und Zertifizierung (z.B. der ISFG (International Society for Forensic Genetics)) etabliert.

2.3.2 Anwendungsgebiete

Die hauptsächlichen Anwendungsgebiete von nukläerer aDNA aus humanem Knochenmaterial in der prähistorischen Anthropologie und in der Forensik sind die Geschlechtsbestimmung, die Identifikation unbekannter Individuen und die Analyse von Verwandtschaft. Die Geschlechtsbestimmung mittels DNA-Analyse erfolgt zumeist durch die Amplifikation eines Abschnittes des auf den Geschlechtschromosomen lokalisierten Amelogenin-Gens, welches einen Längenpolymorphismus zwischen den Geschlechtschromosomen aufweist (Brown 2001b, Sullivan 1993, z.B. Fearman et al. 1995, Faerman et al. 1997b, Hummel et al. 2000a, Lassen et al. 2000, Stone et al. 1996, kritische Diskussion bei Thangaraj et al. 2002, Steinlechner et al. 2002).

Die Identifikation unbekannter Individuen und Verwandtschaftsanalyse mittels aDNA erfolgt auf der Basis der nukläeren STR-Systeme, die sich aufgrund ihrer geringen Fragmentlänge und ihrer polymorphen Natur besonders qualifizieren (Corach et al. 1997, Pancorbo et al. 1995).

So besitzen keine zwei lebenden Menschen (mit Ausnahme von eineiigen Zwillingen) die exakt gleiche Kombination von STR-Allelen. Bei Einbeziehung von genügend STR-Systemen können genetische Fingerabdrücke erstellt werden, die zur Identifizierung genutzt werden und (aufgrund der Vererbungsregeln) auch Verwandtschaftsfeststellung zulassen (Alonso et al. 2001, Dudar et al. 2003, Gill et al. 1994, Hummel et al. 1999, Jeffreys et al. 1992, Jeffreys 1993, Hagelberg et al. 1991, Lygo et al. 1994, Schultes et al. 1997a). Eine im zunehmenden Maße auch an Knochenmaterial angewendete Möglichkeit, mittels STRs Verwandtschaften zu erkennen, bieten Y-chromosomale STR-Systeme (z.B. Faerman et al. 2000, Gerstenberger et al. 1999, Hummel & Schultes 2000, Schultes et al. 2000). Diese ermöglichen die Feststellung von Patrilinearität. Allerdings

ist die Variabilität der Y-chromosomalen STR-Systeme vor allem aufgrund fehlender Rekombinationsvorgänge begrenzt (Jobling & Tyler-Smith 1995), so können auch nichtverwandte Individuen den gleichen Haplotypen aufweisen.

Anhand chromosomaler DNA können Krankheiten wie Sichelzellanämie oder Thalassämie erkannt werden. Diese werden durch genetische Mutation verursacht und können durch direkte Untersuchung der mutationenthaltenden Regionen des humanen Erbgutes festgestellt werden (z.B. Faerman et al. 2000, Filon et al. 1995). aDNA-Analysen bieten weiterhin die Möglichkeit infektiös verursachte Krankheiten festzustellen. Dabei ist nicht die humane DNA Zielsequenz der Analyse, sondern das Erbgut von Bakterien oder Parasiten, welche die Krankheiten verursachen. Feststellbar ist so eine Erkrankung an Tuberkulose (z.B. Dixon & Roberts 2001, Fearman et al. 1997a, Fletcher et al. 2003, Zink et al. 2005) oder Pest (Drancourt et al. 1998, Drancourt & Roullet 2004, Garrelt & Wiechmann 2003, Wiechmann & Grupe 2004).

Da mtDNA aufgrund ihrer großen Kopienanzahl (vgl. I: 1.1.3) mit höherer Wahrscheinlichkeit in altem Material erhalten bleibt als nukläere DNA, werden die meisten molekulargenetischen aDNA-Studien an ihr durchgeführt (Übersicht z.B. bei Brown 2001a). Dabei konzentriert sich die Analyse auf die beiden hypervariablen Segmente (siehe I: 1.1.3), um Fragestellungen zu Migrationsereignissen bzw. Populationsgenetik (z.B. Jones 2003, Hagelberg et al. 1994, Merriwether et al. 1994, Haak et al. 2005), sowie zur Abstammungsgeschichte des modernen Menschen (Kriings et al. 1997, Ochnikov et al. 2000, Serre et al. 2004) zu beantworten.

2.4 Spurenkundliche Informationen aus der mineralischen Matrix

Spurenkundliche Analysen der mineralischen Matrix richten sich hauptsächlich auf die stabilen Isotope leichter Elemente (vgl. I: 2.3.1).

Weitere Möglichkeiten bieten stabile Isotopenanalysen an schweren Elementen, wie z.B. Blei (Carlson 1996, Montgomery et al. 2005) und Strontium (Price et al. 2004, Schweissing & Grupe 2003).

Ein in den 1980iger und Anfang der 1990iger Jahre diskutiertes spurenkundliches Verfahren ist die Nahrungsrekonstruktion mittels Feststellung der Konzentration der Spurenelemente, insbesondere Barium und Strontium innerhalb der mineralischen Matrix (Beck 1985, Brown & Blakely 1985, Lambert et al. 1979, Price et al. 1985, Sandford 1993). Nähere Untersuchungen ergaben, dass die Beziehung zwischen Elementgehalt in Knochen und Nahrung wesentlich komplexer ist als vermutet und diagenetische Veränderungen des Knochens außerdem zu Kontaminationen führen, so dass heute die Spurenelementanalyse mit dem Ziel der Nahrungsrekonstruktion faktisch keine Rolle mehr in der prähistorischen Anthropologie spielt (Grupe et al. 2005).

2.4.1 Nahrungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope (C) aus Carbonat

Für die Analyse des Kohlenstoffes der mineralischen Matrix wird die die strukturelle Carbonatfraktion des Apatits (CO_3^{2-} , siehe I: 1.2) genutzt. Auch für die Extraktion von Carbonat wurden je nach Anwendung unterschiedliche Methoden entwickelt, wobei die Wirksamkeit ihrer Aufreinigung diskutiert wird (Ambrose 1993, Garvie-Lok et al. 2004, Sponheimer & Lee Thorp 1999).

Im Gegensatz zur Kollagenfraktion stammen die Kohlenstoffatome im Carbonat aus allen Anteilen der Nahrung und spiegeln so ihr gesamtes Spektrum wieder (Ambrose & Norr 1993). Analysen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus Carbonat sind folglich nicht nur relevant, wenn keine Kollagenanalyse möglich ist, sondern liefern auch zusätzliche Informationen über das Nahrungssystem, so dass häufig $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus Carbonat und Kollagen untersucht werden (z.B. Harrison & Katzenberg 2003, Lee-Thorp & Sponheimer 2003). Das Prinzip entspricht dem unter I: 2.1.1. angeführten, allerdings sind die Fraktionierungs-faktoren unterschiedlich so dass sich die Werte der stabilen Isotopenverhältnisse der beiden Fraktionen (Kollagen vs. Carbonat) unterscheiden. Herbivore mit einer auf C_3 -Pflanzen basierenden Ernährung zeigen einen durchschnittlichen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert aus Carbonat von -13‰ , während C_4 -Pflanzen konsumierende Tiere Werte von durchschnittlich $+1\text{‰}$ zeigen. Karnivore zeigen Werte zwischen -17‰ (bei reinem Konsum von C_3 -Herbivoren) und -3‰ (bei reinem Konsum von C_4 -Herbivoren) (nach einer Zusammenfassung verschiedener Autoren von Gröcke 1997).

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Carbonats ($\delta^{13}\text{C}_{\text{ca}}$) und die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Kollagens ($\delta^{13}\text{C}_{\text{ko}}$) stehen miteinander in systematischer Beziehung und lassen die Diskriminierung zwischen Herbivoren und Karnivoren zu (Bocherens et al. 1995, Lee-Thorp et al. 1989, Diskussion bei Hedges 2003).

2.4.2 Klima- und Migrationsstudien mittels stabiler Isotope (O) aus Carbonat

Das Verhältnis der Sauerstoffisotope ^{18}O und ^{16}O im Niederschlagswasser hängt von der Temperatur, der Höhe, dem Ausmaß des Niederschlages und der Distanz vom nächsten Ozean ab (Pollard & Willson 2001). Tierische $\delta^{18}\text{O}$ -Werte hängen wiederum von der Zusammensetzung des Trinkwassers und der Nahrung ab, so dass die Sauerstoffisotopenraten von Klima, Ökologie, sowie Physiologie des Tieres bestimmt werden (Luz & Kolodny 1989, Sealy 2001). Die Analyse des Sauerstoffs von Knochenfunden kann sowohl an der Phosphatfraktion als auch an der Carbonatfraktion des Hydroxylapatits durchgeführt werden (Sponheimer & Lee-Thorp 1999).

Sie kann als Klimaindikator dienen, und Hinweise auf das Nahrungsverhalten geben. Da die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte zwischen geographischen Regionen bei verschiedenen Umweltparametern variieren, kann die Analyse der stabilen Isotopen des Sauerstoffs außerdem zur Detektion von Migrationsereignissen eingesetzt werden (z.B. Dupras & Schwarcz 2001, Evans et al. 2006, Grimes et al. 2003, White et al. 1998, Übersicht bei Koch 1998).

3 Taphonomie: Biostratonomie und Diagenese

Knochenmaterial macht postmortal, abhängig von seiner Umwelt, eine Reihe von Veränderungen durch, die zu seiner vollständigen Auflösung oder Fossilisierung (und somit Erhalt) führen können. Diese Veränderungen sind eine sehr komplexe Serie von Prozessen, welche heute zu unterschiedlichen Ausmaßen kategorisiert und charakterisiert, aber nicht vollständig verstanden sind (Millard 2001).

Nach der klassischen Definition von Efremov (1940, in Lyman 1994) werden diese Veränderung des Knochens in allen ihren Details vom Tod des Individuums bis zu der „Wiederentdeckung“ des Skelettmaterials unter dem Begriff Taphonomie zusammengefasst. Lawrence (1968, in Lyman 1994) bezeichnet den Teil der taphonomischen Prozesse, der vor und während des Begräbnisses, stattfindet als Biostratonomie, während die Dekompositionsvorgänge nach der Bestattung als Diagenese beschrieben werden (vgl. Millard 2001, Nichol森 2001). Der Begriff Begräbnis bzw. Bestattung wird im Sinne von Erdbedeckung der Überreste von verstorbenen Individuen gebraucht. Die genannten Definitionen stammen aus den Bereichen Paläozoologie und Geologie und wurden folglich von Tiermaterial ausgehend definiert. Diese werden nicht rituell bestattet, sondern machen Dekompositionsvorgänge im Freien durch, bevor es zu einer natürlichen Bestattung kommt. Im Gegensatz dazu kann beim dem humanen Untersuchungsgut der prähistorischen Anthropologie von einer rituellen Bestattung nach dem Tod ausgegangen werden, während in der Forensik sowohl rituelle als auch natürliche Begräbnisse vorkommen. Die Begriffe Diagenese und Biostratonomie beinhalten nach obiger Definition je nach Begräbniszeitpunkt andere Prozesse (wie z.B. den Weichteilzerfall, siehe Gill-King 1997) (siehe Abbildung I.3) und sind folglich im anthropologisch/forensischen Bereich nicht klar definiert.

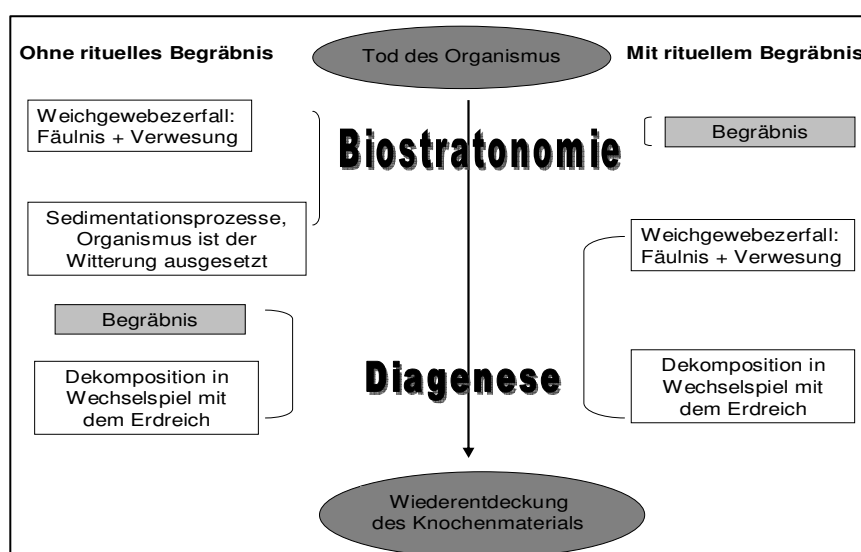


Abb. I.3: Unterteilung der Taphonomiegeschichte von Knochen in Biostratonomie und Diagenese, zum einen mit der Annahme eines rituellen Begräbnis kurz nach dem Tod (rechts), zum anderen ohne rituelles Begräbnis (links). Man erkennt, dass je nach Begräbniszeitpunkt unterschiedliche Prozesse unter diesen Begriffen subsumiert werden.

In der Literatur zu diesem Thema werden die Begriffe weitgehend undefiniert und in unterschiedlicher Bedeutung gebraucht. Arbeiten, die sich mit makroskopisch sichtbaren Gegebenheiten wie z.B. Verwitterungs-Prozessen, Erhitzungsvorgängen und mit der Kausaldiagnose bei Knochenansammlungen beschäftigen, also nach oben aufgeführter klassischer Definition biostratonomische Gegebenheiten untersuchen, verwenden hierfür oft den Begriff Taphonomie (z.B. Andrews 1995, Brooks & Brooks 1997, Merbs 1997, Haglund & Sorg 1997). Studien, die sich mit der chemischen und mikroskopischen Beschaffenheit der postmortalen Veränderungen des Knochens beschäftigen, bezeichnen diese als diagenetische Vorgänge. Auf Biomoleküle bezogen wird der spezielleren Begriff Degradation verwendet (z.B. Collins et al. 2002, Hedges 2002, Nielsen-Marsh 2002).

In der vorliegenden Arbeit wird der klassischen Definition von Lawrence (1968, in Lyman 1994) gefolgt. Dementsprechend beinhalten die Begriffe Biostratonomie und Diagenese je nach Anwendung auf tierisches bzw. menschliches Knochenmaterial unterschiedliche Prozesse wie der Abb. I.3 entnommen werden kann.

3.1 Biostratonomie

Biostratonomische Prozesse beeinflussen den Status des Knochens bevor er begraben wird und können sich so auch auf die diagenetischen Prozesse auswirken (Fernández-Jalvo 2002).

Natürliche destruktive Prozesse sind z.B. Verdauung des Knochens durch Tiere, Verwitterung und Pflanzenbewuchs (Übersicht bei Grupe, im Druck). Auf menschliche Manipulation zurückgehende biostratonomische Prozesse sind z.B. Bestattungen im Sarg (z.B. Owsley & Compton 1997) und das Schlachten von Tieren (Andrews 1995, Lyman 1994, Ubelaker 1997).

Ein weiterer häufig vorkommender biostratonomischer Prozess ist das Erhitzen von Knochenmaterial, welches in folgenden Kontexten erfolgen kann:

- o Verbrennen bzw. Kremieren: Der Knochen ist normalerweise im direkten Kontakt mit dem Feuer
- o Backen, Rösten: Der Knochen ist von der Hitzequelle durch ihn umgebendes Fleisch geschützt
- o Kochen: Der Knochen mit umgebendem Fleisch wird in einer Flüssigkeit erhitzt

Die letzten beiden Prozesse sind sich dabei in Hinsicht auf ihre Auswirkung auf den Knochen ähnlich: In beiden Fällen ist eine Weichgewebeummantelung vorhanden, was die Temperaturentwicklung in der direkten Umgebung des Knochens einschränkt (nach Roberts et al. 2002, siehe I: 3.1.1), da organisches Material nur bis zu einem bestimmten Punkt erhitzt werden kann bis es verdampft und so die Energie ableitet. Bei einem direkten Kontakt des Knochens mit dem Feuer wirken ungleich höheren Temperaturen ein. Diese beiden Fälle werden im Folgenden unter dem Begriff erhitzte Knochen im Gegensatz zu verbrannten Knochen zusammengefasst.

3.1.1 Verbrennung von Knochen

In archäologischen Fundstellen werden als Überbleibsel von Mahlzeiten häufig verbrannte Tierknochen gefunden (Nicholson 1993). Humanes verbranntes Knochenmaterial hingegen lässt sich in der überwiegenden Zahl von Fällen auf eine besondere Bestattungsform zurückführen. Die Feuerbestattung ist eine weit verbreitete Bestattungsmethode, die in verschiedenen Zeitepochen von vielen Kulturen angewendet wurde, z.B. war sie Europa die dominierende Bestattungsform in der späten Bronzezeit. Auch im heutigen Europa wird die Brandbestattung wieder zunehmend praktiziert. Nach einer Statistik des Deutschen Städtetages wurden 1997 in 113 Krematorien der Bundesrepublik 38,8% aller Verstorbenen eingeäschert.

Das anthropologische wie auch forensische Interesse an dem durch Kremierung entstandenen sog. Leichenbrand ist dementsprechend stark, da die verbrannten Überreste in nach der Kremierung auftauchenden forensischen Fragestellungen und in archäologischen Fundsituationen das einzige direkte Untersuchungsgut darstellen. So gibt es eine Vielzahl von morphologischen Methoden, die es ermöglichen, Individualdaten wie z.B. Alter und Geschlecht auch an Leichenbrand festzustellen (z.B. Warren et al. 1997, Mc Kinley 2000). Umgekehrt kann aus der morphologischen Beschaffenheit des Knochens, seiner Farbe, Mikrostruktur und Fragmentgröße auf das einwirkende Feuer geschlossen werden (z.B. Holden et al. 1995, McKinley 1994, Shipman et al. 1984, Stiner et al. 1995).

Die Begutachtung der Mikrostruktur von Leichenbrand lässt weiterhin eine Altersbestimmung und die Analyse von Pathologien zu (z.B. Herrmann 1977, Hummel & Schutkowski 1993, Schultz 1997a).

Weiterhin ist es gelungen, Radiocarbonatierungen anhand von Leichenbrand durchzuführen (Lanting & Brindley 1998). Hierfür wird strukturelles Carbonat (siehe I: 1.2) verwendet, das bei der Verbrennung zumindest teilweise erhalten bleibt (Lanting & Brindley 2000).

Problematisch ist die Elementanalyse (vgl. I: 2.4) von Leichenbrand, da die Konzentration von Elementen durch den Verbrennungsprozess auf nicht rekonstruierbare Weise verändert werden kann (Grupe & Hummel 1991).

Diskutiert wird weiterhin über die Möglichkeit von DNA-Analysen an Leichenbrand. Voraussetzung hierfür ist, dass Reste organischen Materials vorhanden sind. Dies ist nur der Fall, wenn bestimmte Temperaturen nicht überschritten werden. Ovchinnikov et al. (1997, aus Großkopf 2004) können bei experimentell verbrannten Schweinknochen mtDNA bis zu 450°C nachweisen. Bei der Verbrennung werden häufig bestimmte Verbrennungstemperaturen (bis zu 300°C) nicht überschritten (McKinley & Bond 2001, s. o.), so dass organische Strukturen erhalten bleiben, die eine Analysen von Biomolekülen am Leichenbrand ermöglichen (Brown 2001a). So berichten Cattaneo et al. (1994) von der Möglichkeit Protein (Albumin) in archäologischem Leichenbrand zu detektieren, während in experimentell mit 1000°C verbrannten Knochen keine DNA nachgewiesen werden konnte (Cattaneo et al. 1999). Pusch et al. (2000) klassifizieren die Spezies von vier archäologischen Leichenbrandbestattungen molekulargenetisch.

Moderne Kremierungen werden mit hohem technologischem Aufwand ausgeführt, dauern ca. zwei bis drei Stunden und die Temperatur beträgt gleichmäßig ca. 800°C bis 1000°C (Bohnert et al. 1998). Am Ende des Kremierungsprozesses verbleiben fragmentierte, aber wieder erkennbare

I Einleitung

Überreste des Skelettmaterials, die Farben von grau bis weiß aufweisen. Diese Fragmente werden vor der Bestattung in einer Urne gemahlen (siehe II.2).

Feuerbestattungen mit Scheiterhaufen, können ebenfalls Temperaturen von 1000°C erreichen. Die Verbrennung mit Scheiterhaufen ist allerdings variabler als eine modernen Kremierung, am Randbereich können Bereiche mit weniger hohen Temperaturen auftreten und Wind, Regen, sowie Art des genutzten Holzen sind weitere Einflussfaktoren (McKinley & Bond 2001).

Der prinzipielle Prozess der thermischen Veränderungen des Knochenmaterials ist gleich:

Zwischen 150°C und 300°C kommt es zu ersten Schrumpfungen des Knochenmaterials. Die organische Matrix degradiert und es kommt zum Austritt des Kristallwassers (adsorptiv an Mineral gebundenes Wasser). Die thermische Ausdehnung des Knochens ab 300°C gleicht diese erste Initialschrumpfung wieder aus. Zwischen 300° und 600°C verändert sich die Farbe des Knochens zu grau, bedingt durch die Oxidation des Kohlenstoffs zu elementarem Kohlenstoff. Zusätzlich beginnt die thermische Zerstörung der organischen Komponenten des Knochens. Oberhalb von 600°C entweicht sämtlicher organischer Kohlenstoff und der Knochen wird weiß und nimmt eine kreidige Struktur an.

Hinzu kommt oberhalb von 800°C eine Veränderung des ursprünglichen Apatits (Festkörperreaktion): Pyrophosphat reagiert mit Hydroxylapatit zu Tricalciumphosphat, wobei ebenfalls die Kristalleinheiten fusionieren (Zunahme der Kristallgröße). Durch diesen Prozess ist eine deutliche Schrumpfung des Knochens zu beobachten. Von diesem Stadium an ist der Knochen sehr hart und unelastisch, durch differentielle Schrumpfung entstehen Risse und der Knochen fragmentiert. (Grupe et al. 2005, Mayne Correia 1997)

3.1.2 Erhitzung von Knochen

Während verbrannte Knochen leicht an ihrem äußeren Erscheinungsbild zu erkennen sind, ist die Diagnose von gekochtem Material aufgrund fehlender morphologischer Veränderung des Knochens schwierig.

Dies wäre allerdings in archäologischen Fundkomplexen mit menschlichen und tierischen Überresten notwendig, um Knochenansammlungen richtig zu deuten (Lyman et al. 1994), bzw. fehlerhafte Analysen an Knochen zu vermeiden. Weiterhin könnte die Möglichkeit, gekochte von ungekochtem Material, Beiträge zur Aufklärung des Verhaltens des frühen Menschen klären, wie z.B. die Entwicklung von neuen Techniken, sowie das Nahrung- und Konsumverhalten oder des Kannibalismus (z.B. Johanson & Edgar 2000, Tattersaal 1995).

Makroskopische Anzeichen, wie Bruchmuster, sowie Schnittmarken an Knochen und relativer Frequenz von Skelettelementen im Fundreport dienen häufig zur Unterscheidung in gekochte und ungekochte Knochen, allerdings lässt keines dieser Merkmale eine Zuordnung mit Sicherheit zu (Übersicht bei Lyman 1994).

Versuche, gekochtes Material auf der mikrostrukturellen und molekularen Ebene zu diagnostizieren gibt es wenige.

Roberts et al. (2002) untersuchen experimentell das Kochen von Knochenmaterial, wobei Proteinverlust (z.B. auch Harbeck et al. 2004) und Zunahme der Kristallinität und Porosität des Knochens festgestellt werden konnte, während die Mikrostruktur keine Veränderung erfuhr.

Roberts et al. (2002) schlussfolgern, dass Erhitzen von Knochenmaterial über längere Zeiträume eine Analogie zu diagenetischen Veränderungen von Knochen darstellt, während Kochen über kurze Zeiträume keine oder nur wenige Effekte hat. Es wird außerdem davon ausgegangen, dass Erhitzen von Knochen vor ihrer Bestattung die diagenetischen Prozesse beschleunigen. Dies wird durch Experimente von Lubinski (1996) und Nicholson (1996) bestätigt. Andere experimentelle Studien können hingegen keinen Unterschied zwischen gekochten und ungekochten Knochen ausmachen (Nicholson 1998), während Micozizi (1997) sogar von einem die Diagenese vermindernenden Effekt aufgrund der reduzierten Anzahl von Mikroorganismen ausgeht.

Kochen von Knochenmaterial führt zu einem Anstieg der Razemisierung von Aminosäuren, was von Bada et al. (1989) zur Feststellung von gekochtem Material verwendet wurde (siehe 2.1.2). Weiterhin führt es zur Fragmentierung von DNA-Molekülen (von Wurmb-Schwark et al. 2003, Harbeck et al. 2004) und nach DeNiro et al. (1985) verändert Kochen oder Rösten die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um nicht mehr als ein Promille.

Nach Taylor et al. (1995) kann das Erhitzen des Knochen an der Änderung der relativen Konzentration der Aminosäuren des Kollagens festgestellt werden. Erhitzung ändert das Kollagenaminosäuremuster und so die Rate von Glycin/Glutamin und führt zu einer Zunahme des relativen NH_3 – Levels.

In der vorliegenden Arbeit wird u. a. überprüft, ob es möglich ist, mittels der Feststellung des Aminosäurerazemisierungsgrades (vgl. I: 2.1.2) Hinweise auf mögliche Erhitzungsereignisse wie Kochen des Knochenmaterials zu erhalten (siehe I: 5.2).

3.2 Diagenese

Knochendiagenese umfasst eine Vielzahl von Prozessen, die für die Zerstörung bzw. Veränderung der verschiedenen Knochenstrukturen verantwortlich sind. Diese Prozesse werden durch Umweltfaktoren beeinflusst und sind eng miteinander verbunden. Verbreitet ist heute die Einteilung der Diageneseprozesse in biogene, also durch Mikroorganismen verursachte (Übersicht z.B. Grupe 2001) und chemische Abbaewege (z.B. Collins et al. 2002, Hedges 2002). Aufgrund der Komplexität der Diagenese tendieren die meisten Untersuchungen dazu, sich auf jeweils einen Aspekt der Knochenstruktur zu konzentrieren (Millard 2001).

3.2.1 Diagenetische Veränderung der Mikrostruktur

Die mittels histologischer Verfahren feststellbaren Änderungen der Mikrostruktur des Knochens werden hauptsächlich auf das Einwirken von Mikroorganismen, insbesondere Bakterien und ihren Enzymen, sowie Stoffwechselprodukten zurückgeführt (Child 1995a, b, Grupe 2001, Jackes et al. 2001). Durch die Produktion von sauren Metaboliten können viele Mikroorganismen den Apatit hydrolysieren (Grupe et al. 1993) und einige Bodenbakterien enthalten Enzyme, die Kollagen abbauen können (Child 1993, Child 1995a). Die Anzeichen mikrobiellen Abbaus treten als eine der ersten diagenetischen Veränderungen auf, so fanden Bell et al. (1996) Anzeichen mikrobieller Aktivität bei Knochen schon nach drei Monaten post mortem.

I Einleitung

Zum ersten Mal wurden 1864 mikrobielle Anzeichen in der Knochenmikrostruktur (Wedl, nach Jans et al. 2004) beschrieben, die später von Hackett (1981) klassifiziert wurden. Garland (1987 und 1989) stellt drei Kategorien von diagenetischen Veränderungen der histologischen Struktur fest: Destruktive Veränderungen, Einschlüsse und Infiltrierungen.

Bei den destruktiven Änderungen kann es sich um generelle Zerstörung handeln, in denen ein durch Auflösen der Osteonenstruktur diffuser Verfall der Mikrostruktur zu beobachten ist, oder um fokale Zerstörungen die als runde Punkte oder verbundene Tunnel mit Durchmessern von 5-80µm zu erkennen sind. Diese entsprechen den von Hackett klassifizierten „tunneling“ Systemen und werden auf Mikroorganismen zurückgeführt (Grupe et al. 1993, Trueman & Martill 2002). Untersuchungen der fokalen Zerstörungszonen mit Rasterelektronen-mikroskopischen Methoden (Bell et al. 1991, Wess et al. 2001) zeigen Zonen mit verringertem organischem Material umgeben von hypermineralisierte Regionen mit unorganisierter Kristallstruktur.

Einschlüsse können biologischer (z.B. Pilze oder Bakterien) oder mineralischer Natur sein, während Infiltrationen von außen eindringen und Farbveränderungen bewirken können.

Von noch ungeklärter Genese ist eine weitere Degradationserscheinung der Mikrostruktur: Sog. Mikrofissuren, kleine Risse in den Osteonen. Nach Grupe et al. (1993) handelt es sich hierbei um Artefakte, die durch Sedimentdruck, Temperatur oder durch Rekristallisierung des Knochens verursacht werden, während Garland (1993) angibt, es handele sich um die Folgen des Verlustes von organischen und anorganischen Komponenten des Knochens. Nach Jans et al. (2002) ist zumindest ein Teil von ihnen als Behandlungsartefakt anzusehen, während Smith et al. (2002) den nichtbiogenen Verlust von Kollagen als Ursache für Mikrofissuren diskutieren.

Die Reduzierung oder Abwesenheit von Doppelbrechungseffekten bei Betrachtung des Knochens unter polarisiertem Licht kann als Zerstörung von Kollagen interpretiert werden, da die Fibrillenordnung des Kollagens als Verursacher der Doppelbrechungseffekte gilt (I: 1.3). Sie kann aber ebenso den Richtungsverlust von Hydroxylapatitkristallen (Schoeninger et al. 1989) oder den Zusammenbruch der Kollagen/Kristallordnung (z.B. Grupe et al. 1993) anzeigen.

Die Art, Anzahl und Aktivität von Mikroorganismen hängt von Umweltfaktoren wie Sauerstoffverfügbarkeit, Feuchtigkeit, pH-Wert und Temperatur ab (Grupe 2001, Jans et al. 2004). Unterschiedliche Mikroorganismen-Spezies zeigen unterschiedliche Optima für die verschiedenen Umweltvariablen, so können auch in kalter oder sauerstoffarmer Umgebung Knochen angreifende Mikroorganismen existieren (Grupe 2001).

3.2.2 Degradation von Kollagen

Die Degradation von Kollagen hängt eng mit jener der mineralischen Matrix zusammen (z.B. Grupe 1995, Sillen & Parkington 1996). Vollmineralisiertes Kollagen ist resistent gegenüber mikrobiellen Angriff, da es keine Poren mit einem Durchmesser größer als 8nm besitzt, Kollagenasen aber größer sind (zwischen 60 und 130kDA), so dass ein Eindringen nicht möglich

ist (Collins et al. 2002, Nielsen-Marsh et al. 2000). Nach Abbau der mineralischen Matrix können sie allerdings entscheidend zum Kollagenabbau beitragen (siehe I: 3.2.1).

Bakteriell verursachter Abbau von Kollagen geschieht hauptsächlich durch Oxidation und Denitrifikation, da diese beiden Reaktionen hohe Energieraten freisetzen (Grupe 2001). Von Balzer et al. (1997) sowie Grupe & Turban-Just (1998) konnte nachgewiesen werden, dass Bakterien aus energetischen Gründen bevorzugt Aminosäuren mit einer hohen Anzahl von Kohlenstoffatomen abbauen und so ein Absinken des C/N-Wertes verursachen (siehe auch Grupe et al. 2000). Eine weitere Folge von biogener Degradation kann eine Kontamination des Materials mit exogener Biomasse sein (z.B. Grupe et al. 2000, van Klinken 1999).

Der primäre Prozess der chemischen Degradation des Kollagens ist die Hydrolyse von Peptidbindungen (z.B. Collins et al. 1995, Miles et al. 2000). Anders als bei enzymatischen Vorgängen bietet die intime Assoziation von Mineral und Kollagen keinen Schutz vor der chemischen Hydrolyse, zu der nur Wasser notwendig ist (Nielsen-Marsh et al. 2000). Die Hydrolyse von Peptidbindungen führt zur Bildung von Proteinfragmenten, die normalerweise bei Wasseranwesenheit aus dem Knochen herausschwimmen (Collins et al. 1995, Harbeck et al. 2004). In sehr trockenen Umgebungen verbleiben die Fragmente im Knochen und es kommt zu Gelatinebildung (z.B. Collins et al. 2002, Iacumin et al. 1996). Die mineralische Komponente (Kronick & Cooke 1996) und dichte Lage der Kollagenfibrillen (Miles & Ghelashvili 1999) in Knochen verlangsamen diese Reaktion im Vergleich zu Nicht-Knochen-Kollagen. Sie wird beschleunigt durch ansteigende Temperatur, extreme pH-Werte, organische Säuren, fließendes Wasser und Schäden in der Kollagenstruktur (Miles et al. 2000).

Besonders die Temperatur spielt eine große Rolle (Holmes et al. 2005, Ortner et al. 1972, von Endt & Ortner 1984). Nach Collins et al. (2002) und Nielsen-Marsh et al. (2000) sollte kein signifikanter Verlust von Kollagen über geologische Zeiträume in temperierten Zonen auftreten (siehe auch Bocherens et al. 1997, Gernaey 2001), während in wärmeren Klimaten ein signifikanter Verlust zu erwarten ist.

Die Kollagendiagenese kann durch chemische Modifikation des Kollagens selbst verlangsamt bzw. verhindert werden. Dies geschieht, wenn Kollagen feste Bindungen (via Maillard-Reaktion, Collins et al. 1992) mit organischen Komponenten wie z.B. Huminstoffen (van Klinken & Hedges 1995, Rafalska et al. 1991) eingeht. Zum einen sind diese Bindungen gegen spontane Hydrolysereaktionen stabiler, zum anderen entwickelt sich so eine Strukturresistenz gegen enzymatische Attacken (Nicholson 1998, Tuross 2002). Kollagen kann nicht nur mit Huminstoffen Verbindungen eingehen, sondern es können auch Kondensationsreaktionen innerhalb des Kollagenmoleküls stattfinden („Autohumifikation“, van Klinken 1999).

Bedingt durch die Diagenese von Kollagen kommt es außerdem zur Anreicherung von Razematen der Aminosäuren (z.B. El Mansouri et al. 1996). Während im nichtdegradierten Kollagenmolekül eine Razemisierung nur in Bereichen außerhalb der Tripel-Helix-Struktur (Telepeptidregionen) möglich ist, sind in degradiertem Kollagen durch die Bildung neuer Endstücke mehr Razemisierungsstellen vorhanden (Collins et al. 1999).

Aufgrund kinetischer Berechnungen lassen sich maximale Erhaltungszeiträume für Kollagen angeben, so geben Ortner et al. (1972) bei einer Liegetemperatur von 10°C 7000 Jahre als Maximum, während neuere Studien (nach Nielsen-Marsh et al. 2000) von ca. 110 000 Jahren ausgehen. Dem Entgegen stehen erfolgreiche Kollagenextraktionen aus fossilen Relikten mit Liegezeiten von bis zu 65 Millionen Jahren (z.B. Embery et al. 2003, Gurley et al. 1991).

3.2.3 Degradation von DNA

Nach dem Tod des Individuums und dem daraus folgenden Verlust von Reparaturmechanismen der Zelle, die für den Erhalt der DNA sorgen, ist die diese einer Vielzahl von enzymatischen, chemischen und physikalischen Angriffen ausgesetzt.

Bei der postmortal einsetzenden Autolyse („Selbstverdau“) von Zellen können Exo- und Endonukleasen die Struktur der DNA angreifen und bewirken eine Fragmentierung des DNA-Stranges. So kommt es schon nach kurzen postmortalen Zeiträumen zu erheblichen Schädigungen (Bär et al. 1988). In dem enzym- und wasserarmen Knochengewebe ist die Erhaltungswahrscheinlichkeit in Relation zu anderen Gewebetypen erhöht (Cooper 1995, Lassen et al. 1994).

Die wichtigste zur Degradation von DNA führende, nichtenzymatische Reaktion ist die Hydrolyse der Glykosidbindung zwischen Base und Pentose, wobei Purine (Depurination) häufiger als Pyrimidine betroffen sind (Loeb & Preston 1986). Der DNA-Strang ist auf dieser Seite geschwächt und es kommt zum Bruch des Stranges an dieser Stelle.

Es kann zur Bildung von Cross-Links innerhalb des DNA-Stranges (durch Alkylierung) und durch Maillard-Reaktionen zwischen zwei DNA-Strängen bzw. DNA-Strang und z.B. Protein kommen. Weiterhin kann es zur oxidativen bzw. hydrolytischen Modifikation von Basen kommen, die häufigste Form ist die Desaminierung von Cytosin zu Uracil (Lindahl 1993, Pääbo 1989, Höss et al. 1996).

aDNA ist charakterisiert durch Strangbrüche, basenlose Stellen, falsch kodierende Läsionen und Cross-links, was Sequenzierartefakte und die bevorzugte Amplifikation von unzerstörter, durch Kontaminationen eingetragener DNA verursacht (Willerslev & Cooper 2005).

Die relative Rate der verschiedenen Typen der DNA-Schädigung und ihre Zusammenhänge bzw. Akkumulationseffekte sind wenig bekannt (Gilbert et al. 2003a).

Falschcodierende Schädigungen des mtDNA-Genomes sind nicht zufällig verteilt, wie früher angenommen, sondern konzentrieren sich in sog. Hot Spots (Banerjee & Brown 2004, Gilbert et al. 2003b). Neue Studien lassen außerdem vermuten, dass zumindest bei DNA aus Permafrost-Umgebungen postmortem schneller Cross-links als Strangbrüche auftreten, so dass trotz nicht erfolgreicher Amplifikation DNA-Moleküle vorhanden sein können (z.B. Geigl 2002, Willerslev et al. 2004).

Mittels in vitro Reparaturmechanismen wurde versucht, diese postmortalen Modifikationen zu beseitigen (z.B. Cooper et al. 2001, Gilbert et al. 2003a, Poinar et al. 1998). Es scheint allerdings, als seien die Schädigungswege noch zu wenig verstanden, um effektive Reparaturmechanismen für aDNA zu entwickeln (Di Bernardo et al. 2002).

Nach kinetischen Berechnungen sind DNA-Moleküle in wässriger Lösung nach einigen 1000 Jahren bei mittlerer Temperatur vollständig fragmentiert (Lindahl 1993, Pääbo & Wilson 1991). In Knochenmaterial liegen DNA-Moleküle nicht in wässriger Lösung vor, sondern können an die mineralische Matrix, insbesondere an das Hydroxylapatit, gebunden vorliegen (Ogram et al. 1994, Romanowski et al. 1991). Dies erhöht die Stabilität und Erhaltungswahrscheinlichkeit von DNA-Molekülen im Knochenmaterial (Eglinton & Logan 1991, Geigl et al. 2004, Götherström et al. 2002).

Weiterhin wirken Umweltfaktoren auf den DNA-Erhalt ein. Die Schwierigkeit relativ junges Material zu amplifizieren (z.B. Kolman & Tuross 2000) impliziert, dass die Autolyse, frühe Diagenese und die Todesumstände (vgl. Bell et al. 1996) eine bedeutende Rolle im DNA-Erhalt spielen. Von Bedeutung für den DNA-Erhalt sind weiterhin die Feuchtigkeitsverhältnisse: Strangbrüche des DNA-Moleküls häufen sich weniger in trockener Umgebung (z.B. Waite et al. 1997), wobei einige Wassermoleküle nötig sind, da völlig dehydrierte DNA die schützende Doppelhelixstruktur nicht aufrechterhalten kann (Lindahl 1993). Von den physikochemischen Faktoren nimmt vor allem der pH-Wert Einfluss auf die Struktur der DNA: Mit zunehmendem pH-Wert wird nicht nur das DNA-Molekül selbst, sondern auch das beschützende Mineral zerstört (Burger et al. 1997, 1999). Der bedeutendste Umweltfaktor scheint allerdings die Umgebungstemperatur (Handt et al. 1994b, Smith et al. 2001, 2003) zu sein, da höhere Temperaturen die hydrolytischen Prozesse fördern bzw. in kälteren Umgebungen chemische Prozesse allgemein verlangsamt sind.

Oft wird ein willkürliches Limit für den DNA-Erhalt in Knochen von 100 000 Jahren angegeben (z.B. Höss 2000), während Smith et al. (2001) aufgrund kinetischer Berechnung als maximales Limit des DNA-Erhaltes für kleine Fragmente (100-500bp) einen Zeitraum 20 000 Jahren bei einer konstanten Temperatur von 10°C angeben.

Die beschriebenen Prozesse wirken sowohl auf mtDNA als auch auf nukleäre DNA, allerdings ist mtDNA besonders gefährdet, da ihr die schützenden Histone fehlen. Im Gegensatz dazu ist die Erhaltungswahrscheinlichkeit von mtDNA aus statistischen Gründen erhöht (siehe I: 1.1.3)

3.2.4 Diagenese der mineralischen Matrix

Im Vordergrund der meisten Studien zur Diagenese der anorganischen Bestandteile des Knochens stehen chemische Prozesse. Dem biogenen Abbau wird eine geringe Rolle zugeschrieben, allerdings sind Mikroorganismen in der Lage Säure zu produzieren, die das Hydroxylapatit des Knochens angreifen können (Grupe et al. 1993, White & Hannus 1983).

Die Elementkonzentration im Knochenmineral ist anfällig für postmortale Veränderungen abhängig vom Bodenmilieu (z.B. Edward & Benfer 1993, Radosevich 1993, Pate 1994). Diese diagenetischen Veränderungen der Elementkonzentration werden durch die unterschiedlichsten Prozesse hervorgerufen: Minerale wie Calcit (CaCO_3), Barit (BaSO_4) und Eisen- und Manganoxide können sich in schmalen Lücken und Poren des Knochens ablagern (Sandford 1993). Lösliche Ionen des Bodenmilieus (z.B. Sr^{2+} , Ba^2 , F) oder Uran können auf der Oberfläche des Knochenminerals absorbieren und/oder die normalerweise im Hydroxylapatit vorhanden

I Einleitung

Ionen ersetzen (Millard & Hedges 1995, Pate et al. 1989, Piepenbrink 1989). Solch eine Substitutionsreaktion kann homoionisch oder heteroionisch sein. Mögliche Substitutionsstellen zeigt Abb. I.4. Von solchen Ionenaustausch oder Substitutionsprozessen sind zunächst Positionen an der Oberfläche des Kristalls betroffen, im einen späteren Diagenesestadium kann ebenfalls eine Diffusion der Ionen in das Kristallinnere stattfinden (Pate et al. 1989, Reiche et al. 1999)

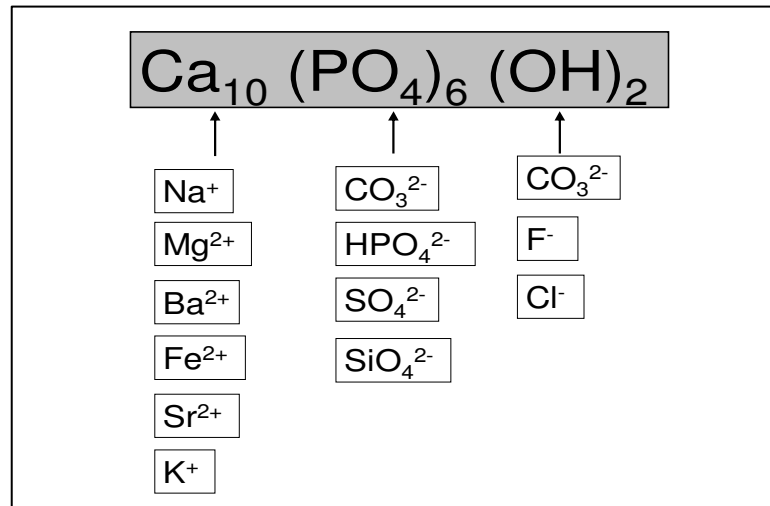


Abb. I.4: Chemische Formel des idealen Hydroxylapatits und mögliche Substituenten auf den jeweiligen Positionen (nach Boskey 1999, Herrmann et al. 1990, Rey et al. 1995, Sandford & Weaver 2000)

Auch das bei spurekundlichen Untersuchungen genutzte Carbonat (CO₃²⁻) kann ebenfalls an die mineralische Oberfläche gebunden bzw. adsorbiert (Krueger 1991) oder durch Substitution in das Kristallgitter aufgenommen werden. Bei letztem werden PO₄³⁻-Gruppen ersetzt (Koch et al. 1997) oder originär vorhandene Carbonat-Gruppen können ausgetauscht werden (Nielsen-Marsh et al. 2000). So können sich sekundäre Minerale wie Calcit und Pyrit formen (Sekundärmineralisierung), was zur Bildung von Fossilien (Denys et al. 1997, Herrmann et al. 1990, Piepenbrink 1989) führt.

Saures Milieu löst die Calciumphosphate des Knochens (Newesely 1987 nach Newesely 1989), was zu einer Demineralisierung des Knochens führen kann.

Gelöstes Hydroxylapatit kann in Abhängigkeit vom Milieu rekristallisieren, wobei die Möglichkeit eine Umlagerung in andere Calciumphosphate und/oder eine Integration von externen Ionen in tiefere Kristallschichten (z.B. Ca, s. o.) besteht (Berna et al. 2004).

So kommt es bei niedrigem pH-Wert zur Bildung von Brushit (Ca₄H(PO₄)₃ * 2H₂O) bzw. Calcit, welches wasserlöslich ist, womit der Knochen vollständig abbaubar wird (z.B. Newesly & Herrmann 1980, Krueger 1991, Lee-Thorp & van der Merwe 1991).

Bei Anwesenheit von Eisen-Ionen kommt es zur Rekristallisierung unter der Bildung von Vivianit (Fe₃(PO₄)₂*8H₂O) (z.B. Holland et al. 1997) und bei der Aufnahme von Fluor zur Bildung von Frankolit (Ca₅(PO₄CO₃)₃F) oder Fluoroapatit (Ca₅(PO₄)₃F) (z.B. Michel et al. 1996), welches stabiler als Hydroxylapatit ist (Berna et al. 2004).

Solche Rekristallisierungsprozesse können zum Wachstum der Kristalle führen (z.B. Reiche et al. 2002), was zur Aufspaltung der Knochenstruktur führen kann (Herrmann et al. 1990).

Eine weitere Änderung des Minerals in archäologischen Knochen ist die Zunahme der Kristallinität des Apatits (Person et al. 1995, Sillen & Parkington 1996, Wright & Schwarcz 1996). Die Zunahme der Kristallinität bedingt engere stöchiometrische Verhältnisse. Diese können mittels der Ca/P-Raten festgestellt werden (Sanford & Weaver 2000).

Eine Übersicht über alle möglichen Fälle des Knochenerhalts durch Veränderung der anorganischen Matrix findet sich bei Grupe (im Druck).

3.2.5 Diagenesebeeinflussende Faktoren

Diagenetische Prozesse können durch externe, von der Umwelt einwirkende und interne, von der Komposition des Knochens bedingte Faktoren beeinflusst werden (von Endt & Ortner 1984).

Bei den externen Faktoren handelt es sich um Umweltparameter, die Charakteristika des Bodens und der geochemischen Umwelt umfassen. Ein bedeutender Faktor in chemischen Abbauprozessen ist Umgebungstemperatur (von Endt & Ortner 1984), vor allem die chemische Degradation der Biomoleküle wie DNA (siehe I: 3.2.3) und Kollagen (Collins et al. 1995, Gernaey 2001) ist temperatursensibel. So beeinflusst die Umgebungstemperatur bei diesen Molekülen den maximal möglichen Erhaltungsgrad, da chemische Reaktionen bei höheren Temperaturen schneller verlaufen (RGT-Regel). Ein Effekt von sehr niedriger Temperatur ist die Verminderung von mikrobieller Aktivität (Child 1995a, b, Child et al. 1993, Grupe 2001).

Ein weiterer wichtiger Parameter ist das Wasserangebot der Umgebung, so werden z.B. in einer sehr trockenen und ebenfalls sehr feuchten Umgebung (Sauerstoffarmut) mikrobielle Attacken vermindert (Grupe 2001). Der starke Einfluss von Grundwasseraktivität auf die Diagenese geschwindigkeit wurde intensiv von Hedges & Millard (1995) und Millard & Hedges (1995) festgestellt und analysiert, hiernach kann ein guter Erhalt des Knochens nur in Fundplätzen ohne Wasserbewegung festgestellt werden.

Den Einfluss der Geochemie des Bodens, welche die Konzentration gelöster Elemente, den pH-Wert und das Redoxpotential beinhaltet, auf die Diagenese abzuschätzen ist kompliziert, so dass kaum generelle Aussagen getroffen werden können (Hedges 2002, Nielsen-Marsh et al. 2000).

Erschwert werden Untersuchungen der Beziehung zwischen Umgebungsmilieu und Knochendiagenese durch den Umstand, dass sich die Umgebung während der Liegezeit eines Knochens stark verändern kann. Auch der Knochen selbst verändert sich während der Diagenese (z.B. größere Porengröße, Kristallstrukturänderungen, s. o.), so dass diagenetische Abbauprozesse beschleunigt, gestoppt (z.B. bei Einlagerung von Metallen, die Bakterienbefall verhindern) oder verändert werden können (siehe auch Grupe, im Druck).

Folglich war archäologisches Knochenmaterial wechselnden, oft nicht rekonstruierbaren Einflüssen und Prozessen ausgesetzt.

Unter internen Faktoren versteht man die speziellen Eigenschaften des jeweiligen Knochens Prozess (Ausgangszustand), wie z.B. seine Größe und Mineraleichte.

Kleinere und porösere Knochen (z.B. Rippen) werden stärker von der Diagenese betroffen (von Endt & Ortner 1984, Galloway et al. 1997, Grupe 1988), als größere Knochen die eine

ausgeprägtere Kompakta besitzen, wie z.B. Langknochen. Knochen von nicht adulten Individuen scheinen aufgrund ihrer weniger dichten Knochenstruktur ebenfalls eine beschleunigte Diagenese zu erfahren (Edward & Benfer 1993, Tuross et al. 1989b, Munson 2000, Merbs 1997).

Es liegen wenig systematische Studien zu der Beziehung von Knochendiagenese und internen Faktoren vor (siehe z.B. Nicholson 1996, Merbs 1997). In der vorliegenden Arbeit wurden mittels der erhobenen Individualdaten, die Aufschluss über den Ausgangstatus geben, Zusammenhänge zwischen diesen und dem Erhaltungsstatus des Knochens geprüft.

3.3 Interstrukturelle Betrachtungen und Diageneseindikatoren

Die Komplexität von taphonomischen Prozessen und die Vielzahl der beeinflussenden Faktoren macht die Verknüpfung der diagenetischen Prozesse auf verschiedenen Ebenen der Knochenkomposition miteinander (interstrukturell), sowie das Erkennen von Zusammenhängen zwischen biostratonomischen Ereignissen und diagenetischen Prozessen extrem schwierig. Allerdings sind gerade diese umfassenden Betrachtungen essentiell, wenn die offenen Fragen zur Diagenese beantwortet werden sollen (Millard 2001, Nielsen-Marsh 2002).

Wenig untersucht ist bisher, inwieweit biostratonomische Ereignisse diagenetische Laufbahnen beeinflussen (z.B. Fernández-Jalvo et al. 2002). Ob und wie die einzelnen organisatorischen Ebenen des Knochens hinsichtlich ihres diagenetischen Abbaus zusammenhängen, ist ebenfalls noch nicht vollständig geklärt. Es existieren wenig übergreifende Studien zur Knochendiagenese.

Bada et al. (1999) stellen ein Modell zur generellen Degradation von Aminosäuren auf, das die Hydrolyse der Matrixproteine ($D/L=0$) mit Bildung von Proteinfragmenten und später Peptiden und freien Aminosäuren ($D/L=1$) beinhaltet, die aus dem Knochen austreten können. Exogene Komponenten können sich erst nach dem Peptidstadium einlagern (mittels Maillardähnlicher Reaktionen). Dieses Modell soll ebenfalls auf andere Biomoleküle wie DNA übertragbar sein, da ihre Diagenese von den gleichen Variablen und Umweltfaktoren beeinflusst wird. Weiterhin sehen die Autoren das Ausmaß der Razemisierung von Aminosäuren als Maß für die generelle Degradation von Biomolekülen an. Ein Zusammenhang zwischen Kollagengehalt und der Kristallinität des Knochens mit dem DNA-Erhalt stellen Götherström et al. (2002) fest.

Zur Abschätzung des Erhaltungsstatus von archäologischen Knochen werden häufig so genannte Diageneseindikatoren (auch Diageneseparameter) verwendet (z.B. Hedges et al. 1995). Der histologische Erhalt wird von vielen Autoren als Anhaltspunkt für mikrobiellen Einfluss genutzt (z.B. Guarino et al. 2006, Pfeiffer 2000, Piepenbrink 1984, Schutkowski et al. 1999).

Der Proteingehalt dient in einer Vielzahl von Studien als Anzeiger für den Erhalt von Biomolekülen (Gutierrez 2001, Smith et al. 2005, Tuross et al. 1989a). Während die Kristallinität die Ordnung im Kristallgitter beschreibt (siehe I: 1.2), zeigt die Messung der Porosität die Veränderung der Porengröße als Folge postmortaler biogener und chemischer Modifikation innerhalb eines Knochens (Sillen & Morris 1996, Turner-Walker et al. 2002, Turner-Walker & Parry 1995, Nielsen-Marsh & Hedges 1999).

Hedges et al. (1995) stellen signifikante Zusammenhänge nur zwischen der Porosität und Kristallinität des Knochens fest, während die anderen Parametern nur bei einigen Fundplätzen korrelieren, wie der Protein- und mikrostrukturelle Erhalt. Die Autoren folgern hieraus, dass die diagenetischen Prozesse auf diesen verschiedenen Ebenen unterschiedlich verlaufen und außerdem stark von Liegebedingungen abhängig sind. Pfeiffer & Varney (2000) können ebenfalls keine Zusammenhänge zwischen Histologie und Kollagengehalt feststellen. Nielsen-Marsh & Hedges (2000a) zeigen, dass mit genaueren Messverfahren eine Korrelation zwischen Proteingehalt und Histologie fundplatzübergreifend feststellbar ist, betonen aber wiederum die starke Ausprägung fundplatzspezifischer Diagenesemuster.

Allgemeine Übersichten und umfassendere Ursache-Wirkungsmodelle sind z.B. von Collins et al. (2002) und Grupe (im Druck) beschrieben worden.

Collins et al. (2002) nehmen drei diagenetische Prozesse an: Chemische Dekomposition der organischen, chemische Diagenese der mineralischen Phase, sowie mikrobieller Abbau der Verbindung von mineralischer und organischer Phase. Der zweite Weg ist hierbei Voraussetzung für den dritten. Der erste Abbauweg kommt hingegen nur in Umwelten zustande, die für den Knochen geochemisch stabil sind. Hedges (2002) unterscheidet ebenfalls chemische und biogene Einflüsse, versuchen Zusammenhänge zwischen den diagenetischen Parametern herzustellen und diskutieren den Einfluss des Liegemilieus. Grupe (im Druck) betont die Schlüsselrolle von Mikroorganismen und führt aus, dass chemische Degradation nur an Einfluss gewinnt, wenn keine Mikroorganismen vorhanden sind und es nur dann zu Sekundärmineralisierungen und Fossilienbildung kommen kann.

Übereinstimmend geht man also von zwei Abbauwegen aus: Dem biogenen und dem chemischen.

4 Diagenese und Spurenkunde

Spurenkundliche Verfahren (siehe I: 2) an Knochenmaterial sind abhängig von dem Erhaltungszustand der untersuchten Knochenebene. Diagenetische Veränderung des Knochenzustandes kann eine spurenkundliche Analyse unmöglich machen, wenn z.B. das zu untersuchende Biomolekül vollständig abgebaut ist oder die histologische Struktur durch Mikroorganismen vollständig zerstört wurde (z.B. Nelson et al. 1986, Saliége et al. 1995).

Das Fehlen des Signals ist erst nach Aufbereitung der Proben feststellbar. Da spurenkundliche Analysen zeit- und kostenintensiv sind, besteht der Bedarf, schon vor der Untersuchung eine Abschätzung der Erfolgsaussichten mittels Screeningverfahren vorzunehmen (siehe I: 4.1).

Diagenetische Prozesse können durch verschiedene Abbauprozesse und Kontaminationen die Analyse verhindern, aber auch Veränderungen des ursprünglichen rezenten Signals bedingen, was zu falschen Aussagen führen kann. So ist es essentiell den Erhaltungszustand des untersuchten Substrates zu ermitteln, um die erhobenen Daten zu validisieren. Dies geschieht mittels sog. Qualitätsindikatoren (vgl. I: 4.2).

4.1 Screeningverfahren

Bei Screening-Untersuchung werden, häufig nur vermutete, Korrelationen zwischen dem Erhaltungszustand verschiedener Knochenebenen oder Molekülen genutzt. Ziel ist es, aus weniger zeit- und kostenintensiven Analysen Rückschlüsse auf den Erhaltungszustand und damit auf den Untersuchungserfolg der Zielebene bzw. des Zielmoleküls ziehen zu können. Die Anforderung an Screening-Untersuchung sind dementsprechend eine möglichst enge Korrelation zum Erhaltungsgrad des Zielmoleküls so wie eine einfache und kostengünstige Durchführung.

Die Extraktion von Kollagen ist weniger zeit- und kostenintensiv als die DNA-Analyse. Weiterhin stellt man im Gegensatz zu dieser schon direkt nach Extraktion Vorhandensein bzw. Fehlen des Zielmoleküls fest. Folglich steht die Beurteilung der Qualität des Kollagens im Vordergrund (vgl. I: 4.2) und wenige Studien beschäftigen sich mit Screeningmöglichkeiten. Pfeiffer & Varney (2000) testeten histologische Verfahren als Anhaltspunkt für den Kollagengehalt und kommen zu dem Ergebnis, dass diese keine Aussage über den Kollagengehalt zulassen.

Zahlreicher sind Studien die Screeningmöglichkeiten für den DNA-Erhalt thematisieren. Neben einem Zusammenhang der makromorphologischen Struktur (z.B. Hagelberg & Clegg 1993, Richards et al. 1995) und dem DNA-Erhalt wird eine Beziehung zwischen DNA- und Proteindegradation diskutiert. Nach Bada et al. (1994) ist die Rate der DNA-Degradation und der Asparaginsäurerazemisierung bei neutralem pH-Wert nahezu gleich.

Poinar et al. (1996) präsentieren die Messung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades (vgl. I: 2.2.2) in Knochenmaterial als Möglichkeit, Voraussagen über deren DNA-Erhalt zu treffen. Die Autoren konnten bei der Untersuchung von insgesamt 26 Proben keine DNA-Sequenzen

von Proben amplifizieren, die einen D/L-Quotienten (D-Asparaginsäure / L-Asparaginsäure) von über 0,08 aufwiesen. Weiterhin zeigen sie eine Relation (nicht statistisch nachweisbar) zwischen dem Razemisierungsgrad und der Länge der wiedergewinnbaren DNA-Sequenzen. Es wird ein D/L-Quotient von 0,1 als Grenzwert für einen DNA-Erhalt postuliert. Allerdings werden diese Feststellungen von Poinar und Stankiewicz (1999) in einer Studie zum Erhalt von Protein und DNA mit ihrer Schlussfolgerung, dass in einigen Fällen die Präsenz bzw. der Erhalt eines Biomoleküls nicht das Vorhandensein eines anderen garantiert, relativiert. Auch in anderen Studien wird diese Methode kritisch diskutiert (Collins et al. 1999, Harbeck et al. 2004)

Colson & Bailey (1997) stellen zwischen dem histologischen Erhalt und der Amplifizierbarkeit von DNA einen engen Zusammenhang fest (siehe auch Cipollaro et al. 1998, Guarino et al. 2006), während die Korrelation mit dem Stickstoffgehalt (als Anzeiger für den Proteingehalt) wesentlich schwächer ist. Einen Zusammenhang zwischen Histologie und DNA-Degradation bestätigen Guarino et al. (2000), die außerdem erfolgreich histochemische Methoden anwenden, um DNA in altem Knochenmaterial festzustellen (siehe auch Cipollaro & Bernardo 2004). Haynes et al. (2002) können hingegen keine signifikante Assoziation zwischen Histologie, morphologischem Erscheinungsbild, Knochengröße und DNA-Erhalt feststellen. In der vorliegenden Arbeit sollen verschiedene Screeningmethoden auf ihre Wirksamkeit verglichen werden.

4.2 Qualitätskontrollen

Die meisten Arbeiten über die Kontrolle der Qualität von Zielmolekülen der Spurekunde finden am Kollagen statt. Die Kollagenqualität ist entscheidend für die Authentizität der Ergebnisse, da Degradation und Kontamination von Kollagen zu falschen Ergebnissen bei der stabilen Isotopenanalyse führen kann (z.B. Grupe & Turban-Just 1998, Tuross 2002). Zur Feststellung der degradativen Veränderung von Kollagen wurden verschiedene Methoden entwickelt. Ambrose (1993) empfiehlt die Bestimmung der Kollagengewichtsprozentage, der Kohlenstoff- und Stickstoffgewichtsprozentage (C- und N- %) und der C/N-Rate zur Validisierung der Ergebnisse von stabiler Isotopenanalyse (vgl. I: 2).

Nach Ambrose (1993) spricht für den guten Erhalt von Kollagen einer Knochenprobe, wenn der prozentuale Gewichtsanteil von Kollagen mindestens ein Prozent beträgt. Unterhalb dieses Wertes kommt es zu Veränderungen der stabilen C und N Isotopenkomposition, was zur Verfälschung von Messwerten führt. van Klinken (1999) gibt als Grenze für „guten“ Kollagengehalt 0,5 Gew% an.

Die Gewichtsprozentage von C und N, sollen nach Ambrose (1993) bei unverändertem Kollagen bei über drei Prozent für C und einem Prozent von N liegen. Höhere Werte weisen auf Kontaminationen hin (van Klinken 1999).

Das molare Verhältnis von C zu N (C/N molar) ist der am weitesten verbreitete Parameter für den Kollagenerhalt. DeNiro (1985) gibt eine C/N-molar-Spanne von 2,9-3,6 als Anhaltspunkt für einen guten Kollagenerhalt von archäologischem Knochenmaterial, unter Ausschluss von Kontaminationen an. Nach van Klinken (1999) ist dieser Bereich zu weit gefasst, er empfiehlt einen Wert von $3,29 \pm 0,27$ nach Analyse einer größeren Stichprobe.

I Einleitung

Außerdem kann die Qualität des Kollagens durch die Analyse seiner Aminosäurkomposition bestimmt werden (z.B. Ambrose 1993, DeNiro & Weiner 1988, Hare et al. 1991, Schoeninger et al. 1989). Kollagen weist ein typisches Aminosäureprofil auf (siehe I: 1.1.1), dabei besitzt jede Aminosäure eine eigene stabile Isotopensignatur (Turban-Just & Schramm 1998, van Klinken 1989) so dass ein selektiver Verlust von Aminosäuren die stabilen Isotopenwerte verändern kann (Grupe & Turban-Just 1998). van Klinken (1999) gibt an, dass es nur zu einer Veränderung des Aminosäureprofil unterhalb von 0,5 Kollagen-Gew% kommt.

Um Anhaltspunkte für den Erhaltungszustand der mineralische Matrix zu gewinnen, wird häufig die Messung der Kristallgröße und Kristallinität oder eine Bestimmung des Ca/P-Verhältnisses (siehe I: 1.2) verwendet (z.B. Michel et al. 1996, Nielsen-Marsh et al. 1997, Quattropiani et al. 1999, Sillen & Sealy 1995, Tuross et al. 1989b). Die Analyse der stabilen Isotope der Mineralischen Matrix findet an den Zielmolekülen Carbonat oder Phosphat statt. Anders als beim Kollagenmolekül existiert keine Methode, um ihre Qualität direkt am Molekül feststellen zu können.

Bei der Analyse von DNA kann ihre Degradation zu PCR-Fehlern und damit zu falschen Ergebnissen oder Sequenzen führen. Dies unmittelbar an einer Probe zu erkennen ist schwierig und oft nur durch wiederholte Analysen möglich (Handt et al. 1994b, Schmerer et al. 1997).

Um erste Hinweise auf die Qualität der zu analysierenden DNA-Moleküle zu erhalten, werden diese im Vorfeld auf Agarosegelen aufgetrennt und unter UV-Licht betrachtet. So kann man zum einen ihren Fragmentierungsstatus aufgrund der Schärfe der entstehenden Bande abschätzen, zum anderen ergeben sich durch das Erscheinen von auffälliger grüner bzw. blauer Fluoreszenz erste Hinweise auf die Anwesenheit von Inhibitoren (z.B. Hänni 1995b, Tuross 1994, von Wurmb-Schwark et al. 2004).

5 Fragestellung und Ziel

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Fragestellungen aus dem Bereich Diagenese und Spurenkunde. Sie wurde im Jahr 2003 an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel im Institut für Rechtsmedizin unter Betreuung von PD. Dr. S. Schröder (Fachbereich Anthropologie) begonnen. Hier wurde vor allem die Degradation von Knochenmaterial an archäologischem, experimentell gealtertem und kremiertem Knochenmaterial hinsichtlich Fluoreszenzverhalten, konservierter DNA und Aminosäurerazemisierung analysiert.

Das dortige Arbeitsumfeld ließ die Weiterführung der Dissertation nach Arbeitsplatzwechsel der Betreuerin nicht zu. Ende des Jahres 2004 erfolgte ein Wechsel an die Ludwigs-Maximilians-Universität zu München, wo das Projekt unter Betreuung von Frau Prof. Dr. G. Grupe (Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie) fortgesetzt werden konnte. Hier ergab sich die Möglichkeit des Einsatzes weiterer Methoden (Analyse stabiler Isotope, histologische Untersuchung, Aminosäurenanalyse, Röntgenfluoreszenzanalyse), sowie die Einbeziehung von zusätzlichem Material (Funkkomplexe Nevalı Çori, Göbekli Tepe, Gürcütepe, Kelheim/Unterigling, Etting, sowie Proben des Temperaturexperiment II), mit zum Teil schon vorhandenen Datenmaterial. So entwickelten sich neue, weiter gefasste Fragestellungen in mehreren miteinander zusammenhängenden bzw. sich überschneidenden Themenkomplexen der Schnittstelle Diagenese/Spurenkunde.

5.1 Analyse diagenetischer Zusammenhänge

In der vorliegenden Arbeit wurden unterschiedliche Stichproben degradiertes Knochen auf ihren Diagenesestatus untersucht. Es wurde „natürlich“ degradiertes Material analysiert, welches von verschiedenen archäologischen Fundkomplexen und dementsprechend unterschiedlichem Makroliegemilieu mit unterschiedlicher Liegezeit stammt. Weiterhin wurden *in vitro* degradiertes Material aus zwei Temperaturexperimenten und moderne kremierte Proben entsprechenden Analysen unterzogen.

Das Material des Temperaturexperimentes I wurde ohne weitere Aufarbeitung (siehe III: 1) bei höheren Temperaturen in Wasser inkubiert. Dieses Verfahren simuliert chemische Diagenesevorgänge (Harbeck 2002, Roberts et al. 2002) und wird zur Untersuchung von molekularen Abbauprozessen eingesetzt (z.B. Collins et al. 1992, DeNiro 1985, Luzzana et al. 1999, Ohtani et al. 1998, Threagold & Brown 2003, Waite et al. 1997).

In der Mehrzahl dieser Studien wird das Zielmolekül direkt dem Wasser ausgesetzt. Ein Rückschluss auf Prozesse, die sich im strukturell erhaltenen Knochen abspielen, ist in diesen Fällen problematisch, da die Beeinflussung von Degradationsprozessen durch das umgebende Material nicht berücksichtigt wird. So wird zum Beispiel die Bindung von Biomolekülen an die mineralische Matrix des Knochens (siehe I: 3.2.3), oder die Eigenschaft von Knochen, pH-Werte zu stabilisieren (Bada & Shou 1980) nicht berücksichtigt. Auch bei der Verwendung von pulverisiertem Knochen (z.B. Collins et al. 2000) werden z.B. Struktureffekte des Knochens

I Einleitung

ignoriert, sowie ein veränderter Ausgangsstatus, z.B. Vorschädigung des Kollagens durch Mahlen (Collins & Galley 1998), in Kauf genommen.

In der vorliegenden Arbeit wurden daher größtdefinierte humane Femurquerschnitte eines Individuums eingesetzt (siehe II: 3) um eine möglichst realistische Situation zu schaffen. Weiterhin erlaubte der Einsatz von Knochenabschnitten, verschiedene Strukturebenen an einem Querschnitt zu erfassen und miteinander zu vergleichen. Durch das experimentelle Verfahren können umweltbedingten Einflüsse (z.B. Temperaturschwankungen, unterschiedliche pH-Werte), Mikroorganismenaktivität und internen Einflüssen bedingt durch Alter oder Geschlecht (I: 3.2.5) ausgeschlossen werden.

Das archäologische Material umfasst einen großen Zeitraum (ca. 11500 Jahre) und unterschiedliche Fundkomplexe. So konnten im Vergleich mit dem experimentell degradierten Material Einflüsse von Liegezeit und Makromilieu abgeschätzt werden. Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand humanes Material. Tierische Knochenproben dienten als Vergleichswerte in besonderen Fragestellungen (siehe I: 5.2).

Um diagenetische Zusammenhänge und Verlaufstypen festzustellen, wurde der Erhaltungszustand des Knochens von archäologischem und *in vitro* degradiertem Material (Temperaturoperiment I) anhand verschiedener Merkmale unterschiedlicher Knochenebenen (Mikrostruktur, Biomolekül, Mineral) ermittelt (siehe Tab. I.4). Die Verteilung und Ausprägung der Merkmale beider Stichproben, geben Hinweise zu generellen diagenetischen Mustern (vergleiche I: 3.2). Der Vergleich von natürlichem und *in vitro* degradiertem Material erlaubt Rückschlüsse auf diagenetische Prozesse (z.B. chemische vs. biogene Degradation).

Die Feststellung von Zusammenhängen zwischen den Merkmalen der verschiedenen Analyseebenen soll zeigen, inwieweit diagenetische Prozesse die verschiedenen Knochenebenen gleichgerichtet betreffen und ob es Kopplungen oder Wechselwirkungen zwischen dem Erhaltungsgrad gibt (vergleiche I: 3.3). Hierzu diente die statistische Analyse des Materials auf beobachtbare Korrelationen.

Von einem Großteil des archäologischen Materials liegen Individualdaten wie Alter, Geschlecht und Körpergröße vor. Da die Frage eines Zusammenhanges zwischen diesen Parametern (unterschiedliche interne Faktoren) und dem Diageneseprozess nicht vollständig geklärt ist (siehe I: 3.3), fand eine statistische Prüfung Faktoren mittels Korrelationsanalyse statt.

Die Analyse der Zusammenhänge zwischen den Merkmalen diente ebenfalls dazu Indikatoren für den diagenetischen Status eines Knochens festzustellen (vgl. I: 3.3).

Die Analyseebene Fluoreszenz wurde nicht zur Erklärung diagenetischer Vorgänge genutzt, da ihre Ursache weitestgehend unbekannt und so eine Erkenntnis über diagenetische Prozesse nicht ableitbar ist. Vielmehr soll die vorliegende Untersuchung zur Aufklärung der Fluoreszenzentstehung und sie beeinflussender Faktoren beitragen. Vorherige Studien haben gezeigt, dass die Fluoreszenzausprägung von archäologischem Material nicht von der Liegezeit, sondern von Umweltbedingungen und daraus resultierendem Erhaltungszustand des Knochens

abhängen (Harbeck 2002). Die Eignung der Fluoreszenz als Diageneseindikator wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft.

Tab. I.4: Analyseebene des Knochens und dazugehörige festgestellte Merkmale, sowie angewandte spurenkundliche Methode. Asparaginsäurerazemisierungsgrad und Amplifizierbarkeit sowohl als diagenetisches Merkmal als auch als spurenkundliche Methode eingesetzt.

Ebene	Bestandteil	Merkmal	spurenkundliche Methode
Mikrostruktur		Oxford histologischer Index	
		Index für Verhalten im polarisierten Licht	
		Index zur Abschätzung der Anzahl der Mikrofissuren	
		Index zur Abschätzung des bakteriellen Befalls	
		Menge des exogenen Materials braune Verfärbung unter Strukturerhalt	
Biomolekül:	Kollagen	Gewichtsprozent organischer Anteil (Kollagengehalt, Kollagenquantität)	
		Aminosäureprofil (Kollagenerhaltungsgrad, Kollagenqualität)	
		C/N molar	
		Kohlenstoffgewichtsprozent	
		Stickstoffgewichtsprozent	
		Asparaginsäurerazemisierungsgrad	C-Isotopenanalyse N-Isotopenanalyse
DNA		Signal der Agarosegelelektrophorese	
		Inhibitorenanwesenheit	
		Amplifizierbarkeit	
		Fragmentierungsgrad	
Mineral	strukturelles Carbonat	Mineralgehalt in Gewichtsprozent	
		Ca/P Elementkonzentration	C-Isotopenanalyse O-Isotopenanalyse
Fluoreszenz		Blauindex Zusätzliche Farbbildung	

I Einleitung

Neben dem *in vitro* (Temperaturrexperiment I) und *in vivo* degradiertem Material wurden zwei Materialkomplexe mit besonderen diagenetischen bzw. biostratonomischen Umständen untersucht. Zu einem wurde ein Temperaturrexperiment unter den gleichen Bedingungen wie bei Temperaturrexperiment I durchgeführt. Allerdings weichen Ausgangsmaterial sowie dessen Vorbehandlung von diesem ab. Zum anderen wurde eine kleine Stichprobe von rezentem kremiertem Material analysiert.

Die Proben des Temperaturrexperimentes II stammen im Gegensatz zu Temperaturrexperiment I von unterschiedlichen Individuen (siehe III: 3), die in Formalin konserviert waren. Formalin ist das am weitesten verbreitete Fixierungs- und Konservierungsmittel für biologisches Material. Dementsprechend ist man vor allem in der Zoologie, Forensik, Medizin aber auch in der Anthropologie regelmäßig mit formalinfixiertem Gewebe konfrontiert, wenn es z.B. darum geht, Fragestellungen an konserviertem Material aus anatomischen Sammlungen (z.B. Huxley 2005, Lehmann & Kreipe 2001, Oehmichen et al. 2003, Shedlock et al. 1997). Vor allem bei molekularen Fragestellungen wird nicht das Weichgewebe, sondern das Knochenmaterial verwendet in der Hoffnung, dass in diesem die Formalinfixierung weniger stark ausgeprägt ist. (z.B. Stuart et al. 2006, Wiegand et al. 1996)

Die Analyse dieser formalinfixierten Proben ist nicht nur hinsichtlich der spurenkundlichen Methodik, sondern auch für das Studium des diagenetischer Prozesse relevant, da Formalin ähnliche Prozesse initiiert wie z.B. Huminsäuren in archäologischem Knochenmaterial. Beide Substanzen bilden Cross-links mit Biomolekülen, insbesondere dem Kollagen und tragen zu deren Vernetzung und folglich Stabilisierung bei, so dass es zur Konservierung dieser Moleküle kommt (Boskey et al. 1982, Riede et al. 1992), was wiederum ein anderes Verhalten der betroffenen Strukturen in diagenetischen Abbauprozessen bedeutet.

Die Analyse des rezenten kremierten Materials soll Erkenntnisse über den Knochenstatus nach dem heute üblichen Verbrennungsprozess geben, da dieses Untersuchungsmaterial im forensischen Kontext immer bedeutender wird (siehe I: 3.1.1). Aus diesen Untersuchungen können Rückschlüsse auf den Status archäologischen Leichenbrands gezogen werden besonders hinsichtlich der Anwendungsmöglichkeit molekularer Methodik, die bis heute als unsicher gilt (vgl. I: 3.1.1). In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich rezent kremiertes Material verwendet, da dies nach seiner Verbrennung einen nachvollziehbaren Weg vor der Laboranalyse durchläuft, was insbesondere hinsichtlich der Kontaminationsmöglichkeiten von Bedeutung ist.

Ein Ziel dieser Arbeit war es also unter besonderer Betrachtung der Beziehung der Abbauprozesse zwischen den einzelnen Knochenebenen Aussagen zur Knochendiagenese zu optimieren. Die gewonnenen Erkenntnisse wurden anschließend in ihrer Bedeutung für die biologische Spurenkunde ausgewertet.

5.2 Spurenkunde und Diagenese: Spezielle Fragestellungen

Neben der allgemeinen Betrachtung der Bedeutung von Diageneseprozessen auf die biologische Spurenkunde (Auswirkung auf Extraktionsverfahren, Analysemöglichkeit von kremierten Material) sollten verschiedene spezielle Fragestellungen beantwortet werden.

Es wurde die Möglichkeit geprüft, die Bestimmung des Grades der Aminosäurerazemisierung als Anzeiger für mögliche Erhitzungsereignisse des Knochens zu nutzen.

Da die Razemisierung von Aminosäuren sowohl Zeit- als auch temperaturabhängig ist (siehe I: 2.2.2), sollten archäologische Knochenproben mit ähnlichen Liegezeiten und -bedingungen ähnliche Razemisierungsgrade aufweisen. Ein Erhitzungsereignis würde in diesem Fall zu höheren Razemisierungsgraden der betroffenen Proben führen. Der neolithische Fundkomplex Nevalı Çori fiel durch besonders schlechten Kollagenerhalt des tierischen Materials im Vergleich zum humanen Material auf, was zu der Vermutung führte, dass dies durch Kochen vor der Bestattung des Materials hervorgerufen sein könnte (Lösch 2003). Von diesem Fundort wurden in der vorliegenden Arbeit vergleichend Tier- und Menschenknochen auf ihren Asparaginsäurerazemisierungsgrad untersucht. Bei einem regelmäßig durchgeführten Kochen oder Braten von Tieren sollten deren Knochenproben signifikant höhere Werte aufweisen als die des humanen Materials.

Ähnlich wird bei dem wesentlich jüngeren Fundort Kehlheim/Unterigling verfahren. Bei mittelalterlichen Fundplätzen kann von einem Erhitzen der Tiere vor dem Verzehr ausgegangen werden, was sich ebenfalls im Asparaginsäurerazemisierungsgrad der Knochenprobe im Vergleich zum menschlichen Knochen zeigen müsste.

Die im ersten Teil der Arbeit (siehe I: 5.1) festgestellten Zusammenhänge von Merkmalen verschiedener Knochenebenen und Biomolekülen können Aufschluss über potentielle Screeningmöglichkeiten (siehe I: 4.1) geben, bzw. bereits aufgestellte Screeningmethoden beurteilen. Mittels Diskriminanzanalyse (siehe III: 12) wurde die Eignung verschiedener Merkmale hinsichtlich ihrer Aussagekraft für den Kollagen- bzw. DNA-Erhalt festgestellt.

Es wurden weiterhin Qualitätskriterien für Kollagen (siehe I: 4.2) validisiert und ggf. verbessert. Dazu wurden bei den Proben des archäologischen Materials und des Temperaturexperimentes I die Verhältnisse der stabilen Isotope von Kohlenstoff (C) und Stickstoff (N) ermittelt.

Bei den Proben des Temperaturexperimentes I ist der „Sollwert“ der stabilen Isotopenverhältnisse bekannt: Da die Proben von einem einzigen Individuum stammen, sollten alle Proben die gleichen Isotopenverhältnisse aufweisen. Gleichzeitig wurden verschiedene Merkmale des Kollagens bestimmt, was eine Aussage über deren Nutzen als Qualitätskriterien ermöglicht. Da im Temperaturexperiment nur die chemische Diagenese berücksichtigt wird, wurden ebenfalls bei archäologischen Proben stabile Isotopenverhältnisse bestimmt und ihre Beziehung zu anderen Merkmalen analysiert.

Die stabilen Isotopenverhältnissen des Carbonats wurden ebenfalls anhand des archäologischen und *in vitro* degradadierten Material überprüft, um eine Aussage über die Validität der Ergebnisse treffen zu können.

II Material

Die in dieser Arbeit analysierte Stichprobe setzt sich aus 72 archäologischen, zehn modernen kremierten und 28 *in vitro* degradierten humanen Knochenproben zusammen (n = 110). Zusätzlich wurden 55 tierische Knochenproben als Vergleichsmaterial für die Aminosäurerazemierungsanalyse und 15 Zahnproben des Fundkomplexes Etting zur molekulargenetischen Untersuchung in die Arbeit einbezogen, so dass sich ein Gesamtvolumen von 180 Proben ergibt. Wenn vorhanden wurden die Individualdaten der jeweiligen Knochenproben angegeben, das Alter wird in Klassen angegebenen, die sich nach Herrmann et al. (1990) folgendermaßen definieren:

- o Infans 1: 0 – 6 Jahre
- o Infans 2: 7 – 12 Jahre
- o Juvenis: 13 – 20 Jahre
- o Adultas: 20 – 40 Jahre
- o Maturitas: 40 – 60 Jahre
- o Senilis 60 – ∞

1 Archäologisches Material

Die Knochen- und Zahnproben des archäologischen Materials stammen aus zehn unterschiedlichen archäologischen Fundkomplexen Deutschlands und der Türkei mit Liegezeiten von ca. 11 500 bis zu 400 Jahren. Sie werden hier geordnet nach ihrer Liegezeit aufgeführt.

1.1 Göbekli Tepe

Von dem Fundkomplex Göbekli Tepe (36°53'N, 37°44'O) wurden zwei humane Knochenfunde und zwei Knochenfunde tierischen Ursprungs analysiert (Tab. II.1). Eine morphologische Begutachtung der Proben hinsichtlich des Alters und Geschlechts war aufgrund des Fragmentierungsgrades nicht möglich.

Tab. II.1: Untersuchtes Probengut des Fundkomplexes Göbekli Tepe (nach Dummler 2004)

Probe	Fundnummer	Spezies	Knochen	Zeitstellung
Gö 1	M7 / GTW 28.10.95, S 2.1.1	Homo sapiens	Tibia	frühneolithisch
Gö 2	M3 / GTZ 27.10.95 S1.1.1	Homo sapiens	Unterkiefer	subrezent
Gö 3	121 / GTZ 18.10.95 S.1.1.1	Equide		subrezent
Gö 4	201/ GTZ 97, 8.10.97. L9-75, Loc 48.1	Gazelle		subrezent

Das neolithische Bergheiligtum Göbekli Tepe liegt in Südostanatolien (heutige Türkei) und befindet sich in einer Reihe von Hügelgruppen auf einem aus Kalkstein bestehenden, 200 bis 300m hohen Bergzug (von den Driesch & Peters 1999). Nach bisherigen archäologischen Untersuchungen wird der erste Siedlungsplatz in Göbekli Tepe in die frühneolithische Zeit datiert, auf ca. 9500-8500 v. Chr. (Dummler 2004). In dieser Region ist der Begriff Frühneolithikum als akeramisches Neolithikum (Prepottery Neolithic) zu verstehen, in dem noch keine Tongefäße gefunden werden. Nach Kenyon (1979) wird diese Periode kulturhistorisch in die Stufen Prepottery Neolithic A (PPNA) und B (PPNB) unterteilt. Die Kulturstufe Prepottery Neolithic B (PPNB) lässt sich in folgende chronologische Abschnitte eingeteilt: Early- (EPPNB), Middle- (MPPNB) und Late Prepottery Neolithic B (LPPNB) (Schmidt 1998 in Lösch 2003). Göbekli Tepe wurde vom PPNA bis spätestens ins mittlere (M)PPNB genutzt. Weiteres Fundgut stammt aus einer spätmittelalterlichen Siedlungsperiode. Der archäologische Fundkomplex besteht aus drei Schichten, wobei die oberste Schicht postneolithisch (subrezente Proben), die beiden unteren Schichte neolithisch sind (Tab. II.2).

Die heutigen klimatischen Verhältnisse am Fundort Göbekli Tepe entsprechen einem kontinental geprägten, semiariden Mittelmeerklima mit ausgeprägtem Winterregen (Jahresmittel: 482mm). Die mittlere Jahrestemperatur beträgt ca. 18°C.

II Material

Tab. II.2: Fundschichten und zugehörige
Zeitabschnitte von Göbekli Tepe
(Dummler 2004)

Fundschicht	Zeitabschnitt
Layer I	Postneolithisch
Layer II	PPNB
Layer III	PPNA

Die archäologische Erschließung von Göbekli Tepe und Gürcütepe (siehe II: 1.2) wird seit 1995 von Mitgliedern des Museums von Sanliurfa (Türkei) und des Deutschen Archäologischen Instituts durchgeführt.

1.2 Gürcütepe

Von dem ebenfalls in Südostanatolien gelegenen Fundkomplex Gürcütepe wurden drei humane Knochenproben untersucht (Tab. III.3)

Tab II.3: Untersuchtetes Material der Fundstelle Gürcütepe (nach Dummler 2004)

Probe	Fundnummer	Knochen	Zeitstellung
Gü 1	B / Gü II, 12.9.95; N-Wadi, W-Profil, D.3	Phalanx	neolithisch
Gü 2	M1 / Gü II; 16.9.95; N-Wadi, W-Profil, E.7	Os coxae	postneolithisch
Gü 3	M9 / Gü II, 24.9.95; S1.1.4	Calotte	neolithisch

Der archäologische Fundplatz Gürcütepe liegt am nordwestlichen Rand der Harranebene, 10km Luftlinie von Göbekli Tepe entfernt. Er umfasst acht Siedlungshügel, in der vorliegenden Arbeit werden nur Funde aus dem größten Hügel (Hügel II) bearbeitet.

Die Funde aus diesem Hügel lassen sich zwei unterschiedlichen Besiedlungsperioden zuordnen. Zwei Proben stammen aus der neolithischen Besiedlungsphase. In dieser Zeit gab es in Gürcütepe eine Talsiedlung, die sich entlang eines Bachlaufes erstreckte und deren Bevölkerung bereits Ackerbau betrieb (Schmidt 2000). Die Nutzungszeit ist auf die Spätphase des akeramischen Neolithikums B (LPPNB) begrenzt und chronologisch ca. 7500 bis 7000 v. Chr. einzuordnen (Dummler 2004). Die nächste Besiedlungsphase fällt in die hellinistische und römisch-byzantische Zeit. Es wird vermutet, dass auf dem Hügel II römisch-byzantische Bauten vorhanden waren (Beile-Bohn et al. 1998), weiterhin wurden mehrere byzantinische Bestattungen gefunden (Dummler 2004). Ein weiteres in der vorliegenden Arbeit untersuchtes Knochenfragment stammt vermutlich aus dieser Zeit (subrezent).

Der Originalverband des untersuchten Knochenmaterials wurde durch den Bau eines Wasserwerkes und Erosion zerstört. Das Wasserwerk entlässt seit seinem Bau in unregelmäßigen Abständen über Teile der Grabungsfläche Wasser und verursacht so stark schwankende Bodenfeuchtigkeitsverhältnisse. Die Funde sind oft nur fragmentarisch erhalten, die Knochenoberfläche ist häufig mit einer millimeterdicken, grauen Kalksinterschicht überzogen war (von den Driesch & Peters 1999).

Klimatisch entspricht der Fundkomplex Gürcütepe dem Fundort Göbekli Tepe.

1.3 Nevalı Çori

Von dem Fundkomplex Nevalı Çori (37°35N, 38°39'O) stammen zehn humane Knochenproben (Tab II.5) und 40 Proben (Tab. II.6) tierischen Ursprungs. Der fragmentierte Zustand des Materials ließ keine morphologische Befundung hinsichtlich Alter und Geschlecht zu.

Die neolithische Siedlung Nevalı Çori liegt im südostanatolischen Hügelland in der heutigen Türkei, unterhalb des Dorfes Kantara, an der nördlichen Grenze des sog. Fruchtbaren Halbmondes. Der Zeitraum der Besiedlung Nevalı Çoris erstreckt sich vom Frühneolithikum (8. Jt. v. Chr.) bis zur frühen Bronzezeit (ab 3000 v. Chr.). In den mehr als zwei Meter starken Kulturablagerungen Nevalı Çoris wurden fünf Siedlungsschichten festgestellt. Diese können folgenden Zeitabschnitten und Datierungen (Radiocarbonatierung) zugewiesen werden (nach Lösch 2003, Lösch et al. im Druck):

Tab. II.4: Datierung der Schichten Nevalı Çoris (nach Lösch et al. im Druck)

Siedlungsschicht	Zeitabschnitt	Chronologische Zeitstellung (BP)
I/II	EPPNB	ca. 9280 - 8930
III	MPPNB	ca.9020 - 8864
IV	MPPNB	
V	MPPNB und LPPNB	ca. 8776 - 8610
VI/VII/VIII	nachneolithisch	

Nevalı Çori ist eine der ersten Siedlungen im nahen Osten nach der sog. neolithischen Revolution (Übergang vom Jäger- und Sammlertum zu Domestikation und Ackerbau) (Colledge et al. 2004, Lösch et al. im Druck, von den Driesch und Peters 2001).

Tab II.5: In die vorliegende Untersuchung einbezogene humane Knochenproben des Fundkomplexes Nevalı Çori (nach Lösch 2003, im Druck)

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Knochen	Schicht
NC 12	NC 90 G5 Hs6	Infans I	Humerusfragment	III
NC 13	NC 90 G7 18.29	Infans I	Humerusfragment	I/II
NC 14	NC 91 H5S Gr. 277.28	Adult	Kalotte	III
NC 15	NC 91 H5S 0.21	Adult	Metatarsus	III
NC 16	NC 91 G7 7181.35	Adult	Kalotte robust	I/II
NC 17	NC 91 H5S Gr. 277.27	Adult	Mandibula	III
NC 18	NC 91 F5	Adult	Phalanx	I
NC 19	NC 89 H11 S-Profil bei B.1	Adult	Kalotte robust	Eisenzeit
NC 20	NC 91 H8 HS 16 Pfl. 1	Adult	Kalotte	III

Die heutigen klimatischen Verhältnisse von Nevalı Çoris entsprechen denen der nahe gelegenen Stadt Samsat. Sie zeigen ein kontinental geprägtes, semiarides Mittelmeerklima mit ausgeprägten Winterregen (mittlere Jahrestemperatur 16°C, durchschnittlicher Jahresniederschlag 500mm) (Völk et al. 1994).

In den Jahren 1978 bis 1991 wurde der Fundkomplex Nevalı Çori von mehreren internationalen Gruppen im Rahmen des Untere-Euphrat-Rettungsprojektes archäologisch erschlossen (Lösch 2003).

II Material

Tab. II.6: Untersuchte Tierknochen des Fundkomplexes Nevalı Çori, nb = nicht bestimmbar (nach Lösch 2003)

Probe	Fundnummer	Spezies	Knochen	Schicht
NC 1	NC 89 18.10 G5 Gr.8.25	<i>Bos taurus</i>	Tibia links	II/IIIA
NC 2	NC 91 26.9 F7 79.33	<i>Bos taurus</i>	Radius rechts	I/II
NC 3	NC 91 7.11 H5S 0.23 Gr.288	<i>Capra sp.</i>	Radius	IV/V
NC 4	NC	<i>Sus scrofa</i>	Ulna	VI-VIII
NC 5	NC II 90 24.9 T15 0.3	<i>Equus hemionus</i>	Metacarpus	VI-VIII
NC 6	NC 91.29 G9 88.24	<i>Meles meles</i>	Ulna	I/II
NC 7	NC 91 F5 Gr. 249	<i>Capra aegagrus</i>	Phalanx 1	I
NC 8	NC 91 KN 14 H4N?	<i>Sus transiston</i>	Humerus	nb
NC 9	NC 91 Ku 14	<i>Vulpes vulpes</i>	Tibia	nb
NC 10	NC 85 G5 72.5	<i>Equus hemionus</i>	Talus	IV/V
NC 21	NC 91 16.10 F5 Gr. 249	<i>Canis lupus familiaris</i>	Metatarsus	I
NC 22	NC 91 G9 5779.29 Putz	<i>Lepus sp.</i>	Sacrum	I
NC 23	NC 91 1.10 F5 72.46	<i>Canis lupus familiaris (juvenil)</i>	Mandibula	I
NC 24	NC 24.9 F5 86.44	<i>Canis</i>	Radius	I
NC 25	NC 91 G9 67.28	<i>Dama dama</i>	Femur	I
NC 26	NC	<i>Cervus elaphus</i>	Ulna	I/II
NC 27	NC 91 31.10 H5S 0.20	<i>Schaf</i>	Calcaneus Metatarsus 4	IV IIIB
NC 28	NC 90 24.9 H10 süd 8	<i>Sus domesticus</i>	rechts	IIIA
NC 29	NC 89 31.8 G5 Hs 6 R4 NC 91 31.10 H4N 0.33 Gr.	<i>Sus domesticus</i>	Metatarsus 3 links	II/IIIA
NC 30	277	<i>Ovis orientalis</i>	Radius	VI-VIII
NC 31	NC 91 18.9 H7 Gr.202 16	<i>Sus domesticus</i>	Ulna	III/ IV
NC 32	NC 19.10 G9 39.3 Steg	<i>Lepus sp.</i>	Tibia rechts	IV/V
NC 33	NC 91 H5S 0.23 Gr.288	<i>Ovis orientalis</i>	Humerus	I-III
NC 34	NC 91G9 77 Prof.	<i>Capra aegagrus</i>	Femur rechts	VI-VIII
NC 35	NC 90 1.10 H8 Gr. 133A	<i>Capra aegagrus</i>	Metacarpus	III
NC 36	NC H9S 0.33	<i>Bos taurus</i>	Talus	III
NC 37	NC 91 10.10 H9S Gr.232.35 NC 90 H10S Gr. 157 neben	<i>Meles meles</i>	Vertebra thor.	VI-VIII
NC 38	M2	<i>Sus domesticus</i>	Femur links	III
NC 39	NC 90 20.10 G9 28.20	<i>Vulpes vulpes</i>	Tibia	I-III
NC 40	NC 91 5.10 F5 Gr.249	<i>Equus hemionus</i>	Radius	nb
NC 41	NC	<i>Bos taurus</i>	Phalanx 2	I-III
NC 42	NC 91G9 3949.6 Gr.268	<i>Bos taurus</i>	Metatarsus	I-III
NC 43	NC G9 8.7 Prof.	<i>Ovis sp.</i>	Metatarsus	I-III
NC 44	NC 91 Ku 14	<i>Bos taurus</i>	Phalanx 3	nb
NC 45	NC 91 28.10 G9 3839	<i>Gazella subgutturosa</i>	Tibia	nb
NC 46	NC 90 G9 59.20	<i>Gazella subgutturosa</i>	Talus	III
NC 47	NC 19.19 H10 72.24	<i>Gazella subgutturosa</i>	Metatarsus	III
NC 48	NC 91 G9 59.29	<i>Cervus elaphus</i>	Femur	I/II
NC 49	NC 91 7.11 H5 S 0.22	<i>Cervus elaphus</i>	Humerus re	IV/V
NC 50	NC 90 29.10 G95 HS22 R1.29	<i>Cervus elaphus</i>	Metacarpus	IV

1.4 Panker

Von dem Komplex Panker lagen vier fragmentarisch erhaltene Femora vor (Tab. II.7). Der Fundort liegt in Schleswig-Holstein, nahe dem kleinen Ort Matzwitz im Kreis Plön (54°10'N, 10°25'O).

Tab. II.7: Bezeichnung der Femora aus Panker und anthropologische Bestimmung (nach Gebhardt & Schröder, unveröffentlicht), nb = nicht bestimmbar.

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht
P1	1665	nb	nb
P2	1669	nb	weiblich
P3	1667	nb	nb
P4	1666	nb	nb

Die Knochen wurden in den Resten eines Megalithgrabes gefunden. Anhand von Radiokarbondatierungen einiger Fundstücke wird das Grab auf ca. 2500 v. Chr. datiert (Hirsch 2001a). Die Beigaben zeigen, dass die Kammer im Verlauf mehrerer Jahrhunderte wiederholt für Bestattungen genutzt wurde. Weiterhin stellen die Funde aus der Grabkammer keinen geschlossenen Fund dar: Der Inhalt der Kammer wurde zwischen der älteren Bronzezeit und der neuzeitlichen Zerstörung mehrmals gestört (Hirsch 2001b). So kann keine genaue Datierung des gefundenen Skelettmaterials vorgenommen werden.

Megalithgräber (auch Großsteingräber, Hünengräber) bestehen aus unbearbeiteten, auf die Erde gestellten Steinblöcken, die von Erd- oder Steinhügeln bedeckt waren. Sie werden ab 3000 v. Chr. in Schleswig-Holstein zu einer weit verbreiteten Bestattungsform des Neolithikums (Abb. II.1). Bei dem Megalithgrab in Panker handelt es sich um den mit mehr als 1000 Skelettfragmenten umfangreichsten Fundkomplex menschlicher Skelettreste aus dieser Zeit. Aufgrund ungünstiger Erhaltungsbedingungen (kalkarme Böden) werden in den neolithischen Bestattungen dieser Region nur selten erhaltene Knochenreste gefunden (Hoika 1990).

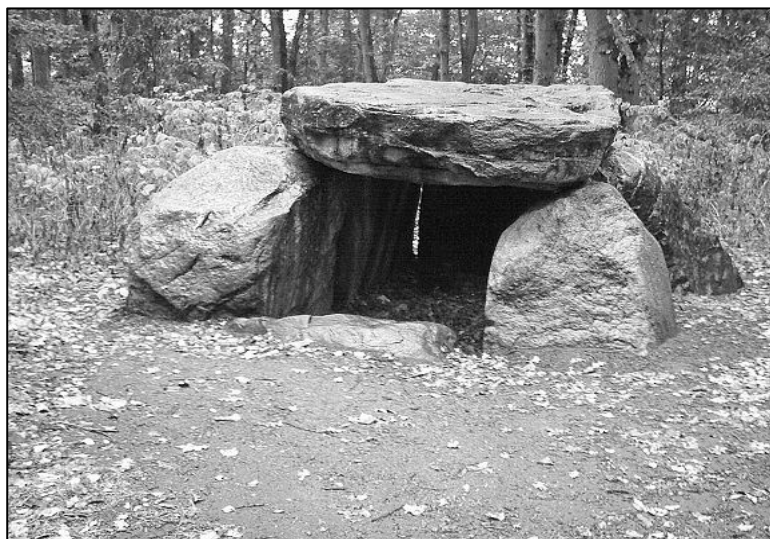


Abb. II.1: Typisches Megalithgrab in Schleswig-Holstein (Bordesholm), nur noch die Grabkammer ist zu sehen, der Grabhügel wurde entfernt

II Material

Die Erhaltung der Knochen des Megalithgrabes Panker begründet Hirsch (2001b) mit der besonderen Ausstattung des Grabes:

Der Boden der Grabkammer war ursprünglich vollständig gepflastert und zwar, für Schleswig-Holstein ungewöhnlich, hauptsächlich mit Kalksteinplatten. Weiterhin war die Kammer wahrscheinlich mit hochkant stehenden Steinplatten in Quartiere unterteilt worden.

Die Steine der Grabkammer waren schon im 18. Jahrhundert beseitigt worden, jahrelanger Ackerbau hatte vom Kammerinhalt lediglich eine 10cm starke dunkelhumose Fundschicht übrig gelassen, die von Ackerboden bedeckt wird. Unter der Fundschicht befindet sich Lehmboden (Hirsch 2001a).

Klimatisch liegt Panker, wie auch die anderen Schleswig-Holsteinischen Fundplätze in der Westwindzone. Darunter versteht man eine gemäßigt warme Temperaturzone zwischen subtropischen Gebieten im Süden und kalten Bereichen Nordeuropas (mittlere Jahrestemperatur: 8,6°C, durchschnittlicher Jahresniederschlag 754mm) (Wagner 2002).

Der Fundkomplex Panker wurde im Zuge einer archäologischen Ausgrabung 1985 im Auftrag des Archäologischen Landesamtes Schleswig-Holstein geborgen.

1.5 Eiderschädel

Bei dem Eiderschädel handelt es sich um einen Einzelfund.

Der Schädel wurde von Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin im Jahre 2003 aus der Eider (Süßwasserfluss) nahe Bordesholm (54°11'N, 10°01'O) in Schleswig-Holstein geborgen.

Wie Abbildung II.2 zeigt, weist der Schädel einen relativ guten Erhaltungsgrad auf und ist von Muscheln bewachsen.

Es handelt sich wahrscheinlich um ein weibliches Individuum mit einer Liegezeit von ca. 2000 Jahren (Wiesbrock, U. (Institut für Rechtsmedizin, Kiel), mündliche Mitteilung).



Abb. 11.2: Der Schädel Fund aus der Eider nach seiner Bergung, mit Muschelbehaftung

1.6 Trier

Neun weitere Proben von Femora stammten von einem Gräberfeld (Medardstraße) in Trier (49°45'N, 6°38'O). Die anthropologische morphologische Begutachtung wurde 1998 von Schröder et al. durchgeführt, die Ergebnisse zeigt Tabelle II.8.

Tab. II.8: Proben des Fundkomplexes Trier und Ergebnisse der anthropologischen Befundung (nach Schröder et al. 1998), nb=nicht bestimmbar.

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht	Körperhöhe (cm)
T1	75	Maturitas	männlich	162 +/- 3,2
T2	76	Maturitas	weiblich	160 +/- 2,7
T3	63	Infans 1	nb	nb
T4	84	Maturitas	weiblich	nb
T5	108	Juvenis	nb	161 +/- 3,2
T6	55	Maturitas	weiblich	157 +/- 2,7
T7	69	Maturitas	weiblich	167 +/- 3,2
T8	77	Maturitas	männlich	172 +/- 3,2
T9	81	Maturitas	männlich	161 +/- 3,2

Durch die beigegebenen Funde konnte das Gräberfeld in die spätrömische Zeit, d.h. in das dritte und vierte Jahrhundert n. Chr. datiert werden (Schröder et al. 1998). Die klimatischen Bedingungen entsprechen dem des Fundkomplexes Panker.

Das Skelettmaterial wurde 1994 in einem Ausschnitt des römischen Gräberfeldes in der Medardstraße im Auftrage des Rheinischen Landesmuseums Trier geborgen.

1.7 Etting

Es wurden Knochen- und Zahnproben von 15 Individuen des bayrischen Fundkomplexes Etting (48°49'N, 11°22'O) analysiert. Je nach Analyseverfahren wurden verschiedene Skelettteile verwendet. Für die Kollagengewinnung wurden Rippen genutzt, für die Beurteilung von Histologie und Fluoreszenz wurden Femurquerschnitte eingesetzt, die DNA-Extraktion erfolgte aus den Zähnen.

Das Gräberfeld Etting-Sandfeld liegt nordöstlich von Ingolstadt in der Nähe des heutigen Ortes Etting. Die Nekropole wird in die Zeit um 700 n. Chr. datiert. Der Bestattungsplatz liegt auf einem Hang, der nach Süden zu einem Bach hin abfällt. In ca. 100m Entfernung wurde eine vermutlich zugehörige Siedlung des 7. und 8. Jahrhundert n. Chr. nachgewiesen. (Czermak & Ledderose 2004)

Bei dem Fundkomplex Etting handelt es sich um eine spätmerowingerzeitliche Separatgrablege (siehe auch Wahl et al. 2001).

II Material

Tab. II.9: Proben des Fundkomplexes Etting und Ergebnisse der anthropologischen Befundung (Czermark 2003), nb=nicht bestimmbar.

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht	Körperhöhe (cm)
E1	Grab 1 / Obj. 04	Adultas	männlich	168,4
E2	Grab 2 / Obj. 01	Maturitas	männlich	175,7
E3a	Grab 3ANord / Obj. 200/03	Adultas	männlich	171,8
E3b	Grab 3BSüd / Obj.200/01	Adultas	männlich	171,5
E3c	Grab 3/1 / Obj. 200/02	Adultas	männlich	170
E7	Grab 7 / Obj. 179	Adultas	männlich	170
E13	Grab 13 / Obj. 251	Adultas	männlich	169
E18/1	Grab 18/1 / Obj. 301/01	Maturitas	männlich	174,3
E18/2	Grab 18/2 / Obj. 301/02	Maturitas	männlich	171,5
E19	Grab 19 / Obj. 172	Juvenis	männlich	156,8
E22	Grab 22 / Obj. 258	Adultas	männlich	165,9
E25	Grab 25 / Obj. 260	Adultas	männlich	168,7
E27	Grab 27 / Obj. 211/ 01	Adultas	männlich	176,2
E29	Grab 29 / Obj. 263	Adultas	männlich	165,5
E31	Grab 31 / Obj. 175/01	Juvenis	weiblich	nb

Der Fundort liegt im mitteleuropäischen Klimabereich, die in der Nähe des Fundplatzes liegende Stadt Nürnberg zeigt Jahresdurchschnittstemperaturen von 8,7°C mit kalten Wintern und heißen Sommern (durchschnittlicher Jahresniederschlag 638,4mm) (Kochen 1952).

Der Fundkomplex Etting wurde 1996 als Folge von Baumaßnahmen vollständig ergraben.

1.8 Kelheim und Unterigling

Ebenfalls aus Bayern stammen 23 Proben aus den Fundkomplexen Kelheim und Unterigling.

Den Großteil der Proben stellt der Fundkomplex Kelheim nahe der Stadt Kelheim (Landkreis Kelheim, 48°55'N, 11°52'O) in Niederbayern (vgl. Bernd 1980). Die hier gefundenen Gräber stammen aus der Zeit des 6. Jahrhunderts n. Chr. bis zum 10. Jahrhundert n. Chr. (Meier & Eibl, in Vorbereitung).

Die Datierung der einzelnen untersuchten Proben (nach Meier & Eibl, in Vorbereitung) und ihren anthropologischen Befund (Strott, in Vorbereitung) zeigt Tabelle 11.10, die Probennahme erfolgte ausschließlich an Rippen.

Tab. II.10: Anthropologischer Befund des humanen Kelheimer Materials (nach Strott, in Vorbereitung) und die Datierung der einzelnen Proben (nach Meier & Eibl, in Vorbereitung), nb=nicht bestimmbar.

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht	Körperhöhe (cm)	Datierung
Kh1	Kh 130	Adultas	männlich	nb	7. Jahrhundert
Kh7	K.K. 59	Infans I	weiblich	nb	8. - 10. Jahrhundert
Kh9	Kh62	Adultas	weiblich	159	8. - 10. Jahrhundert
Kh10	Kh72	Adultas	weiblich	159	8. - 10. Jahrhundert
Kh12	Kh128	Juvenis	weiblich	166	8. - 10. Jahrhundert
Kh13	Kh33/1	Maturitas	männlich	nb	8. - 10. Jahrhundert
Kh15	Kh58	Maturitas	männlich	172	8. - 10. Jahrhundert
Kh16	Kh2	Maturitas	männlich	nb	8. - 10. Jahrhundert
Kh17	Kh12/1	Adultas	weiblich	166	8. - 10. Jahrhundert
Kh 19	K.K. 46	Infans I	männlich	nb	8. - 10. Jahrhundert

Zusätzlich zu dem menschlichen Fundgut wurden Rinderknochen dieses Fundortes hinsichtlich ihrer Aminosäurerazemisierungswerte analysiert. Es standen acht Proben des Fundkomplexes Kehlheim und fünf Proben des Fundortes Unterigling zur Verfügung. Der Fundort Unterigling zeigt ähnliche Bodenbedingung und Zeitstellung wie der Fundkomplex Kelheim (Tabelle II.11, Strott (Department Biologie I, Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie, LMU-München) mündliche Mitteilung).

Bei Unterigling handelt es sich um ein karolingisch-ottonisches Gräberfeld (Gemeinde Igling, 48°04'N; 10°48'O), das einige Kilometer nördlich von Landsberg am Lech liegt (westliches Oberbayern). Die Belegung dieses Reihengräberfeldes erstreckt sich vom 8. bis 9. Jahrhundert n. Chr. (Meier & Eibl, in Vorbereitung).

Klimatisch entsprechen die Fundkomplexe Kelheim/Unterigling dem Fundkomplex Etting. Die Ausgrabung erfolgte durch das Bayrische Landesamt für Denkmalpflege zwischen 1976 und 1980 (Strott, in Vorbereitung).

Tab. II.11: Untersuchte Rinderknochen der archäologischen Fundplätze Kelheim und Unterigling
(nach Strott, in Vorbereitung, Datierung nach Meier & Eibl, in Vorbereitung).

Probe	Fundnummer	Fundort	Knochen	Datierung
Kh2	BT12/27 771128	Kelheim	Radius	7. bis 9. Jahrhundert
Kh3	BV12/08 1535	Kelheim	Cranium	6. bis 9. Jahrhundert
Kh5	BX13/27 77139	Kelheim	Vertebra cervicalis	7. bis 9. Jahrhundert
Kh8	BL14/42 771602	Kelheim	Mandibula	8. bis 9. Jahrhundert
Kh11	BP11/17	Kelheim	Cranium	6. bis 9. Jahrhundert
Kh14		Kelheim	Cranium	6. bis 9. Jahrhundert
Kh18	BV 16/02	Kelheim	Humerus	7. bis 9. Jahrhundert
Kh20	BV12/08 7711534	Kelheim	Tibia	6. bis 9. Jahrhundert
U1	2003/3268 89636D	Unterigling	Metatarsus	8. bis 9. Jahrhundert
U2	2001/2428 67865D	Unterigling	Metatarsus	8. bis 9. Jahrhundert
U3	2003/3388 44521E	Unterigling	Tibia	8. bis 9. Jahrhundert
U4	2003/1947 89980D	Unterigling	Metatarsus	8. bis 9. Jahrhundert
U5	2003/3320 89650D	Unterigling	Coxae	8. bis 9. Jahrhundert

1.9 Hemmingstedt

Die Proben von vier Femora des Fundkomplexes Hemmingstedt stammen aus einem Massengrab in der Nähe des Schleswig-Holsteinischen Ortes Hemmingstedt (54°09'N; 9°0'O). Die morphologische Alters- und Geschlechtsbestimmung fand in einer vorhergehenden Untersuchung (de Albuquerque Leinenbach et al. 2000) statt, die Befunde zeigt Tabelle II.12.

Tab. II.12: Anthropologische Befund des Hemmingstedter Probenmaterials
(nach de Albuquerque Leinenbach et al 2000)

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht	Körperhöhe (cm)
H1	E1	Juvenis	männlich	179
H2	E4	Juvenis	männlich	176
H3	E3	Adultas	männlich	173
H4	E5	Maturitas	männlich	168

II Material

Das Massengrab wird der Schlacht bei Hemmingstedt am 17. Februar 1500 zugeordnet (de Albuquerque Leinenbach et al. 2000). Die Funde sind somit genau datiert.

Bei dieser Schlacht des unabhängigen Bauernstaates Dithmarschen gegen das dänisch-holsteinische Heer siegten die zahlenmäßig unterlegenen Bauern, indem sie das gegnerische Heer auf Marschland lockten, dieses durch Öffnen der Deiche fluteten und so ein Großteil der Gegner ertränkten. Auf dem Schlachtfeld wurden später die gefallenen Fußknechte des feindlichen Heers in rasch aufgeworfenen Massengräbern bestattet, während die Adligen nicht begraben wurden und so „ein Raub für Raben und Hunde“ wurden, wie der Historiker Lammers (1953) schreibt.

Klimatisch entspricht der Ort Hemmingstedt ungefähr dem Fundkomplex Panker (siehe II.1.4), das Massengrab war in Kleiboden eingetieft. Die Ausgrabung wurde 1996 und 1997 im Auftrag des Museums für Dithmarscher Vorgeschichte in Heide durchgeführt.

1.10 Flensburg

Neun Knochenproben (Femora) stammen von einem zu einem Franziskanerkloster in Flensburg (Schleswig-Holstein; 54°47'N, 9°26'O) gehörigen Friedhof, wobei die einzelnen Gräber durch Sekundärbestattungen und spätere Baumaßnahmen stark gestört aufgefunden wurden. Die Befunde der anthropologischen Begutachtung sind in Tabelle II.13 zusammengefasst.

Tab. II.13: Anthropologische Befunde des Untersuchungsgutes des Fundkomplexes Flensburg (nach Gebhardt 2003, Gebhardt mündliche Mitteilung), nb=nicht bestimmbar.

Probe	Fundnummer	Altersklasse	Geschlecht	Körperhöhe (cm)
F1	760	Adultas	weiblich	182
F2	531	Infans II	nb	nb
F3	597	Maturitas	männlich	172
F4	524	Senilis	männlich	156
F5	619	Adultas	weiblich	164
F6	433	Senilis	weiblich	150
F7	583	Adultas	weiblich	157
F9	810	Maturitas	weiblich	162
F10	863	Maturitas	weiblich	171

Die Bestimmung der genauen Zeitstellung der Proben ist problematisch, da auf eine Datierung mittels naturwissenschaftlicher Methoden verzichtet wurde. Aus historischen Quellen ist bekannt, dass sich der Belegungszeitraum des Friedhofes vom Mittelalter bis in die frühe Neuzeit erstreckte. Aufgrund der Armhaltungen der Verstorbenen kann man den Bestattungszeitraum auf 1300 bis 1600 n. Chr. einengen (Witte 2003).

Klimatisch entspricht dieser Fundkomplex den anderen Schleswig-Holsteinischen Fundkomplexen (Panker, Hemmingstedt). Die Funde wurden im Auftrag des Archäologischen Landesamtes Schleswig-Holsteins im Jahre 2000 geborgen.

2 Rezenten kremiertes Material

Es wurden zehn Proben von zehn unterschiedlichen Individuen nach deren Verbrennung in einem modernem Krematorium (Krematorium Kiel) analysiert (vgl. Tab. II.14). Vor der Verbrennung konnten von sieben dieser zehn Leichen Schleimhautabstriche genommen werden, die eine molekulargenetische Validisierungsmöglichkeit boten (siehe III: 11).

Tab. II.14: Probennummern und morphologisch bestimmtes Geschlecht der rezenten kremierten Knochenproben.

Probennummer:	Geschlecht:	Probennummer:	Geschlecht:
K91	weiblich	K96	männlich
K92	männlich	K97	männlich
K93	männlich	K98	männlich
K94	weiblich	K99	weiblich
K95	männlich	K100	weiblich

In neuzeitlichen Krematorien werden die Leichen bei einer Betriebstemperatur von 880-1000 ° C mit Sarg verbrannt. Die Einäscherung dauert 1¹/₂ – 2 Stunden, in seltenen Fällen können abhängig von Sarg und Leichenzustand auch bis zu vier Stunden benötigt werden. Organische Bestandteile werden bei diesem Verbrennungsprozess vollständig entfernt. (Bohnert et al. 1998, McKinley 1994, Warren 1997)

Die Überreste des Verbrennungsvorganges enthalten neben dem fragmentierten Knochenmaterial weitere anorganische Bestandteile von Sarg (Eisennägel) oder Körper (Prothesen). Diese werden manuell entfernt und die verbleibenden Reste mit einer Mühle zu zermahlen (S. Abb. II.3).

Die Analysen finden zum Teil an der „Asche“ statt, während für Histologie und Fluoreszenzanalyse Querschnitte von ungemahlene Knochenstücken genutzt werden.

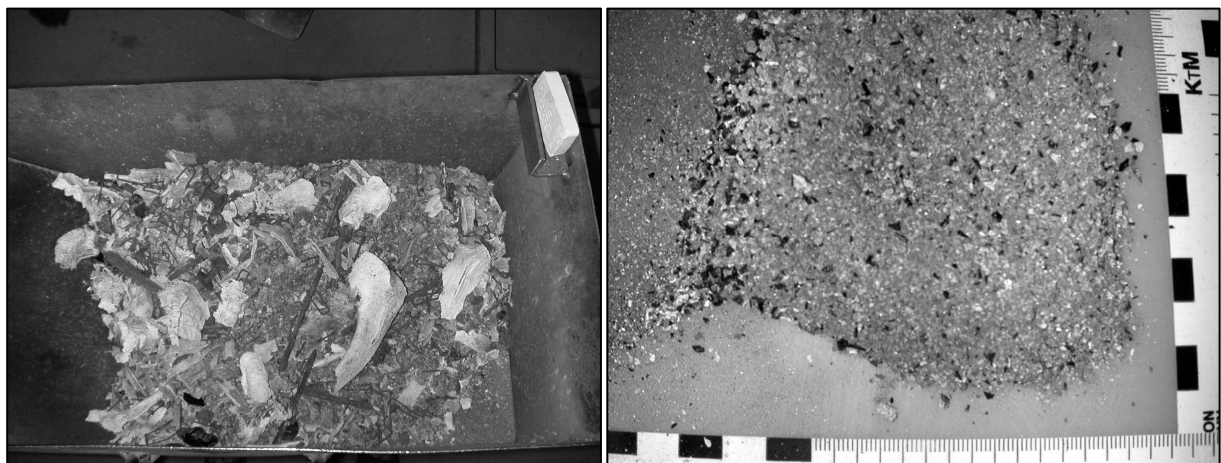


Abb. II.3: Die linke Abbildung zeigt die Überreste einer Leichenverbrennung im Krematorium Kiel vor der Entfernung von Metallüberresten und Zermahlen des Knochens, die rechte Abbildung zeigt das Ergebnis des Mahlens der Knochen: die „Asche“

3 *In vitro* degradiertes Material

Das *in vitro* degradierte Material wird in zwei Temperaturexperimenten durch das Erhitzen von Knochenstücken in Wasser produziert (siehe III. 1).

In dem Temperaturexperiment I wurde in einer vorhergehenden Arbeit (Harbeck 2002) Proben eines einzigen humanen modernen Femurs (männlich, Adultas) *in vitro* degradiert. Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Analysen resultieren aus diesem Verfahren 18 Proben, die mit TE I und der jeweiligen Inkubationsdauer in Tagen bezeichnet werden (siehe III.1).

Für das Temperaturexperiment II wurden zehn humane Femurproben unterschiedlicher Individuen verwendet. Die Proben wurden im Anatomischen Institut der LMU München im Rahmen von Sektionen von in Formalin konservierten Leichen entnommen. Eine Übersicht über die Individualdaten der Knochenproben und die Dauer der *in vitro* Degradation gibt Tabelle II.15. Die Bezeichnung der Proben setzt sich aus dem Kürzel TE II und der jeweiligen Inkubationsdauer in Tagen zusammen.

Tab. II.15: Individualdaten der Knochenproben des Temperaturexperimentes II

Probe	Alter	Geschlecht	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Bezeichnung
114/03	60	weiblich	169	83	TEII 2
68/03	76	männlich	165	55	TE II 4
140/03	88	weiblich	157	54	TE II 7
98/03	68	männlich	175	86	TE II 9
87/03	78	weiblich	163	56	TE II 11
115/03	91	weiblich	167	69	TE II 16
138/03	93	weiblich	154	62	TE II 18
115/02	86	weiblich	156	72	TE II 21
128/03	51	männlich	175	67	TE II 23
89/03	79	männlich	166	45	TE II 25

III

Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden Analysen zu unterschiedlichen Komplexen der Knochenstruktur durchgeführt (siehe I: 5). Eine Übersicht inklusive der, die Analyseebenen übergreifenden Schritte zeigt Abb. III.I.

Durch vorhergehende Arbeiten (Czermark 2003, Dummler 2004, Harbeck 2002, Lösch 2003, Strott in Vorbereitung, Gaukler 2006) liegt ein Teil der angestrebten Daten vor, so dass bei dem vorliegenden Projekt auf deren Erhebung verzichtet werden konnte. Aufgrund der naturgegebenen Materialknappheit des Temperaturexperimentes I und des archäologischen Materials war es nicht möglich, Analysen auf allen Ebenen bei allen Proben durchzuführen. So musste z.B. für die Proben des Temperaturexperimentes I auf eine histologische Untersuchung verzichtet werden und die molekulargenetischen Analysen des Ettinger Fundkomplexes wurden an Zahn- und nicht an Knochenmaterial durchgeführt. Bei welcher Probe, welche Analysen bzw. welche Literaturquellen zur Anwendung kamen, wird im Anhang (b) aufgeführt. Die Analysen wurden soweit nicht anders dargestellt in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Grupe (Department Biologie I, Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie, LMU-München) durchgeführt.

Die *in vitro* Degradation der Proben des Temperaturexperiments II, die Begutachtung der histologischen Präparate und der UV-Fluoreszenz (inklusive Indexerstellung), sowie die Aufarbeitung der Proben für die Röntgenfluoreszenzanalyse erfolgten in Zusammenarbeit mit Frau Dipl. Biol. S. Doppler (Department Biologie I, Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie, LMU-München)

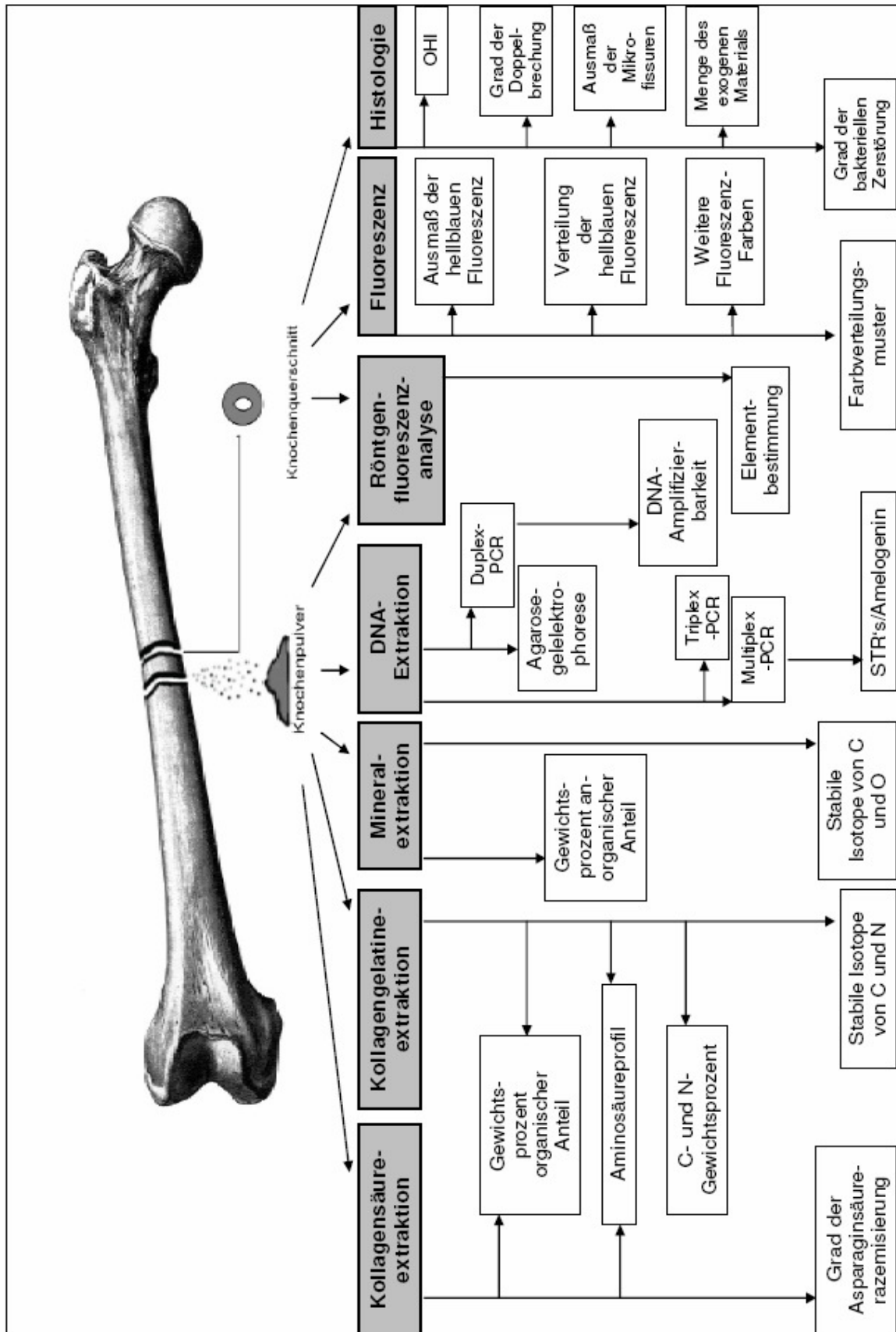


Abb. III.1: Angewendete Methoden und resultierende Merkmale

1 *In vitro* Degradation

Es wurden rezente Knochenproben analysiert, die mittels zweier Temperaturexperimente (I und II) *in vitro* degradiert wurden (vgl. I: 5.1). Für die *in vitro* Degradation wurden eine Temperatur und Wassermenge gewählt, die sich in Voruntersuchungen für die Simulierung von Asparaginsäurerazemisierung auch hinsichtlich der Dauer des Experimentes als sinnvoll erwies (Harbeck 2002).

Die Proben des Temperaturexperimentes I entstammen der *in vitro* Degradation einer vorhergehenden Arbeit (Harbeck 2002). Es wurden gröbendefinierte Femurquerschnitte (ca. 0,5cm Kantenlänge) mittels oszillierender Knochensäge (AESCULAP, Typ GA 702) präpariert, die mechanisch gereinigt (elektrische Fräse, BOSCH CSB 800) und anschließend in einer absteigenden Ethanolreihe (98%, MERCK) mehrere Stunden zur Fettentfernung gewaschen wurden. Nach Gefriertrocknung wurden die Proben mit Aqua bidest (10mg pro ml Knochen) in dicht verschlossenen Glasgefäßen (250 ml, SCHOTT DURAN) bei 90°C in einem Inkubator (MALAG, Typ 80) erhitzt. Zu definierten Zeiten (siehe Tab. III.1) wurden Aliquots entnommen. Diese wurden anschließend gefriergetrocknet (PFEIFFER VAKUUM, Typ Christ alpha 1-6).

Tab. III.1: Bezeichnung und Inkubationszeit der Proben des Temperaturexperimentes I.

Probenbezeichnung	Inkubationszeit (Tage)
TE I 0,5	0,5
TE I 1	1
TE I 2	2
TE I 2,5	2,5
TE I 3	3
TE I 3,5	3,5
TE I 4	4
TE I 5	5
TE I 6	6
TE I 7	7
TE I 8	8
TE I 12	12
TE I 16	16
TE I 20	20
TE I 26	26
TE I 29	29
TE I 32	32

III Methoden

Die Präparation der Knochenproben des Temperaturexperimentes II wurde folgendermaßen durchgeführt:

1. Von in Formaldehyd konservierten Leichen werden nach mechanischer Entfernung des Fleischanteils mittels einer Knochensäge Querschnitte des Femur in der Diaphysenmitte von 2,5 – 5cm Kantenlänge entnommen.
2. Die Proben werden anschließend bei 100°C in Wasser für ca. 3h mazeriert und nochmals mechanisch gereinigt, um Muskelreste und Knochenhaut zu entfernen.
3. Um restliche Eiweiße zu lösen, werden die Proben mit einer Biozymbilösung (1:10 in destilliertem Wasser, BRENNESEL, München) in geschlossenem Gefäß bei 55°C eine Stunde inkubiert (Wärmeschrank MEMMERT, Modell 300).
4. Zur Entfettung werden die Proben abschließend 1h in Diethylether (NEOLAB) gelagert.

Trotz der Behandlung mit Diethylether zeigten sich noch Fettrückstände am Knochen, so dass die Proben einer weiteren Extraktion in einem Soxhletextraktor (ROTH) unterzogen wurden. Soxhletextraktion ist eine fest/flüssig -Extraktion unter kontinuierlichen Rückfluss, die in einem Soxhlet-Extraktor durchgeführt wird. In dieser Apparatur wird zu Fettentfernung Diethylether in einem Destillationskolben zum Sieden erhitzt, dieser steigt auf und wird am Kühler kondensiert, tropft auf das Knochenmaterial und fließt periodisch durch Heberwirkung in den Kolben zurück. Das extrahierte Fett reichert sich in der sich vor dem Kolben befindlichen Watte an, während das Extraktionsmittel erneut verdampft, kondensiert und die Knochen weiter entfettet. Dieses Verfahren wird 3 – 4 Tage bei den Knochenproben angewendet, bis die Watte sich nicht mehr durch Fettaufnahme gelb verfärbt.

Zur Durchführung des Temperaturexperimentes wurden 10 Knochenquerschnitte mit ca. 1cm Kantenlänge in dicht verschlossenen Gefäßen (250 ml, s. o.) mit destilliertem Wasser (20ml/g Knochen) bei 90°C im Wärmeschrank inkubiert. Nach 2, 4, 7, 9, 11, 16, 18, 21, 23 und 25 Tagen wurde jeweils eine Probe entnommen, gefriergetrocknet (Lyophilisator: CHRIST, Alpha 1-4 LD, mit Vakuumpumpe: PFEIFFER, Duo 2) und bei -20°C bis zur weiteren Analyse gelagert.

2 Histologie

Anhand der Mikrostruktur des Knochens soll der Erhaltungszustand des Materials eingeschätzt werden, insbesondere kann der Grad der mikrobiellen Dekomposition festgestellt werden (siehe I: 3.2.1). Hierzu wurden histologische Dünnschnitte angefertigt und Kriterien zu der Beurteilung ihres Erhaltungszustandes angewandt.

2.1 Anfertigung von histologischen Präparaten

Vor der Anfertigung von Dünnschnitten wurden die Knochen zur Stabilisierung in das Epoxidharz Biodur E12 (BIODURTMPRODUCTS) eingebettet (modifiziert nach Herrmann et al. 1990):

1. Das Biodur wird bei 50°C über Nacht im Wärmeschrank inkubiert, was eine eventuelle Kristallbildung rückgängig macht.
2. Anschließend wird das Biodur mit dem Härter E1 (BIODURTMPRODUCTS) im Verhältnis 100:28 polymerisiert, dazu werden beide Flüssigkeiten langsam mit einem Glasstab vermengt (ca. 10min).
3. Die Knochenproben werden in geeignete Gefäße gegeben (leere Filmdosen) und mit dem Kunststoff (Biodur/Härter-Gemisch) überschichtet.
4. Anschließend werden die Proben für 48h bei -0,8bar im Exikator (KARTELL) getrocknet, um evt. vorhandene Luftblasen zu entfernen.
5. Zur vollständigen Aushärtung werden die Proben für 24h im Wärmeschrank bei 30°C inkubiert und anschließend für mehrere Tage bei Raumtemperatur getrocknet.

Die ausgehärteten Proben wurden mit einem Sägeschnittmikrotom (LEICA, Typ SP 1600) mit diamantbesetzter Innenlochsäge planparallel geschnitten. Von jeder Probe wurden 2 Schnitte mit 70µm Dicke hergestellt, bei besonderer Brüchigkeit des Knochens wurde die Schnittdicke bis auf 100µm erhöht. Die hergestellten Dünnschnitte wurden nach kurzer Trocknungszeit mit dem Kunstharzklebstoff Eukitt (KINDLER) auf einem Objektträger (76x26, ROTH) fixiert und mit Deckgläschen (24x40, ROTH) abgedeckt. Nach diesem Schritt wurden die Präparate vor der mikroskopischen Auswertung ca. 1 Woche bei Raumtemperatur getrocknet.

2.2 Mikroskopische Untersuchung und Bildbearbeitung

Die Schnitte wurden unter einem Durchlichtmikroskop (ZEISS, Axioskop 2 plus) mit Digitalakamera (ZEISS, AxioCam MRc colour) unter 50facher (Okular 10x, Objektiv 5x) Vergrößerung sowohl im Hellfeld als auch im Polfilter betrachtet.

Der Polfilter erzeugt polarisiertes Licht, welches bei Betrachtung von Osteonen durch Interferenzbildung zu sog. Brewster-Kreuzen führt (Doppelbrechung, siehe I: 1.3).

III Methoden

Mit der Software *AXIOVISION* (modular aufgebautes Bildbearbeitungs- und Analysesystem) wurden die Bilder vom Mikroskop auf einen PC übertragen und ein Maßstab eingefügt. Jede Probe wurde zur Dokumentation sowohl im Hellfeld als auch unter polarisiertem Licht fotografiert und gespeichert.

2.3 Bestimmung des Dekompositionsgrades

Die Beurteilung der Proben erfolgte direkt während der mikroskopischen Betrachtung des gesamten Querschnittes. Es wurden jeweils zwei Knochenquerschnitte einer Probe betrachtet.

Um die Proben hinsichtlich ihres Erhaltungszustandes beurteilen zu können, wurden verschiedene Bewertungssysteme angewandt bzw. entwickelt. Dabei entspricht der numerisch höchste Wert immer der Mikrostruktur von frischem Knochenmaterial, während ein Wert von 0 die stärkste Dekompositionerscheinung kennzeichnet. Es wurde sowohl der Knochenquerschnitt gesamt, wie auch der endostale (e), mittlere (m) und periostale (p) Teil des Knochenquerschnittes getrennt begutachtet (nach Garland 1987).

Zur Beurteilung der Gesamterhaltungszustandes des Knochenquerschnittes im Hellfeld wurde der von Hedges et al. (1995) entwickelte „Oxford histologische Index“ (OHI) verwendet. Da dieser Index von einer Vielzahl von Autoren (z.B. Colson & Bailey 1997, Gilbert et al. 2005, Jans et al. 2004, Trueman & Martill 2002) genutzt wurde, konnte so eine Vergleichbarkeit der erhobenen Daten mit anderen Untersuchungen erreicht werden. Mit diesem Bewertungssystem wurde der allgemeine mikrostrukturelle Erhaltungsgrad anhand des Grades der noch vorhandenen ursprünglichen Struktur beurteilt (Tab. III.2). Die Zuordnung eines Index-Wertes zu einer Probe erfolgte durch Abschätzung der prozentual erhaltenen Knochenstruktur und der im Knochenquerschnitt noch erkennbaren Systeme.

Tab. III.2: Oxford Histologischer Index (OHI) (nach Hedges et al. 1995)

Index	% intakter Knochen	Beschreibung
0	< 5	Kein mikrostrukturell Aufbau mit Ausnahme der Havers'schen Kanälen erkennbar
1	< 15	Kleine Flächen mikrostrukturell gut erhaltener Knochen oder lamelläre Strukturen vorhanden
2	< 33	Lamelläre Strukturen zwischen zerstörten Stellen deutlich erkennbar
3	< 67	Deutlicher Erhalt einiger Osteozytenlakunen
4	< 85	Geringe Zerstörung des Knochens
5	> 95	Sehr gut erhalten, nicht zu unterscheiden von frischem Knochen

Die Abbildung III.2 zeigt jeweils ein Beispiel für einen OHI-Wert von 5 bzw 1.

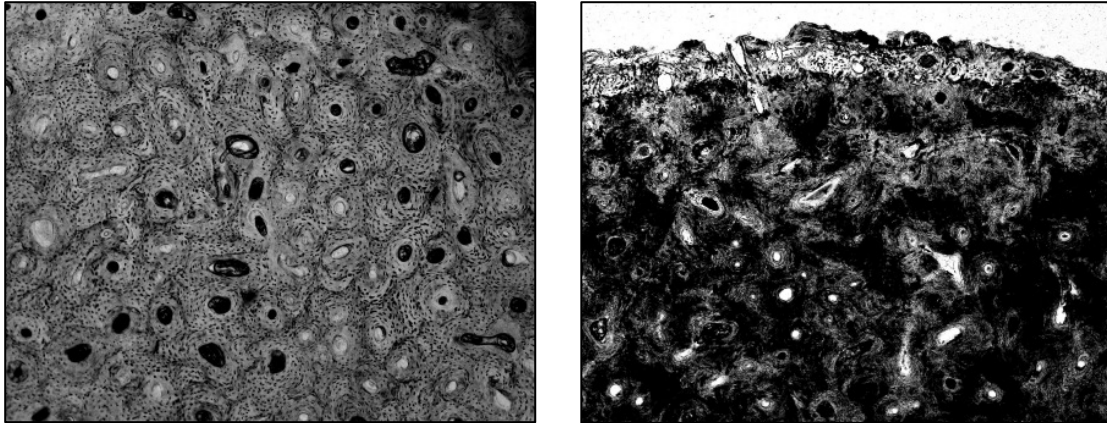


Abb. III.2: links: Probe E3a mit sehr gut erhaltener Mikrostruktur (OHI-Index von 5), rechts: Probe E22 mit größtenteils zerstörter Mikrostruktur (OHI-Index von 1)


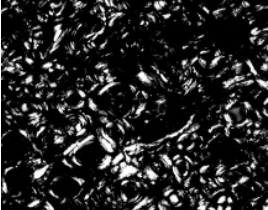

Für die prozentuale Verteilung des OHI über den Knochenquerschnitt lassen sich theoretisch folgende Muster postulieren (Verteilungsmuster), die den Knochenproben zugewiesen wurden:

1. Der OHI-Index ist über den gesamten Knochenquerschnitt gleichmäßig (periostal=mitte=endostal).
2. Der mittlere Bereich des Knochenquerschnittes weist höhere OHI-Werte auf (periostal<mitte>endostal).
3. Die beiden äußeren Bereiche des Querschnittes weisen höhere OHI-Werte auf, als der mittlere Bereich, dabei ist der OHI-Wert periostal und endostal gleich ausgeprägt (periostal=endostal>mitte)
4. Der endostale Bereich des Querschnittes hat die höchsten OHI-Werte (periostal=mitte<endostal).
5. Der periostale Bereich des Knochenquerschnittes hat die höchsten OHI-Werte (endostal=mitte<periostal)
6. Periostaler und mittlerer Bereich des Knochens höhere OHI-Werte als der endostale Bereich (periostal=mitte>endostal)
7. Endostaler und mittlerer Bereich des Knochenquerschnittes zeigen höhere OHI-Werte als der periostale Bereich (endostal=mitte>periostal)

Die Beurteilung des Knochenquerschnittes im polarisierten Licht erfolgte nach einem Index, der von Jans et al. (2002) erstellt wurde (Tab III.3). Es wird die Ausprägung der Interferenzbildung der Knochenlamellen im polarisierten Licht nur abgeschätzt (Doppelbrechung, Brewsterkreuz-Bildung).

III Methoden

Tab. III.3: Index zur Beurteilung der Doppelbrechung
(nach Jans et al. 2002), Beispielproben von oben nach unten: NC12, P2, F4

Index	Beschreibung	Beispiel (Knochenquerschnitte im Polfilter)
0	Keine Doppelbrechung	
0,5	Reduzierte Doppelbrechung	
1	Doppelbrechung wie frischer Knochen	

Ebenfalls mittels eines geringfügig abgeänderten Index nach Jans et al. (2002) wurde die Anzahl der Mikrofissuren (kleine Risse in der Osteonenkompakta, siehe I: 3.2.1) im Hellfeld eingeschätzt (Tab. III.4). Ein Beispiel für einen Indexwert von Null findet sich in der Abb. IV.9

Tab. III.4: Index zur Beurteilung der Anzahl der Mikrofissuren (modifiziert nach Jans et al. 2002)

Index	Beschreibung
0	Fast alle Osteone sind von Mikrofissuren betroffen
1	Viele Osteone sind von Mikrofissuren betroffen
2	Nur vereinzelt sind Osteone mit Mikrofissuren erkennbar
3	Keine Mikrofissuren sind erkennbar

Es wurde weiterhin ein Index zur Abschätzung des mikrobiellen Befalls entwickelt. Als Anzeichen bakteriellen Knochenabbaus wurden dazu die sog. „tunneling“ Phänomene gewertet (I: 3.2.1). Nicht als Anzeichen von bakteriellem Befall wurden sog. Wedl-Tunnel gewertet (siehe Garland 1987, Jans et al. 2004), deren Entstehung mit Pilzen in Verbindung gebracht wird. Ziel der Beurteilung des Knochenquerschnittes war eine einfach anwendbare Schätzung des bakteriellen Befalls des Knochens. Daher wurde nur eine geringe und einfach unterscheidbare Differenzierung der Befallsstadien mit einem Index 0 bis 3 gewählt. Eine größere Präzisierung führt aufgrund der Schwierigkeit der Abschätzbarkeit leichter zu Fehleinschätzungen und

höherem Zeitaufwand, so dass in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich der Fragestellung darauf verzichtet wurde.

Der Index beurteilt die von bakteriellem Befall gekennzeichnete Fläche des jeweiligen Knochenquerschnitts. Bei einem Index von 3 sind so im gesamten Abschnitt keine „tunneling“ Phänomene erkennbar, während bei einem Index von 0 der gesamte Abschnitt bakteriell zerstört ist. Die Stufen 1 und 2 dienen der prozentuellen Schätzung der von Bakterien zerstörten Querschnittsfläche. (Tab. III.5).

Tab. III.5: Index zur histologischen Beurteilung des bakteriellen Befalls eines Knochens

Index	% bakteriell zerstörte Fläche	Beschreibung
0	> 95	Ursprüngliche Struktur des Knochens nicht mehr vorhanden, bakterielle Zerstörung des gesamten Querschnitts
1	> 50%	Mehr als die Hälfte des Knochenquerschnittes weist bakterielle Zerstörung auf
2	< 50%	Weniger als die Hälfte des Knochenquerschnittes weist bakterielle Zerstörung auf
3	0	Kein bakterieller Befall sichtbar

Die Abbildung III.3 zeigt als Beispiel eine Probe mit bakteriellem Befall des Knochens auf mehr als der Hälfte des Querschnitts (Indexwert 1).

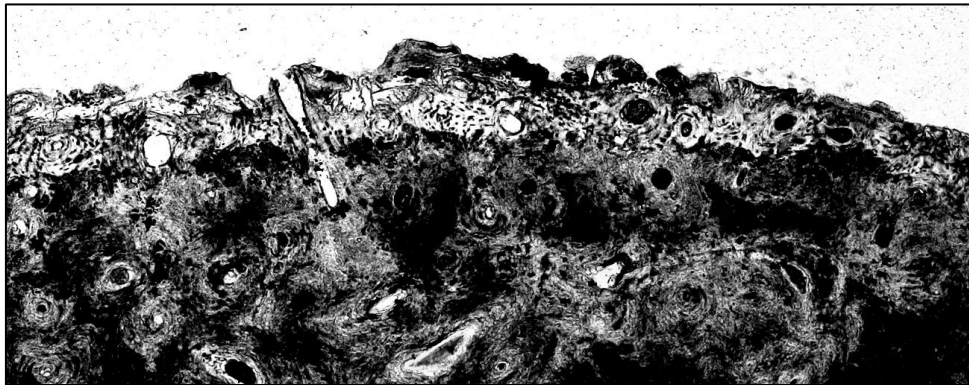


Abb. III.3: Periostaler Bereich der Probe E18, der äußere periostale Raum zeigt noch mikrostrukturell gut erhaltene Bereiche, während weite Teile des Knochens bakteriell zerstört sind

Archäologisches Knochenmaterial zeigt im histologischen Querschnitt häufig Fremdmaterial unbekanntes Ursprungs (exogenes Material), das sich als Verfärbung der betroffenen Flächen äußert. Garland (1987) unterscheidet zwischen exogenem Material innerhalb und außerhalb der Havers'schen Kanäle. Zusätzlich zu dieser Differenzierung wurde in der vorliegenden Untersuchung unterschieden zwischen diffusen exogenem Material, welches sich als schwarz/dunkelbraune körnige Verfärbung außerhalb der Havers'schen Kanäle zeigt und meist mit bakteriellem Befall assoziiert ist und bräunlichen, lichtdurchlässigen Verfärbungen unter Strukturerhalt, die oft als „Huminstoffeinwanderung“ bezeichnet werden (z.B. Nicholson 1998). Jeweils ein Beispiel für exogenes Material innerhalb bzw. außerhalb (diffuses exogenes Material) der Havers'schen Kanäle zeigt Abbildung III.4. Beispiele für braune Verfärbungen unter Strukturerhalt finden sich in Abb. IV.12.

III Methoden

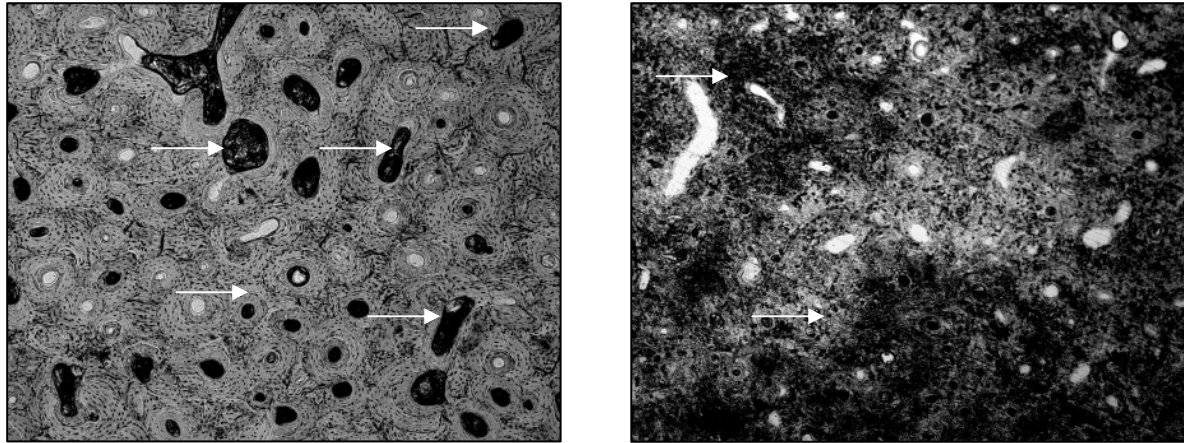


Abb. III.4: links: exogenes Material innerhalb der Havers'schen Kanäle (Pfeile, Probe F10). rechts: diffuses exogenes Material außerhalb der Havers'schen Kanäle (Pfeile Probe E 3b).

Zur Beurteilung des Ausmaßes der verfärbten Fläche bzw. der Anzahl der mit exogenem Material gefüllten Havers'schen Kanäle diente ein Index mit einer Differenzierung von 0 bis 3 (Tab. III.6).

Tab. III.6: Index zur Beurteilung der Menge exogenen Materials in archäologischen Knochenquerschnitten.

Index	% verfärbte Fläche / Anzahl der mit exogenem Material gefüllten Havers'schen Kanäle	Beurteilung der Verfärbung ("diffuses exogenes Material bzw. "braune Verfärbung unter Strukturerhalt")	Ausmaß des exogenes Materials in den Havers'schen Kanälen
0	> 95	Verfärbung der gesamten Fläche	Alle Kanäle sind mit exogenem Material gefüllt.
1	> 50%	Mehr als die Hälfte der betrachteten Fläche weist Verfärbungen auf	Mehr als die Hälfte der betrachteten Kanäle ist mit exogenem Material gefüllt
2	< 50%	Weniger als die Hälfte der betrachteten Fläche weist Verfärbungen auf	Mehr als die Hälfte des Kanäle zeigen eine Füllung.
3	0	Keine Verfärbungen feststellbar	Kein Kanal weist eine Füllung auf

3 Fluoreszenzanalyse

Das humane Knochenmaterial wurde auf seine Fluoreszenzeigenschaften unter UV-Licht untersucht (vgl. I: 2.1).

3.1 Prüfung der Fluoreszenz und Bildbearbeitung

Für die Prüfung der Ultraviolett-Fluoreszenz wurden Querschnitte (soweit möglich Femurquerschnitte) des Materials von ca. 2cm Dicke unter Verwendung einer Bandsäge (METABO) entnommen.

Die Querschnittsflächen wurden mittels Schleifpapier (mittelstarke Körnung P180, VSM) angeschliffen, um eine möglichst plane Oberfläche zu erhalten sowie eventuelle Verunreinigungen zu entfernen und dann mit einer UV-Lampe (PHILLIPS, Typ 616122) bei 366nm senkrecht von oben bestrahlt. Dabei wurden neben den zu untersuchenden Knochenproben immer eine Negativ- und eine Positivkontrolle mitgeführt. Bei der Positivkontrolle handelte es sich um einen rezenten Knochen mit intensiver hellblauer Fluoreszenz, während als Negativkontrolle ein archäologischer Knochen genutzt wurde, der keine Anzeichen hellblauer Fluoreszenz aufweist (Abb. III.5)



Abb. III.5: links: Negativkontrolle ohne blaue Fluoreszenz, rechts: Positivkontrolle mit ausgeprägter blauer Fluoreszenz

Die beleuchteten Querschnitte wurden fotografisch mittels einer Digitalkamera (RICOH, Typ Caplio R1) dokumentiert

Anschließend erfolgte die Bearbeitung mit der Software *PHOTOSHOP* (ADOBE, Version 6.0.2), dabei wurde der Tonwert der Bilder zur besseren Darstellung der Farben mit der im Programm vorhandenen Funktion automatisch korrigiert. Die Beurteilung der Fluoreszenzeigenschaft erfolgte an diesen korrigierten Aufnahmen.

3.2 Beurteilung der Fluoreszenzeigenschaft

Die Beurteilung der Fluoreszenzeigenschaft erfolgte durch Feststellung der Farbausprägung des Knochenquerschnittes unter UV-Licht.

In den Mittelpunkt der Beurteilung wurde die für rezentes und intaktes Knochenmaterial typische strahlend hellblaue Fluoreszenz gestellt. Als Hellblau wird eine Farbgebung wie in Abb. III. 6 dargestellt bezeichnet, dabei kann der Farbton von weißlich-bläulich bis zu kräftigem Hellblau variieren. Nicht mit Hellblau bezeichnet werden dunkelblaue oder taubenblaue Töne.

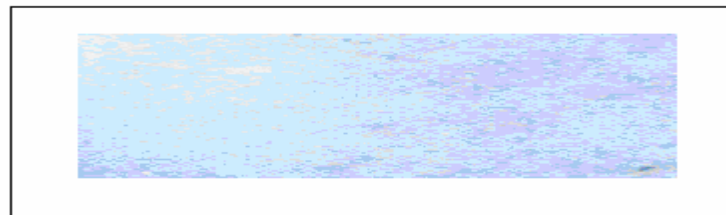


Abb. III.6: Ausschnitt des hellblau fluoreszierenden Knochenquerschnittes der Positivkontrolle, der als Muster für die Identifizierung von hellblauer Fluoreszenz dient.

Zur Beurteilung der Proben hinsichtlich dieses Merkmals wurde ein Index entwickelt, der den prozentualen Anteil an blauer Fluoreszenz im Knochenquerschnitt erfasst. Angelehnt an den OHI wurde eine Einteilung in 5 Stufen anhand des prozentualen Anteiles blauer Fluoreszenz der Gesamtknochenfläche vorgenommen, wobei Stufe 5 einer hellblauen Fluoreszenz des Knochens über den gesamten Querschnitt entspricht, bei Stufe 0 keine hellblaue Fluoreszenz mehr erkennbar ist (Tab. III.7). Die Beurteilung erfolgte sowohl für den gesamten Querschnitt als auch getrennt für den periostalen, mittleren und endostalen Anteil (Bereichseinteilung nach Garland 1987).

Tab. III.7: Hellblauindex zur Beurteilung des Anteils hellblauer Fluoreszenz im Knochenquerschnitt

Index	Prozentualer Anteil an blauer Fluoreszenz	Beschreibung
0	< 5%	Keine blaue Fluoreszenz erkennbar
1	< 15%	Kleine Flächen an blauer Fluoreszenz vorhanden
2	< 33%	Ausgedehnte Anteile an andersfarbiger Fluoreszenz vorhanden
3	< 67%	Etwas mehr blaue Fluoreszenz, als andersfarbige Fluoreszenz vorhanden
4	< 85%	Kleine Flächen an andersfarbigen Fluoreszenzen sind bei überwiegend hellblauen Querschnitt vorhanden
5	> 95%	Hellblaue Farbgebung des gesamten Querschnitt wie im frischen Knochen

Für die prozentuale Verteilung der hellblauen Fluoreszenz über den Knochenquerschnitt ungeachtet ihrer Ausprägung lassen sich theoretisch folgende Muster postulieren (Verteilungsmuster) und den Knochenproben zuweisen:

1. Die hellblauen Fluoreszenzabschnitte sind über den gesamten Knochenquerschnitt gleichmäßig verteilt (periostal=mitte=endostal).

2. Der mittlere Bereich des Knochenquerschnittes weist die meisten Anteile an hellblauer Fluoreszenz auf (periostal<mitte>endostal).
3. Die beiden äußeren Bereiche des Querschnittes weisen höhere Fluoreszenzanteile auf als der mittlere Bereich, dabei ist die Fluoreszenz periostal und endostal gleich ausgeprägt (periostal=endostal>mitte)
4. Der endostale Bereich des Querschnittes hat die meisten Fluoreszenzanteile (periostal=mitte<endostal).
5. Der periostale Bereich des Knochenquerschnittes hat die meisten Fluoreszenzanteile (endostal=mitte<periostal)
6. Periostaler und mittlerer Bereich des Knochens haben mehr Anteile als der endostale Bereich (periostal=mitte>endostal)
7. Endostaler und mittlerer Bereich des Knochenquerschnittes zeigen mehr Fluoreszenzanteile als der periostale Bereich (endostal=mitte>periostal)

Für die Erfassung anderer Farbausprägung wurde eine Farbtabelle (Tab. III.8) erstellt. Hierzu wurde das vorhandene Material gesichtet und die vorkommenden Farbausprägungen erfasst. Die Bezeichnung erfolgt mit Hilfe der angegebenen Abkürzungen. Die Farbausprägungen Braun und Gelb werden als eine Farbgebung zusammengefasst (B/G oder als braun bezeichnet), da sie in ihren unterschiedlichen Ausprägungen in einander übergehen.



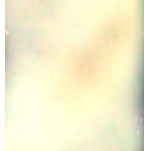
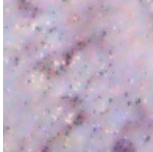
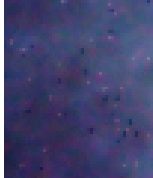
Für die neben Hellblau existierenden Farben (B,L,D, siehe Tab. III.8) lassen sich durch ihre Kombination theoretisch mögliche Farbmuster aufstellen:

1. Lila und braun fluoreszierende Anteile finden sich auf einem Querschnitt (L,B)
2. Braun und dunkelblau fluoreszierende Anteile finden sich auf einem Querschnitt (B,D)
3. Es findet sich nur dunkelblau Fluoreszenz
4. Es findet sich nur bräunlich Fluoreszenz
5. Es findet sich nur lila Fluoreszenz
6. Neben der hellblauen Fluoreszenz sind keine weitere Farben sichtbar
7. Lila, braun und dunkelblau fluoreszierende Anteile finden sich auf einem Knochenquerschnitt
8. Lila und dunkelblau fluoreszierende Anteile sind sichtbar.

Den Proben wurde jeweils eines dieser Farbmuster zugeordnet.

III Methoden

Tab. III. 8: Farbtabelle mit unterschiedlichen identifizierten Farbgebungen bei Betrachtung von Knochenanschliffen unter UV-Licht

Farbmuster	Bezeichnung	Abkürzung	Beschreibung
	Braun	B	Hellbraune bis dunkelbraune Farbgebung mit unterschiedlicher Intensität der Fluoreszenz
	Violett	V	Intensiv leuchtendes Violett
	Gelb	G	Weißlich bis gelbliche Fluoreszenz
	Lila	L	Ins lilafarbene gehender Farbton mit großer Variationsbreite. Die Varianten reichen von sehr hellem lila bis zu intensivem lila mit rosafarbenen oder bläulichen Anteilen, allerdings nie dunkellila.
	Dunkelblau	D	Dunkles Blau bis sehr dunkles Lila. Die Intensität der Fluoreszenz ist gering.

4 Extraktion von Kollagen

Zur Bestimmung des Kollagenstatus wurden zwei unterschiedliche Extraktionsmethoden (Säureextraktion: SE, Gelatineextraktion: GE) genutzt. Das durch die Methode SE extrahierte Kollagen wurde zur Bestimmung des Grades der Asparaginsäurerazemisierung eingesetzt. Durch die Methode GE erhaltenes Material wurde zur Bestimmung der stabilen Isotopenkomposition eingesetzt.

4.1 Vorbereitung des Knochen- und Gefäßmaterials und

Aus dem kompakten Anteils des Knochens werden mittels einer Bandsäge Proben entnommen. Die entnommenen Knochenstücke werden zunächst unter fließendem Wasser mechanisch und anschließend im Ultraschallbad (BACHHOFER) mit destilliertem Wasser gereinigt und an der Luft getrocknet. Unter Verwendung von Mörser und Kugelschwingmühle (RETSCH, Typ MM 200, Mahlbecher und Kugeln aus Teflon mit Stahlkernen) wird die Probe abschließend homogenisiert. Bei den anschließenden Extraktionsverfahren werden ausschließlich säuresaubere Gefäße verwendet.

Die Kollagensäureextraktion fand im Institut für Rechtsmedizin Kiel statt, es wurden Pyrexröhrchen (10 ml, QVS GLASTECHNIK) eingesetzt. Die Säurereinigung dieser Gefäße erfolgt durch Inkubation der Röhrchen mit je 1ml 6 normaler Salzsäure (634 ml 30% Salzsäure (MERCK) ad 1l destilliertes Wasser) über Nacht im Heizblock (LIEBISCH) bei 100°C. Anschließend werden die Gefäße gespült und bei 90°C im Inkubator getrocknet.

Für die Kollagengelatineextraktion wurden Teflongefäßen (FISCHER, Oak-Ridge-Zentrifugenröhrchen) genutzt. Die Säurereinigung dieser Gefäße erfolgt durch Inkubation über 4h in Salpetersäure (65%, ROTH), anschließender Spülung in destilliertem Wasser und Trocknung bei 90°C im Wärmeschrank.

4.2 Kollagen-Säureextraktion (SE)

Säurelösliche und säureunlösliche Knochenproteinfraktion wurden durch Säureextraktion getrennt, dabei soll der säureunlösliche Teil dem Kollagen entsprechen: Jeweils ca. 300 bis 500mg Knochenpulver wurden folgenden Extraktionsschritten unterzogen (nach Ritz-Timme 1999):

1. Zunächst werden die Knochenproben mit 5 ml 1M HCl (40,35 ml 37% Salzsäure (ROTH) ad 500ml destilliertes Wasser) pro 250mg Knochen bei 4°C über Nacht bei ständigem Schütteln (Schüttler: GEMINI) inkubiert.
2. Anschließend werden sie bei 4000rpm zentrifugiert (Zentrifuge: SEPATECH, Megafuge 01) und der Überstand abgenommen.

III Methoden

3. Der Rückstand wird mit destilliertem Wasser gewaschen, dabei wird nach jeder Wasserzugabe fünf Minuten mit 4000rpm zentrifugiert und der Überstand verworfen, bis dessen pH-Wert neutral ist (Überprüfung des pH-Wertes mit Universalindikatorpapier (MERCK)).
4. Der Rückstand in Lösung wird drei bis vier Tage gefriertrocknet, bis der wässrige Überstand vollständig verschwunden ist.

Der mineralische Anteil der Probe löst sich in dem sauren Medium, so dass der Proteinanteil des Knochens (hauptsächlich Kollagen) im Rückstand zu finden ist.

4.3 Kollagen-Gelatine-Extraktion (GE)

Jeweils ca. 500mg Knochenpulver wurden folgenden Extraktionsschritten (modifiziert nach Ambrose 1993) zugeführt:

1. Zum Herauslösen der mineralischen Phase und des adsorbierten Carbonats werden die Proben zunächst 20min in 1M HCl auf dem Rollenschüttler (IKA-VIBRAX-VXR, Typ VX2) extrahiert.
2. Anschließend erfolgt eine Zentrifugation (Zentrifugen: SIGMA UND HERMLE) für 5min, danach wird der Rückstand mit destilliertem Wasser gewaschen. Hierzu wird nach jeder Wasserzugabe 5min mit 3000rpm zentrifugiert und der Überstand verworfen, bis dessen pH-Wert dem des destilliertem Wassers entspricht (ca. 5,5).
3. Das entstehende Pellet wird in 10ml 0,125M NaOH (2,5g NaOH-Plätzchen (SIGMA ALDRICH) ad 500ml destilierten Wasser) überführt und 20h auf dem Rollenschüttler inkubiert. Durch dieses Verfahren werden Huminsäuren aus dem Substrat gelöst.
4. Es folgt ein weiterer Waschschrift (siehe 2.).
5. Dann wird das Pellet mit 10ml 0,001 M HCl (40 ml 37% HCL ad 500ml destilliertem Wasser) versetzt und 10 – 17h bei 90°C im Wasserbad (MEMMERT) inkubiert. Die hohe Temperatur und das leicht saure Milieu löst das Kollagen als Gelatine aus dem verbleibenden Pellet.
6. Zur Entfernung organischer Substanzpartikel wird anschließend das in Lösung befindliche Kollagen über Nutschen (100ml, SCHOTT DURAN) und Filternutschen (50ml, Porosität 3, SCHOTT DURAN) die mit Rundfiltern (Durchmesser 55mm, Dicke 0,16mm, ROTH, Typ MN619.eh, 22s) versehen sind in Schnappdeckelgläser (SCHOTT DURAN) überführt.
7. Abschließend wird das Kollagen in Lösung drei bis vier Tage lyophilisiert .

5 Bestimmung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades

Der Grad der Asparaginsäurerazemisierung wird gaschromatographisch an dem gesamten durch die SE-Methode gewonnenem Kollagen bestimmt (Verfahren nach Ritz-Timme 1999). Die Arbeiten fanden im Institut für Rechtsmedizin Kiel unter Anleitung von Dr. H. W. Schütz statt. Zunächst erfolgte die Acetylierung des Materials nach folgendem Protokoll:

1. Die Proben werden mit 6normaler HCl (1ml pro 30mg Knochenpulver) in säuresauberen Pyrexröhrchen 6h bei 100°C im Heizblock hydrolysiert und anschließend im Exikator (KARTELL) getrocknet.
2. Die Hydrolysate werden in 1ml Isopropanol (MERCK) und 100µl konzentrierter Schwefelsäure (MERCK) aufgenommen und in säuresauberen Pyrexröhrchen gegeben.
3. Es folgt die Veresterung bei 110°C 1h im Heizblock und das Abblasen des Lösungsmittels im Luftstrom.
4. Anschließend wird die Säure durch Zugabe von 1ml 4 normalen Ammoniak (25%, MERCK) und 1ml Dichlormethan (MERCK) zugegeben. Nach Vortexen der Probe (Vortexer: SCIENTIFIC INDUSTRIES, Vortexgenie 2) wird diese für 5min bei 5000rpm zentrifugiert.
5. Die entstandene untere Phase wird in ein neues Pyrexröhrchen überführt, sie enthält die, für die Acetylierung präparierten, Aminosäuren in neutraler Lösung (Dichlormethan). Das Dichlormethan wird im Luftstrom abgeblasen.
6. Nun folgt die Acetylierung durch Aufnahme des Rückstandes in 1ml Dichlormethan und Zugabe von 50µl Triflouressigsäureanhydrid (MERCK). Die Proben werden für 15min bei 60°C im Heizblock inkubiert und die restliche Flüssigkeit im Luftstrom abgeblasen.

Zur quantitativen Bestimmung von den D- und L- Enantiomere der Asparaginsäure wurde die Probe in Chloroform (MERCK) aufgenommen und 1µl des Probenvolumens in den Gaschromatographen (SCHIMADZU, Typ GC-9A) eingegeben, der unter folgenden Bedingungen arbeitet:

- o Detektor: Flammenionisationsdetektor
- o Einlass: Split 1:50
- o Injektor- und Detektortemperatur: 200°C
- o Säulendruck: 0,5bar
- o Säule: chirale Kapillarsäule (Chiral-L-Val, CHROMPAK, Länge 25m, Innendurchmesser 0,25mm)
- o Trägergas: Wasserstoff
- o Arbeitstemperatur (Ofentemperatur): 140°C, isotherm

Der Gaschromatograph arbeitet nach folgendem Prinzip:

Die in Chloroform gelöste Probe wird in den Injektor eingespritzt, die hier herrschende hohe Temperatur sorgt für eine rasche und vollständige Verdampfung. Es folgt eine in einem

III Methoden

Ofen liegende Kapillarsäule, die mit speziellen Derivaten von Cyclodextrinen beschichtet ist. Hier werden die beiden Enantiomere durch ihre unterschiedlich starken Wechselwirkungen mit den Cyclodextrinen getrennt. Am Ende der Säule schließt sich der Flammenionisationsdetektor an. Dieser besteht aus einer Knallgasflamme zwischen zwei Elektroden. Die Enantiomere werden mit dem Wasserstoffstrom in die Flamme transportiert und dort thermisch ionisiert. So wird im Spannungsfeld ein messbarer Ionenstrom produziert, der am angeschlossenen Computer als Peak aufgezeichnet wird.

Die D- und L- Enantiomere der Asparaginsäure wurden über die Retentionszeiten bei Chromatographie der Reinsubstanzen (Reinsubstanzstandard, CHROMPACK) identifiziert. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Analysesoftware (*HPLC CHEMSTATION REV. A. 02.05 HEWLETT PACKKARD* (1990-1993)), dabei ergibt sich aus der Fläche unter dem Signalpeak nach Integration die Konzentration des betreffenden Enantiomeres. Daraus wurde das Verhältnis von D- zu L- Asparaginsäure ermittelt, welches dem Asparaginsäurerazemisierungsgrad (ARG) entspricht (ausgedrückt als Quotient: D/L-Asp) Jede Probe wurde mindestens drei Messungen unterzogen, die dann gemittelt werden.

Messungen von Asparaginsäuren beinhalten immer auch Asparagin. Durch die komplette Säurehydrolyse des Proteins während der Aufarbeitung wird alles Asparagin in Asparaginsäure umgewandelt. Der Begriff ARG schließt folglich Asparagin ein.

6 Aminosäureanalyse

Die Aminosäureanalyse wurde zur Bestimmung der Quantität (Gesamtertrag der Aminosäuren) und Qualität (Aminosäurezusammensetzung) des durch SE und GE extrahierten Kollagens eingesetzt.

Um die Kollagenproben in dem Aminosäureanalysator bearbeiten zu können, wurden jeweils 2mg in Teflongefäßen (FISCHER) folgendem Protokoll unterzogen:

- o Zunächst werden die Lyophilisate mit 1ml 6normaler HCl versetzt und für 11 – 15h bei 115°C im Wärmeschrank hydrolysiert.
- o Nach Abrauchen der Salzsäure wird das Hydrolysat in 1ml 0,2M Lithium-Citrat-Puffer (pH 2, PHARMACIA BIOTECH) aufgenommen.
- o Jeweils 20µl der Probenlösung werden in Analyseröhrchen (PHARMACIA BIOTECH) gegeben und hier mit 10µl Lithium-Citrat-Puffer überschichtet.

Die Probe wurde anschließend in einen HPLC-Aminosäureanalysator (PHARMACIA, Typ LKB, Alpha Plus, Li-System) injiziert. Dieser arbeitet nach folgendem Prinzip: Die Probe wird mit Puffern unterschiedlicher Konzentration oder pH-Werten (Lithium Citrat, pH 2,8; Natrium Citrat, pH 3,35; Natrium Citrat, pH, 4.25; Borat Citrat, pH 8,6; Lithium Hydroxid-Lösung, PHARMACIA BIOTECH) auf eine Ionenaustauscher-Säule gepumpt. Die Aminosäuren werden von dieser Säule in Abhängigkeit von ihrem isoelektrischen Punkt eluiert. Am folgenden Mischblock werden die Eluate mit Ninhidryn (ONKEN) gemischt und reagieren mit diesem zu einem farbigen Komplex. Dieser durchläuft ein Photometer und wird bei Wellenlängen von 440nm und 570nm gemessen. Das produzierte elektrische Signal wird an einen angeschlossenen Computer geleitet und durch die entsprechende Software (*EZCHROM CHROMATOGRAPHY DATA SYSTEM, VERSION 6.6*) ausgewertet. Die Farbintensität dient als hierbei als Maß für die Aminosäurekonzentration, die Retentionszeit dient der Bestimmung der jeweiligen Aminosäure. Ein Nachweis ist mit diesem Verfahren erst ab 0,05nmol Aminosäure pro 1µl möglich. Als Standard dient ein definiertes Aminosäuregemisch.

Die Aminosäureanalyse liefert den Gesamtertrag der Aminosäuren in nmol pro eingesetzte 20µl Probenlösung. Um eine quantitative Vergleichbarkeit zu erreichen wird der Anteil der Aminosäuren pro 100mg eingesetztem Knochenmehl errechnet.

Die qualitative Beurteilung des Kollagens erfolgt im Abgleich mit den in Tab. III.9 gezeigten Referenzwerten.

III Methoden

Tab. III.9: Kriterien zur Beurteilung von Kollagen (nach DeNiro 1985, DeNiro & Weiner 1988, Elster et al. 1991, Grupe 1992, Masters 1987, Schoeninger et al. 1989, Taylor et al. 1989, Tuross et al. 1988)

Guter Kollagenerhalt	Schlechter Kollagenerhalt
ca. 1/3 aller Aminosäuren sind gly (ca. 33mol% gly)	
ca. 1/3 aller Aminosäuren machen pro, OH-pro und ala aus (ca. 33mol%)	ca. 40 mol% asp+ser
gly/glu=3-5	gly/glu<2,5
gly/asp >= 5-7	gly/asp < 5
OH-pro/asp>=1,5	OH-pro/asp<1,5
	30-40mol% glu
>250 nmol Aminosäuren/mg Protein	< 50nmol Protein
asp/pro< 10	asp/pro>10

Nach diesen Kriterien wurden die analysierten Proben in Proben mit gutem Erhaltungsgrad des Kollagens und Proben mit schlechtem Erhaltungsgrad des Kollagens eingeteilt. Im Folgenden werden diese als „gutes Kollagen“ bzw. „schlechtes Kollagen“ bezeichnet, bzw. als Proben mit guter und schlechter Kollagenqualität

Erfahrungsgemäß besteht in der Analyse eine Varianz von +/- 3nmol%, die auch bei der Auswertung berücksichtigt wird. Bei dem Quotienten gly/glu wird Kollagen mit Werten von unter 2,5 als kritisch gesehen, während Werte von 3 – 5 typisch für Kollagen sind. In der vorliegenden Arbeit werden Werte über 10 als schlecht eingestuft.

7 Extraktion des mineralischen Anteils

Die Extraktion von Mineral aus dem Knochenmaterial zum Erhalt strukturellen Carbonats dient zum einen der Bestimmung des mineralischen Anteils der Proben (siehe III: 8), zum anderen werden aus dem extrahierten Carbonat die stabilen Isotopenverhältnisse von C und O (siehe III: 10) ermittelt.

Die Vorbehandlung der Knochenproben erfolgte wie unter III: 4.1 für die Kollagenanalyse beschrieben.

Es wurden anschließend jeweils 100mg Knochenpulver eingesetzt und nach folgendem Protokoll (Methode nach Balasse et al. 1999) aufgearbeitet:

1. Um den organischen Anteil oxidativ aus der Probe zu entfernen, wird das Knochenpulver mit 5ml 4% NaOCl-Lösung (SIGMA-ALDRICH) auf dem Rollenschüttler extrahiert, bis keine Bläschenbildung mehr auftritt (ca. 3 – 4 d). Dabei wird die Lösung nach 24h einmal ausgewechselt.
2. Anschließend werden die Proben bei 2100rpm 5min zentrifugiert und bis zur Neutralität mit destilliertem Wasser gewaschen.
3. Das Pellet wird in 5ml 1M Calcium-Acetat-Essigsäurepuffer (pH 4,75, 158,17 g Calcium-Acetat-x-Hydrat (ROTH) ad 1 l destilliertem Wasser) überführt und 6h auf einem Rollschüttler inkubiert, sowie gelegentlich gevortext (Vortexer: NEOLAB). Dies dient der Entfernung des oberflächlich adsorbierten Carbonats, um ausschließlich das strukturelle Carbonat zu erhalten.
4. Die Proben werden wiederum zentrifugiert und bis zur Neutralität gewaschen.
5. Anschließend werden sie mit etwas destilliertem Wasser in Schnappdeckelgläser überführt und drei bis vier Tage lyophilisiert.

Der so erhaltene mineralische Anteil des Knochens (inklusive des Carbonats) wurde gewogen und in Eppendorf-Cups überführt. Die Proben wurden zur Entfernung des Wassers mit geöffnetem Deckel mehrere Stunden bei 50°C im Wärmeschrank getrocknet. Wasser würde durch den enthaltenen Sauerstoff zu einer Verfälschung der Sauerstoffisotopenwerte führen.

8 Bestimmung des Kollagen- und Mineralgehaltes

Die Bestimmung des Kollagen- und Carbonatgehaltes erfolgte mittels Feststellung der relativen Gewichtsprozentage von Kollagen und Carbonat. Diese können als Anhaltspunkte für die jeweiligen organischen und anorganischen Anteile dienen. Es wurde bei der Kollagenextraktion jeweils das eingesetzte Knochenpulver mit einer Analysewaage (METTLER, PM4600 bzw SARTORIUS) gewogen, sowie anschließend nach erfolgter Extraktion (SE oder GE) und Trocknung das Kollagen. Durch die Bestimmung des prozentualen Anteils des Gewichtes des Kollagens am Gewicht des eingesetzten Knochenpulvers erhält man den Kollagengehalt im Gewichtsprozent. Analog verfährt man zum Erhalt des prozentualen Gewichtsanteils des Minerals vor und nach Carbonatextraktion.

9 Analyse stabiler Isotopenverhältnisse, C und N-Gehalt

Die Messung stabiler Isotopenkomposition erfolgte mittels eines Gas-Quellen-IRMS (isotope ratio mass spectrometer). Das Prinzip der Messung entspricht dem eines herkömmlichen Massenspektrometers. Eine kleine Menge Probe oder Standard-Referenz-Gas wird in eine ionisierende Faser unter Hochvakuum eingebracht. Dies erzeugt einen positiv geladenen Ionenstrahl, der gebündelt wird, um anschließend ein Magnetfeld zu passieren.

Durch das Magnetfeld werden die Ionen des Strahles in Abhängigkeit von ihrer Ladung und Masse unterschiedlich von der Flugbahn abgelenkt. So entsteht ein Spektrum mehrerer Ionenstrahlungen unterschiedlicher Masse-Ladungsquotienten. Diese treffen auf spezielle Elektronen-Kollektoren am Ende der Flugröhre, die mittels der erzeugten Spannung die Menge der vorhandenen Isotope messen können. (vereinfacht nach Ambrose 1993)

Die Messungen wurden von Dr. U. Struck im GeoBio-Centers der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Da schwere stabile Isotope immer nur einen geringen Anteil des Elements ausmachen, wird das Verhältnis schwerer zu leichten Isotopen zur Vereinfachung in der Delta-Notation in Promille ausgedrückt ($\delta(\text{‰})$). Die Berechnung erfolgt nach folgender Regel:

$$\delta(\text{‰}) = [(R_{\text{Probe}}/R_{\text{Standard}})-1] \times 1000 \text{ (MC Kinney et al. 1950 in Ambrose 1993)}$$

R stellt dabei das Verhältnis des schweren zum leichten Isotop dar.

9.1 Bestimmung der C und N -Isotopenverhältnisse sowie deren Gewichtsprozent in Kollagen

Die Feststellung der C- und N- Isotopenverhältnisse erfolgte mittels eines gekoppelten Analysensystems (CHN-ANALYSATOR NA 2500) und einem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (THERMO FINNIGAN).

Zunächst werden die Kollagenproben im CHN-Analysator unter Sauerstoffzugabe bei ca. 1800°C verbrannt. Das entstehende Gasgemisch wird unter Chemikalienzugabe zu CO₂ und N₂ umgewandelt und mit Helium als Trägergas in das Isotopen-Massenspektrometer überführt (mittels CONFLO II-Interface, THERMO FENNIGAN). Die Bestimmung erfolgt mittels eines kalibrierten Laborstandards (Kalibrierung durch IAEA-Standard NBS 18 und NBS 19 für CO₂, sowie N₁ und N₂ für N₂).

Die Isotopenverhältnisse wurden entsprechend der üblichen Vorgehensweise (Ambrose 1993) relativ gegen den Standard PDB (fossiler mariner Kalkstein des Cephalopoden *Beleminitella americana*) für $\delta^{13}\text{C}$ bzw. Luft-N₂ für $\delta^{15}\text{N}$ in der oben beschriebenen Delta-Notation in Promille angegeben.

Der Messfehler des Laborstandards beträgt $\leq 0,15\text{‰}$ (Dr. U. Struck, 2006, mündliche Mitteilung).

Aufgrund dieses Messverfahrens können nicht nur die stabilen Isotopenverhältnisse angegeben, sondern unter Einbeziehung der eingegebenen Menge gleichzeitig die auf Kollagen bezogene Gewichtsprozentage von C und N festgestellt und so das Verhältnis von C:N molar bestimmt werden.

9.2 Bestimmung der C und O -Isotopenverhältnisse

Für die Ermittlung der Isotopenverhältnisse des C und O wurde ein gekoppeltes Analysesystem (Gasbench II und Delta Plus, THERMO FINNIGAN) eingesetzt.

In diesem wird bei 72°C jede Probe mit Ortho-Phosphorsäure versetzt, so dass CO₂ entsteht, welches mit Helium als Trägergas wiederum in ein Isotopenmassenspektrometer überführt wird.

Die Verhältnisse der stabilen Isotope von C und O wurden mittels eines kalibrierten Standards bestimmt (Kalibrierung mittels IAEA Standard NBS 18 und NBS 19).

Die Isotopenverhältnisse sowohl von C als auch von O werden gegen den Standard PDB (fossiler mariner Kalkstein des Cephalopoden *Beleminitella americana*) in Delta-Notation in Promille angegeben ($\delta^{13}\text{C}$ bzw. $\delta^{18}\text{O}$).

10 Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA)

Die Röntgenfluoreszenzanalyse wurde zur Bestimmung der Elementkonzentration im Knochengewebe genutzt. Sie wurde freundlicherweise von Herrn Andres vom bayerischen geologischen Landesamt durchgeführt. Die Messung der Proben erfolgte an einem wellenlängendispersiven Röntgenfluoreszenzspektrometer (PANANALYTICAL, MagiX Pro).

Aus dem archäologischen Gesamtmaterial wurden stichprobenartig 24 Proben analysiert, soweit möglich wurde eine halbquantitative Analyse durchgeführt. Lag die Probe nur noch in pulverisierter Form vor, so wurde eine quantitative Analyse durchgeführt. Weiterhin wurden vier Proben des kremierten Materials und drei Proben des Temperaturexperimentes II untersucht.

Für die halbquantitative Analyse wurden Knochenquerschnitte ohne vorherige Aufarbeitung mit Ausnahme von mechanischer Reinigung eingesetzt. Die Messung erfolgt auf der Querschnittsfläche. Für die quantitative Messung wurde das vorliegende Knochenpulver mit einer Schwingmühle gemahlen, bis die Teilchen eine Größe von höchstens $63\mu\text{m}$ haben (Überprüfung erfolgt mittels eines entsprechenden Siebes). Anschließend wurde aus dem Knochenpulver eine Schmelztablette hergestellt, die zur quantitativen Elementbestimmung in der RFA eingesetzt wird.

Bei der Röntgenfluoreszenzanalyse wird die zu untersuchende Probe mit Röntgenstrahlung bestrahlt und dadurch zur Eigenstrahlung angeregt, die eine, von der Elementzusammensetzung abhängige, charakteristische Wellenlänge hat. Die Intensität der Strahlung lässt dann auf die Konzentration des Elementes schließen. Die Probe wird als Schmelztablette (bei der halbquantitativen Untersuchung) oder als Knochenquerschnitt eingesetzt. Der zu messende Teil der Probe wird in einem Probenbecher über eine 6mm Maske mit Tesafilm fixiert, so dass der betreffende Ausschnitt mit dem Röntgenstrahl erfasst werden kann. Die Röntgenröhre erzeugt polychromatische Röntgenstrahlung, die auf die Probe trifft und sie zur Aussendung der charakteristischen Strahlung anregt. Die Strahlung gelangt zu einem Analysatorkristall. Entsprechend der Bragg'schen Gleichung führt dies zu einer unterschiedliche Beugung der einzelnen Wellenlängen und ermöglicht so deren einzelne Registrierung. Die Intensität der gebeugten Röntgenstrahlen wird mit einem Gasdurchflusszähler registriert. Anhand des Beugungswinkels der Röntgenstrahlung, des bekannten $2d$ -Wertes des Analysatorkristalls und der aus Referenzmessungen bekannten Wellenlänge der charakteristischen Röntgenstrahlung des Elementes ist die qualitative Bestimmung des Elementes mittels Software möglich.

Die Röntgenfluoreszenzanalytik ist eine vergleichende Untersuchungsmethode. Um aus der gemessenen Intensität der Röntgenstrahlung auf die Konzentration des Elementes in der Probe schließen zu können, ist die Aufnahme einer Kalibriergeraden notwendig. Bei den hierzu notwendigen Referenzproben handelt es sich um Elemente in Oxidform (BREITLÄNDER EICHPROBEN UND LABORMATERIAL GMBH).

Die Tabelle III.10 gibt die Messgrenzen bei der quantitativen Messung an, für die halbquantitative Messung liegen keine derartigen Daten vor.

Tab. III.10: Messbereiche der quantitativen RFA

Element	Messbereich (Oxid)	Messbereich (Element)
Calcium (CaO)	1000 - 600 000	714,7 – 428 820
Phosphor (P ₂ O ₅)	200 - 14 000	87,28 – 61 096
Magnesium (MgO)	2000 - 450 000	1206 – 271 615,5
Kalium (K ₂ O)	500 - 130 000	415 – 107 913
Eisen (Fe ₂ O ₃)	500 - 560 000	430,6 – 482 272
Mangan (MnO)	100 - 10 000	77,45 - 6030
Zink (Zn)	10 - 1400	10 - 1400
Schwefel (SO ₃)	1000 – 560 000	400,5 – 224 280
Fluor (F)	100 - 100 000	100 – 100 000
Strontium (Sr)	10 - 4600	10 - 4600
Aluminium (Al ₂ O ₃)	1000 - 360 000	529 – 190 526
Barium (Ba)	50 - 4100	50 - 4100
Natrium (Na ₂ O)	2000 - 110 000	1483 – 810604
Silicium (SiO ₂)	1000 – 560 000	467 – 261 744
Uran	5 - 700	5 - 700

Die absoluten Elementkonzentrationen sind in ppm (parts per million) angegeben. Die Konzentrationen der häufigsten Elemente, die ursprünglich als Oxide angegeben sind (siehe Tabelle III.10), wurden durch Multiplizieren mit den jeweiligen Molmassen in die Konzentration des jeweiligen Elementes umgerechnet.

Um die Vergleichbarkeit der ermittelten Daten untereinander und mit anderen Analysemethoden zu gewährleisten, sowie eventuelle Kalibrierungsfehler zu verhindern wurden keine absoluten Konzentrationsangaben verwendet, die Auswertung erfolgte hingegen an probenintern berechneten Konzentrationsquotienten. Der Elementgehalt (in ppm) wurde generell auf das Knochenmatrizelement Calcium (in ppm) bezogen (Element/Ca). Der daraus resultierende Wert ist sehr niedrig, so dass die Darstellung nach der Multiplikation mit 1000 erfolgt (Element/Ca*1000). Ausgenommen von dieser Quotientenbildung ist das weitere Matrizelement Phosphor, hier erfolgt entsprechend der üblichen Vorgehensweise der Bezug des Calciums auf Phosphor (Ca/P).

Die Auswertung erfolgt durch Vergleich der Ergebnisse mit den in Kapitel I: 2 genannten Daten für rezentes Knochenmaterial. Für das kremierte Material werden, soweit vorhanden, als Referenz Werte von veraschten Knochenproben (nach Hancock et al 1993, siehe I: 2) verwendet, da hier wie bei kremierten Knochen organische Anteile weitgehend auszuschließen sind.

11 Molekulargenetische Analyse

Bei der Vorbereitung, Extraktion und Amplifikation der Proben sowie der Analyse der PCR-Produkte erfolgten alle Arbeitsschritte nach den für aDNA-Untersuchungen üblichen Vorkehrungen, um sowohl Kontamination mit moderner DNA als auch Kreuzkontaminationen zu vermeiden (Bär et al. 2000). Dies beinhaltet die räumliche Trennung aller Arbeitsschritte, den Gebrauch von Einmalhandschuhen und Gesichtsmasken, sowie von aliquotierten Reagenzien und Chemikalien und die Durchführung von Kontrollexperimenten (Negativ- und Positivkontrollen bei allen PCR-Ansätzen). Die Aufarbeitung und Analyse des kremierten Materials erfolgte im Institut für Rechtsmedizin, Kiel in Zusammenarbeit mit Frau Dr. von Wurmb-Schwark. Bei Angabe der Hersteller von Chemikalien und Geräten entspricht bei Doppelnennung das letztere den in Kiel verwendeten Materialien.

11.1 Vorbereitung und Aufreinigung des Knochenmaterials

Sämtliche benutzte Geräte, Laborgeräte und Arbeitsflächen wurden je nach Oberflächenbeschaffenheit vor der Benutzung und zwischen den einzelnen Arbeitsschritten mit Natriumhypochlorid (SIGMA-ALDRICH) oder Aceton (98%, ROTH) gereinigt. Besonders bei der Entnahme und Homogenisierung der Proben in einem eigens dafür hergerichteten Raum wurde darauf geachtet, dass während der Bearbeitung einer Probe anderes Probenmaterial nicht dem Staub ausgesetzt war.

11.1.1 Archäologisches Material

Die Knochen- und Zahnproben des archäologischen Materials erfordern eine besondere Vorbehandlung, da sie seit ihrer Bergung der Gefahr einer Kontamination mit exogener DNA ausgesetzt waren. Eine sorgfältige Reinigung, vor allem der Knochen, die nicht wie die Zahnwurzel durch den Kiefer geschützt werden, war so unumgänglich. Aus diesem Grund wurden die Proben UV-Licht (312nm) ausgesetzt. UV-Licht dieser Wellenlänge induziert in dem DNA-Molekül starke Degradationserscheinungen, z.B. die Bildung von Pyrimidindimeren und Doppelstrangbrüchen, so geschädigte DNA kann nicht mehr in der PCR amplifiziert werden (Cone & Fairfax 1993). Die Aufarbeitung des Zahnmaterials erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau Dipl.-Biol. A. Czermak. Das pulverisierte Material wurde bei -20°C gelagert.

Das Knochenmaterial wurde mittels einer oszillierenden Knochensäge bzw. mit einem Zahntechnikbohrer mit Diamantsägeblatt (FAVO EWL, Typ 4950) entnommen und folgendermaßen gereinigt:

1. Um mögliche oberflächliche Kontaminationen durch rezente DNA zu entfernen, wird von der Oberfläche der Knochenprobe mittels eines Zahntechnikbohrers ein bis zwei mm allseitig abgeschliffen.

2. Anschließend wird das Material auf einen UV-Transilluminator (HÖFER, Macro Vue, U-Vis 20) gelegt und von allen Seiten je 15min mit UV-Licht bestrahlt.

Mittels Mörser und Kugelschwingmühle wurde das Material pulverisiert und in sterile Tubes (FALCON) überführt.

Die Vorbereitung der Zahnproben erfolgte nach einer von Fox (1996) beschriebenen Methode:

1. Die Zahnproben werden zunächst im Ultraschallbad mit destilliertem Wasser bei 35000Hz für ca. 5min gereinigt, um oberflächliche Verschmutzungen zu entfernen. Anschließend werden die Proben in säuregereinigte Schnappdeckelgläser überführt.
2. Um Kontaminationen der Oberfläche mit rezenter DNA zu entfernen werden die Proben in 10ml einer 15% HCl-Lösung (30% HCL (MERCK) verdünnt) für 10min inkubiert.
3. Um die HCl-Lösung zu entfernen, wird anschließend für 30min in 70%igem Ethanol (10ml) inkubiert, wobei die Lösung hierbei einmal erneuert wird.
4. Anschließend werden die Proben 30min in 10ml Ampuwatm (FRESENIUS KABI) gespült, hier wird die Lösung zweimal erneuert. Abschließend werden die Zähne für ca. 15min mit UV-Licht bestrahlt.

Mittels Mörser und Kugelschwingmühle wurde das Material pulverisiert und in sterile Falcon-Tubes überführt.

11.1.2 Kremiertes Material

Von dem kremierten Material konnten mit Ausnahme von drei Proben, bei welchen dies aus organisatorischen Gründen (keine Freigabe des Krematoriums) nicht möglich war (K98, K99 und K100), Kontrollproben in Form von Schleimhautabstrichen an den zu kremierenden Leichen gewonnen werden. Von diesen Abstrichen wurde zeitnah ohne weitere Aufarbeitung DNA gewonnen (12.2).

Das kremierte Knochenmaterial lag schon in pulverisierter Form vor und bedurfte keiner weiteren Aufarbeitung mit Ausnahme einer UV-Bestrahlung (ca. 5min, mit RENNER Fluorescent tables)

11.1.3 *In vitro* degradiertes Material

Das Material des Temperaturexperimentes II wurde nach Alkoholentfettung getrocknet und von allen Seiten UV-bestrahlt und pulverisiert (vgl. III: 11.1.3), auf eine Oberflächenentfernung wurde aufgrund des geringeren Kontaminationsrisikos verzichtet.

11.2 DNA-Extraktion

Die Extraktion der DNA erfolgte mit dem InViSorbForensic Kit I (INVITEK), der sich in vorhergehenden Untersuchungen als besonders effektiv erwiesen hat (Harbeck 2002, Wilkens 1999). Das Kit enthält folgende Komponenten:

- InViSorb 50 carrier Suspension
- Bone Lysis Enhancer

III Methoden

- Lysis Buffer D (mit Tris-HCL, EDTA)
- Wash Buffer (erstellt aus 25ml Wash Buffer Concentrate, 210ml 96% Ethanol und 75ml sterilem destilliertem Wasser).
- Elution Buffer D

Die Extraktion von jeweils 0,5g des pulverisierten Materials erfolgt nach dem leicht veränderten Protokoll V: Bones (InViTek 2001):

1. Zu der Probe werden 1ml Lysis Buffer D sowie 200µl Bone Lysis Enhancer zugegeben und gründlich durchmischt.
2. Die so gelösten Proben werden bei 56°C für 20 – 24h in einem Thermomixer (BIOMETRA TB1 Thermoblock bzw. EPPENDORF, Typ 5436), unter zwischenzeitlichem Aufschütteln, der Proben inkubiert.
3. Anschließend werden die Proben für 5min bei 13000rpm zentrifugiert (Tischzentrifuge: SIGMA 1-15 bzw. EPPENDORF 5415C) und der Überstand in ein neues autoklaviertes 1,5ml - Eppendorfgefäß überführen.
4. Es werden 15µl Carrier Suspension zugegeben und bei Raumtemperatur für 5min inkubiert.
5. Durch anschließende Zentrifugation bei 10000rpm für 1sec wird der DNA-Trägermaterialkomplex pelletiert und der Überstand verworfen.
6. Dem Pellet werden 1ml Wash Buffer zugegeben, 1sec bei 10000rpm zentrifugiert und der Überstand verworfen. Dieser Reinigungsprozess wird zweimal wiederholt.
7. Das überschüssige Ethanol wird anschließend bei 60°C und geöffnetem Reaktionsgefäß in einem Thermomixer entfernt.
8. Dem Lyophilisat wird 70µl vorgewärmten Elution Buffer D zugegeben und die Lösung bei 60°C für 5min inkubiert.
9. Abschließend wird die gelöste DNA durch Zentrifugieren für 5min bei 13000rpm von der Trägermatrix getrennt und der DNA-haltige Überstand in ein autoklaviertes Eppendorfgefäß überführt.

Die Proben wurden bei -20°C bis zur weiteren Bearbeitung gelagert.

Die Extraktion der Proben aus Schleimhautabstrichen erfolgte ebenfalls mit dem InViSorbForensic Kit nach dem Protokoll 10: „DNA-Isolation from swabs“ (Invitek 2001) ohne Änderung der Herstellerangaben.

Die Isolation wird bei dieser Methode durch folgendes Prinzip erreicht: Der Bone Lysis Enhancer und der Lysis Buffer D dienen dem Aufschließen der Probe. Anschließend bindet die DNA an den Invisorb-Carrier (Siliziumoxid). Die gebundene DNA wird mit dem Wash Buffer gewaschen (Entfernung von Huminsäuren) und anschließend mit dem Elution Buffer D (Niedrigsalzpuffer) eluiert.

11.3 Agarosegelelektrophorese

Die Agarosegelelektrophorese wurde in der vorliegenden Arbeit zur Überprüfung des Extraktionserfolges und zur Abschätzung der relativen Quantität und Qualität der Proben eingesetzt.

Die Auftrennung der extrahierten DNA erfolgte auf einprozentigen Agarosegelen, die folgendermaßen hergestellt wurden:

1. Es werden zwei Gramm Agarose (SIGMA ALDRICH bzw. SEAKEM) mit 1xTBE (89mM Tris (ROTH), 89mM Borat (ROTH), 20mM EDTA (SIGMA ALDRICH bzw. ROTH), pH 8,3) auf 200ml aufgefüllt, einmal aufgekocht und anschließend bei ca. 90°C unter ständigen Rühren auf einem Heizblock (IKAMAG RED) gelöst.
2. Nach dem Abkühlen auf ca. 70°C wird Ethidiumbromid (0,4µg/ml, MERCK BZW. ROTH) zugeführt und verrührt.
3. Das Gel wird in die Gelwanne (horizontal, SIGMA ALDRICH bzw. GIBCO) gegossen und zwei Kämme eingesetzt.

Es wurden je 10µl des DNA-Extraktes mit Auftragspuffer (ca. 10µl, MERCK) versetzt, dieser enthält nieder-molekulares Bromphenolblau, welches vor den DNA-Fragmenten wandert und so die Lauffront markiert.

Die so präparierten Proben wurden auf das Gel aufgetragen. Die Auftrennung erfolgt mit 1xTBE als Laufpuffer mit 100V bei 50mA und dauert ca. 40min.

Als Längenstandard werden 5µl einer 1 kb-Leiter (BIOTYPE) mitgeführt. Nach der Auftrennung wird die DNA durch einen UV-Leuchtschirm (Transilluminator, s.o.) sichtbar gemacht.

Bei der Agarosegelelektrophorese werden die DNA-Stränge ihrer Größe nach getrennt. Das elektrische Feld zieht die negativ geladenen DNA-Moleküle durch die Gelmatrix, die wie ein Sieb wirkt. Kleinere Moleküle bewegen sich schneller durch das Gel, womit eine Auftrennung der Stränge nach ihrer Größe ermöglicht wird.

Insgesamt können Fragmentlängen von 70bp bis 50kb aufgetrennt werden. Hochmolekulare DNA stellt sich als eine Bande von 23 Kilobasen (kb) dar (Wilson & Goulding 1991).

Das in dem Gel enthaltene Ethidiumbromid wird zwischen die Basen der DNA-Doppelhelix eingelagert. Dieser Komplex zeigt durch Anregung mit UV-Licht die typisch orangefarbene Fluoreszenz.

Die Stärke des Signals diente zur Abschätzung der vorhandenen DNA-Menge, die Auswertung erfolgte mittels einer Skala von 0 bis 3, wobei bei einem Rang von 0 keine Fluoreszenz zu beobachten war, während der Rang 3 eine stark ausgeprägte Fluoreszenz wie bei den aufgetragenen Kontrollproben bedeutet, die Ränge 1 und 2 zeigen dazwischen liegende Ausprägungen an. Weiterhin kann unter Feststellung andersfarbiger Fluoreszenz auf Inhibitoren geschlossen werden (siehe I: 3.2.3), die Ausprägung dieser Fluoreszenz wurde ebenfalls mit Werten von 0 bis 3 angegeben.

11.4 Amplifikation mittels PCR

Die Polymerase Chain Reaktion (PCR) ist eine von Saiki et al. 1985 erstmals publizierte in vitro-Technik, mit der gezielt DNA-Abschnitte, die von zwei bekannten Sequenzen eingerahmt werden, vervielfältigt werden.

III Methoden

Für die (PCR) benötigt man unter anderem zwei Oligonucleotide (Primer), die mit jeweils einem der Stränge auf beiden Seiten des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts (template, Target-Region) hybridisieren, die vier Desoxyribonucleosid-triphosphate (dNTPs) und eine hitzestabile DNA-Polymerase. Ein gepuffertes Reaktionsgemisch, welches diese Bestandteile und die zu amplifizierende DNA enthält, wird zyklischen Wiederholungen einer Temperaturfolge ausgesetzt. Der Ansatz wird zunächst auf 95 bis 100°C erhitzt, um die DNA vollständig in ihre Einzelstränge zu zerlegen (Denaturierung). Dann wird die Temperatur gesenkt, damit die Primer sich an die denaturierte Matrize anlagern können (Annealing). Anschließend wird die Temperatur wieder angehoben, um die optimale Temperatur der Polymerase zu erreichen (ca. 72°C). Diese synthetisiert ausgehend von den beiden Primern komplementäre DNA-Stränge neu (Extension). Alle drei Schritte bilden den PCR-Zyklus, den man 25 bis 35mal wiederholt. Am Ende der PCR wurde die selektierte Region vielfach identisch amplifiziert (Newton & Graham 1997).

Für jede PCR wurde ein Mastermix angesetzt, der alle notwendigen Komponenten mit Ausnahme der DNA enthält. Das Volumen des Mastermixes entspricht der Anzahl der Reaktionslösungen aller Proben und dient der Erleichterung des Pipettierens der sehr kleinen Einzelvolumina sowie der Minderung des Kontaminationsrisikos. Die Reaktionslösung wurde mit der Probe in ein Reaktionsgefäß gegeben, die Amplifikation erfolgte anschließend in einem Thermocycler.

In jedem PCR-Lauf wurden positive und negative Kontrollen eingesetzt. Als positive Kontrolle wurde kommerzielle DNA (Mentype Kontroll DNA, BIOTYPE) mitgeführt. Die negative Kontrolle diente der Kontaminations-feststellung, hierfür wurde zu der Reaktionslösung anstelle der Probe steriles Aqua bidest. gegeben.

In der vorliegenden Arbeit wurde jeweils an ausgewählten Proben eine Duplex-PCR (Amplifizierung zweier Genorte) oder eine Triplex-PCR (gleichzeitige Amplifizierung zweier Genorte und Amelogenin) durchgeführt, um die Amplifizierbarkeit der DNA festzustellen (Vortest). Bei der verwendeten Triplex-PCR kann gleichzeitig das Geschlecht bestimmt werden. Werden hier positive Ergebnisse erzielt, wurde bei ausgesuchten Proben eine Amplifizierung von Short Tandem Repeats (STRs) mit Hilfe von kommerzielle Multiplex-PCR-Ansätze (Amplifizierung von bis zu 15 Genorten gleichzeitig) versucht.

11.4.1 Duplex-PCR

Mit allen Knochenproben der archäologischen Fundkomplexe Panker, Trier, Hemmingstedt und Flensburg sowie des Temperaturexperimentes I wurde in einer vorhergehenden Arbeit (Harbeck 2002, vgl. auch Harbeck et al. 2004) eine Duplex-PCR zur Detektion mitochondrialer und nukläerer DNA durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wurden zusätzlich alle zehn Proben des rezenten kremierten Materials mittels dieser Methode analysiert.

Zum Nachweis mitochondrialer DNA wurde ein 260bp langes Fragment des Genortes ND1 mit Hilfe des Primer-Paares L15/H16 (Meissner & von Wurmb 1998) amplifiziert. Gleichzeitig wurde ein Ausschnitt der autosomalen humanen DNA amplifiziert. Dabei handelt es sich um ein 164bp langes Fragment des Genortes für Betaglobin (Liu et al. 1993) (Methode nach von Wurmb-Schwark et al. 2004). Die verwendeten Primer wurden von MWG BIOTECH synthetisiert und vorgereinigt. Das Lyophilisat wurde in 1xTBE-Puffer gelöst, so dass eine Endkonzentration von 100pm/µl erreicht wurde. Sie wurden als Primer-Mix in Eppendorfgefäßen bei -20°C

gelagert. Vor dem Gebrauch wurden sie aufgetaut und mit sterilem Aqua bidest auf 5pM/μl verdünnt. Es wurden Nucleotide der Firma INVITEK (dNTP-set), sowie die Platinum Taq Polymerase, PCR-Puffer und Magnesiumchlorid der Firma INVITROGEN verwendet, die Zusammensetzung des PCR-Ansatzes zeigt Tabelle III.11.

Tab. III.11: Ansatz für die Duplex-PCR

Volumen 25μl	Konzentration der Stammlösung	Endkonzentration im PCR - Ansatz
0,25μl	mtDNA-Primer: 100 pM	[10pM]
0,5μl	Nukläere DNA-Primer: 100 pM	[20pM]
2,5μl	PCR-Puffer: 10 x	[1 x]
0,75μl	Magnesiumchlorid 50mM	[1,5mM]
0,4μl	DNTP - Mix, 10mM	[200mM]
1μl	DMSO 100% (SIGMA)	[4%]
	Platinum-Taq-Polymerase:	
0,2μl	5U/μl	[1U]
18,4μl	Steriles Aqua bidest	-
1μl	Probe	[?]

Von der extrahierten DNA-Lösung wurden 5μl, 1μl und 0,01μl zu dem Mastermix gegeben. Die Amplifikation erfolgte in einem Thermocycler (2700 GENAMP PCR System) für 35 Zyklen. Die PCR-Parameter entnehme man Tab. III.12.

Tab. III.12: Temperaturprofil der Duplex-PCR

Art	1. Denaturierungsschritt	Denaturierung	Annealing	Extension
Temperatur	95 °C	94 °C	56 °C	72 °C
Dauer	5min	1min	1min	2min
Zyklenzahl: 35				

Die Nachweisgrenze dieser Duplex-PCR liegt bei bis zu 10pg DNA (von Wurmb-Schwark et al. 2004).

Um Inhibitoren nachzuweisen, wurde hochmolekulare Standard-DNA den Proben/Mastermix-Gemischen zugesetzt. Das Ausbleiben eines Amplifikats bei anschließender PCR und Fragmentanalyse beweist die Anwesenheit von Inhibitoren (z.B. Cattaneo et al. 1997).

11.4.2 Triplex-PCR

Für die Amplifizierung zweier STR's und des geschlechtsspezifischen Genortes Amelogenin der Proben der Fundkomplexe Etting und Nevalı Çori und des Temperaturexperimentes II wurde das Mentype® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kit (BIOTYPE) genutzt.

Mit diesem Produkt ist eine gleichzeitige Amplifizierung von den polymorphen Tetranukleotid Short Tandem Repeat Loci FGA (Fibra) und SE33 (ACTBP) sowie von Amelogenin möglich.

III Methoden

Den Längenbereich der Amplifikationsprodukte der STR-Loci entnehme man Tabelle III.13 (nach Biotype 2004)

Tab. III.13: Länge der Amplifikationsprodukte der STR-Loci des Mentype® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kits

Locus	Länge des Amplifikats (bp)
Amelogenin	103.3/ 109.3
FGA	132.2 – 193.6
SE 33	206.8 – 328.6

Weiterhin ist das Mentype® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kit mit einer internen PCR-Kontrolle ausgestattet (Quality Sensor „QS“), so wird unabhängig von der verwendeten DNA ein Fragment von 77bp amplifiziert. Damit ist eine Inhibitorenkontrolle gegeben.

Das Kit enthält folgende Komponenten:

- Nuclease-freies Wasser
- Reaktionsgemisch A (Puffer: enthält Mg²⁺, dNTP-Mix, BSA)
- Primergemisch
- Kontroll DNA
- Allel-Leiter
- DNA-Längenstandard 550
- Taq DNA Polymerase (hot start, 2.5U/μl)

Aus den Komponenten Nuclease freies Wasser, Reaktionsgemisch A sowie Primergemisch wurde der Mastermix nach Herstellerangaben angesetzt (Biotype 2004) und zu jeweils 3μl der Probe gegeben, so dass der Reaktionsansatz wie in Tab. III.14 angegeben entsteht.

Tab. III.14: Ansatz für die Triplex PCR mit dem Mentype® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kit

Volumen 25 μl	Konzentration der Stammlösung	Endkonzentration im PCR - Ansatz
14,1μl	Nuclease-freies Wasser	
5,0μl	Reaktionsgemisch A	unbekannt, keine
2,5μl	Primergemisch	Konzentrationsangaben
0,4μl	Taq DNA Polymerase	des Herstellers
3μl	Probe	

Die Amplifikation erfolgte in einem PX 0.2 Thermal-Cycler-System (HOEFER) mit 30 Zyklen nach Herstellerangaben (Tab. III.15). Die Aufheizrate beträgt 1°C/sec.

Tab. III.15: Temperaturprofil der PCR mit dem Mentye® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kit

Art	1. Denaturierungsschritt	Denaturierung	Annealing	Extension	Endextension
Temperatur	94 °C	94 °C	58 °C	72 °C	68 °C
Dauer	4min	30sec	120sec	75sec	60min
Zyklenzahl: 30					

Die Nachweisgrenze dieser Triplex-(PCR) liegt bei weniger als 100pg genomischer DNA (Biotype 2004).

11.4.3 Autosomale Multiplex-PCR

Für die Amplifizierung autosomaler STR-Loci wird das AmpFISTR Identifier Plus Kit (APPLIED BIOSYSTEMS) verwendet.

In einer vorhergehenden Untersuchung (Harbeck 2002) wurden die Knochenproben der Fundkomplexe Panker, Trier, Hemmingstedt und Flensburg sowie des Temperatur-experimentes I mit dieser Methode typisiert. In der vorliegenden Untersuchung wurden die rezenten kremierten Knochenproben, sowie die zugehörigen Schleimhautabstriche mit diesem System analysiert.

Mit dem Identifier Plus Kit können 15 STR-Loci und geschlechtsspezifische Fragmente des Amelogenins gleichzeitig amplifiziert werden. Die STR-Loci und die Spanne der Basenpaarlänge der Allele entnehme man Tab. III.16.

Tab. III.16: Amplifizierbare Loci des Identifier-Plus-Kits und Basenpaaranzahl des Amplifikats (nach Applied Biosystems 2001). Bei der angegebenen Basenpaaranzahl handelt es sich um Schätzungen aufgrund der Leiterdetektion.

Locus	Länge des Amplifikats (bp)
D8S1179	123 – 171
D21S11	185 – 240
D7S820	255 – 292
CSF1PO	305 – 343
D3S1358	112 – 141
THO1	163 – 202
D13S317	217 – 245
D16S539	252 – 293
D2S1338	312 – 359
D19S433	102 – 135
VWA	154 – 206
TPOX	222 – 262
D18S51	270 – 346
Amelogenin	107/113
D5S818	134 – 172
FGA	215 – 282

III Methoden

Das Identifiler Plus Kit enthält folgende Komponenten:

- AmpFISTR PCR Reaktion Mix (enthält $MgCl_2$, dNTP's, Rinderserumalbumin in Puffer mit 0,05% Natriumacetat)
- AmpFISTR Identifiler Primer Set
- AmpliTaq Gold DNA Polymerase
- AmpFISTR Control DNA 47 A.
- AmpFISTR Identifiler Allelic Ladder

Zu dem Mastermix, der nach Herstellerangaben (Applied Biosystems 2001) angesetzt wurde, wurde $1\mu l$ der DNA-Lösung zugegeben (Tab. 11.17).

Tab III.17: Ansatz für die Multiplex PCR mit dem Identifiler-Plus-Kit

Volumen	Konzentration der Stammlösung	Endkonzentration im PCR – Ansatz
25 μl		
5,5 μl	AmpFISTR Identifiler Primer Set	
10,5 μl	AmpFISTR Reaction Mix	unbekannt,
	AmpliTag Gold DNA	keine
0,5 μl	Polymerase	Konzentrationsangaben
7,5 μl	Steriles Aqua bidest	des Herstellers
1 μl	Probe	

Die Amplifizierung erfolgte mittels des 2700 GenAmp PCR Systems. Abweichend zu den im Herstellerprotokoll angegebenen 28 Zyklen wurde die Zyklenzahl auf 34 Zyklen erhöht (Tab. III.18).

Tab. III.18: Temperaturprofil der PCR mit dem Identifiler-Plus-Kit

Art	1. Denaturierungsschritt	Denaturierung	Annealing	Extension	Endextension
Temperatur	94 °C	94 °C	58 °C	72 °C	68 °C
Dauer	4min	30sec	120sec	75sec	60min
Zyklenzahl: 34					

Die Nachweisgrenze der Identifiler-PCR liegt bei weniger als 100pg genomischer DNA (Applied Biosystems 2001). Es wurden jeweils mindestens 2 PCRs pro Probe angesetzt.

11.5 Fragmentlängenanalyse und Allelbestimmung

Die Bestimmung der PCR-Produkte erfolgte durch kapillarelektrophoretische Auftrennung der amplifizierten Fragmente mit einem AbiPrism-Genetic-Analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS).

Die Fragmentanalyse der PCR-Produkte der Duplex- und der Identifiler-PCR wurde im Institut für Rechtsmedizin Kiel durchgeführt.

Es wurden hierfür jeweils $1\mu l$ der Proben (bzw. der Allelleiter) mit $11,8\mu l$ Formamid (APPLIED BIOSYSTEMS, Hi Di Formamide Analysis grade) und je nach PCR mit $0,2\mu l$ folgenden Standards versehen:

- Duplex-PCR: Rox 500 Standard (APPLIED BIOSYSTEMS)
- Identifiler Plus: LIZ 500 Standard (APPLIED BIOSYSTEMS)

Die Fragmentlängenanalyse der Triplex-PCR wurde freundlicherweise im Institut für Rechtsmedizin München von Dr. B. Rolf vorgenommen. Die Amplifikate wurden auf einem AbiPrism-Genetic-Analyzer nach Herstellerparametern (Biotype 2004) aufgetrennt.

Dafür wird jeweils 1µl der Proben (bzw. der jeweiligen Allelleiter) mit 12µl Formamid und 0,5µl Rox 500 Standard versetzt. Die Allelbestimmung erfolgt durch den Vergleich mit den jeweiligen Allelleitern und der Feststellung der Fragmentgröße unter Verwendung der GenScan-Software.

Mittels der Multiplex-PCR wurde die Amplifizierbarkeit der Genorte geprüft und eine Kontaminationskontrolle geschaffen. Im Hinblick auf die Fragestellung wurde auf eine Diskussion der Typisierungsergebnisse verzichtet.

12 Statistische Analysen

In der vorliegenden Untersuchung wurden Daten aller Skalenniveaus erhoben, zur Absicherung der statistischen Signifikanz kommen daher verschiedene Methoden und Tests zum Einsatz.

Aufgrund der ungewissen Verteilung der Daten in der Stichprobe wurden, soweit möglich, nichtparametrische Tests verwendet, die den Vorteil haben, im Gegensatz zu parametrischen Tests nicht von einer Normalverteilung auszugehen. Oft ist es für den Vergleich von Daten verschiedenen Skalenniveaus nötig, höher skalierte Daten in niedriger skalierte umzuwandeln. Dies geschah bei metrischen Daten durch Einteilung der Werte in Klassen, denen bei Vergleich mit ordinalen Daten ein Rang zugeteilt wurde. Bei Vergleich mit nominalen Daten wurde die Klassifikation nicht bewertet. Ordinalskalierte Daten wurden zum Abgleich mit nominalen Daten ebenfalls zu Gruppen zusammengefasst und ohne ihre Rangwerte betrachtet.

Je nach Datenniveau wurden die zulässigen Kennwerte der Verteilung der Stichprobe angegeben (nach Lorenz 1996). Die statistischen Berechnungen erfolgten, soweit nicht anders angegeben, mit dem Programm *SPSS* (Version 13.0).

12.1 Zusammenhänge von Merkmalen

Die Zusammenhänge von Merkmalen werden mit dem Begriff Korrelation umfasst. Auf den unterschiedlichen Skalenniveaus wird dieser Begriff differenziert. So spricht man bei nominalen Merkmalen von einer Assoziation bzw. Kontingenz (bei Beschreibung durch Kontingenztafeln), während bei ordinalen Daten von Rangkorrelation gesprochen wird. Bei metrischen Daten spricht man von Maßkorrelation, wobei der Begriff Korrelation häufig nur auf diese Ausprägung angewandt wird.

Der statistische Nachweis einer Korrelation lässt keinen sicheren Schluss auf eine Kausalbeziehung zu (Lorenz 1996), allerdings führen Kausalbeziehungen zu Korrelationen. Es können drei verschiedene Typen von Kausalbeziehungen unterschieden werden:

- Einseitige Abhängigkeit: Eine Variable ist ursächlich für die Ausprägung einer anderen Variable.
- Wechselseitige Abhängigkeit: Die Variablen können sich gegenseitig ursächlich beeinflussen
- Abhängigkeit von einer gemeinsamen Ursache: Die Variablen hängen nicht voneinander ab, sondern es gibt einen Faktor der auf alle gleichzeitig einwirkt. Diese Abhängigkeit wird auch als Scheinkorrelation bezeichnet, wenn der die Korrelation erzeugender Faktor nicht biologischer bzw. natürlicher Ursache ist. So entsteht eine statistisch signifikante Korrelation, ohne dass ein sinnvoller biologischer Zusammenhang besteht.

In der vorliegenden Arbeit wurde wegen der weitgehend unbekanntem Abhängigkeiten der Merkmale voneinander (unbekanntes Ursache/Wirkungsprinzip) soweit möglich auf wechselseitige Abhängigkeit geprüft, da so das Risiko minimiert wird, falsche Korrelationen zu produzieren (Bortz et al. 1990).

Je nach Skalenniveau wurden unterschiedliche Verfahren zur Feststellung eines Zusammenhanges verwendet.

Bei nominalen Daten wurden Kontingenztafeln (Kreuztafeln) verwendet und mittels Chi-Quadrat-Test (siehe III: 13.3) auf signifikante Abweichung von zufälliger Verteilung der Daten auf die Kontingenztafel untersucht (Verfahren nach Backhaus et al. 2006, Bortz et al. 1990). Ist es sinnvoll die Enge des Zusammenhanges näher zu definieren, wurde der Cramer-V-Assoziationskoeffizient eingesetzt, welcher nur Werte zwischen 0 (kein Zusammenhang) und 1 (vollständige Korrelation) annehmen kann, also keine Aussage über die Richtung des Zusammenhanges gibt (Bortz et al. 1990.). Dieser ist unter den gleichen Bedingungen wie der Chi-Quadrat-Test (s. u.) für Kontingenztafeln einsetzbar und wurde nur in diesem Fall verwendet.

Für die Feststellung eines Zusammenhanges zwischen ordinal skalierten Daten wird der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (zweiseitig) berechnet sowie seine Signifikanz überprüft (siehe III: 12.3). Mit diesem können monotone Zusammenhänge zwischen zwei Merkmalen aufgedeckt und quantifiziert werden. Vollständig positive Korrelation liegt bei einem Rangkorrelationskoeffizienten von 1 vor, während vollständig negative Korrelation bei einem Rangkorrelationskoeffizienten von -1 vorliegt. Bei fehlender Korrelation wird ein Wert bei 0 eingenommen (Verfahren und Voraussetzungen nach Bortz et al. 1990).

Für die Feststellung eines Zusammenhanges von ausschließlich metrischen Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet (Verfahren und Voraussetzungen nach Bortz et al. 1990). Dieser kann ebenfalls Werte zwischen -1 und 1 einnehmen. Der Korrelationskoeffizient ist allerdings nicht in der Lage die Struktur von nichtlinearen Beziehungen wahrzunehmen. So kann von einer Nichtkorreliertheit der Merkmale nicht unbedingt auf ihre Unabhängigkeit geschlossen werden (Lorenz 1996).

Aus diesem Grund wurden metrische Daten in dieser Arbeit häufig in ordinale Daten umgewandelt, so dass der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman angewendet werden kann, der auch weniger lineare Zusammenhänge aufdecken kann.

Die gleichen Daten können je nach Niveau, das man ihnen zuweist, unterschiedliche Informationen beinhalten. So haben ordinal skalierte Daten eine Wertigkeit (ein Wert ist höher oder tiefer als ein anderer), während die gleichen Daten, auf nominalem Niveau, ohne ihre Wertigkeit betrachtet werden (ein Wert ist verschieden von dem anderen). Dies wurde in der vorliegenden Arbeit in Hinsicht auf die Beurteilung eines Zusammenhanges zwischen Liegezeit bzw. Fundort genutzt.

Betrachtet man die Fundkomplexe als nominale Variable und testet mittels Chi-Quadrat-Verfahren (bzw. Ersatzverfahren) die Verteilung der Merkmalsausprägung der Proben auf die Fundplätze, kann man eine Aussage über Funkomplexabhängigkeit der Merkmalsausprägung machen. Ordnet man die Fundkomplex stattdessen nach ihrer Liegezeit und gibt ihnen Ränge, betrachtet sie also als ordinale Variable, kann auf einen Zusammenhang zwischen Liegezeit und Merkmalsausprägung getestet werden (mittels des Spearmanschen Rangkorrelationskoeffizienten).

12.2 Multivariate Analyseverfahren

Mittels der Varianzanalyse kann die Wirkung einer oder mehrerer unabhängiger Variablen (nominal) auf eine oder mehrere abhängige Variablen (metrisch) untersucht werden (Verfahren und statistische Signifikanzprüfung nach Backhaus et al. 2006, Rudolf & Müller 2004).

Dieses Verfahren wurde in der vorliegenden Arbeit angewendet, um die Wirkung verschiedener unabhängiger Variablen (Spezies, Knochentyp, Fundschichtkomplex = dreifaktorielle Analyse) auf die abhängige Variable D/L-Asp festzustellen (siehe IV: 3.1).

Die Voraussetzung der Varianzanalyse sind Varianzhomogenität und normalverteilte Daten. Die erste Voraussetzung wird erfüllt (nach Datensichtung). Die Voraussetzung der Normalverteilung ist nicht gegeben, aber da die Daten symmetrisch verteilt sind, ist davon auszugehen, dass die Varianzanalyse unempfindlich gegen eine Abweichung von der Normalverteilung ist (Backhaus et al. 2006). Es wurde weiterhin der Effekgrößenschätzer „partielles Eta-Quadrat“ errechnet. Dieser gibt den Erklärungsanteil für die Varianz der entsprechenden Variablen im Vergleich zu den anderen untersuchten Variablen an (weitere Erläuterung siehe Backhaus et al. 2006). Die Signifikanz wird nach dem F-Test von Fisher durch *SPSS* automatisch errechnet (nähere Erläuterung Rudolf & Müller 2004)

Mittels der Diskriminanzanalyse sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob und welche Variablen geeignet sind, um zwischen verschiedenen Gruppen zu unterscheiden. Die verschiedenen Gruppen definieren sich durch die erwünschten Ergebnisse in einem Screeningverfahren (Kollagen vorhanden/nicht vorhanden bzw. DNA amplifizierbar/nicht amplifizierbar, siehe I: 4.1). Die Merkmalsvariablen (Variablen, die zwischen den Gruppen unterscheiden sollen) müssen ordinal oder metrisch skaliert sein, während die Gruppenzugehörigkeit durch nominale Daten ausgedrückt wird. Dementsprechend wurden die Daten umformiert (vgl. IV: 3.2).

In allen Fällen wurde immer von zwei Gruppen und einer Merkmalsvariablen mit unterschiedlichen Merkmalswerten ausgegangen. Es wurde also um eine vereinfachte Diskriminanzfunktion eingesetzt:

$$Y = b_0 + b_1X_1$$

Wobei Y die Diskriminanzvariable (kanonische Variable), b_1 der kanonische Diskriminanzkoeffizient und X_1 die Merkmalsvariable ist, während b_0 die Konstante darstellt. Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient und die Konstante werden in der Diskriminanzanalyse berechnet (genaues Verfahren siehe Backhaus et al. 2006). Da es sich um eine vereinfachte Diskriminanzfunktion ohne den Vergleich von Merkmalsvariablen handelt resultiert nur eine mögliche Diskriminanzfunktion; auf Prüfung der Diskriminanzprüfung verschiedener Variablen konnte verzichtet werden.

Um eine Einordnung der Merkmale zur ermöglichen und eine Abschätzung der Trennkraft der Diskriminanzfunktion zu erhalten, wurde Fishers Klassifizierungsfunktion für die einzelnen Merkmalsausprägung der jeweiligen Variable berechnet (nach Backhaus et al. 2006).

Zur Durchführung der Klassifizierung einer Merkmalsausprägung ist mit dessen Merkmalswerten (X_i) für jede Gruppe ein Funktionswert F nach folgender Formel zu berechnen:

$$F1 = b_{01} + b_{11}X_1$$

$$F2 = b_{02} + b_{12}X_1$$

Die Koeffizienten b_{01x} und b_{1x} wurden auf Basis der Diskrimanzfunktion unter Berücksichtigung der a priori Wahrscheinlichkeit von SPSS für F1 und F2 berechnet (Formel siehe Backhaus et al. 2006).

Die Merkmalsausprägung ist derjenigen Gruppe zuzuordnen, für die der Funktionswert F maximal ist. Die Funktionswerte selbst haben keinen interpretatorischen Gehalt.

Aufgrund dieser Klassifizierungsfunktion konnten alle Elemente der Stichprobe auf ihre Gruppenzugehörigkeit geprüft werden. So konnte ein Abgleich zwischen reeller Gruppenzugehörigkeit und errechneter Gruppenzugehörigkeit erfolgen und dementsprechend eine Trefferquote angegeben werden, die eine Abschätzung der Trennkraft darstellt.

12.3 Signifikanztests

Zur Überprüfung der Aussagekraft der statistischen Analyse bzw. zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit dafür, dass die Nullhypothese (Zufälligkeit einer beobachteten Verteilung bzw. Zusammenhangs) verworfen werden kann, wurden statistische Signifikanztests eingesetzt. Es wurden je nach Größe der Wahrscheinlichkeit des α -Fehlers (p) verschiedene statistische Signifikanzniveaus angegeben. Bei einem Signifikanzniveau, das kleiner oder gleich $p=0,05$ ist, wird von einem signifikanten Ergebnis gesprochen, während bei einem Niveau kleiner oder gleich $p=0,01$ von einem hochsignifikanten Ergebnis gesprochen wird.

Wenn möglich, wurden die Signifikanztests zweiseitig angewendet, d.h. es wurde nicht von einer bestimmten Alternativhypothese ausgegangen bzw. von einem Ursache-Wirkungsschema, da eine zweite Alternativhypothese bzw. die wechselseitige Abhängigkeit der in der Untersuchung verwendeten Variablen aufgrund der wenig gesicherten Wissens über Diagenesevorgänge nicht ausgeschlossen werden konnten.

Nur bei den speziellen Fragestellungen (siehe I: 5) wurde von vornherein häufig nur eine Alternativhypothese angenommen bzw. konnten unabhängige und abhängige Variablen unterschieden und dementsprechend einseitige Test eingesetzt werden.

Bei der Interpretation wurde beachtet, dass statistische Signifikanz eine notwendige, aber keine hinreichende Bedingung für praktische Bedeutsamkeit ist (Bortz et al. 1990).

Für die Überprüfung der Verteilung von Häufigkeiten von nominalskalierten Daten (Nullhypothese: die Verteilung ist zufallsbedingt) wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet.

Der Chi-Quadrat-Test wurde außerdem bei der Überprüfung der Assoziation nominalskalierter Merkmale mittels Kontingenztafeln angewendet (Prinzip siehe Bortz et al. 1990). Die Nullhypothese lautet in diesem Fall, dass die untersuchten Variablen nicht unabhängig sind. Bei Verwerfen der Nullhypothese wird also angenommen, dass sie abhängig sind, wobei diese Abhängigkeit nicht näher eingegrenzt wird.

Sind die Voraussetzungen des Chi-Quadrat-Testes nicht erfüllt (80% aller Erwartungswerte müssen größer als 5 sein, kein Erwartungswert kleiner als 1), wurden je nach Sachverhalt folgende Strategien angewendet (nach Bortz et al. 1990):

III Methoden

- Zusammenfassung der Variablen in Gruppen wenn dies sachlogisch zu begründen ist.
- Bei kleiner Kontingenztafel (2 x 2): exakter Kontingenztest nach Fischer (siehe Lorenz 1996)
- Bei schwach besetzter Kontingenztafel (höchstens 5 x 5 Felder): Chi-Quadrat-Test nach Craddock u. Flood (Verfahren nach Bortz et al. 1990)
- Bei mehr als 5 x 5 Feldern: Haldane-Dawson-Test (Verfahren nach Bortz et al. 1990)

Die Errechnung des Chi-Quadrat-Tests nach Craddock u. Flood und des Haldane-Dawson-Tests (bei *SPSS* nicht vorhanden) erfolgt mit dem Programm *BLAS FÜR WINDOWS* (epsilon-Verlag, Version 8.2)

Die Verteilung von ordinalskalierten Merkmalen auf dem Knochenquerschnitt (im Allgemeinen eingeteilt in die Bereiche periostal, mittig, medial) kann mittels des Friedmann-Tests für k verbundene Stichproben auf ihre Zufälligkeit überprüft werden (Nullhypothese: Die 3 Knochenabschnitte zeigen hinsichtlich des Merkmals den gleichen Ausprägungsgrad).

Mittels dieses Tests werden k abhängige Stichproben (in diesem Fall 3 Knochenabschnitte, die als abhängig betrachtet werden, weil sie miteinander in Beziehung stehen) auf ihre zentrale Tendenz überprüft (Verfahren und Bedingungen nach Bortz et al. 1990).

Will man k Stichproben ordinalen Datenniveaus in ihrer zentralen Tendenz vergleichen, eignet sich hierzu der Kruskal-Wallis-Test (Rangvarianzanalyse). In der vorliegenden Arbeit wurde dieser dazu verwendet, die Verteilung der ordinalen Merkmale auf die unterschiedlichen Fundplätze zu vergleichen. Dazu wurden die Fundkomplexe als unterschiedliche Stichproben betrachtet. Bei Verwerfung der Nullhypothese (die Stichproben unterscheiden sich nicht in der zentralen Tendenz) konnte davon ausgegangen werden, dass die Fundkomplexe Einfluss auf das untersuchte Merkmal haben (Verfahren nach Bortz et al. 1990).

IV

Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse gliedert sich in drei Bereiche, wobei die ersten beiden Bereiche die Ergebnisse zum Themenbereich „Allgemeine diagenetische Zusammenhänge“ darstellen, während der dritte Bereich die Auswertung der Ergebnisse hinsichtlich der speziellen Fragestellung des Themenbereiches „Diagenese und Spurenkunde“ zeigt (vgl. I: 5).

Im ersten Teil werden die Ergebnisse der einzelnen Analyseebenen ausgewertet, sowie die Verteilung der Merkmale in den verschiedenen Stichproben dargestellt und verglichen. Weiterhin sollen Zusammenhänge innerhalb der Analyseebenen festgestellt werden und Bezüge zu Fundplatz und Liege- bzw. Inkubationszeit dargestellt werden (IV: 1). Im zweiten Abschnitt findet eine Vernetzung zwischen den untersuchten Markern der verschiedenen Strukturkomplexe (interstrukturelle Zusammenhänge) statt (IV: 2). Abschließend folgt die Betrachtung und Auswertung der Ergebnisse (schließende Statistik) im Hinblick auf die in der Einleitung postulierten speziellen Fragestellungen (IV: 3). Alle relevanten Daten werden graphisch dargestellt. Stichprobenkennwerte wie Mittelwert und Standardabweichung sind hinsichtlich des interpretatorischen Wertes begrenzt, da die archäologischen Stichproben unterschiedlicher Fundkomplexe und Proben umfassen, die verschiedenen externen Faktoren ausgesetzt sind. Sie sollen lediglich als genereller Überblick über die Ausprägungsmöglichkeiten eines Merkmals dienen und werden nur bei allen metrischen Daten berechnet. Jegliche Rohdaten und Kennwerte der einzelnen Fundkomplexe sind im Anhang aufgelistet (Anhang b).

Für die anschließende Diskussion der Ergebnisse ist es erforderlich, nicht nur die in dieser Arbeit erhobenen Daten in die Darstellung mit einzubeziehen. Der Übersichtlichkeit halber wird dies nicht gesondert erwähnt, sondern man entnehme den Rohdatentabellen im Anhang, welche Daten jeweils in der vorliegenden Untersuchung erhoben wurden bzw. aus anderen Quellen stammen (vgl. III).

1 Ausprägung, Verteilung und intrastrukturelle Zusammenhänge

Im folgenden Abschnitt werden Ausprägung und Verteilung der Merkmale der einzelnen Analysekomplexe getrennt voneinander betrachtet und anschließend innerhalb eines Komplexes (intrastrukturelle) miteinander in Zusammenhang gebracht. Die statistischen Angaben beziehen sich immer, soweit nicht anders erwähnt, auf das Gesamtvolumen der Stichprobe bei dem das jeweilige Merkmal bestimmt wurde, dies wird am Anfang des jeweiligen Kapitels angegeben.

1.1 Mikrostruktur

Es konnten $n=57$ archäologische humane Knochenproben hinsichtlich ihrer Mikrostruktur ausgewertet werden. Keine Daten liegen von Gebökli Tepe und Gürcetepe sowie dem Temperaturexperiment I vor. Für keines der untersuchten histologischen Merkmale konnte ein Zusammenhang mit der Liegezeit festgestellt werden (Verfahren siehe III: 12).

Das kremierte Material ließ eine Untersuchung hinsichtlich seiner histologischen Merkmale nicht zu, da der Querschnitt sich als schwarze, lichtundurchlässige Masse zeigte. Die schwarze Färbung beruht auf Oxidation des Kohlenstoffs aus den organischen Verbindungen zu elementarem Kohlenstoff. Die Proben sind offensichtlich nur unvollständig verbrannt. Bei einer Probe (K 97, Abb. IV.1) fanden sich endostal Strukturreste, an diesen Stellen zeigten sich ebenfalls Doppelbrechungsmuster bei Betrachtung im polarisierten Licht.



Abb. IV.1: Probe K97 im Hellfeld (links) und bei Betrachtung unter polarisiertem Licht (rechts), eine histologische Struktur ist nur endostal zu erkennen, während der restliche Querschnitt eine lichtundurchlässige schwarze Verfärbung zeigt

1.1.1 Oxford histologischer Index (OHI)

Der Median der Häufigkeitsverteilung für den OHI, bei Betrachtung des archäologischen Materials über den gesamten Knochenquerschnitt, ist 1. Wie man in Abb. IV.2 erkennt, ist die Verteilung dieses Merkmals in der Stichprobe bimodal. Nur eine Probe liegt im mittleren Bereich des OHI (Kh12 mit einem OHI-Wert von 2). Die Mehrzahl der Proben (54,4%) besitzt einen eher schlechten histologischen Erhaltungsgrad mit einem Gesamt-OHI von 0 (15 Proben) oder 1 (16 Proben), während 43,8% der Proben einen guten histologischen Erhaltungsgrad mit einem OHI von 4 (8 Proben) oder 5 (17 Proben) zeigen. Eine Probe mit einem OHI-Wert von 3 konnte im untersuchten Fundgut nicht festgestellt werden.

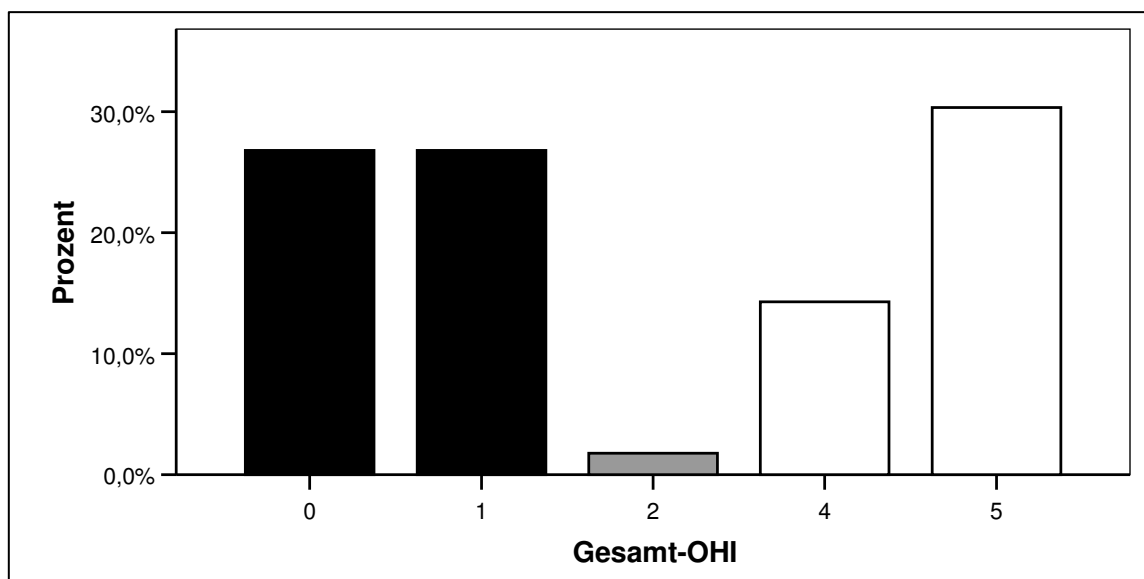


Abb. IV.2: Häufigkeitsverteilung des OHI im archäologischen humanen Material, ein OHI-Wert von 3 wurde bei keiner Probe festgestellt

Die Verteilung des OHI in der Stichprobe weicht laut dem Chi-Quadrat-Test signifikant von einer zufälligen Verteilung ab ($p=0,003$). Bei den weiteren Merkmalen wird von einer Prüfung der Zufälligkeit ihrer Verteilung abgesehen, da nicht genau geklärte Zusammenhänge zum OHI bestehen und folglich der Aussagewert gering bleibt. Aufgrund dieser bimodalen Verteilung werden die Proben mit einem OHI von 1 oder 0 zukünftig zu einer Gruppe zusammengefasst (histologischer Erhaltungsgrad „schlecht“), ebenso wie die Proben mit einem OHI von 4 oder 5 (histologischer Erhaltungsgrad „gut“). Die Probe KH12 wird bei Verwendung dieser Einteilung ausgeschlossen. Sie weist als weitere Besonderheit eine starke Kristallbildung auf (siehe Abb. IV.3).

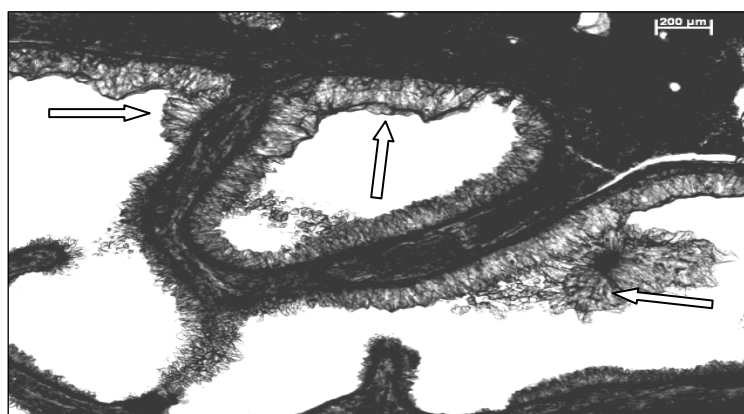


Abb. IV.3: Mittlerer Bereich von KH12 im Hellfeld mit Kristallbildungen (Pfeile)

IV Ergebnisse

Guter mikrostruktureller Erhalt findet sich nur in Bereichen, in denen keine Kristalle vorhanden sind, dies weist auf Rekristallisierungsprozesse nach Kollagenverlust hin (vgl. V: 1.1.5).

Der periostale, mittlere und endostale Anteil des Knochenquerschnitts unterscheidet sich nicht signifikant in der Ausprägung des OHI (festgestellt mittels des Friedmann-Tests für k verbundene Stichproben).

Für die Beurteilung der Verteilung von mikrostrukturellem Erhalt über den Gesamtknochenquerschnitt wurden theoretische Verteilungsmuster aufgestellt (siehe III: 2.3).

Bei einem sehr guten (OHI von 5) oder sehr schlechten Erhaltungsgrad (OHI von 0) besitzen naturgemäß alle Proben das Verteilungsmuster 1, in dem alle drei Bereiche gleich ausgeprägt sind (Abb. IV.4). Dies trifft auf 66,7% der Proben zu, der Modalwert ist also 1.

Sowohl bei mikrostrukturell gut als auch schlecht erhaltenem Knochen kommt es gleich häufig vor, dass der mittlere Bereich des Querschnitts einen besseren Erhalt aufweist als die Randbereiche. Dieses Verteilungsmuster stellt nach der gleichmäßigen Verteilung auch das zweithäufigste dar (12,3%). Ausschließlich mikrostrukturell schlecht erhaltene Proben zeigen die Verteilungsmuster 3, 4 und 5, in denen entweder beide Randbereiche einen besseren histologischen Erhalt zeigen als der mittlere Bereich (8,8%) oder nur einer der Randbereiche besser erhalten ist (5,3%) als der restliche Querschnitt. Dass der endostale Bereich eine schlechtere mikrostrukturelle Erhaltung zeigt, kommt nur bei einer gut erhaltenen Probe vor (1,8%). Das Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes der Proben mit gutem bzw. schlechtem histologischem Erhalt zeigt Abb. IV.4.

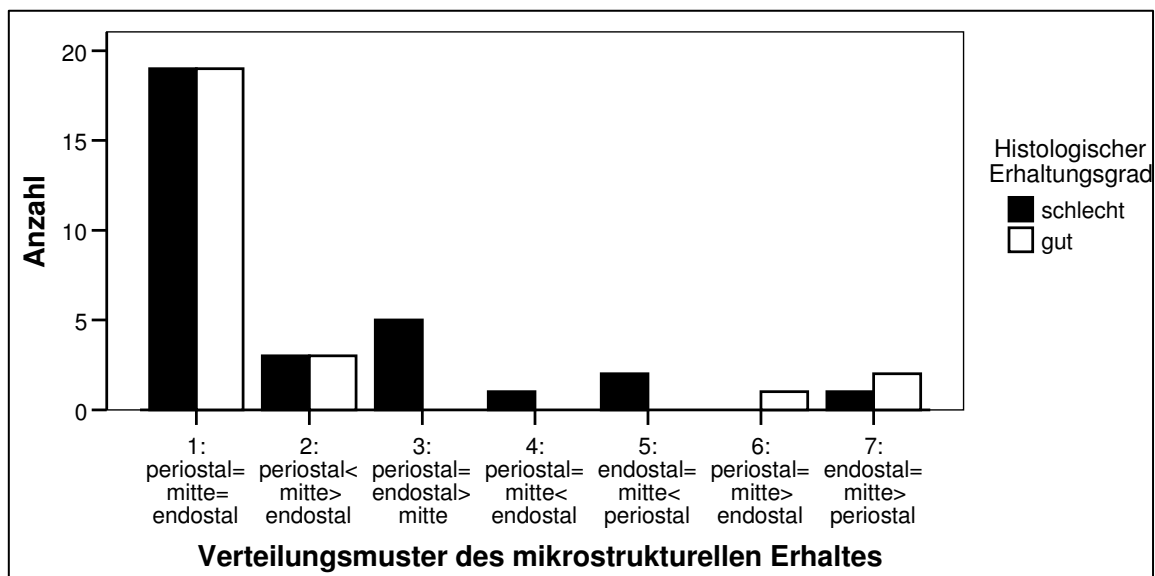


Abb. IV.4: Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes über den Knochenquerschnitt, aufgeteilt in Knochen mit guten und schlechten Erhaltungsgraden

Wie die Abb. IV.5 zeigt, ist die Verteilung der histologischen Erhaltungsgrade auf die unterschiedlichen Fundkomplexe sehr unterschiedlich. Mittels des Haldane-Dawson-Tests kann eine signifikante Assoziation zwischen der Verteilung des OHI und dem Fundplatz nachgewiesen werden ($p=0,000003$).

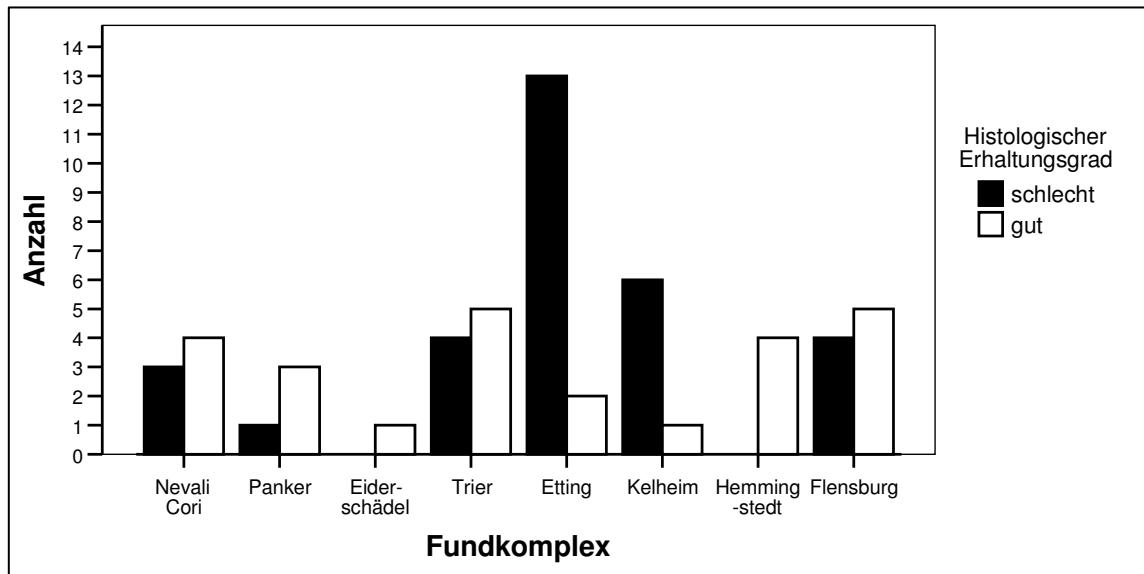


Abb. IV.5: Verteilung der histologischen Erhaltungsgrade auf die unterschiedlichen Fundplätze

Eine Assoziation zwischen Fundplatz und dem Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes ist mittels dieses Tests ebenfalls nachzuweisen ($p=0,000294$). So fällt bei Betrachtung der Rohdaten auf, dass die Verteilungsmuster 4 und 6 ausschließlich bei dem Fundkomplex Nevalı Çori vorkommen, während das Muster 7 nur bei den Fundplätzen Ettingen und Flensburg festzustellen ist. Eine Übersicht bietet Abb. IV.6.

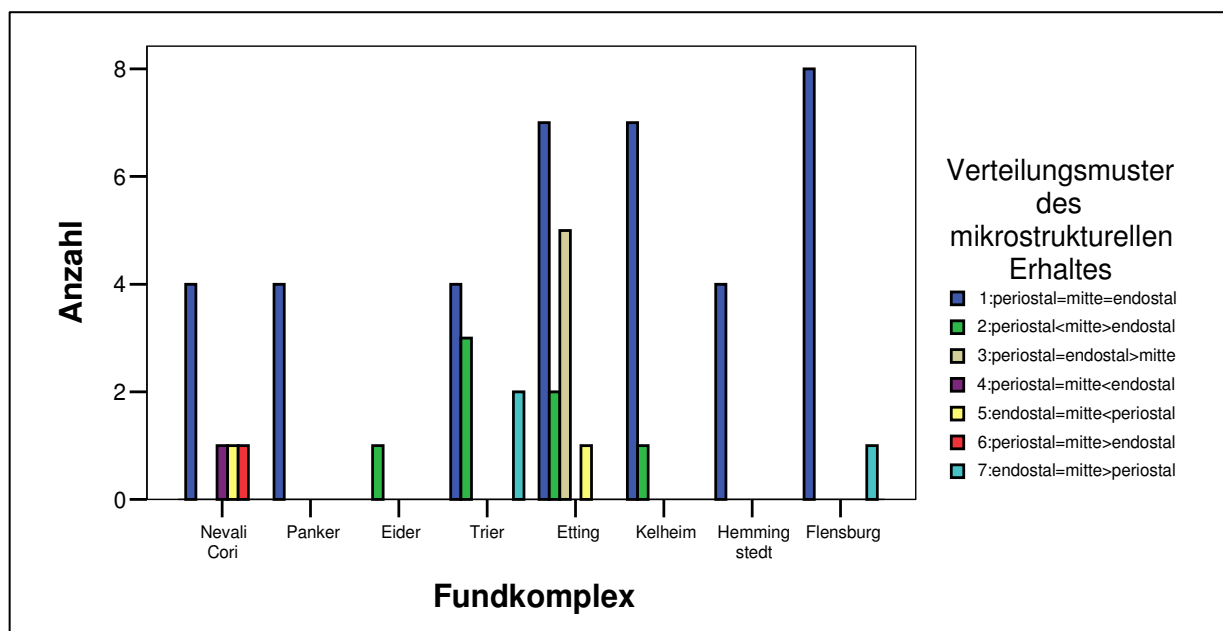


Abb. IV.6: Verteilung der Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes auf die verschiedenen Fundkomplexe

Mit dem Haldane-Dawson-Test kann keine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes und dem histologischen Erhaltungsgrad nachgewiesen werden.

Alle Proben des Temperaturexperimentes II sind mikrostrukturell unverändert erhalten und werden durchgehend mit einem OHI-Index von 5 bewertet.

IV Ergebnisse

1.1.2 Doppelbrechung

Die Verteilung des Merkmals Doppelbrechung, aufgeteilt nach histologischem Erhaltungsgrad innerhalb der Stichprobe, zeigt Abb. IV.7.

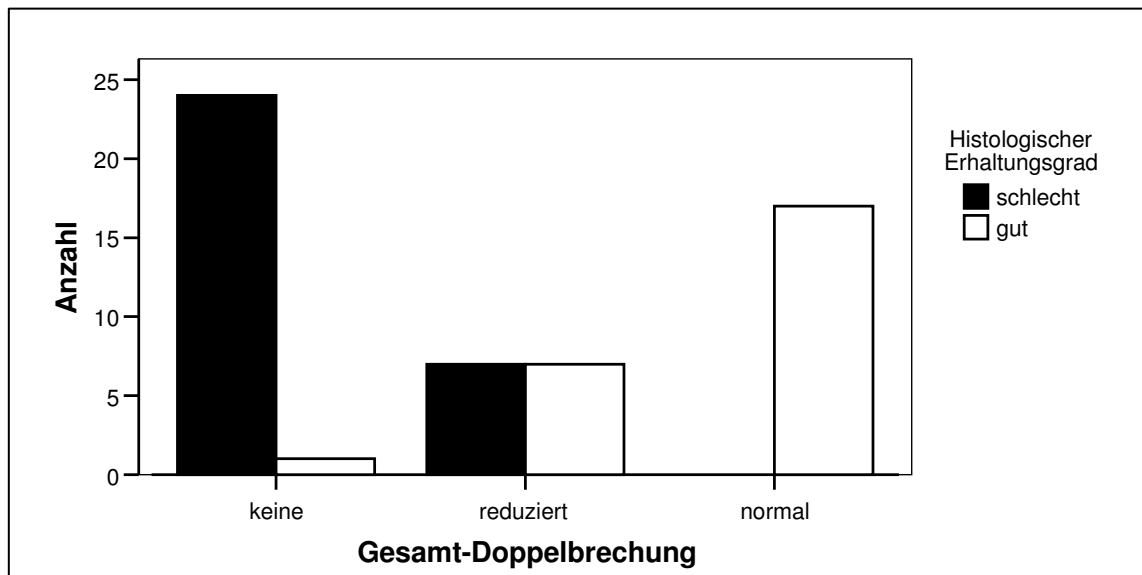


Abb. IV.7: Häufigkeiten der drei Ausprägungen der Doppelbrechung über den gesamten Querschnitt, unterteilt nach histologischem Erhaltungsgrad

Bei Betrachtung im polarisierten Licht zeigen 29,8% (17 Proben) der Knochenquerschnitte Osteone mit Brewster-Kreuzen (Doppelbrechung). Diese Proben besitzen ausschließlich einen guten histologischen Erhaltungsgrad. Reduzierte Doppelbrechung zeigen 26% der Knochenquerschnitte (15 Proben). Eine reduzierte Doppelbrechung ist genauso oft bei Proben mit gutem (Abb. IV.8, linkes Bild), wie bei Proben mit schlechtem histologischen Erhaltungsgrad zu sehen (Abb. IV.8, rechtes Bild). Dabei sind die Proben mit gutem Erhaltungsgrad und reduzierter Doppelbrechung dadurch gekennzeichnet, dass die reduzierte Doppelbrechung sich auf den gesamten Querschnitt bezieht, während beim Material mit insgesamt schlechtem histologischen Erhalt die Stellen mit teilweise erhaltener Struktur unvollständige Brewster-Kreuze zeigen. Die meisten Knochenproben weisen keine Doppelbrechungsphänomene bei Betrachtung im polarisierten Licht (43%) auf. Bis auf eine Probe (NC14) zeigen diese einen schlechten histologischen Erhaltungsgrad. Der Median der Häufigkeitsverteilung bei Betrachtung des gesamten Querschnittes ist 0,5.

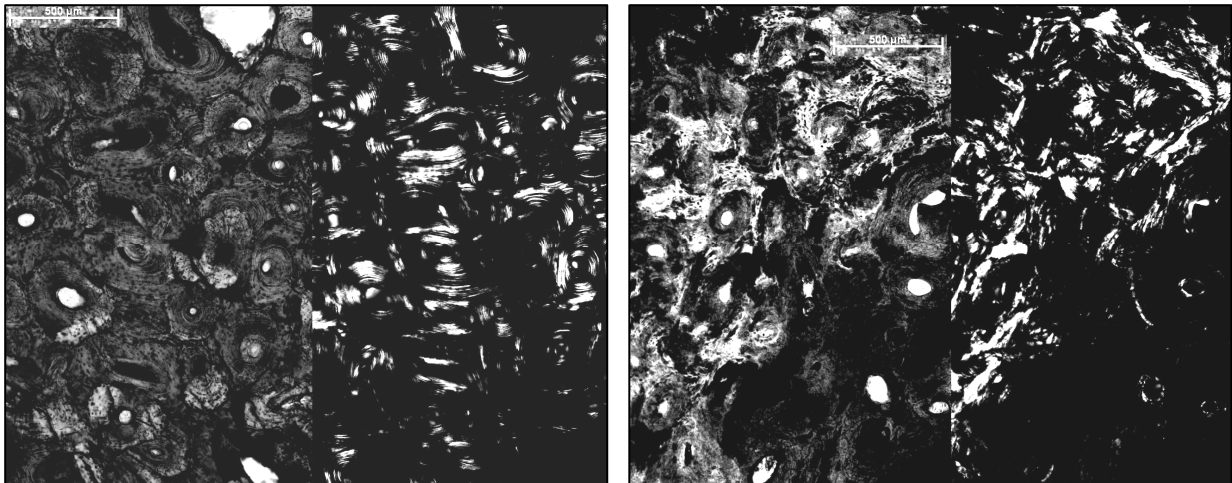


Abb. IV.8:

links: Probe P4 mit histologisch gutem Erhaltungsgrad (OHI 4) im Hellfeld (rechts) und reduzierter Doppelbrechung bei Betrachtung im polarisiertem Licht (links)

rechts: Probe E7 mit schlechtem histologischen Erhaltungsgrad (OHI 1) im Hellfeld (rechts) und reduzierter Doppelbrechung bei Betrachtung im polarisiertem Licht (links)

Ein Median von 0,5 erhält man bei Betrachtung der Doppelbrechung nur im periostalen Teil, während die Verteilung der Doppelbrechung im mittleren und endostalen Teils den Median 0 zeigt. Folglich zeigen geringfügig mehr Proben keine Doppelbrechung im mittleren und endostalen Bereich als im periostalen. Mittels des Friedmann-Tests für verbundene Stichproben lässt sich zeigen, dass sich die drei Bereiche des Knochenquerschnittes in der Verteilung der Doppelbrechung signifikant unterscheiden ($p=0,042$).

Es findet sich eine einseitige Assoziation zwischen Fundplatz und Ausprägung der Doppelbrechung mittels des Haldane-Dawson-Tests ($p=0,000015$), man beachte allerdings die Korrelation zwischen OHI und Doppelbrechung (vgl. Abb. IV.7)

Die Proben des Temperaturexperimentes II zeigen bei Betrachtung im polarisiertem Licht bis einschließlich des 21sten Inkubationstage (TE II 21) Brewster-Kreuze. Die Proben TE 23 und 25 hingegen zeigen eine reduzierte Doppelbrechung über den gesamten Querschnitt.

1.1.3 Mikrofissuren

Die Beurteilung der Mikrofissuren (siehe Abb. IV.9) kann nur bei Schnitten mit einem gutem histologischem Erhaltungsgrad erfolgen, da bei zerstörter Mikrostruktur die Fissuren nicht erkennbar sind. Somit können ca. 50% der Stichprobe nicht beurteilt werden. Der Großteil der beurteilbaren Proben zeigt keine (37,9%, Indexwert von 3) oder nur sehr wenige Mikrofissuren (31%, Indexwert von 2). Bei ca. 20% der Proben sind viele Osteone (Indexwert von 1) und bei 10% der Proben fast alle Osteone (Indexwert von 0) von Mikrofissuren betroffen. Der Median der Verteilung ist 2. Der periostale, mittlere und endostale Bereich haben bei getrennter Betrachtung ebenfalls einen Median von 2 und weisen in ihrer Verteilung statistisch keine signifikanten Unterschiede auf (Test nach Friedmann, $n=25$).

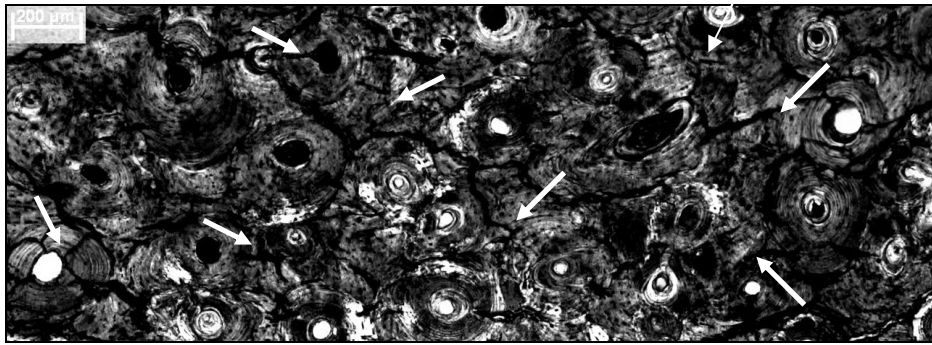


Abb. IV.9: Knochenprobe P3 mit großer Anzahl (Index 0) von Mikrofissuren (Pfeile)

Eine Assoziation zwischen Ausmaß der Mikrostrukturen und Fundplatz kann statistisch ebenfalls nicht nachgewiesen werden ($n=25$). Allerdings fällt bei Betrachtung der Daten auf, dass eine stark erhöhte Anzahl der Mikrofissuren bei den Fundplätzen Nevalı Çori und Panker auftritt.

Alle Proben des Temperaturexperimentes II haben mehr oder weniger stark ausgeprägte Mikrofissuren (keine Probe mit einem Indexwert von 0). Der Median der Verteilung ist 1. Eine Probe zeigt als Gesamtindex den Wert 0, während 4 Proben den Wert 1 und 5 Proben den Wert 2 zeigen. Ein Zusammenhang zwischen Inkubationszeit und Anzahl der Mikrofissuren ist nicht herzustellen.

1.1.4 Bakterieller Befall

Weiterhin wurde die Ausprägung des bakteriellen Befalls anhand der für sie typischen Anzeichen (siehe I: 3.2.1) beurteilt. Bei 43% der Proben sind mehr als 95% der Fläche bakteriell zerstört, während bei 33% der Proben keine Anzeichen bakteriellen Befalls sichtbar sind. Mittlere Befallswerte (1 und 2) sind bei 22% der Proben beobachtbar, die bakterielle Zerstörung weist also eine bimodale Verteilung auf. Sie ist mit nur einer Ausnahme fokaler Art (Abb. IV.10), lamelläre Zerstörung kann nur bei einem Knochenquerschnitt beobachtet werden (Probe T5, Abb. IV.10)

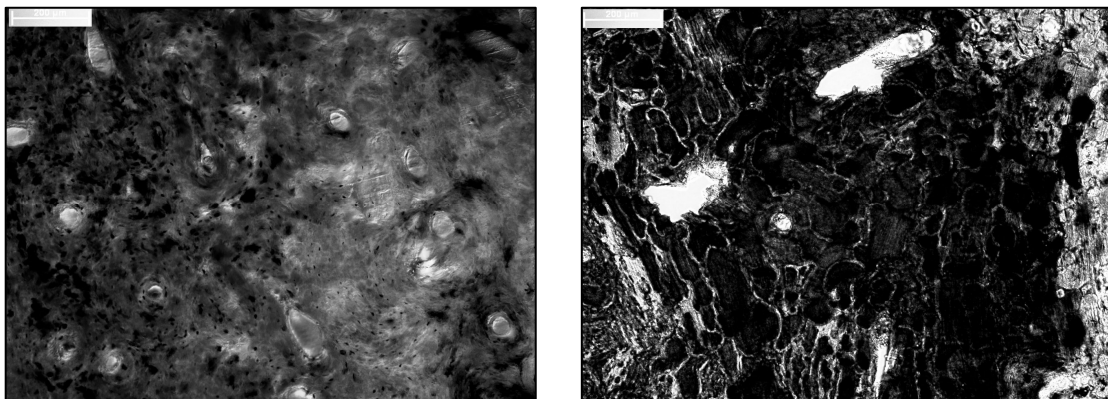


Abb. IV.10: Verschiedene Formen bakterieller Zerstörung: links Probe E7 mit fokaler „Tunnel“-form und rechts Probe T5 mit lamellärem bakteriellen Befall

Der Median der Häufigkeitsverteilung des bakteriellen Befalls ist 1; betrachtet man die Bereiche des Knochenquerschnitts getrennt, stellt man für die Verteilung des periostalen Bereichs

ebenfalls einen Median von 1 fest, während die endostalen und mittleren Abschnitte einen Median von 0 haben. Die Bereiche weisen in der Verteilung des bakteriellen Befalls statistisch keine signifikanten Unterschiede auf (Test nach Friedman). Es kann mittels des Haldane-Dawson's Test kein statistischer Zusammenhang zwischen der Ausprägung des bakteriellen Befalls und dem Fundkomplex gefunden werden.

Die Proben des Temperaturexperimentes II zeigen kein Anzeichen bakteriellen Befalls.

1.1.5 Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen

Der Median des Index zur Abschätzung der Einschlüsse der Havers'schen Kanäle ist 1. Mehr als 52% der Proben weisen den Wert 1 auf, d.h. bei mehr als der Hälfte der untersuchten Proben sind mehr als die Hälfte der betrachteten Havers'schen Kanäle mit exogenem Material gefüllt. Weniger häufig (ca. 28%) sind Proben, die nur einige Havers'sche Kanäle mit exogener Füllung aufweisen, während bei ca. 18% der Proben fast alle Havers'schen Kanäle Einschlüsse aufweisen. Nur bei einer Probe sind keine Füllungen jener Kanäle festzustellen (Kh1).

Die periostalen, mittleren und endostalen Bereiche haben bei getrennter Betrachtung einen Median von 2 und weisen in ihrer Verteilung statistisch keine signifikanten Unterschiede auf (Test nach Friedman).

Es kann weiterhin keine Assoziation mittels Haldane-Dawson-Test zwischen den Einschlüssen in den Havers'schen Kanälen und den Fundorten der Proben festgestellt werden.

Auch die Proben des Temperaturexperimentes II zeigen Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen. Da diese allerdings in ihrer Struktur von den im archäologischen Material beobachteten Einschlüssen abweichen, wurden sie nicht mit dem gleichen System beurteilt. Während die Füllungen der Havers'schen Kanäle des archäologischen Materials exogener Natur sind, stammen sie bei den *in vitro* degradierten Proben aus endogenen Knochenanteilen, wie z.B. Blutgefäßen.

1.1.6 Diffuses exogenes Material

Bei 23% der Proben lässt sich kein diffuses exogenes Material (Indexwert 5) beobachten, während es bei 17,5% der Proben über die gesamten Fläche anzutreffen ist (Indexwert 0) und bei 17% mehr als die Hälfte der beobachteten Fläche einnimmt (Indexwert 1). Eine mittlere Ausprägung (Indexwerte 2 und 3) weisen 42% der Proben auf, wobei der überwiegende Teil (36,8%) bei mehr als der Hälfte der betrachteten Fläche diffuses exogenes Material zeigt. Der Median der Verteilung ist 1. Die periostalen, mittleren und endostalen Abschnitte weisen in ihrer Verteilung statistisch keine signifikanten Unterschiede auf (Test nach Friedman).

Wie in Abbildung IV.11 ersichtlich, zeigen Proben ohne diffuses exogenes Material durchgehend einen guten histologischen Erhaltungsgrad.

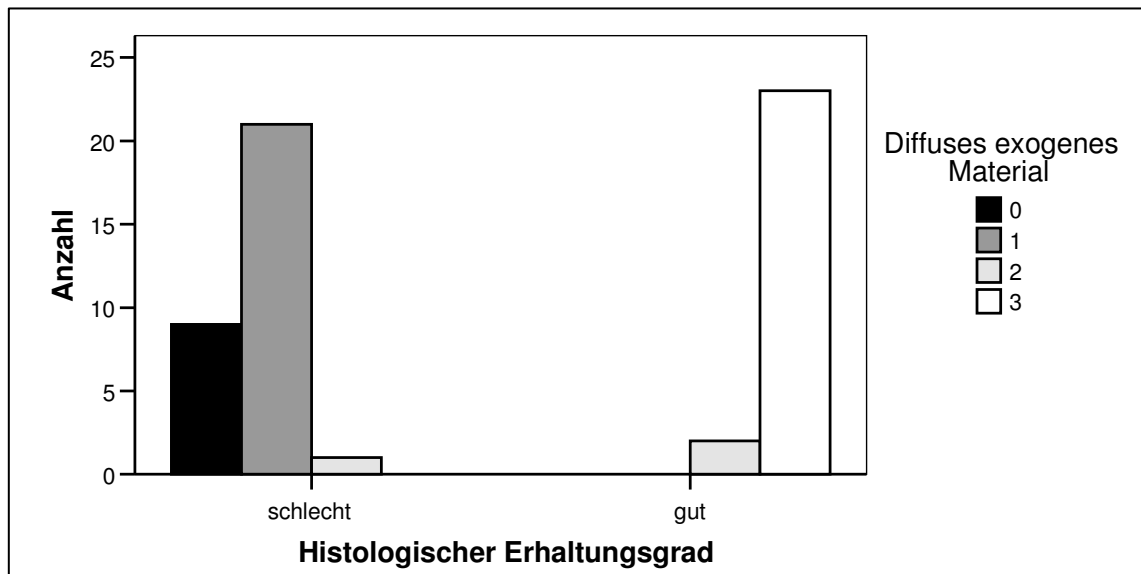


Abb. IV.11: Verteilung der Indexwerte zur Beurteilung des Ausmaßes des diffusen exogenen Materials auf die Proben mit gutem bzw. schlechtem histologischem Erhaltungsgrad

Bei der Verteilung des diffusen exogenen Materials gibt es keine statistisch nachweisbare Fundplatzassoziation.

Diffuses exogenes Material ist bei den Proben des Temperaturexperiments nicht festzustellen.

1.1.7 Braune Verfärbung unter Strukturerhalt

Etwa 44% der Proben zeigen Bereiche mit brauner Verfärbung unter Strukturerhalt, von diesen zeigen 3,5% (2 Proben: NC14, NC15) Verfärbungen über die gesamte Fläche des Querschnittes (Indexwert 0). Etwa 7% der Proben lassen eine Verfärbung bei mehr als der Hälfte der betrachteten Fläche (Indexwert 1) erkennen, während die meisten Proben (33%) auf weniger als der Hälfte der betrachteten Fläche Verfärbungen aufweisen (Indexwert 2) (vgl. Abb. IV.12). Der Median der Stichprobe ist 3 (keine Verfärbung feststellbar).

Mittels des Friedman-Tests für verbundene Stichproben lässt sich zeigen, dass sich die drei Bereiche des Querschnitts (periostal, medial, endostal) in der Verteilung hochsignifikant unterscheiden ($p=0,000$). Der periostale Bereich weist mehr Werte im Bereich 0 bis 2 auf (Rang 1,75), d.h. hier ist das Ausmaß der Verfärbung der Flächen stärker. So sind 60% der Proben in diesem Bereich unverfärbt, während es im mittleren Bereich 86% (Rang 2,25) und im endostalen 70% (Rang 2) sind. Am häufigsten finden sich also Verfärbungen im periostalen, dann im endostalen und am seltensten im mittleren Bereich des Knochenquerschnitt. Diese Verteilung zeigt die externe Natur dieser Verfärbungen an.

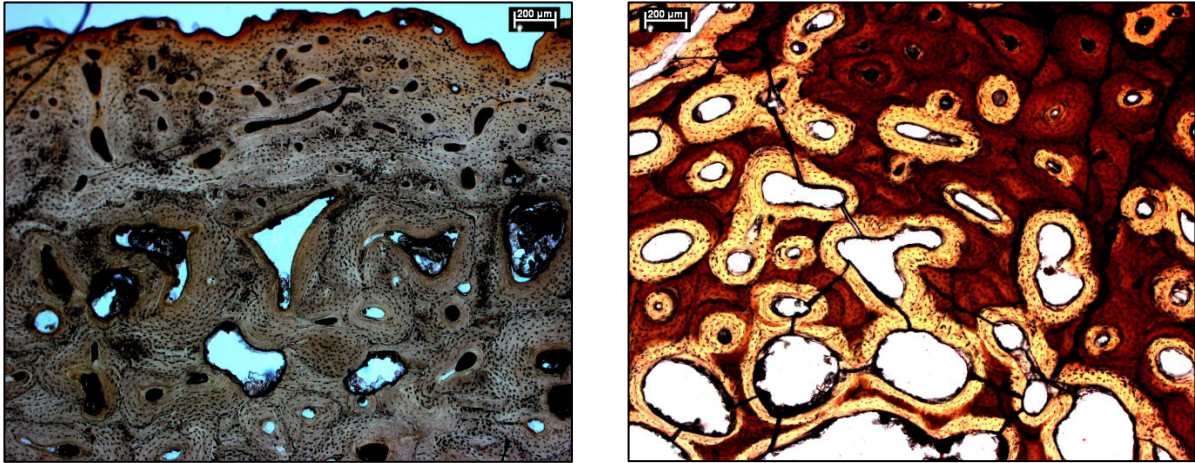


Abb. IV.12: Proben mit brauner Verfärbung unter Strukturerhalt,
links: Probe H1 mit besonders ausgeprägten Verfärbungen im periostalen Bereich,
rechts: Probe NC 15 mit Verfärbung über den gesamten Querschnitt

Es lässt sich eine hochsignifikante Assoziation zwischen Fundkomplex und Ausmaß der braunen Verfärbung unter Strukturerhalt mittels des Haldane-Dawson-Test feststellen ($p=0,000239$). Auffällig sind vor allem die Fundplätze Panker und Nevalı Çori, die Verfärbungen von über 50% der Querschnittsfläche zeigen (Indexwerte 0 und 1), während allen anderen Fundplätzen nur Proben mit Indexwerten von 2 oder 3 zuzuweisen sind. Eine Ausnahme bildet der Fundkomplex Hemmingstedt, wo ausschließlich Werte von 2 gefunden werden.

Zwei Proben des Temperaturexperimentes II zeigen braune Verfärbungen unter Strukturerhalt. Dabei handelt es sich um die Proben TE II 23 und TE II 25, also diejenigen, die am längsten inkubiert wurden. Die Verfärbung erstreckt sich über den gesamten Querschnitt (Abb. IV.13). Diese Verfärbungen unterscheiden sich im Aussehen und ihrer Natur von denen des archäologischen Knochenmaterials und werden daher gesondert betrachtet.

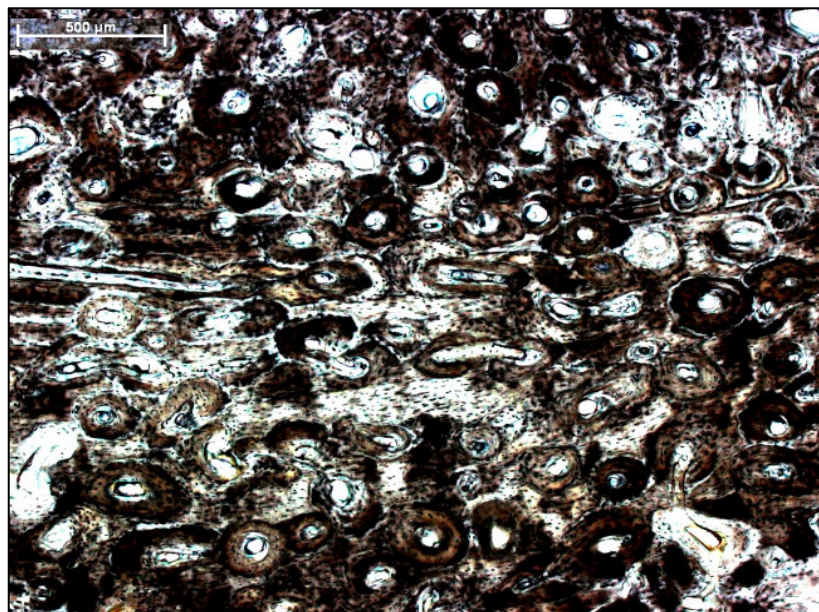


Abb. IV.13: Bräunliche Verfärbung unter Strukturerhalt bei der Probe TE II 25 im mittleren Bereich

IV Ergebnisse

1.1.8 Zusammenhänge innerhalb der mikrostrukturellen Merkmale

Statistische Zusammenhänge zwischen den mikrostrukturellen ordinalen Merkmalen zeigt Tab. IV.1.

Die Tabelle beinhaltet nicht das Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes, da dies ein nominales Merkmal ist. Mit dem Haldane-Dawson-Test ist keine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes und dem histologischen Erhaltungsgrad nachweisbar.

Besonders eng (Korrelationskoeffizient von über 0,8) und hochsignifikant korrelieren der OHI mit der Doppelbrechung, dem bakteriellen Befall und dem diffusen exogenen Material. Diese drei Merkmale korrelieren ebenfalls jeweils miteinander, so dass sich ein zusammenhängender Verband aus OHI, Doppelbrechung, bakteriellem Befall und diffusem exogenen Material ergibt. Aufgrund sich so abzeichnender, häufig zusammen vorkommender Merkmalsausprägungen können zwei verschiedene histologische Merkmalstypen definiert werden, in welche die Mehrzahl der vorhandenen Proben eingeordnet werden können:

A: Histologischer Erhaltungsgrad gut (OHI 4 und 5) mit vollständig erhaltener Doppelbrechung (Index 1), keinem oder wenig bakteriellem Befall (Indexwert von 3 und 2), keinem oder wenigem diffusen exogenen Material (Indexwerte 3 und 2): 17 Proben (30%)

B: Histologischer Erhaltungsgrad schlecht (OHI 0 und 1), mit reduzierter oder nicht mehr vorhandener Doppelbrechung (0 oder 0,5), stark ausgeprägtem bakteriellem Befall (0 und 1) und viel diffusem exogenem Material (0 und 1): 30 Proben (53%)

Die anderen histologischen Merkmale lassen sich diesen Typen nicht so einfach zuordnen. Alle zur Typbildung verwendeten Variablen korrelieren schwach negativ mit der geschätzten Anzahl der Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen und des Ausmaßes der braunen Verfärbung unter Strukturerhalt (Korrelationskoeffizienten zwischen 3 und 5).

Tab. IV.1: Korrelationsmatrix der histologischen Merkmale, ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig). * Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

	OHI	Doppelbrechung	Mikrofrissuren	bakterieller Befall	Einschlüsse in den Haverschen Kanälen	Diffuses exogenes Material	braune Verfärbung unter Strukturhalt
OHI	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	1,000 ,852(**) 57	,042 ,827 29	,905(**) ,833(**) 57	-,437(**) -,473(**) 57	-,437(**) ,001 57	-,514(**) ,000 57
Doppelbrechung	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	1,000 ,000 57	,248 ,195 29	,833(**) ,000 57	-,473(**) ,000 57	-,473(**) ,001 57	-,392(**) ,003 57
Mikrofrissuren	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	,248 ,195 29	1,000 ,195 29	,033 ,865 29	-,271 ,155 29	-,271 ,012 29	,500(**) ,006 29
bakterieller Befall	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	,905(**) ,000 57	,833(**) ,000 57	1,000 ,012 57	-,330(*) ,012 57	-,330(*) ,012 57	-,471(**) ,000 57
Einschlüsse in den Haverschen Kanälen	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	-,437(**) ,001 57	-,473(**) ,000 57	-,330(*) ,012 57	1,000 ,007 57	1,000 ,007 57	,283(*) ,033 57
Diffuses exogenes Material	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	,877(**) ,000 57	,775(**) ,000 57	-,170 ,377 29	-,355(**) ,007 57	-,355(**) ,007 57	-,497(**) ,000 57
braune Verfärbung unter Strukturhalt	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig) n	-,514(**) ,000 57	-,392(**) ,003 57	,500(**) ,006 29	-,471(**) ,000 57	-,497(**) ,000 57	1,000 ,000 57

IV Ergebnisse

Auffallend ist der Zusammenhang zwischen bakteriellem Befall und brauner Verfärbung unter Strukturergalt. Bei Betrachtung der beiden Merkmale in einer Kreuztabelle (Tab. IV.2) wird klar, dass bestimmte Kombinationen sich ausschließen: Starker bakterieller Befall kommt nie in Kombination mit brauner Verfärbung unter Strukturergalt vor.

Tab. IV.2: Kreuztabelle der Merkmale bakterieller Befall und brauner Verfärbung unter Strukturergalt

		braune Verfärbung unter Strukturergalt				Gesamt
		0	1	2	3	
bakterieller Befall	0	0	0	5	20	25
	1	0	0	2	3	5
	2	0	2	3	3	8
	3	2	2	9	6	19
Gesamt		2	4	19	32	57

Die geschätzte Anzahl der Mikrofissuren zeigt nur mit dem Merkmal brauner Verfärbung unter Strukturergalt eine Korrelation (Tab. V.1). Allerdings ist zu bedenken, dass dieses Merkmal nur bei Proben mit guter Erhaltung festgestellt werden konnte, so dass eine gesamte Beurteilung der Stichprobe nicht gegeben ist.

Etwa 17% der Proben lassen sich nicht einem der beiden postulierten Merkmalstypen zuordnen. Dazu gehören vier Proben des Fundkomplexes Nevalı Çori (NC14, NC15, NC19, NC20) und drei Proben des Fundorte Panker (P2, P3, P4) sowie ein des Fundkomplexes Kehlheim (Kh1). Ihnen allen ist gemein, dass sie in allen Merkmalen dem histologischen Merkmalstyp A entsprechen, mit dem Unterschied, dass sie reduzierte bis fehlende Doppelbrechungsreaktionen bei Betrachtung unter polarisiertem Licht zeigen. Weiterhin fällt auf, dass sie mit Ausnahme von Kh1 alle braune Verfärbungen unter Strukturergalt zeigen (Indexwerte von 0 bis 2) und in einem mehr oder weniger starkem Ausmaß Mikrofissuren aufweisen (Indexwerte 0 bis 2). Im Unterschied zu anderen Proben mit brauner Verfärbung unter Strukturergalt ist hier die Verfärbung nicht auf einzelne Bereiche des Querschnittes beschränkt, sondern findet sich über dem gesamten Querschnitt mit einzelnen in Ausnahmefällen vorkommenden Rändern fehlender Verfärbung.

Diese Gruppe von Proben wird als Merkmalstyp C bezeichnet, sie macht ca. 14% der Proben der Gesamtstichprobe aus.

Die zwei verbleibenden Proben (T5, E7) entsprechen eher dem Merkmalstyp B, allerdings zeigen sie nur wenig bakteriellen Befall. Im Folgenden werden sie als Merkmalstyp D bezeichnet bzw. von der Betrachtung ausgenommen.

Da die den histologischen Merkmalstyp bildenden Merkmale mit der Liegezeit assoziiert sind, (s. o.) ist davon auszugehen, dass der histologische Merkmalstyp ebenfalls einen Zusammenhang mit den Fundplätzen aufweist. Dieser ist in Abb. IV.14 dargestellt.

Man erkennt, dass die Fundplätze Flensburg, Ettingen und Trier sowohl den Merkmalstyp A als auch B aufweisen. Die Fundplätze mit der längsten Liegezeit wie Nevalı Çori und Panker, aber auch der mittelalterliche Fundkomplex Kehlheim zeigen nur die Merkmalsausprägungen A und C. Die schwach besetzten Fundplätze Hemmingstedt und Eiderschädel sind die einzigen, die nur einen Merkmalstyp zeigen (A).

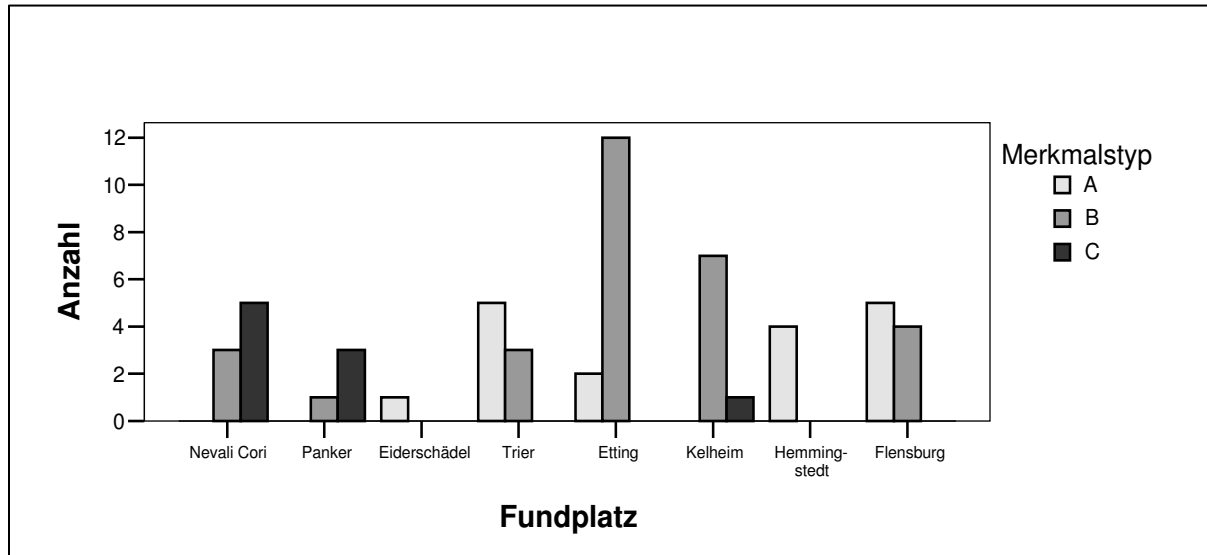


Abb. IV.14: Verteilung des histologischen Merkmalstypen auf die einzelnen Fundplätze

Hinsichtlich der Proben des Temperaturexperimentes II fällt auf, dass es keine stetige Veränderung der Proben mit zunehmender Dauer des Experimentes gibt. Ab dem 23sten Inkubationstag tritt eine plötzliche Veränderung ein, die sich in brauner Farbgebung und reduzierter Doppelbrechung äußert. Die Proben bis zum 23sten Inkubationstag entsprechen so dem für das archäologische Knochenmaterial postulierten Typ A, während TE II 23 und TE II 25 dem Typ C ähneln

1.2 Fluoreszenz

Von dem archäologischen Material konnten 57 (entsprechend der Proben, die histologisch untersucht wurden) und von dem experimentell degradiertem Material alle Proben der Temperaturexperimente I (n=17) und II (n=10) hinsichtlich der Fluoreszenzeigenschaft ihres Knochenquerschnitts beurteilt werden. Bei den Proben des Temperaturexperiments II war es möglich, die Fluoreszenz vor und nach der Inkubierung zu testen. Von den zehn Proben aus rezenten Leichenverbrennungen konnten sechs (K 91, K92, K93, K97, K98, K100) auf ihre Fluoreszenz hin untersucht werden, bei den restlichen vier Proben ließ dies der Fragmentierungsgrad nicht zu.

1.2.1 Blauindex

Für den Gesamtquerschnitt ergibt sich hinsichtlich der hellblauen Fluoreszenz (Gesamt-Blauindex) die in Abb. IV.15 dargestellte Häufigkeitsverteilung der Indexwerte mit einem Median von 1.

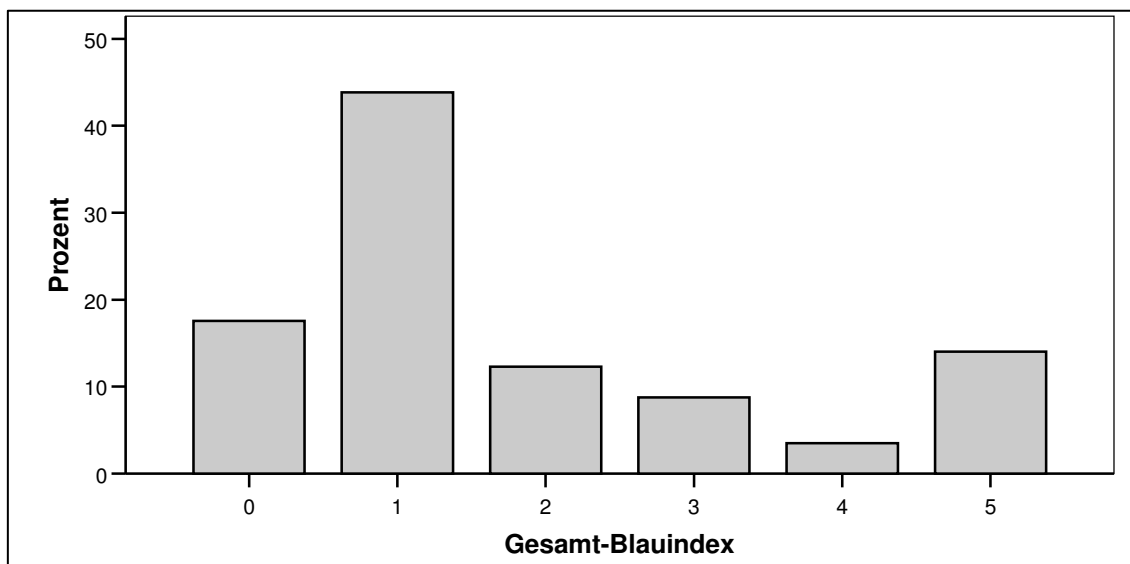


Abb. IV.15: Häufigkeitsverteilung des Gesamt-Blauindex, ein Indexwert von 5 bedeutet, dass über 95% der Gesamtfläche eine hellblaue Fluoreszenz aufweist, ein Indexwert von 0 zeigt gänzlich fehlende hellblaue Fluoreszenz

Der Großteil des archäologischen Materials (61,4%) weist entweder keine hellblaue Fluoreszenz (Indexwert 0: 10 Proben) auf oder diese ist nur auf weniger als 15% der Fläche (Indexwert 1: 25 Proben) zu sehen. Bei acht der archäologischen Knochen ist bei über 95% der Knochenfläche die für rezente Knochen typische Fluoreszenz ausgeprägt (Indexwert 5). Mittlere Indexwerte (2 – 4) sind hingegen kaum vergeben worden (Indexwert 2: 7 Proben, Indexwert 3: 5 Proben, Indexwert 4: 2 Proben). Diese Häufigkeitsverteilung weicht nach Chi-Quadrat-Test hochsignifikant von einer zufälligen Verteilung ab.

In der Ausprägung der hellblauen Fluoreszenz weichen die periostalen, mittleren und endostalen Anteile der Proben signifikant voneinander ab (Test mittels des Friedmann-Test für k verbundene Stichproben, $p=0,000$), wobei der mittlere Anteil durchschnittlich mehr Fluoreszenzanteile aufweist.

Die Verteilung des Gesamt-Blauindex ist fundplatzspezifisch (bei Betrachtung des Index als ordinale Variable und Anwendung des Haldane Dawson-Test, $p=0,0000$).

Die älteren Fundplätze (Nevalı Çori, Panker, Eiderschädel) zeigen nur wenig Anteile hellblauer Fluoreszenzen, sie weisen ausschließlich Gesamtblauindexwerte von 0 oder 1 auf.

Bei allen Proben des Fundkomplexes Trier konnte hellblaue Fluoreszenz beobachtet werden, bei einer auffällig hohen Anzahl an Proben (4 von 10 Proben) zeigt sich eine stark ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz. Im Fundkomplex Ettingen finden sich Proben mit allen Ausprägungsformen hellblauer Fluoreszenz, wobei Proben mit ausgedehnten Teilen andersfarbiger Fluoreszenz überwiegen (Indexwerte 1 und 2). Die Proben des Fundkomplexes Kehlheim weisen durchgehend nur noch kleine Flächen blauer Fluoreszenz auf (Indexwert 1), während sich in den Fundplätzen Hemmingstedt und Flensburg unterschiedliche Schattierungen zeigen.

Mittels der Rangkorrelation von Spearman kann kein Zusammenhang zwischen Liegezeit und Gesamt-Blauindex nachgewiesen werden.

Für die Verteilung der hellblauen Fluoreszenz über den Knochenquerschnitt (geteilt in periostalen, endostalen und mittleren Anteil) sind theoretische Verteilungsmuster aufgestellt worden (siehe III: 3.2). Die Abbildung IV.16 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Muster innerhalb des archäologischen Materials, der Modalwert ist 1. Proben mit gänzlich fehlender hellblauer Fluoreszenz (Gesamt-Blauindex 0) wurden nicht in die untersuchte Stichprobe mit einbezogen.

Die meisten der untersuchten Proben (82%) zeigen eine gleichmäßige Verteilung der Fluoreszenzanteile über den gesamten Knochenquerschnitt (22 Proben) oder weisen im mittleren Bereich die meiste hellblaue Fluoreszenz auf (15 Proben). Weniger häufig (4 Proben) zeigt sich das Verteilungsmuster 7, bei dem der endostale und der mittlere Bereich des Knochens die meisten Anteile an hellblauer Fluoreszenz zeigen, während der periostale abgereichert ist.

Seltener ist es, dass nur der periostale (Verteilungsmuster 5: 2 Proben) oder der periostale und der mittlere Bereich (Verteilungsmuster 6: 2 Proben) die höheren Anteile an hellblauer Fluoreszenz besitzen als die anderen.

Zwei der sieben möglichen theoretischen Verteilungsmuster treten in dem untersuchten Material nicht auf:

- Bei keiner Probe weisen gleichzeitig der periostale und der endostale Bereich des Knochenquerschnittes mehr Anteile blauer Fluoreszenz auf als der mittlere Teil (Verteilungsmuster 3).
- Der endostale Bereich hat bei keiner Probe mehr Anteile an blauer Fluoreszenz als der mittlere und der periostale Anteil (Verteilungsmuster 4)

Diese Häufigkeitsverteilung weicht hochsignifikant von einer zufälligen Verteilung ab (Chi-Quadrat-Test, $p=0,000$).

IV Ergebnisse

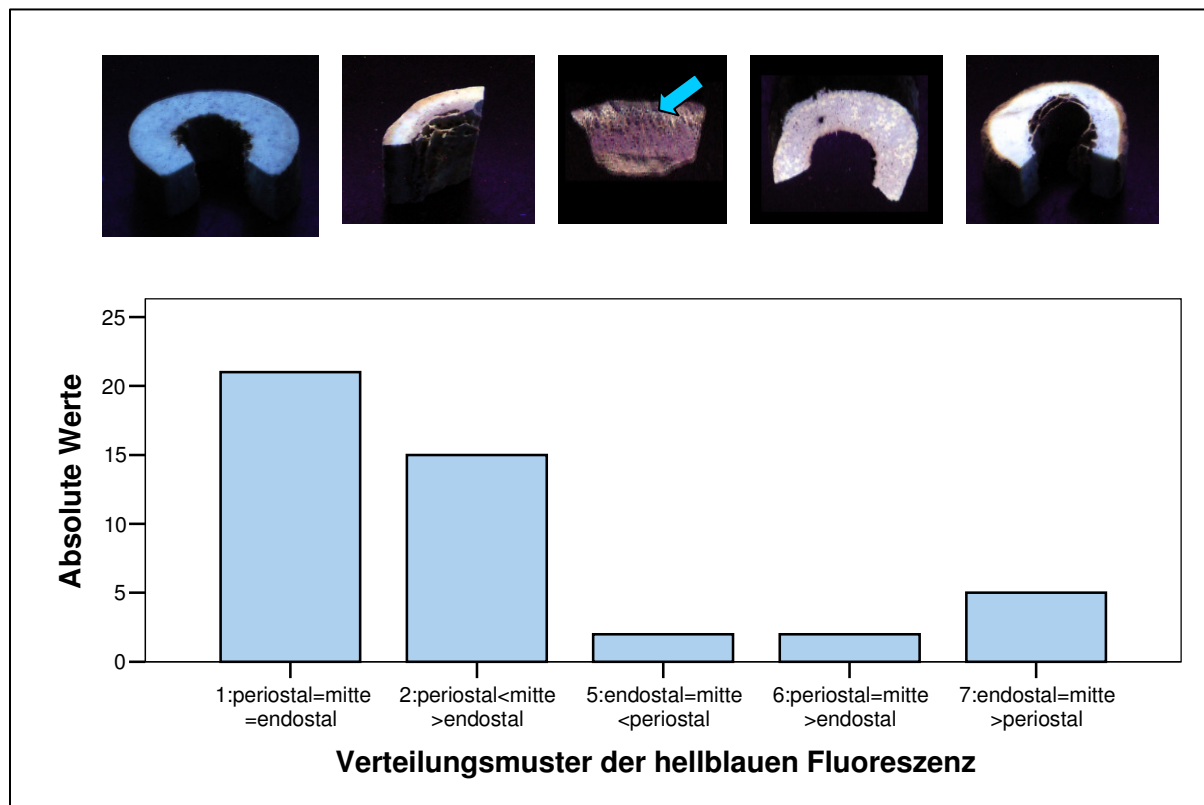


Abb. IV.16: Häufigkeiten der Proben je vorkommendes Verteilungsmuster (1-7) der hellblauen Fluoreszenz. Jedem Balken ist ein beispielhaftes Bild für das dargestellte Verteilungsmuster aus dem untersuchten Material übergeordnet (von links nach rechts: Muster 1-Probe F4, Muster 2-Probe T5, Muster 5-Probe NC19; der Pfeil deutet auf die Anteile hellblauer Fluoreszenz im periostalen Bereich, Muster 6-Probe E 22; Muster 7-Probe T4)

Betrachtet man die Fundkomplexe als ordinale Variablen, also ohne Wertung ihrer Zeitstellung zeigt sich mit dem Haldane-Dawson-Test eine hochsignifikante Abweichung ($p=0,0000061$) der Nullhypothese. Das Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz ist also ebenso wie die Ausprägung des Gesamtblauindex fundkomplexspezifisch und weist ebenso keinen Zusammenhang mit Liegezeit auf.

Im Temperaturexperiment I sinkt der Anteil hellblauer Fluoreszenz der Proben mit zunehmender Inkubationszeit (Abb. IV.17). Ein Zusammenhang zwischen der Inkubationszeit und dem Anteil hellblauer Fluoreszenz einer Probe wird durch den hochsignifikanten Korrelationskoeffizienten nach Spearman (-0,918) bestätigt.

Am Anfang des Experimentes findet man Proben mit einer gleichmäßigen Verteilung der Fluoreszenz über die gesamte Fläche (Proben TE I 0,5; TE I 2), gefolgt von Proben, bei welchen der periostale Bereich weniger hellblaue Fluoreszenz aufweist als die anderen Abschnitte (TE I 1; TE I 2,5; TE I 3; TE I 5). Die Proben, die nach 3, 5, 6, 7 und 8 Tagen Inkubationszeit entnommen wurden, weisen ebenfalls im periostalen Bereich die wenigsten Anteile auf. Im Unterschied zu den vorhergegangenen Proben besitzt bei diesen Proben der endostale Anteil die höchsten Anteile blauer Fluoreszenz. Eine Ausnahme bildet die Probe TE I 4, in der im mittleren Bereich die Anteile an hellblauer Fluoreszenz am größten sind. Dieses Muster zeigen auch die späteren Proben TE I 12 und TE I 16, während TE 20 auf allen Bereichen gleichmäßig viele Abschnitte hellblauer Fluoreszenz und TE I 32 im mittleren Bereich Reste ebendieser zeigt.

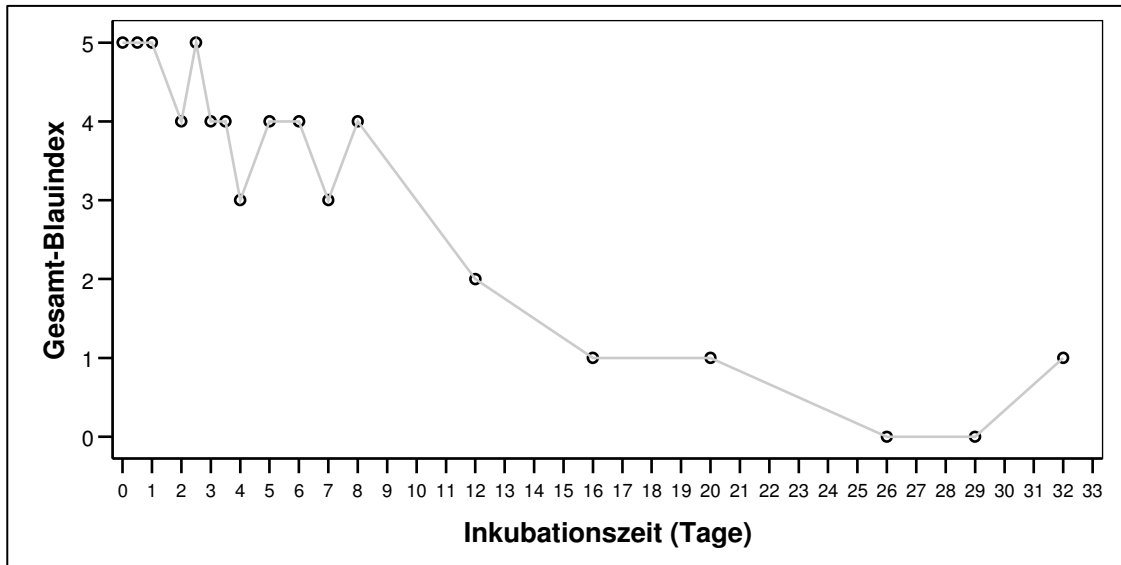


Abb. IV.17: Die Werte des Gesamtblauindex sind den jeweiligen Inkubationszeiten der Probe des Temperaturexperimentes I zugeordnet und durch Interpolationslinien zu einer besseren Verdeutlichung des Trends verbunden

Die Anteile an hellblauer Fluoreszenz werden bei den Proben des Temperaturexperimentes II, die bis zu 18 Tage inkubiert wurden, ebenfalls mit zunehmender Inkubationszeit niedriger (Abb. IV.18). Bei den Proben, die 21, 23 und 25 Tagen experimentell degradiert wurden, ist dies hingegen nicht der Fall.

Mittels Korrelationsanalyse nach Spearman kann keine signifikante Beziehung zwischen Inkubationszeit und Gesamt-Blauindex festgestellt werden.

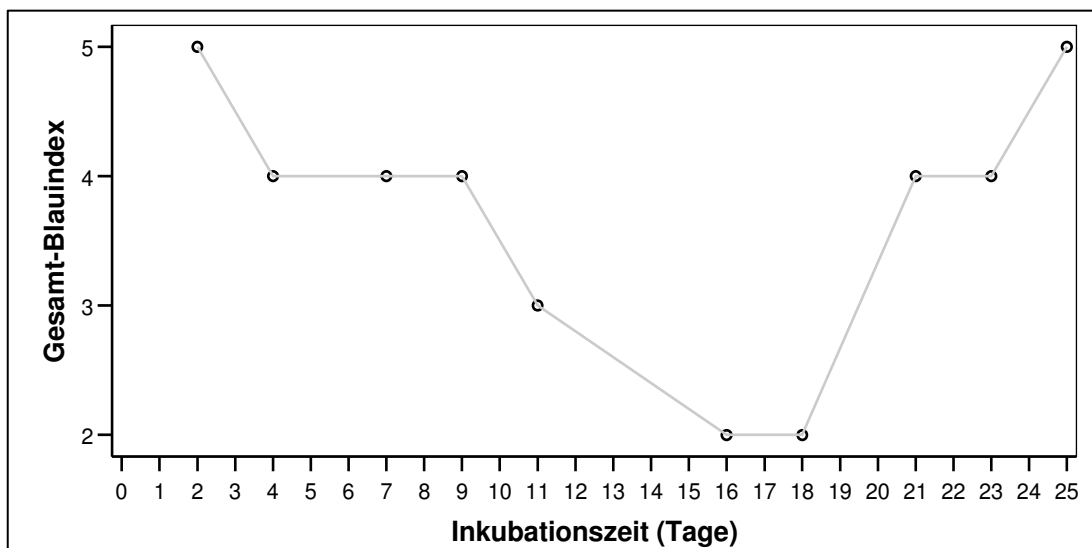


Abb. IV.18: Die Werte des Gesamtblauindex sind den jeweiligen Inkubationszeiten der Probe des Temperaturexperimentes II zugeordnet und durch Interpolationslinien zu einer besseren Verdeutlichung des Verlaufs verbunden

IV Ergebnisse

Die am längsten inkubierte Probe TE II 25 zeigt eine unveränderte Ausprägung der hellblauen Fluoreszenz, wie man durch den direkten Vergleich der Aufnahmen vor und nach dem Experiment feststellen kann (Abb. IV.19).



Abb. IV.19: Probe TE II 25 vor (oben) und nach (unten) der *in vitro* Degradation

Die Verteilung der hellblauen Fluoreszenz über den Knochenquerschnitt ist bei Proben des Temperaturexperimentes II mit vielen Anteilen hellblauer Fluoreszenz überwiegend gleichmäßig (Muster 1). Zwei Proben mit einem Gesamtblauindex von 4 zeigen periostal geringere Anteile hellblauer Fluoreszenz, während drei Proben das Farbmuster 5 erkennen lassen, in dem der periostale Bereich die höchsten Anteile hellblauer Fluoreszenz zeigt.

Bei keiner Probe des kremierten Materials lässt sich hellblaue Fluoreszenz beobachten.

1.2.2 Zusätzliche Farbgebungen

Zusätzlich zu der für rezente Knochen typischen hellblauen Fluoreszenz werden andere Farbgebungen des fluoreszierenden Knochens beobachtet. Braun/gelbe Fluoreszenz kam ebenso wie eine lila Farbausprägung bei ca. 50% der Proben vor. Dunkelblaue Fluoreszenz konnte bei 17% der Proben beobachtet werden, während ca. 6% der Proben außer der hellblauen Fluoreszenz keine weiteren Farben zeigen. Der Modalwert der Häufigkeitsverteilung ist „lila“.

Die verschiedenen Farben können zusammen auf einem Knochenquerschnitt auftreten.

Die Abb. IV.20 zeigt die Häufigkeitsverteilung der in der Stichprobe vorkommenden Farbmuster und jeweils ein Beispiel für die Farbkombination. Diese Häufigkeitsverteilung weicht hochsignifikant von der theoretisch erwarteten ab (Chi-Quadrat-Test, $p=0,002$) Der Modalwert der Verteilung ist 1. Es fällt auf, dass einige theoretisch erwartete Farbmuster (siehe III: 3.2) nicht auftreten: Die dunkelblaue Fluoreszenz tritt nur zusammen mit brauner Farbe auf, nie zusammen mit einer lila Farbgebung, so werden die Kombinationen D+L und D+B+L nicht realisiert. Am häufigsten finden sich Proben, die zusätzlich zu hellblauer Fluoreszenz eine lila Farbgebung

zeigen (n=15) und Proben, die zusätzlich lila und braune Farbanteile haben (n=16). Die dunkelblaue Fluoreszenz ist alleine bei 7 Proben und zusammen mit Braun bei 3 Proben zu finden. Keine zusätzliche Farbausprägung zeigen weitere 3 Proben.

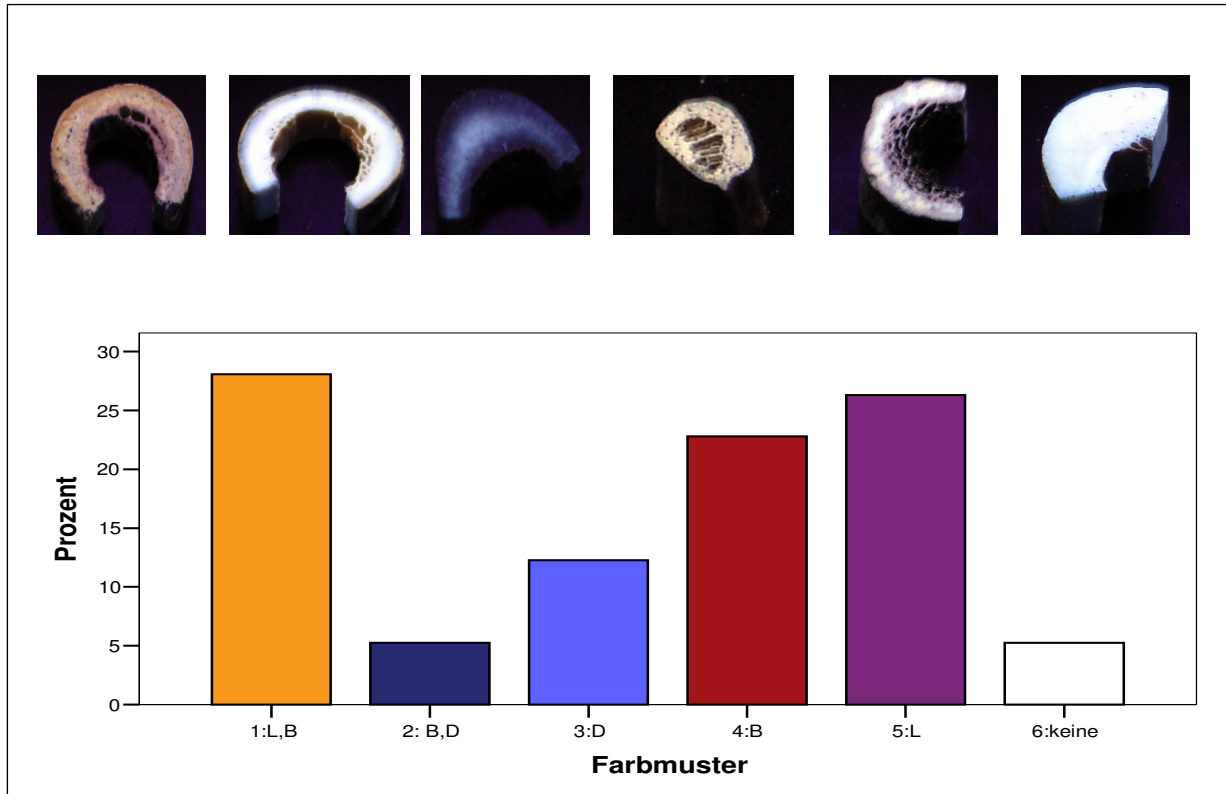


Abb. IV.20: Häufigkeitsverteilung der in der Stichprobe vorkommenden Farbmuster und jeweils ein Probenbeispiel für die Farbkombination (von rechts nach links: Farbmuster 1: Probe F3; Farbmuster 2: T7; Farbmuster 3: H4; Farbmuster 4: Kh10; Farbmuster 5: E7; Farbmuster 6: T9)

Die Verteilung der Farbmuster in den einzelnen Fundplätzen ist in Abb. IV.21 dargestellt. Es fällt die große Anzahl von Proben mit lila Farbgebung im Ettinger Fundkomplex auf, sowie die ausschließlich dunkelblaue Farbgebung im Hemmingstedter Fundkomplex.

Mittels des Haldane-Dawson-Tests lässt sich ein hochsignifikanter Zusammenhang ($p=0,00000$) zwischen Fundkomplex und Farbmuster nachweisen. Ob diese Assoziation durch die Liegezeit bedingt ist, lässt sich aufgrund der ordinalen Daten der Farbmuster, die keine Rangreihe zulassen, nicht näher beurteilen.

IV Ergebnisse

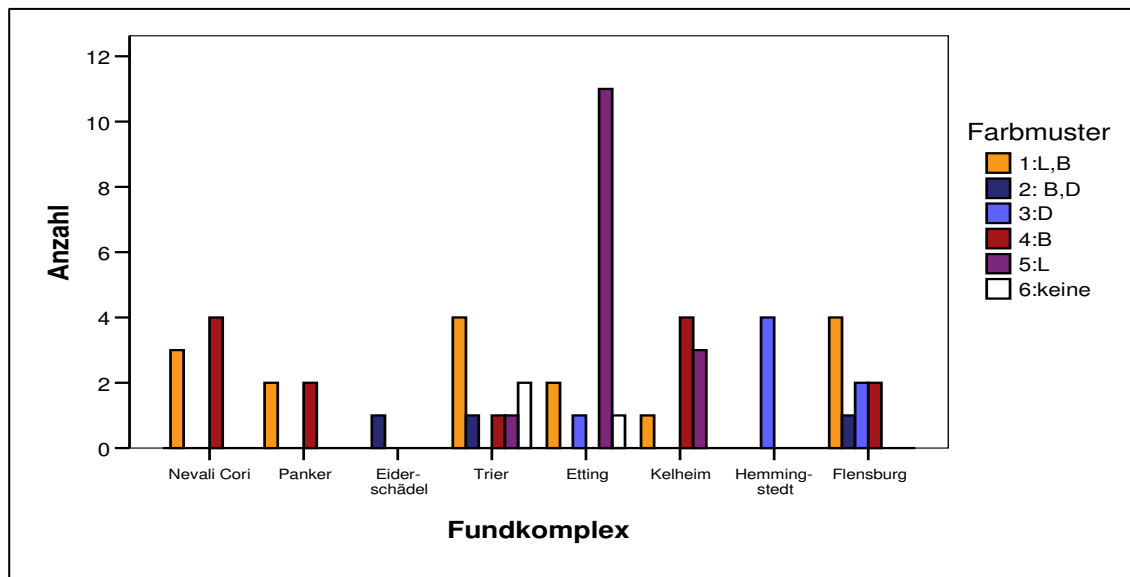


Abb. IV.21: Verteilung der Farbmuster auf die untersuchten Fundkomplexe

Die hellblauen Fluoreszenzanteile des Temperaturexperimentes werden mit zunehmender Inkubationszeit durch lila fluoreszierende Felder ersetzt (siehe Probe TE I 16, Abb. IV.23). Nur bei der Probe, die 32 Tage inkubiert (TE I 32) wurde, erkennt man neben hellblauer Fluoreszenz zusätzlich periostal braun/gelbe Fluoreszenzanteil (Abb. IV.22).

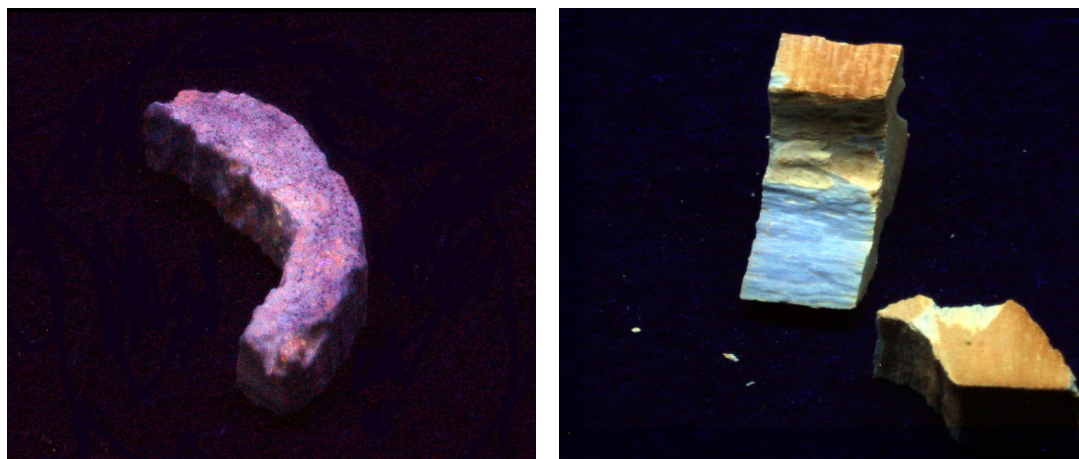


Abb. IV.22: Probe TE I 16 (links) mit durchgehend lila Farbung, Probe TE I 32 mit braun/gelben Fluoreszenzanteilen (rechts)

Die Proben des Temperaturexperimentes II weichen stark von der auf der Grundlage des archäologischen Materials entwickelten Farbtabelle ab. Dies macht das Beurteilen der Proben anhand der entwickelten Indices schwierig. So werden die Farben nur deskriptiv dargestellt, und die Fluoreszenzausprägung vor und nach der *in vitro* Degradation verglichen.

Bei den Proben TE II 7, TE II 9, TE II 11, TE II 16 und TE II 21 ist eine Aufhellung in die gelbliche Richtung zu erkennen, die nicht mit der braun/gelben Farbe des archäologischen Materials vergleichbar ist (Abb. IV.23).



Abb. IV.23: Probe TE II 19, vor (oben) und nach der *in vitro* Degradation (unten)

Vier Proben des Temperaturexperimentes II (TE II 4, TE II 11, TE II 16, TE II 18) zeigen eine mit den bei archäologischen Proben vergleichbare lila Farbgebung. Allerdings liegen diese nicht flächig, sondern punktiert vor. Ein Vergleich der Fluoreszenz dieser Proben vor und nach dem Experiment zeigt, dass diese lila Farbanteile in Bereichen vorkommen, die schon im ursprünglichen Knochen auffällig punktuell dunkelblau fluoresziert haben (siehe Abb. IV.24). Ebenso sind sowohl vor als auch nach der *in vitro* Degradation braune, nicht fluoreszierende Areale zu sehen.

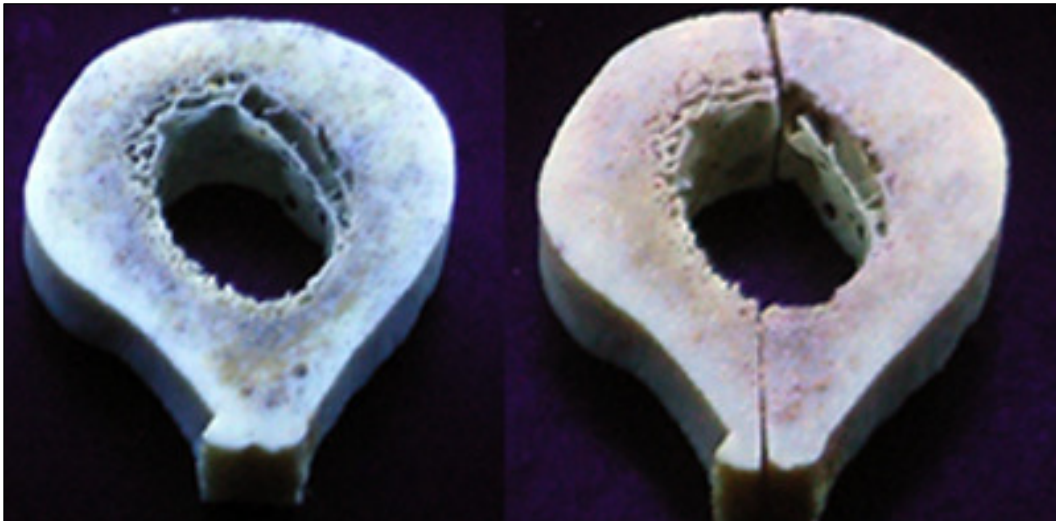


Abb. IV.24: Probe TE II 4 vor (rechts) und nach (links) nach der *in vitro* Degradation

Das kremierte Material zeigt durchgehend eine violette Fluoreszenz (Abb. IV.25), die bei allen untersuchten Proben gleich intensiv ausgebildet ist. Diese violette Farbgebung konnte nur bei kremiertem Material beobachtet werden.



Abb. IV.25: von rechts nach links: Negativkontrolle mit braun/gelber Fluoreszenz, K91: kremierter Knochen mit violetter Fluoreszenz, Positivkontrolle mit Ausprägung der für rezente Knochen typischen hellblauen Fluoreszenz

1.2.3 Zusammenhänge innerhalb der Fluoreszenzeigenschaften

Ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen dem Gesamtblauindex und dem Farbmuster des archäologischen Materials kann mittels des Haldane-Dawson-Tests nachgewiesen werden ($p=0,00000$). Über die Art des Zusammenhanges gibt Abb. IV.26 Aufschluss, für eine übersichtlichere Gestaltung wurde der vereinfachte Gesamt-Blauindex gewählt.

Eine lila Fluoreszenz ist nur bei einer mittleren bzw. geringen Ausprägung der hellblauen Fluoreszenz zu beobachten. Dies gilt analog für die Kombination von Lila und Braun.

Rein braune und dunkelblaue Fluoreszenz tritt in allen Kategorien des Gesamt-Blauindex auf. Keine zusätzliche Farbe ist nur bei einer hellblauen Fluoreszenz von über 95% Flächenanteil möglich.

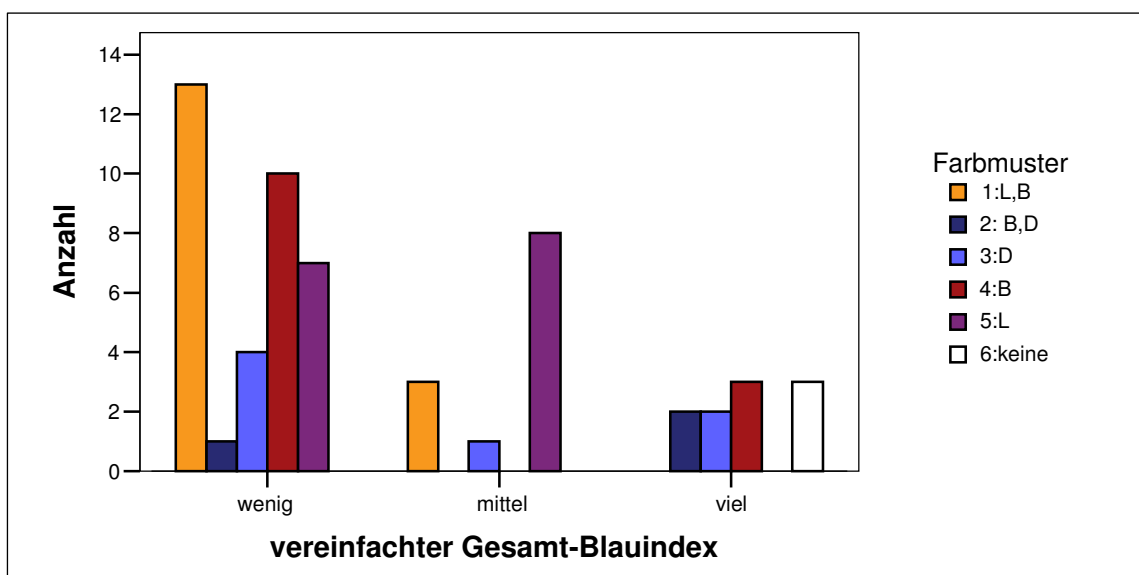


Abb. IV.26: Verteilung der Farbmuster auf die vereinfachten Gesamt-Blauindices

Bezieht man in die Betrachtung der internen Zusammenhänge der Fluoreszenzeigenschaften der archäologischen Knochen das Merkmal Verteilungsmuster hinzu, ergibt sich die in Tabelle IV.3

auf der folgenden Seite dargestellte, nach dem vereinfachten Gesamtblauindex geschichtete Kreuztabelle.

Folgende Aspekte fallen auf:

- Wenn Braunverfärbungen in einer Probe mit über 85% hellblauer Fluoreszenz auftauchen (vereinfachter Blaugesamindex: viel), weist der periostale Bereich immer am wenigsten dieser Fluoreszenz, d.h. die meisten Braunanteile auf. Tatsächlich stellt man bei Sichtung der Proben fest dass, wenn eine Braunverfärbung bei ansonsten größtenteils hellblau fluoreszierender Probe vorhanden ist, diese immer als periostaler Rand ausgeprägt ist. Gleiches gilt für das Farbmuster braun und dunkelblau.
- Bei Vorhandensein von nur brauner Verfärbung bei Proben mit wenigen hellblauen Fluoreszenzanteilen ist diese immer gleichmäßig über den gesamten Querschnitt verteilt.
- Für die dunkelblaue Fluoreszenz fällt auf, dass sie immer mit dem Verteilungsmuster 2 zusammenfällt (die hellblaue Fluoreszenz ist in der Mitte am stärksten ausgeprägt), mit Ausnahme einer Probe, die kaum noch hellblaue Fluoreszenz aufweist, welche dann gleichmäßig über den Querschnitt verteilt ist.
- Die lila Fluoreszenz taucht nie bei Proben mit starkem Anteil hellblauer Fluoreszenz auf; bei Proben mit mittleren Anteilen hellblauer Fluoreszenz sind alle vorkommenden Verteilungsmuster realisiert, wenn nur eine lila Farbausprägung vorhanden ist. Kommen nur wenige blau fluoreszierende Anteile vor, so ist diese meist über den gesamten Querschnitt verteilt, seltener mittig stärker bei ansonsten vorhandener lila Fluoreszenz.

Bei dem *in vitro* degradiertem Material kann ein signifikanter Zusammenhang zwischen Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz und vereinfachtem Gesamt-Blauindex mittels des Craddock-Flood-Tests nicht bestätigt werden ($p=0,0876$)

Eine weitere statistische Prüfung der Zusammenhänge macht aufgrund des relativ geringen Probenumfangs keinen Sinn. Gleiches gilt für das kremierte Material.

Tab. IV.3: Kreuztabelle der Variablen vereinfachter Gesamt-Blauindex (Schichtvariable), Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz und Farbmuster des archäologischen Materials; Zellen, in denen beobachtete und erwartete Häufigkeiten mit einer Differenz von größer als zwei voneinander abweichen, sind grau hinterlegt

vereinfachter Gesamt- Blauindex	Farbmuster	Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz							Gesamt
		1:periostal=mitte =endostal	2:periostal<mitte> endostal	5:endostal=mitte< periostal	6:periostal=mitte> endostal	7:endostal=mitte> periostal			
wenig	1:L,B	Anzahl	4	1					8
		Erwartete Anzahl	5,2	2,4	,3				8,0
	3:D	Anzahl	1	2	0				3
		Erwartete Anzahl	2,0	,9	,1				3,0
	4:B	Anzahl	5	0	0				5
		Erwartete Anzahl	3,3	1,5	,2				5,0
	5:L	Anzahl	6	1	0				7
		Erwartete Anzahl	4,6	2,1	,3				7,0
	Gesamt	Anzahl	15	7	1				23
		Erwartete Anzahl	15,0	7,0	1,0				23,0
mittel	1:L,B	Anzahl	1	2	0				3
		Erwartete Anzahl	,8	1,5	,3				3,0
	3:D	Anzahl	0	1	0				1
		Erwartete Anzahl	,3	,5	,1				1,0
	5:L	Anzahl	2	3	1				8
		Erwartete Anzahl	2,0	4,0	,7				8,0
	Gesamt	Anzahl	3	6	1				12
		Erwartete Anzahl	3,0	6,0	1,0				12,0
viel	2:B,D	Anzahl	0	0			2		2
		Erwartete Anzahl	,6	,4			1,0		2,0
	3:D	Anzahl	0	2			0		2
		Erwartete Anzahl	,6	,4			1,0		2,0
	4:B	Anzahl	0	0			3		3
		Erwartete Anzahl	,9	,6			1,5		3,0
	6:keine	Anzahl	3	0			0		3
		Erwartete Anzahl	,9	,6			1,5		3,0
	Gesamt	Anzahl	3	2			5		10
		Erwartete Anzahl	3,0	2,0			5,0		10,0

1.3 Kollagen

Kollagen konnte von 122 archäologischen Knochenproben (tierisch: n=55 und menschlich: n=67) sowie von 14 Proben des TE I und 8 Proben des TE II gewonnen werden. Die statistischen Analysen beziehen sich auf das humane Material.

Aus dem kremierten Knochenmaterial kann weder mittels Gelatine- noch mittels Säureextraktion Kollagen gewonnen werden. Dementsprechend ist keine Erhebung von Merkmalen in diesem Bereich möglich.

1.3.1 Prozentualer Anteil des Kollagens in Gew%

Der Anteil an organischer Substanz bei den Knochenproben wird näherungsweise anhand des prozentualen Gewichtsanteils des extrahierten Kollagens bestimmt. Zur Extraktion des Kollagens werden bei ausgewählten Proben zwei unterschiedliche Methoden eingesetzt, deren Ergebnisse hier vergleichend dargestellt werden.

Die Kennwerte des gesamten archäologischen Materials (Tier- und Menschenknochen) zeigt Tabelle IV.4. Der prozentuale Kollagengehalt nach Gelatineextraktion weist den geringeren Mittelwert mit der kleineren Standardabweichung auf, während der Kollagengehalt nach Säureextraktion etwa dreimal so hoch ist.

Tab. IV.4: Kennwerte der Verteilung des Kollagengehaltes der Proben nach Gelatineextraktion (in Gew%) und Säureextraktion (in Gew%).

	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (Gew%)	122	0	18,5	2,14	3,27
Kollagengehalt nach Säureextraktion (Gew%)	120	0,03	24,24	6,85	6,58

Die Darstellung des Minimum, Maximum und der Mittelwerte der einzelnen Fundplätze in Abbildung IV.27 zeigt, dass die den für rezente Knochen angegebenen Wert von ca. 21% zumeist unterschritten werden. Eine Ausnahme macht der Fundplatz Hemmingstedt, der im Vergleich mit den anderen Fundkomplexen hohe Kollagenanteile aufweist.

Betrachtet man die Fundplätze als unterschiedliche Stichproben, kann der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt werden; mit ihm lässt sich feststellen, dass die unterschiedlichen Fundplätze nicht aus einer Grundgesamtheit stammen und sich in der Tendenz hochsignifikant unterscheiden ($p < 0,001$).

IV Ergebnisse

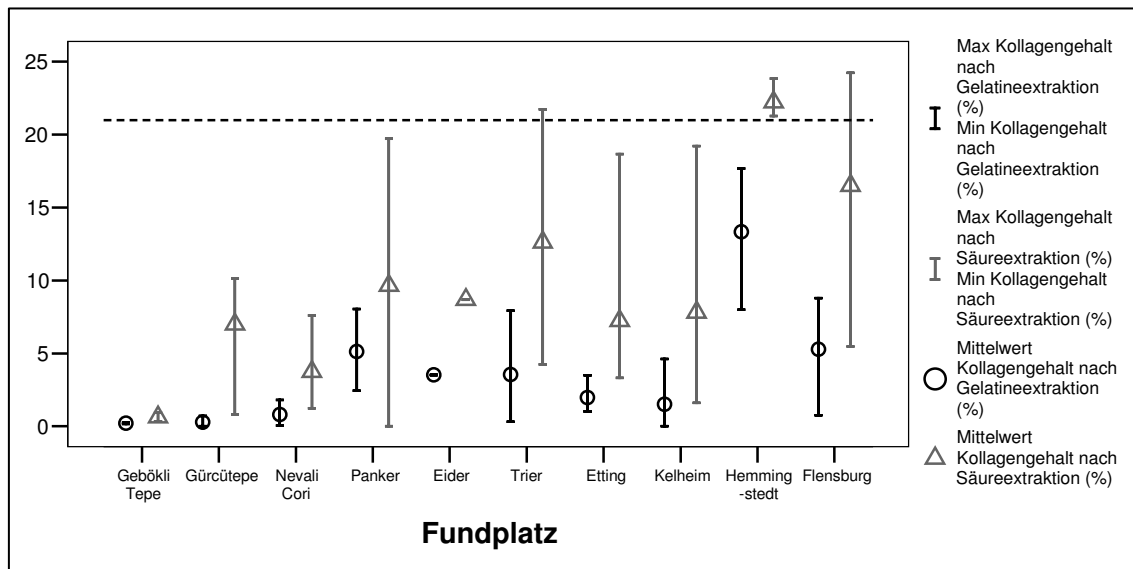


Abb.IV.27: Mittelwert, maximaler und minimaler Kollagengehalt nach Säureextraktion in Gew%. Die Linie zeigt den für rezente Knochen geltenden Wert an

Es können hochsignifikante Korrelationen zwischen der Liegezeit und Kollagengehalt nach Säureextraktion (Spearmanischer Korrelationskoeffizient: 0,659) bzw. nach Gelatineextraktion (Spearmanischer Korrelationskoeffizient: 0,447) gezeigt werden. Der positive Korrelationskoeffizient signalisiert, dass Proben älterer Fundplätze im Trend weniger Kollagen enthalten.

Eine hochsignifikante Korrelation kann ebenfalls zwischen dem prozentualen Kollagengehalt nach Säureextraktion und dem nach Gelatineextraktion nachgewiesen werden (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,685, $p=0,01$).

Zwischen dem Kollagengehalt nach Säureextraktion und nach Gelatineextraktion besteht eine Differenz. Die mittleren Werte dieser Differenz variieren je nach Fundplatz. Dieser Zusammenhang lässt sich durch eine schwache, aber hochsignifikante Korrelation zwischen der Differenz aus Kollagengehalt nach Säureextraktion – Kollagengehalt nach Gelatineextraktion und den Liegezeiten (durch Rangvergabe nach Liegezeit an die Fundplätze) bestätigen (Korrelationskoeffizient nach Spearman: 0,36). So ist diese Differenz im Fundkomplex Hemmingstedt am stärksten und im Fundkomplex Nevalı Çori kaum vorhanden.

Bei den Proben des Temperaturexperimentes I nimmt der prozentuale Kollagenanteil sowohl nach Säure- (maximaler Wert: 18,43% (TE I 0,5), minimaler Wert 0,16 (TE I 16)) als auch nach Gelatineextraktion (maximaler Wert: 12% (TE I 0,5), minimaler Wert: 0% (TE I 20, TE I 26, TE I 29)) mit zunehmender Inkubationszeit ab (Abb. IV.28). Der Mittelwert beträgt nach Gelatineextraktion 3,7Gew% (Standardabweichung 3,7) und nach Säureextraktion 8,4Gew% (Standardabweichung 6,8). Es ist gelungen, bei der Probe mit der längsten Inkubationszeit (TE I 32) eine geringe Menge an Protein mittels Säureextraktion zu extrahieren. Die Kollagengehalte nach Säureextraktion (Korrelationskoeffizient: -0,769) und Gelatineextraktion (Korrelationskoeffizient: -0,773) korrelieren beide mit der Inkubationszeit. Ebenso ist eine

Korrelation der Kollagengehalte nach Säureextraktion und Gelatineextraktion untereinander (Korrelationskoeffizient: 0,851) zu beobachten. Alle Korrelationskoeffizienten wurden nach Pearson bestimmt und sind hochsignifikant.

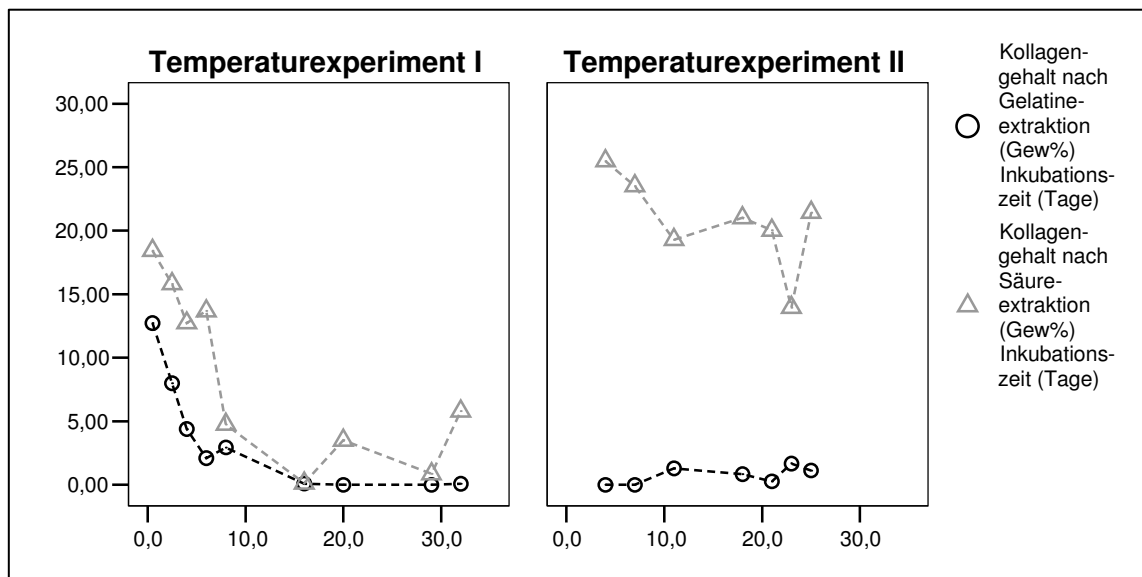


Abb. IV.28: Kollagengehalt in Gew% nach Gelatine- und Säureextraktion des in vitro-degradierten Probenmaterials. Die Interpolationslinien dienen dem besseren Verständnis des Trends

Der Kollagengehalt nach Säureextraktion der Proben des Temperaturexperimentes II zeigt einen maximalen Wert von 25,49Gew% (TE II 4) und einen minimalen Wert von 13,95Gew% (TE II 23), wobei die Probe mit der längsten Inkubationszeit (TE II 25) mit 21,43Gew% einen ähnlichen hohen Wert aufweist wie die Proben mit der niedrigsten Inkubationszeit (TE II 4).

Der Mittelwert des Kollagengehaltes beträgt nach Gelatineextraktion 0,6Gew% (Standardabweichung 0,63) und nach Säureextraktion 20,3Gew% (Standardabweichung 3,64).

Eine tendenzielle Abnahme ist bei dem Anteiligen Kollagengehalt nach Gelatineextraktion nicht zu verzeichnen (maximaler Wert: 1,67Gew% (TE II 23), minimaler Wert: 0Gew% (TE II 4)).

Der Kollagenanteil nach Gelatineextraktion korreliert positiv mit der Inkubationszeit (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,67, mit $p < 0,05$). Der Kollagenanteil nach Säureextraktion zeigt keinen Zusammenhang mit der Inkubationszeit. Weiterhin besteht zwischen den Kollagengehalten nach Säure- und Gelatineextraktion eine Korrelation, (Korrelationskoeffizient nach Pearson: -0,833, $p < 0,05$), die im Gegensatz zum Temperaturexperiment I negativ ist (siehe Abb. IV.28).

Die Proben des Temperaturexperiments II zeigen eine größere Differenz im Kollagengehalt der Proben nach Gelatine- und Säureextraktion als die Proben des Temperaturexperimentes I (Abb. IV.28). Während beim Temperaturexperiment I der Mittelwert dieser Differenz 5,4Gew% beträgt (Standardabweichung 3,8), ist dieser im Temperaturexperiment II 19,9Gew% (Standardabweichung 4,2).

IV Ergebnisse

1.3.2 C%, N% und C/N

Mit Ausnahme von zwei Proben (NC15, Kh19) liegen von allen humanen Knochenproben der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgewichtsanteil des Kollagens, wie auch der C/N-molar-Quotient (beides aus Gelatineextraktion ermittelt) vor (n=65). Bei den tierischen Proben fehlen diese Werte von 20 Knochenproben. Die Tabelle IV. 5 zeigt die Kennwerte der Verteilung der beiden Stichproben, es fällt vor allem die im Vergleich zum humanen Material etwa vier mal größere Variationsbreite des C/N-molar Wertes bei tierischen Proben auf. Weitere Einzelheiten zu den tierischen Werten sind dem Anhang zu entnehmen, die folgenden Darstellungen beziehen sich auf Ergebnisse des humanen Knochenmaterials

Eine signifikante Korrelation der Merkmale C%, N% und C/N ist nicht zu festzustellen.

Tab. IV.5: Kennwerte des humanen und des tierischen prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffverhältnisses, sowie des C/N-molar-Quotienten.

		N-Gehalt (%)	C-Gehalt (%)	C/N molar
Mensch	n	65	65	65
	Mittelwert	12,65	40,26	3,61
	Standardabweichung	3,54	10,66	,352
Tier	n	32	32	32
	Mittelwert	15,08	31,23	3,68
	Standardabweichung	9,63	13,6	1,41
Insgesamt	n	97	97	97
	Mittelwert	13,45	37,28	3,63
	Standardabweichung	6,3	12,4	,85

Der prozentuale Kohlenstoffgehalt (C%) der Kollagenextrakte aus den archäologischen Knochenproben variiert in allen Fundkomplexen stark (Abb. IV.29) und wesentlich stärker als der Stickstoffgehalt (N%). Nur die jüngeren Fundplätze besitzen im Mittel einen prozentualen Kohlenstoffgehalt, der dem rezenten Kollagen (42,7%) nahe kommt, während die Fundplätze Geböklı Tepe, Gürcütepe, Nevalı Çori und Panker niedrigere Mittelwerte aufweisen. Die Fundplätze Flensburg und Ettingen zeigen C-Gewichtsprozente, die über jene des rezenten Kollagens hinausgehen (z.B. F6: 72%, F10: 56%). Die Gewichtsprozente für den Stickstoff des rezenten Kollagens (15,54) werden ebenfalls von den jüngeren Fundplätzen erreicht. Keine der Proben hat Gewichtsprozente unter dem von Ambrose (1993) als untere Grenze postulierten Wert (3Gew% für C und 1Gew% für N)

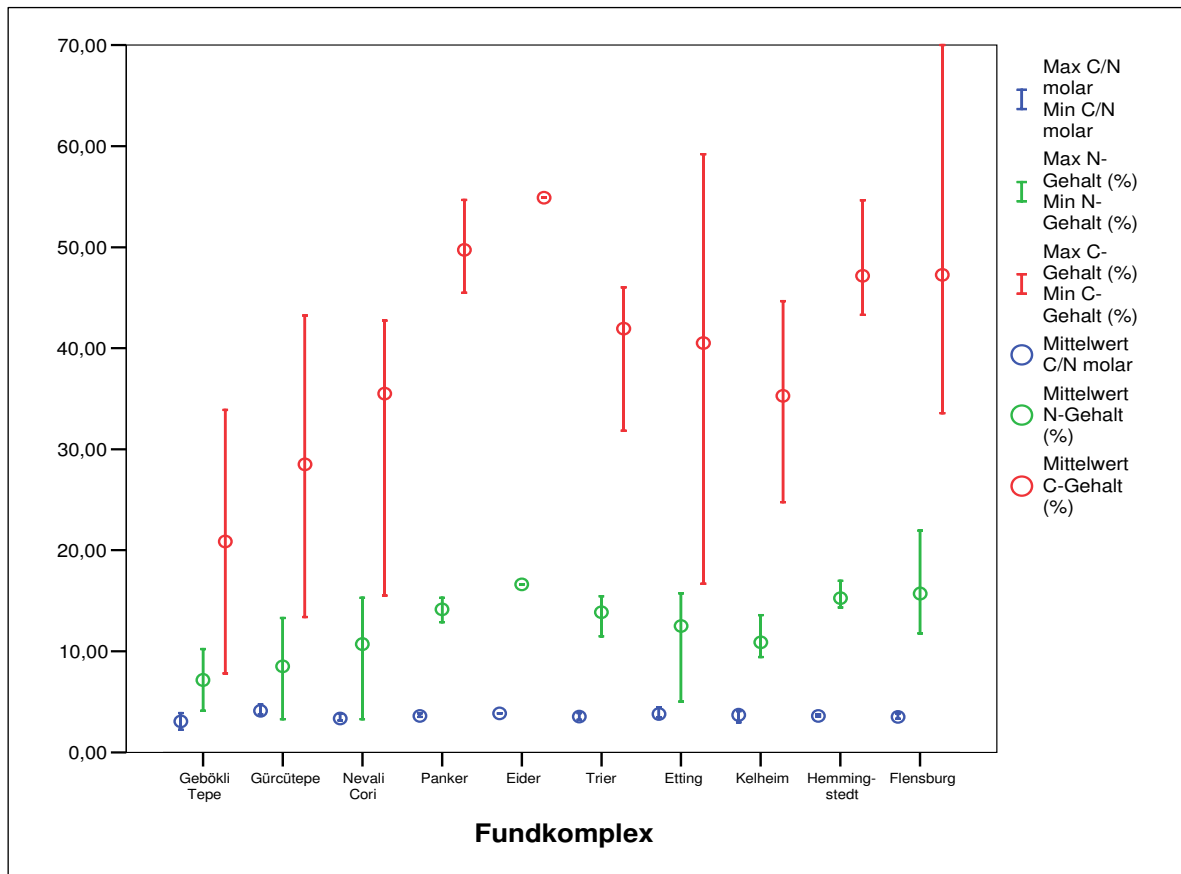


Abb. IV.29: Mittelwerte, maximale und minimale Werte der Proben der untersuchten Fundkomplexe

Um eine Assoziation zwischen Fundplatz und Stickstoffgehalt auf ordinalem Niveau zu finden, werden die Stichprobenwerte des Stickstoffgewichtsanteils in drei gleich große Klassen eingeteilt. Mittels des Haldane-Dawsons-Tests lässt sich eine Assoziation zwischen Fundplatz und Stickstoffgehalt zeigen ($p=0,022080$). Mittels Korrelationsanalyse ist eine schwache Korrelation zwischen Stickstoffgehalt und Liegezeit der Proben (Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman: $0,304$, $p=0,05$) feststellbar. Kein Zusammenhang lässt sich zwischen Liegezeit und Kohlenstoffgewichtsanteil erkennen. Auf Assoziationsfeststellung zwischen Kohlenstoff- oder Stickstoffwerten mit den C/N-Werten wird wegen des offensichtlichen Zusammenhanges der Variablen verzichtet.

Es liegen 40% der C/N-molar-Quotienten außerhalb des von DeNiro (1985) festgestellten Bereichs eines C/N-molar von 2,9-3,6 für unverändertes Kollagen. Nur eine Probe zeigt einen Wert unterhalb dieser Spannweite, während alle anderen Kollagenextrakte höhere Werte zeigen, d.h. ihr Kohlenstoffanteil ist im Verhältnis zum Stickstoffanteil erhöht.

Die Abbildung IV.30 zeigt die Verteilung dieser Werte auf die Fundplätze. Zur statistischen Überprüfung des Zusammenhanges wird der C/N-Quotient in zwei Klassen angegeben: C/N im Bereich von 2,9-3,6 und C/N außerhalb dieses Bereiches.

Mittels des Chi-Quadrat-Tests lässt sich eine signifikante Assoziation zwischen diesen postulierten Klassen und ihrer Verteilung auf die Fundplätze zeigen ($p=0,014$, Cramer-V-

IV Ergebnisse

Assoziationskoeffizient: 0,563). Ein Zusammenhang mit der Liegezeit konnte nicht gefunden werden.

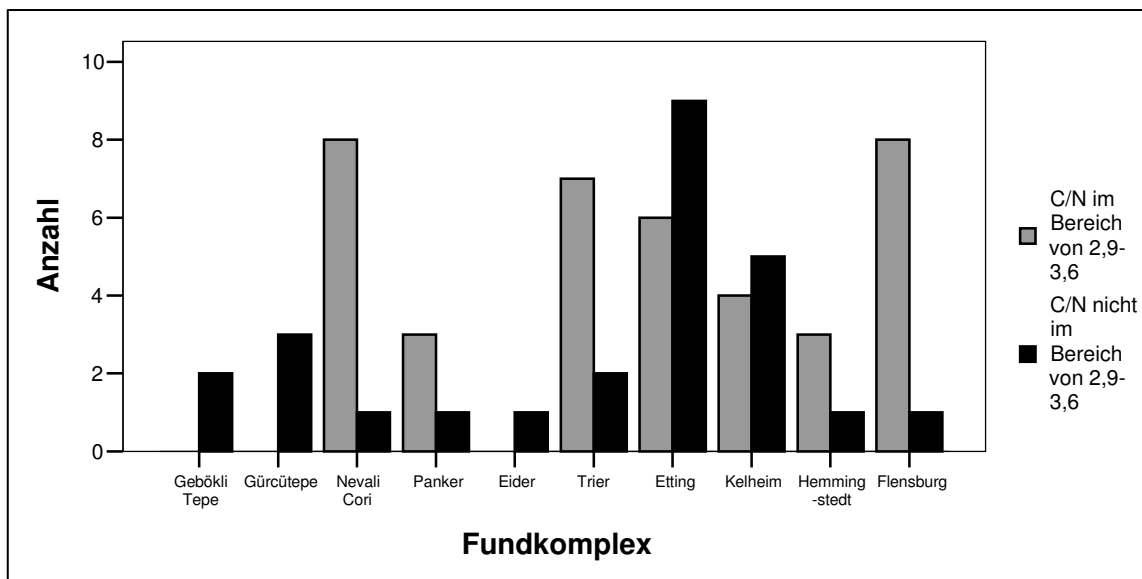


Abb. IV.30: Häufigkeiten der Proben der untersuchten Fundplätze, die innerhalb oder außerhalb des von DeNiro (1985) aufgestellten Bereiches liegen

Der prozentuale Stickstoff- und Kohlenstoffgewichtsanteil, sowie der C/N-molar-Wert wurde nur bei den Proben des Temperaturexperimentes I analysiert, da die Erträge der Gelatineextraktion des Temperaturexperimentes II für diese Untersuchung nicht ausreichen. Auch bei dem Temperaturexperiment I war bei 3 Proben eine Messung aus dem gleichen Grund nicht möglich.

Bis zum achten Inkubationstag schwanken alle drei untersuchten Merkmale um einen Mittelwert (Abb. IV.31), wobei wie beim archäologischen Material die Variation des Kohlenstoffgewichtsanteils am größten ist. Dabei wird der von DeNiro geschätzte Bereich von 2,9 bis 3,6 für gut erhaltene archäologische Kollagenextrakte bei mehreren Proben überschritten (siehe Anhang b). Auffällig ist der starke Abfall der prozentualen C- und N-Gehalte nach dem achten Inkubationstag. Der prozentuale Kohlenstoffanteil fällt dabei stärker ab als der Stickstoffanteil, so dass die Differenz zwischen den Kohlenstoff- und Stickstoffgewichtsanteilen in Proben mit Inkubationszeiten von mehr als 10 Tagen wesentlich geringer ist.

Der Stickstoffgehalt (Korrelationskoeffizient nach Pearson: -0,872), der Kohlenstoffgehalt (Korrelationskoeffizient nach Pearson: -0,823) und der Quotient C/N-molar (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,810) korrelieren hochsignifikant mit der Inkubationszeit.

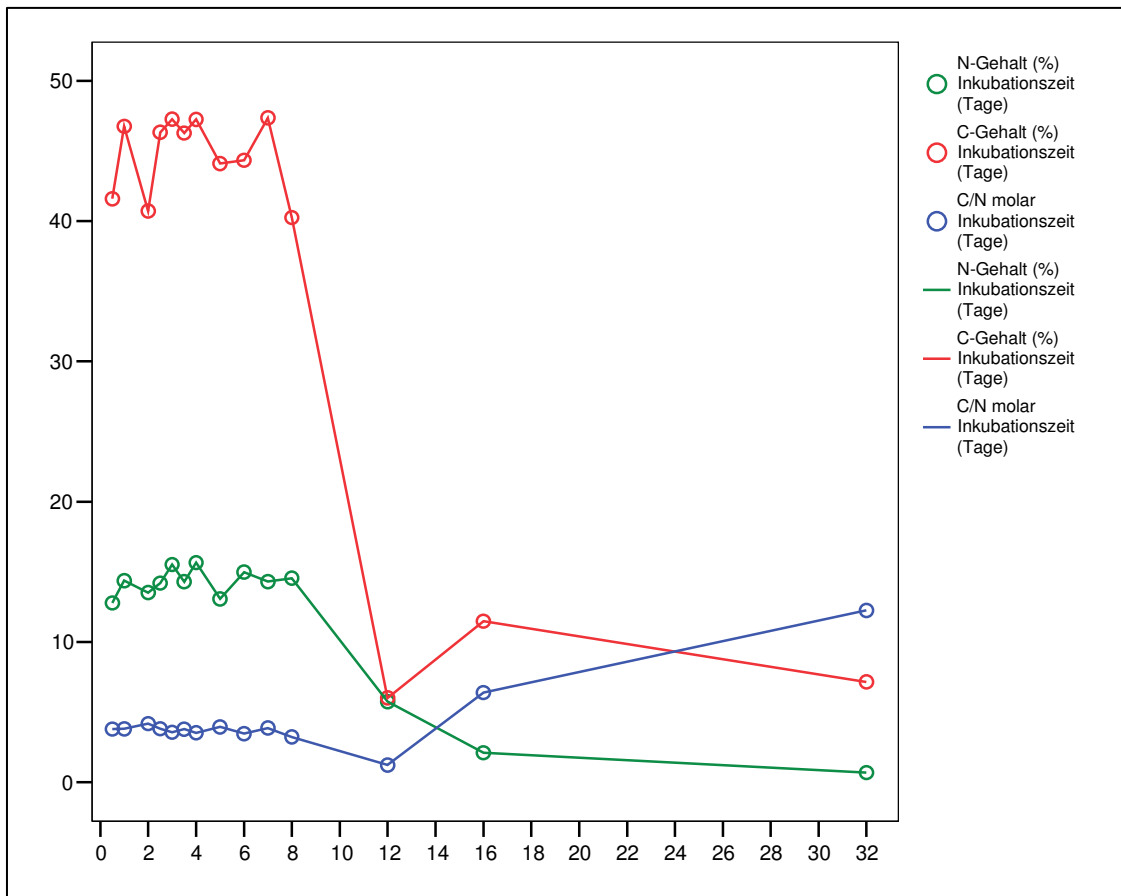


Abb. IV.31: Prozentualer Stickstoff- und Kohlenstoffgehalt sowie der C/N-molar-Quotient der Proben des Temperaturexperimentes I, zugeordnet zu ihrer jeweiligen Inkubationszeit; die Linien sollen den Verlaufstrend andeuten

1.3.3 Aminosäureprofile

Bei der Analyse des Aminosäureprofils fand eine unumgängliche Vorauswahl statt, da diese nur bei Proben mit genügend verbleibendem (ca. 2 mg) extrahierbarem Kollagen vorgenommen werden konnte. Die Tabelle IV.6 gibt die Kennwerte der archäologischen Stichprobe (n=45) wieder, während die Aminosäureprofile der einzelnen Proben im Anhang zu finden sind. Man erkennt die große Variabilität der Proben sowohl im Bezug auf den Gehalt an einzelnen Aminosäuren (in nmol%) als auch am Gesamtgehalt in 100mg Knochenmehl, dh. dem Gesamtvolumen vor der Extraktion.

IV Ergebnisse

Tab. IV.6: Kennwerte der Stichprobe archäologisches Knochenmaterial.
Die Aminosäuren sind in nmol% angegeben

	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
OHpro	45	7,10	16,90	10,1163	2,23544
asp	45	,61	8,40	3,9286	1,57161
thr	45	,00	3,80	2,1466	,82994
ser	45	,00	6,20	3,1271	1,58730
glu	45	1,90	9,40	6,2658	2,22143
pro	45	8,30	19,87	12,6032	2,47900
gly	45	19,30	43,99	30,8143	4,02753
ala	45	9,10	22,33	14,9050	3,62971
cys	45	,00	17,00	,4604	2,52227
val	45	,00	2,89	1,5944	,68635
met	45	,00	1,20	,3237	,22209
ile	45	,40	2,10	1,0741	,45796
leu	45	1,05	5,00	3,4796	,79779
tyr	45	,00	7,60	,5955	1,48061
phe	45	,00	6,40	1,8593	1,61064
his	45	,00	2,48	,5634	,56221
OHlys	45	,00	,84	,2859	,23455
ly	45	,00	4,10	1,4362	1,48295
arg	45	,37	11,50	4,5764	3,06248
nmol/100mg Knochen	45	87,64	9182,97	2302,6049	2271,58195
Gültige Werte (Listenweise)	45				

Die quantitative Auswertung der Aminosäureanalyse in Form der Feststellung der Aminosäuren (in nmol) in 100 mg Knochen des archäologischen Materials erfolgt getrennt nach Fundplätzen (Abb. IV.32).

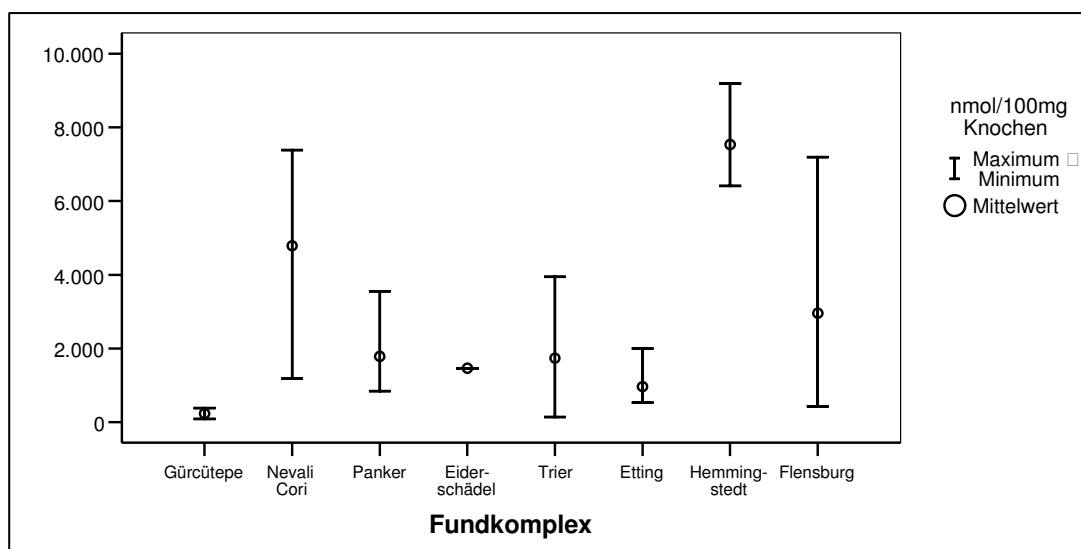


Abb. IV.32: Quantitative Auswertung der Aminosäureanalyse nach Fundplätzen

Man erkennt die große Spannweite der Ergebnisse auch innerhalb der einzelnen Fundkomplexe. Auffällig ist der Fundkomplex Hemmingstedt mit vergleichsweise viel Aminosäuregehalt pro 100mg Knochen und die extrem große Spannweite der Werte der Proben der Fundplätze Flensburg und Nevalı Çori. Der Kruskal-Wallis-Test zeigt eine signifikant unterschiedliche Verteilung der Werte zwischen den Fundplätzen ($p=0,004$). Eine signifikante Rangkorrelation der nmol Aminosäure pro 100 mg Knochen nach Spearman mit der Liegezeit der Fundplätze kann nicht gefunden werden.

Die qualitative Auswertung erfolgt anhand von Qualitätskriterien (siehe III: 6). Die Beurteilung der Proben nach diesen Kriterien zeigt Tabelle IV.7. Die Klassifizierung der Probe als „schlechtes Kollagen“ erfolgt bei Abweichung von den Qualitätskriterien.

Die Kriterien, die die Quotienten asp/pro und gly/asp, die Summe asp+ser, den Gehalt an glu (nmol%) betreffen (vgl. S. 76), wurden von allen Proben erfüllt. Ebenso enthielt keine Probe weniger als 250nmol Aminosäuren pro mg Protein. Die Kriterien, zur einer Klassifizierung „schlechtes Kollagen“ führten, waren bei dem archäologischen Material also ausschließlich der Glycingehalt, die Summe pro+OH-pro+ala (nmol%) und/oder der Quotient gly/glu. Es enthalten 24 Proben „gutes“ Kollagen, während von 21 Proben das Kollagen als „schlecht“, also vom physiologischen Kollagen abweichend, bewertet wurden. Von den Proben mit „schlechtem“ Kollagen verletzten acht Proben nur ein Kriterium.

Die Aminosäureprofile der Proben werden mit den von Ambrose (1993) erhobenen Werten für intaktes (rezentes) Kollagen verglichen. Die Abbildung IV.33 zeigt die Ausfallraten der Aminosäuren. Aminosäuren, die nur in geringen Mengen im Kollagen vorkommen, fallen bevorzugt aus (z.B. cys, tyr und OH-lys). Dieser selektive Ausfall von Aminosäuren kann allerdings nicht nur hierauf zurückzuführen sein, so kommen z.B. tyr und his in fast gleichen nmol% im Kollagen vor, tyr ist allerdings wesentlich öfter als his nicht detektierbar. Bei den Aminosäuren, die neben den selten vorkommenden ausfallen, handelt es sich um Aminosäuren mit hoher Kohlenstoffatomanzahl (vgl. auch Grupe et al. 2000).

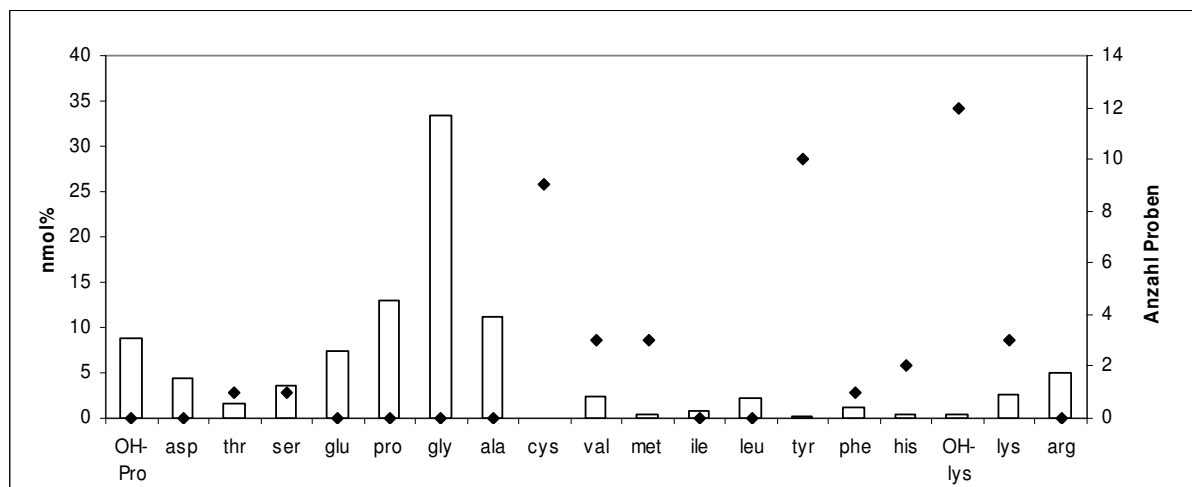


Abb. IV.33: Ausfallraten der einzelnen Aminosäuren, ausgedrückt in Anzahl der Proben, in denen die Aminosäure nicht detektierbar war (Punkte) und nmol%-Anteil der einzelnen Aminosäuren im nativen Kollagen (nach Ambrose 1993) (Balken)

IV Ergebnisse

Tab. IV.7: Feststellung der Qualitätskriterien und Beurteilung der Kollagenqualität (Kollagengehalt)

Probe	gly (nmol%)	pro+OH- pro+ala (nmol%)	gly/glu	gly/asp	OH- pro/asp	asp/pro	asp+ser (nmol%)	glu (nmol%)	nmol/mg Protein	Kollagengehalt/ Kollagenqualität
Gü2	32	33,4	4,51	9,14	2,89	0,38	7	8	3815	gut
Gü3	32,9	34,2	4	10,28	3,34	0,34	6,9	8,1	4379	gut
NC12	34,18	43,35	4,06	17,18	3,79	0,15	2,97	3,31	5025	schlecht
NC16	34,07	43,31	10,33	16,22	3,43	0,15	3,06	3,22	4927	schlecht
NC17	43,99	37,47	10,58	72,11	12,98	0,03	0,61	2,31	1179	schlecht
NC18	23,78	42,09	19,04	6,07	2,73	0,23	5,95	5,61	4099	schlecht
P1	32,7	32,8	4,24	5,74	1,79	0,45	8,9	6,4	3430	gut
P2	34,57	31,06	5,11	6,52	1,66	0,4	7,6	5,7	3409	gut
P3	35,74	33,07	6,06	7,36	1,92	0,35	6,81	6,73	2194	gut
P4	31	37,3	5,31	6,89	2,44	0,35	8,4	7,4	4414	gut
ES	32,9	40,1	4,19	9,14	3,28	0,43	8,1	6	4147	schlecht
T1	30	39	5,48	8,82	3,44	0,25	9,2	8,2	4327	schlecht
T2	31,2	36,6	3,66	8,91	3,14	0,27	7,2	7,2	3703	gut
T3	33,2	35,3	4,33	5,63	1,68	0,48	11	8	5225	gut
T4	28,8	37,1	4,15	7,2	2,75	0,31	8,9	7,2	4969	gut
T5	29,3	34,87	4	4,6	2,36	0,33	7,9	6,8	4952	gut
T6	31,2	36,9	2,84	16,42	4,58	0,13	8,1	7,2	4523	gut
T7	30,59	32,77	4,33	5,55	1,8	0,49	11,38	7,6	6367	gut
T8	31,2	36,31	4,03	6	1,75	0,41	9,56	7,53	4026	gut
T9	30,6	35,8	4,14	7,12	2,33	0,33	8,5	7,3	4924	gut
E1	31,5	40,5	4,19	11,67	2,81	0,21	4,1	3,9	5191	schlecht
E2	30,9	40,4	8,08	14,05	3,59	0,16	3,3	3,8	4503	schlecht
E3a	32,9	42,9	8,13	14,95	3,73	0,16	3,1	1,9	4812	schlecht
E3b	27,2	35,7	17,32	7,77	2,4	0,31	5,7	8,4	8192	schlecht
E3c	24,6	42,1	3,24	7,45	2,85	0,19	5	5,2	3481	schlecht
E7	30,2	36,6	4,73	8,16	2,27	0,32	6,3	8,8	5671	gut
E13	22,1	39	3,43	4,42	2,32	0,34	8,5	8	4314	schlecht
E18/1	25,3	46,1	2,76	9,73	4,27	0,14	3,6	1,9	3929	schlecht
E18/2	34,2	41,1	13,32	13,68	2,84	0,19	3,8	2,6	4547	schlecht
E19	32,5	40,9	13,15	13	3	0,19	3,8	2,9	4856	schlecht
E22	31,2	40,6	11,21	13	3,42	0,19	3,5	2,1	5000	schlecht
E27	32,2	42,1	14,86	16,1	3,6	0,14	2,8	1,9	5035	schlecht
E29	23,3	38,5	16,95	4,76	2,24	0,34	8,2	7,8	3810	schlecht
E31	29,4	34,4	2,99	7	1,74	0,38	6,9	9,4	5473	gut
H1	29,2	37,87	3,13	3,89	2,25	0,74	11,4	7,1	5195	schlecht/Typ H
H2	29,3	36,6	4,11	3,96	2,12	0,72	11,1	6,98	4713	schlecht/ Typ H
H4	29,2	37,8	4,2	3,48	1,9	0,82	11,9	6,7	5017	schlecht/Typ H
F1	30,4	35,93	4,36	6,91	2,52	0,34	8,6	7,3	3831	gut
F2	33,7	36,1	4,16	9,36	3,56	0,39	7,9	7,6	3517	gut
F3	32	36	4,43	8	2,75	0,43	7,8	8,3	3885	gut
F4	31,23	33,66	3,86	5,68	1,87	0,47	11,27	7,58	5390	gut
F5	32,7	37,8	4,12	8,18	2,8	0,41	7,1	7,8	5628	gut
F7	30,9	37,1	4,19	7,02	2,61	0,35	8,8	7,7	5609	gut
F9	34,19	34,74	4,01	9,77	3,06	0,38	7,8	8,3	4572	gut
F10	32,4	35,8	4,12	10,13	3,34	0,34	7,2	8,2	4130	gut

Die Abbildung IV.34 zeigt die Aminosäureprofile der beiden analysierten Proben des Fundkomplexes Gürcütepe und von physiologischem Kollagen. Man erkennt, dass beide Proben Aminosäureprofile wie rezentes Kollagen zeigen, was ihre Einstufung als „gutes“ Kollagen rechtfertigt (vgl. Tab. IV.7).

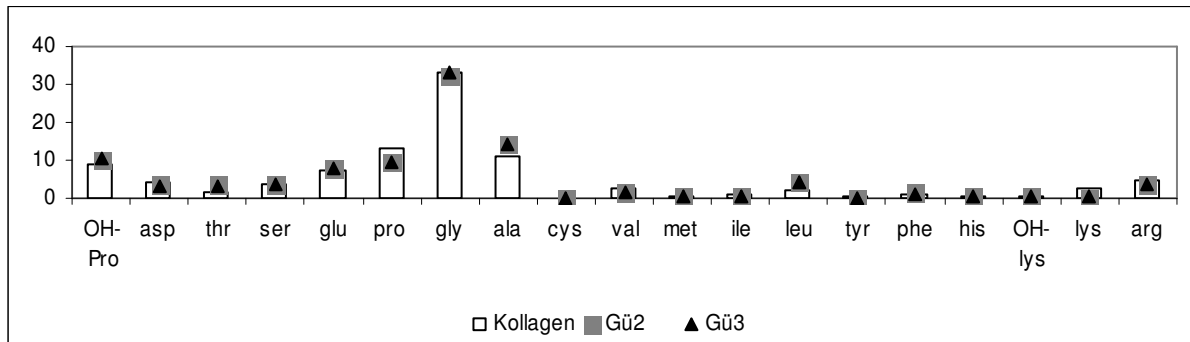


Abb. IV.34: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Gürcütepe und von physiologischen Kollagen (nach Ambrose 1993)

Das Kollagen aller Proben des Fundkomplexes Nevalı Çori wird als „schlecht“ eingestuft (vgl. Tab. IV.7). Die Aminosäureprofile der Proben weichen von den Werten für physiologisches Kollagen erheblich ab. Die Aminosäuren OH-pro, asp, thr, ser und glu sind reduziert und hierdurch bedingt zeigen pro, gly und ala mehr nmol% im Aminosäureprofil. Ein anderes Muster zeigt NC 18, bei der auch der gly-Gehalt unter dem kollagentypischen Wert liegt und cys eine prozentuale Zunahme zeigt. Mit Ausnahme von NC 12 erfüllen alle Proben mehr als ein Kriterium nicht, NC 12 zeigt nur bei dem Kriterium pro+OH-pro+ala (nmol%) erhöhte Werte. Wie die Abbildung IV.35 zeigt, entspricht das Gesamtprofil trotz oben genannter Abweichungen dem kollagentypischen Muster.

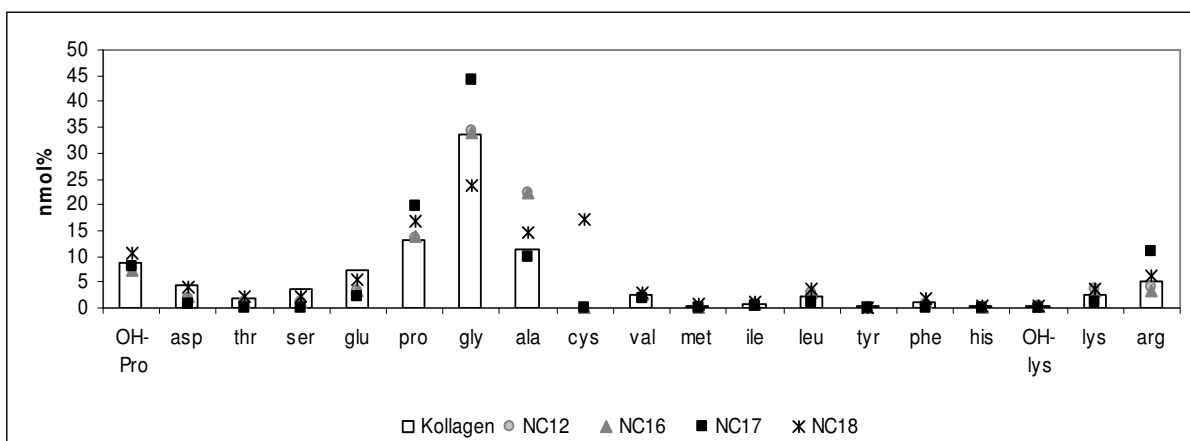


Abb. IV.35: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Nevalı Çori und von rezentem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Das Kollagen der Proben des Fundkomplexes Panker wird durchgehend als „gut“ bewertet. Wie die Abbildung IV.36 zeigt, gibt es kaum Abweichungen vom kollagentypischen Muster. Allerdings kann bei allen Proben eine geringe Reduzierung der Aminosäuren lys und arg festgestellt werden und so eine Überrepräsentation von leu und tyr.

IV Ergebnisse

Das Kollagen des Eiderschädels wurde ebenfalls als schlecht beurteilt, da es das Kriterium pro+OH-pro+ala (nmol%) mit einem Wert von 40,1 nmol% nicht erfüllt. Das Aminosäureprofil zeigt außerdem stark reduzierte phe und lys -Werte (siehe Abb.IV.36).

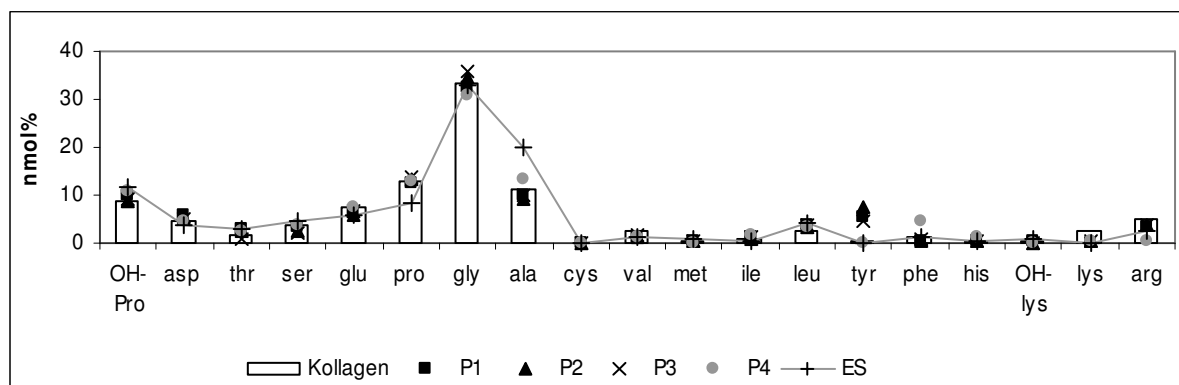


Abb. IV.36: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Panker und des Eiderschädels, sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Nur eine Probe des Trierer Fundkomplexes zeigt „schlechtes“ Kollagen: T1 weist hohe Werte bei dem Kriterium pro+OH-pro+ala (nmol%) auf, was vor allem an einer Erhöhung des pro-Wertes liegt, während gly, lys und arg reduziert sind (siehe Abb. IV.37).

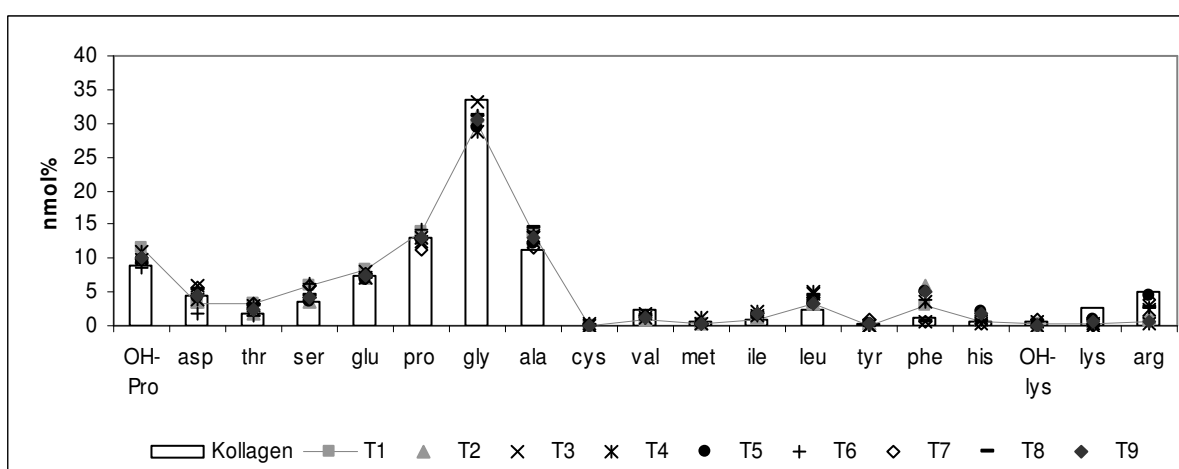


Abb. IV.37: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Trier sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Mit Ausnahme von zwei Proben entsprechen die Kollagenextrakte der Ettinger Proben nicht den Qualitätskriterien. Die meisten Proben zeigen stark erhöhte Werte des Kriteriums pro+OH-pro+ala (nmol%) kombiniert mit niedrigen Gly-Werten. Das Aminosäureprofil der Ettinger Proben zeigt bei den „schlechten“ Kollagenextrakten eine Reduzierung fast aller Aminosäuren, die zu einer relativen Zunahme der nmol% der Aminosäuren ala, lys und arg führt (siehe Abb. IV.38)

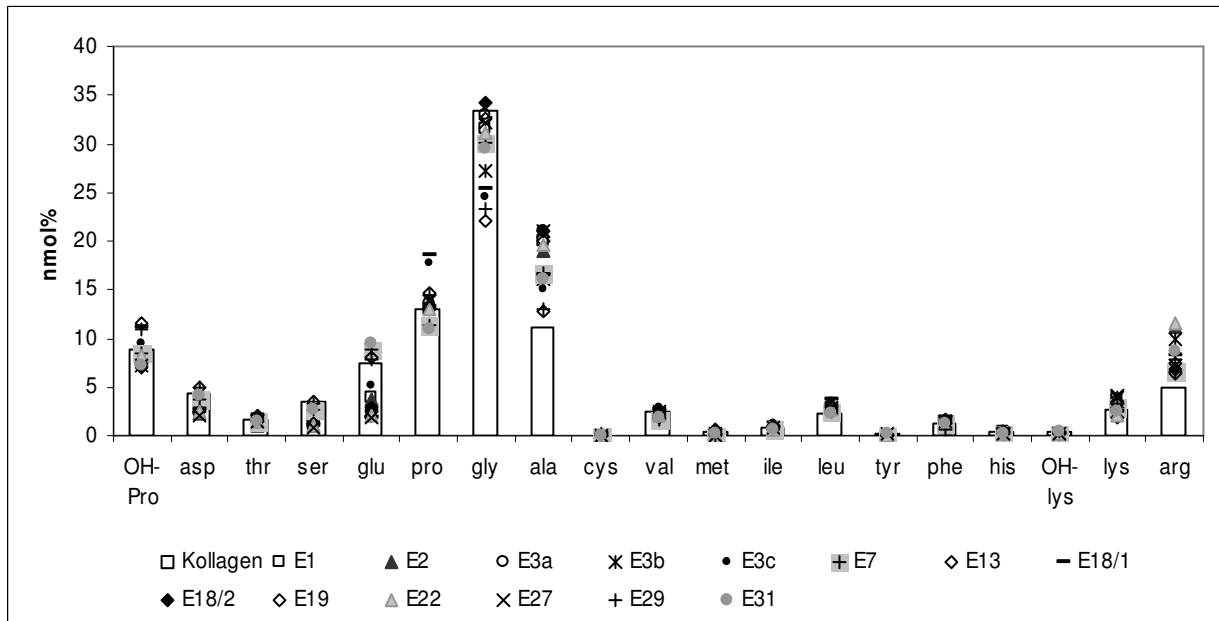


Abb. IV.38: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Etting sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Das Kollagen der Proben des Hemmingstedter Fundkomplexes wird nach den Qualitätskriterien als „schlecht“ klassifiziert, weil es das Kriterium gly/asp nicht erfüllt. Bei keiner anderen Probe eines anderen Fundplatzes kommt dies vor. Die Aminosäureprofile weichen von dem kollagentypischen Muster der bei den anderen archäologischen Fundplätzen beobachteten ab (siehe Abb. IV.39). Dafür ist der stark erhöhte OH-pro-Anteil verantwortlich, durch den Erniedrigungen anderer Aminosäuren bedingt sind (lys, arg). Aufgrund des von den anderen Profilen abweichenden Musters wird den Proben eine Sonderstellung eingeräumt und nicht als schlecht klassifiziert, sondern als Typ-H gesondert betrachtet.

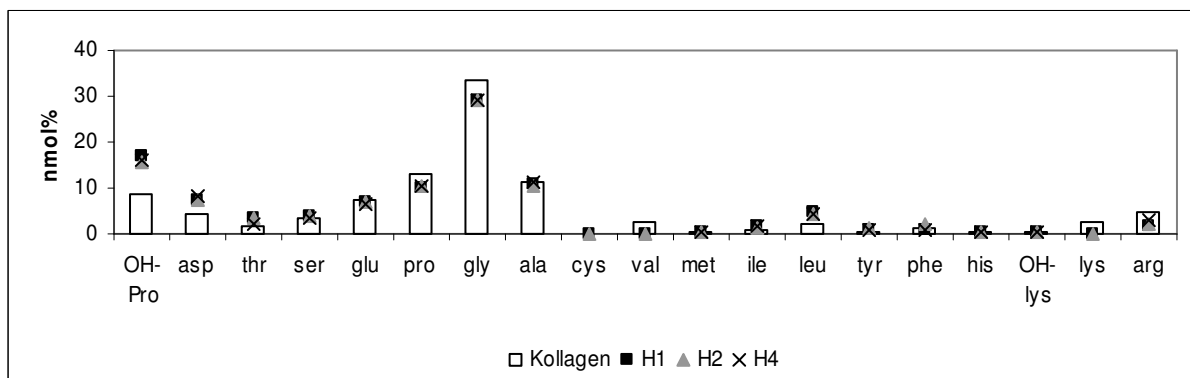


Abb. IV.39: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Hemmingstedt sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Der Flensburger Fundkomplex zeigt ausschließlich Proben mit Kollagenextrakten, die als gut bezeichnet werden. Auch die Aminosäureprofile zeigen kaum Abweichungen von kollagentypischen Werten (vgl. Abb. IV.40).

IV Ergebnisse

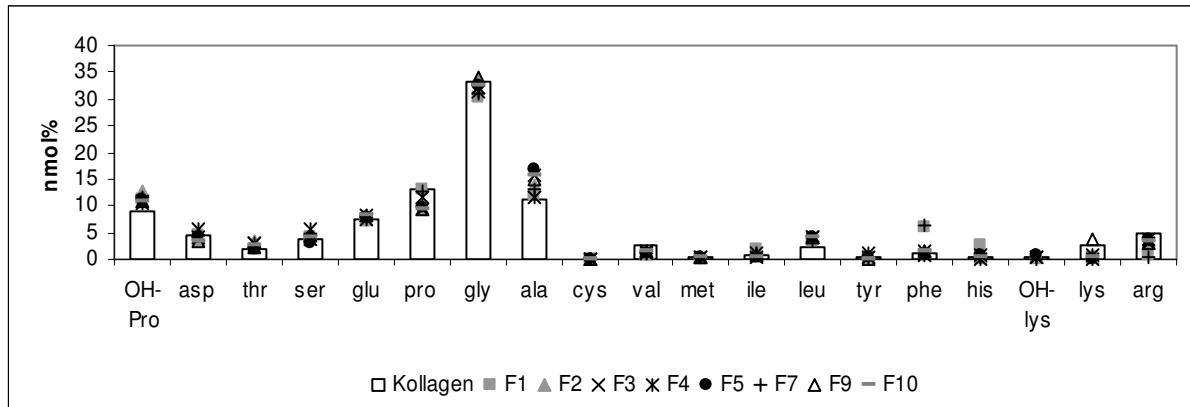


Abb. IV.40: Aminosäureprofil der Proben des Fundkomplexes Flensburg sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Mittels des Kruskal-Wallis-Tests kann festgestellt werden, dass sich die Fundplätze in der Verteilung der meisten Aminosäuren (OH-pro, asp, thr, ser, glu, pro, ala, cys, val, ile, leu, tyr, his, OH-lys, lys, arg) signifikant unterscheiden. Eine signifikante Korrelation (nach Spearman) mit der Liegezeit kann nicht gefunden werden.

Die quantitative Auswertung der Temperaturexperimente I und II zeigt Abbildung IV.41. Von den Proben des Temperaturexperimentes I wurde neben der üblichen Gelatineextraktion (GE) eine Aminosäureanalyse auch nach Säureextraktion (SE) durchgeführt. Da die Säureextraktion eine größere Ausbeute liefert, war es möglich, auch Proben mit längeren Inkubationszeiten zu analysieren. Die Ausbeute an Aminosäuren pro 100mg Knochenmehl sind bei den Proben des Temperaturexperimentes I nach Säureextraktion am höchsten (Mittelwert: 3753), während die Proben des Temperaturexperimentes II (Mittelwert 414,4) die niedrigsten Werte zeigen. Die Proben des Temperaturexperimentes I nach Gelatineextraktion nehmen mittlere Werte ein (Mittelwert: 2843,21). Im Temperaturexperiment I nimmt der Aminosäuregehalt der Proben sowohl nach Gelatine-, als auch nach Säureextraktion zunächst annähernd linear mit zunehmender Inkubationszeit ab. Ab der Probe TE I 16 (nach GE) bzw. TE I 20 (nach SE) wird die Abnahme des Aminosäuregehaltes mit zunehmender Inkubationszeit geringer und zeigt keinen linearen Verlauf mehr (umgedrehte Sättigungskurve). Ab welcher Inkubationszeit die Abnahme nicht mehr linear verläuft, kann aufgrund der geringen Probendichte nicht festgestellt werden. Bei den Proben des Temperaturexperimentes II lässt sich im Vergleich zu Temperaturexperiment I nur eine minimale Abnahme des Aminosäuregehaltes mit steigender Inkubationszeit feststellen.

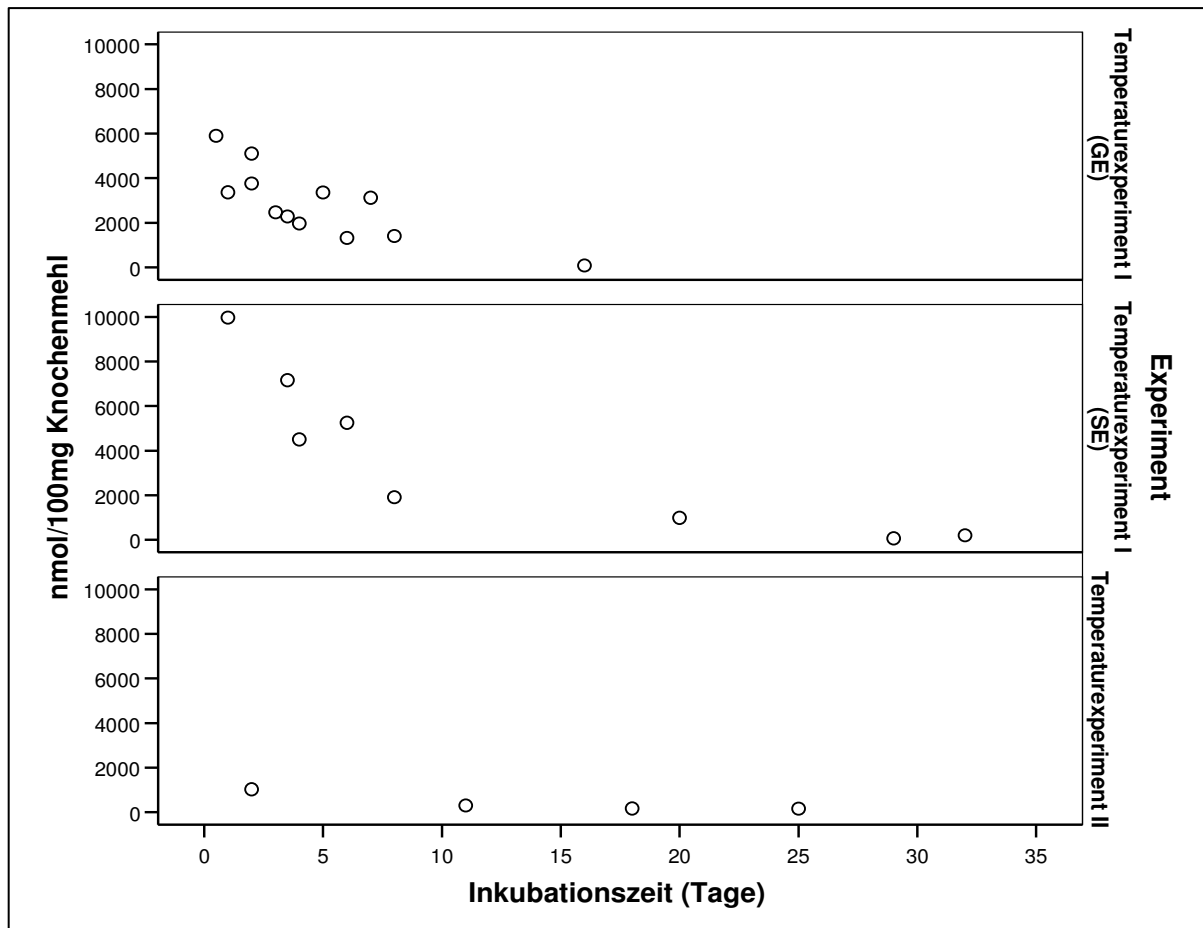


Abb. IV.41: Aminosäuregehalt (in nmol%) pro 100 mg Knochenmehl der Temperaturexperimente I (nach Gelatine- (GE) und Säureextraktion (SE)) und II

Bei allen drei Stichproben kann eine hochsignifikante Korrelation des Aminosäuregehaltes mit der Inkubationszeit festgestellt werden (Korrelationskoeffizienten nach Spearman: Temperaturexperiment I nach Gelatineextraktion: -0,8; nach Säureextraktion: -0,9 Temperaturexperiment II: -1). Der ungewöhnlich hohe Korrelationskoeffizient des Temperaturexperimentes II lässt sich durch den streng lineareren Verlauf der Abnahme erklären, während das Temperaturexperiment I wie oben beschrieben bei Proben mit höheren Inkubationszeiten eine verringerte Abnahme des Aminosäuregehaltes zeigt.

Das Kollagen der Proben des Temperaturexperimentes I nach Gelatineextraktion ist mit zwei Ausnahmen (TE I 2 und TE I 16) nach den aufgestellten Qualitätskriterien als „gut“ zu klassifizieren. Bis auf diese beiden Proben gleichen sich die Aminosäureprofile der Proben des Temperaturexperimentes I (vgl. Abb. IV.42).

IV Ergebnisse

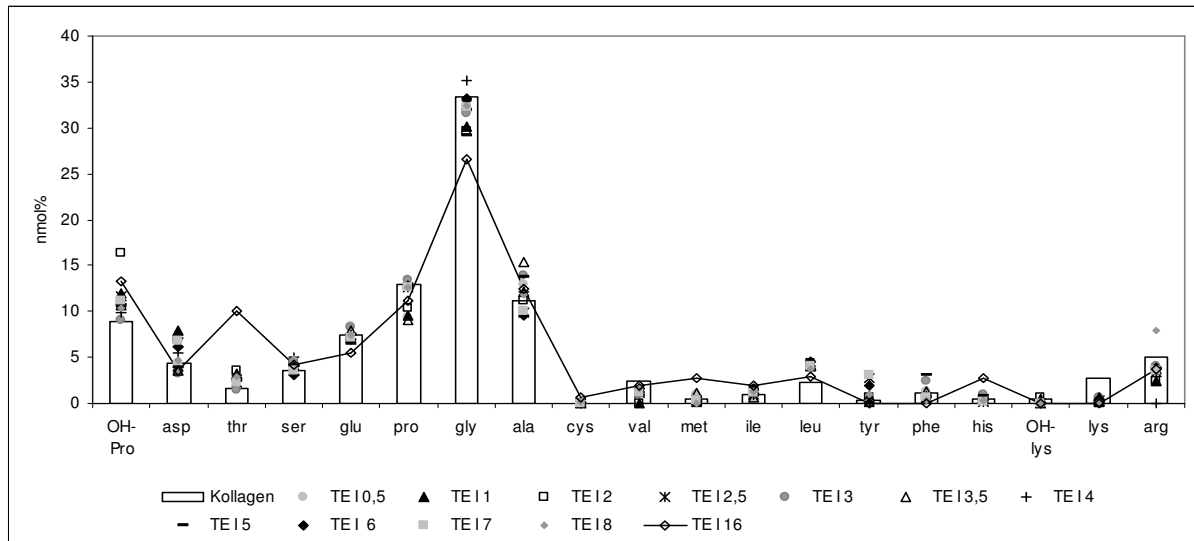


Abb. IV.42: Aminosäureprofil der Proben des Temperaturexperimentes I (nach GE) sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

TE I 2 zeigt wie das Hemmingstedter Fundmaterial zu niedrige gly/asp-Quotienten, mit erhöhten OH-pro und asp-Werten, sowie leicht erniedrigte pro-, gly- und stärker erniedrigte lys- und arg-Werte (vgl. Abb. IV.43).

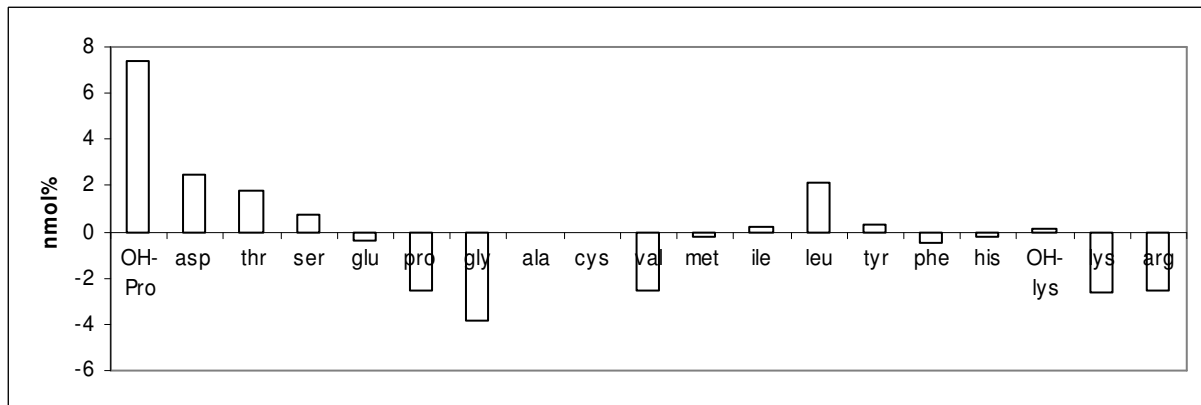


Abb. IV.43: Abweichungen des Aminosäureprofils in nmol% des Kollagens der Probe TE I 2 von rezentem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Das Kollagen der Probe TE I 16 wird anhand der Qualitätskriterien nur aufgrund der niedrigen gly-Werte als „schlecht“ klassifiziert. Sein Aminosäureprofil zeigt starke Abweichungen von dem kollagentypischen Muster (siehe Abb. IV.44). Folgende Aminosäuren sind reduziert: asp, glu, pro, gly, val, tyr, phe, OH-lys, lys und arg. Dementsprechend sind die verbleibenden Aminosäuren erhöht (OH-pro, thr, ala, cys, met, ile, leu, his).

Ein Zusammenhang der Aminosäureprofile der Proben des Temperaturexperimentes I nach GE mit der Inkubationszeit kann aufgrund der beschriebenen Verteilung auch ohne statistische Analyse ausgeschlossen werden.

Das Kollagen der Proben des Temperaturexperimentes I nach Säureextraktion ist nur bei den Proben mit höheren Inkubationszeiten (TE I 20 SE, TE I 29 SE, TE I 32 SE) als „schlecht“ zu

klassifizieren. Die Abbildung IV.44 zeigt die Aminosäureprofile der Proben, deren Kollagen als gut bewertet wurde, man erkennt, dass alle das kollagentypische Muster aufweisen.

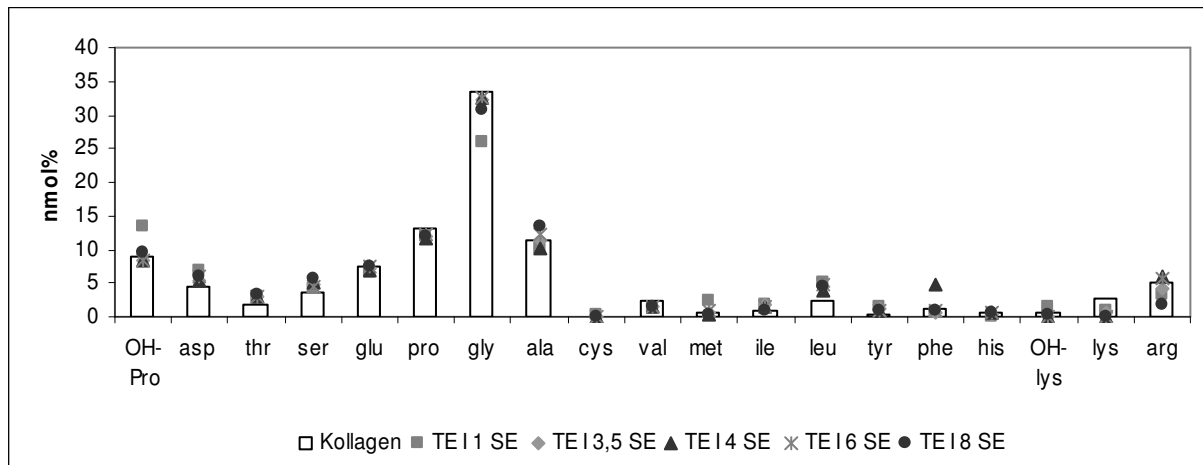


Abb. IV.44: Aminosäureprofil der Proben des Temperaturexperimentes I nach SE sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

Die Aminosäureprofile der Proben, deren Kollagen als „schlecht“ eingestuft ist, weichen stark von dem kollagentypischen Muster ab. Bei den Proben TE I 20 und TE I 29 sind vor allem die Aminosäuren OH-pro, gly, ala und lys reduziert, was zu einer quantitativen Erhöhung der anderen Aminosäuren führt, im Falle von TE I 20 vor allem von phe. TE I 20 zeigt zusätzlich eine starke Reduzierung von glu. Bei TE I 32 ist ebenfalls eine Reduzieren von gly, pro und ala festzustellen, allerdings in geringerem Ausmaß, während zusätzlich arg reduziert ist (vgl. Abb. IV.45).

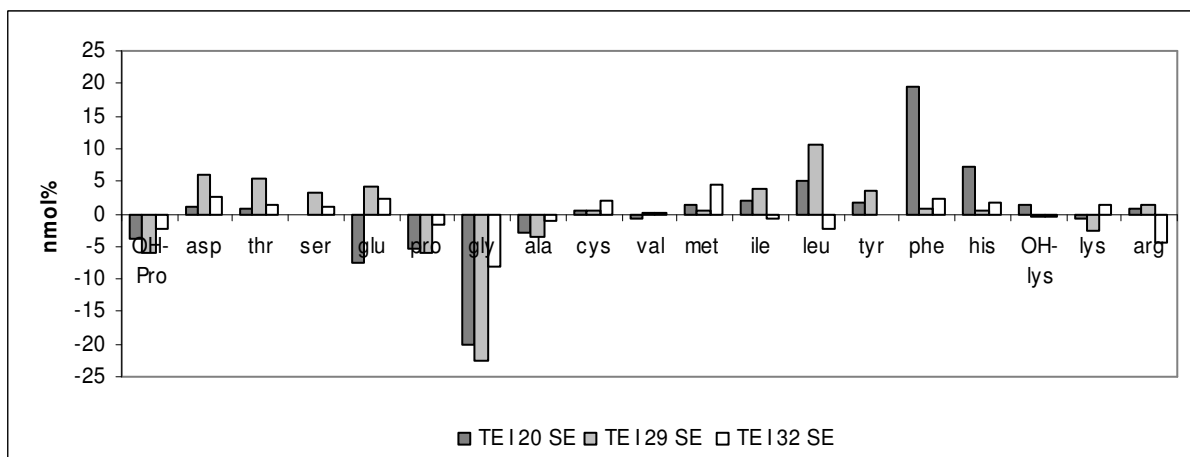


Abb. IV.45: Abweichung der prozentualen Aminosäuregehalte von dem typischen Kollagenmuster (Ambrose 1993) der Proben des Temperaturexperimentes I nach Säureextraktion, deren Kollagen als schlecht eingestuft wurde

Ein linearer Zusammenhang des Aminosäuregehaltes mit der Inkubationszeit kann aufgrund der beschriebenen Verteilung wie schon bei den Proben nach Gelatineextrakt ohne statistische Analyse ausgeschlossen werden.

IV Ergebnisse

Von den Proben des Temperaturexperimentes II (nach Gelatineextraktion) zeigen die beiden Proben mit den längsten Inkubationszeiten „schlechtes Kollagen“ (TE II 18, TE II 25). Beide weichen in den Merkmalen gly/asp und OH-pro/asp von den Kriterien ab. TE II 25 zeigt außerdem einen zu niedrigen gly-Anteil (27,9nmol%). Die als gut klassifizierten Werte zeigen ein kollagentypisches Aminosäureprofil, während die als „schlecht“ klassifizierten deutlich von diesem abweichen (siehe Abb. IV.46). Dabei unterscheiden sich TE II 18 und TE II 25 in ihren Aminosäureprofilen. Sind bei TE II 18 vor allem glu, pro, gly und lys erniedrigt, sind es bei TE II 25 asp, pro, lys und arg. Ein Zusammenhang mit der Inkubationszeit zeigt sich nicht.

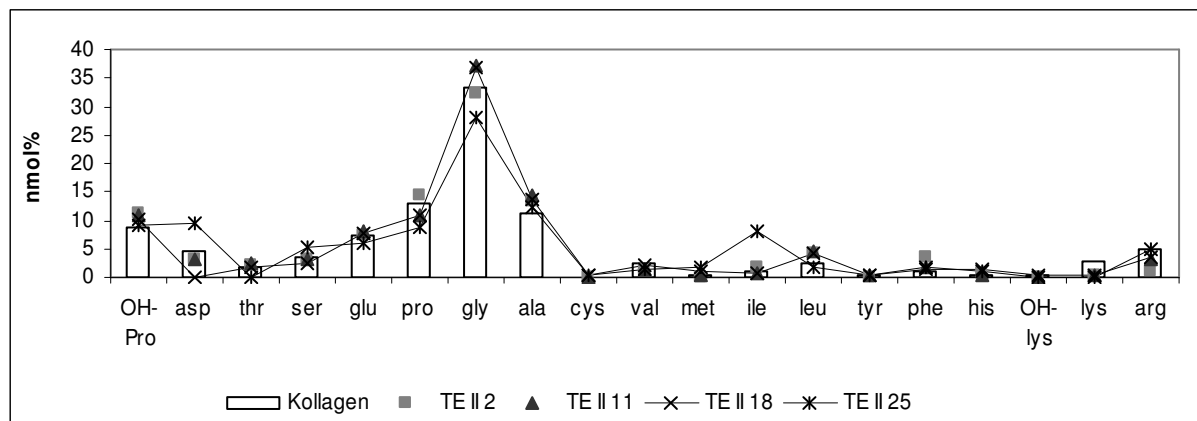


Abb. IV.46: Aminosäureprofil der Proben des Temperaturexperimentes II sowie von physiologischem Kollagen (nach Ambrose 1993)

1.3.4 Asparaginsäurerazemisierungsgrad (ARG)

Die Bestimmung des Razemisierungsgrades der Asparaginsäure konnte an allen humanen Knochenproben (n=67) durchgeführt werden. Von den Proben Gö1 und T2 war auch nach mehrmaliger Aufarbeitung kein Signal erhältlich. Vergleichend wurden außerdem die D/L-Quotienten von 55 tierischen Knochenproben der Fundplätze Gebökli Tepe (n=2), Nevalı Çori (n=40), Kehlheim (n=8) und Unterigling (n=5) festgestellt. Aus den Proben Gö2, NC23, NC29, NC30 und NC45 konnten trotz mehrfacher Aufarbeitung keine Daten gewonnen werden.

Die Gesamtstichprobe hat einen Mittelwert des D/L-Asp-Quotienten von 0,0537 mit einer Standardabweichung von 0,0286 (minimaler Wert: 0,0233 (H3); maximaler Wert: 0,1907 (NC50)). Die Abbildung IV.47 zeigt die D/L-Quotienten-Verteilung der humanen archäologischen Proben, getrennt nach Fundkomplexen.

Der Kruskal-Wallis-Test zeigt eine hochsignifikante Abweichung von der Nullhypothese und bestätigt so, dass sich die die Verteilung der D/L-Werte zwischen den Gruppen unterscheidet. Eine Rangkorrelationsprüfung nach Spearman ergibt für die Korrelation zwischen der Liegezeit der Fundplätze und dem ARG einen hochsignifikanten Korrelationskoeffizienten von -3,92. Seine negative Ausprägung zeigt, dass mit zunehmendem Alter der Proben die Werte des ARG zunehmen (Rangordnung mit 1=ältester Fundplatz und 11=jüngster Fundplatz), wobei der Zusammenhang aufgrund des niedrigen Wertes als nicht ausgeprägt zu beurteilen ist.

Auffällig ist die große Spannbreite der Werte des Fundkomplexes Nevalı Çori. Die Fundplätze Hemmingstedt und Etting zeigen ebenfalls eine große Streuung der Werte, während

Fundkomplexe mit ähnlichem oder größerem Stichprobenumfang wie Trier, Flensburg oder Kehlheim relativ geringe Streuungen zeigen (vgl. Abb. IV.47).

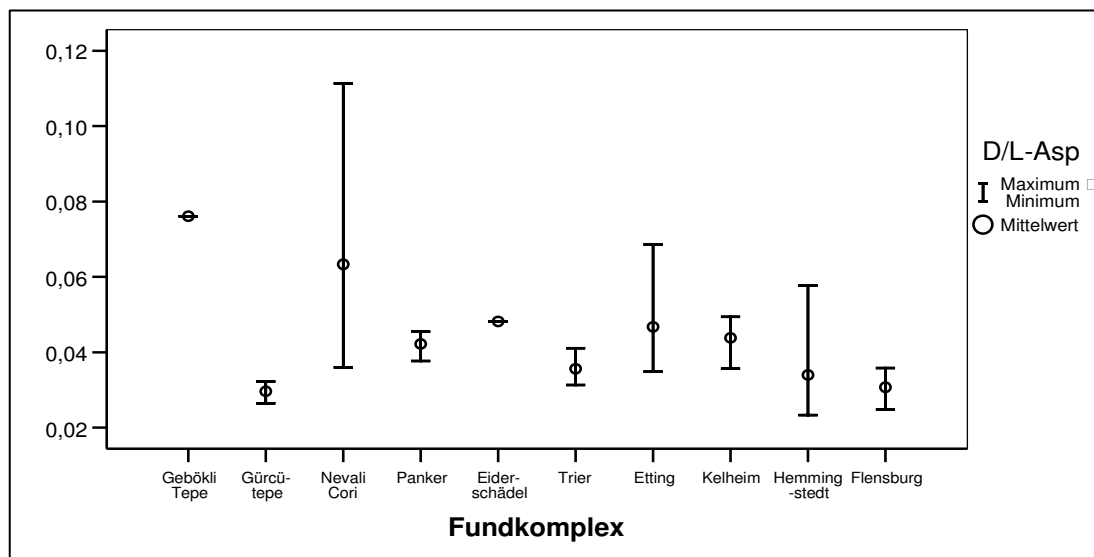


Abb. IV.47: Minimaler, maximaler und mittlerer Wert des Asparaginsäurerazemisierungsgrades der humanen Knochenproben der untersuchten Fundplätze

Die große Streuung wird bei dem Fundkomplex Nevalı Çori hauptsächlich durch zwei Proben bedingt (NC14=0,113, und NC19=0,0991), die mit ihren relativ hohen Werten weit über den D/L-Asp-Quotienten der anderen humanen Knochenproben aus Nevalı Çori liegen (0,0360 bis 0,0634). Mittels des Grubbs-Tests wird die Stichprobe auf Ausreißer untersucht, es konnten keine signifikant bestätigt werden (Prüfgröße für das Minimum: $T1 = 1.1566$ ($p > 0,1000$), Prüfgröße für das Maximum: $T2 = 2,0278$ ($p > 0,1000$)), wobei die kleine Stichprobe ($n=10$) bedacht werden muss und die Testvoraussetzung „Normalverteilung“ bei der Stichprobe fraglich ist.

Die Abbildung IV.48 zeigt die Box-Plots der humanen und tierischen Stichproben aus Nevalı Çori; man erkennt, dass auch im tierischen Untersuchungsgut ungewöhnlich hohe Werte existieren. Ein näherer Vergleich der Razemisierung von Tier- und Menschenknochen findet in dem Abschnitt IV: 3.1 statt.

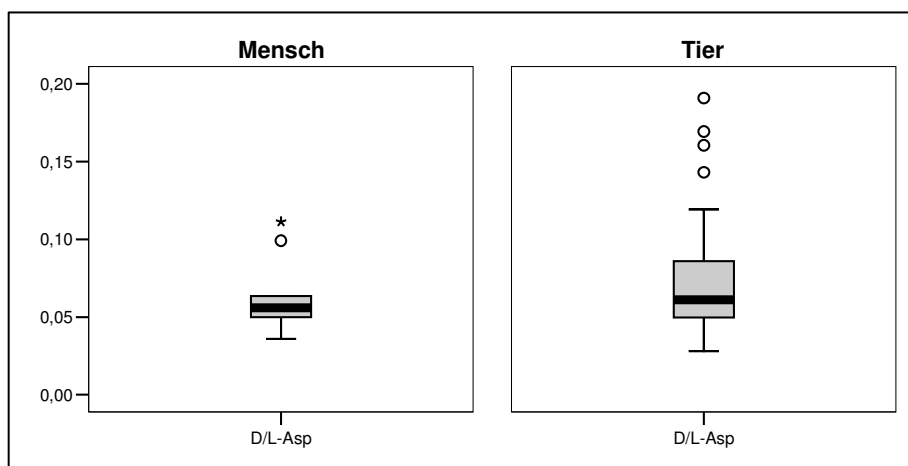


Abb. IV.48: Box-Plot-Darstellung des Medians (mittlerer Strich), des dritten und des ersten Quartils (obere und untere Begrenzung des Balkens), sowie des größten und kleinsten Stichprobenwertes (obere und untere Strichbegrenzung) und vermutlichen Ausreißern (Kreise und Sterne).

IV Ergebnisse

Sowohl im Temperaturexperiment I als auch im Temperaturexperiment II ist eine tendenzielle Zunahme der D/L-Quotienten mit der Inkubationszeit festzustellen (vgl. Abb. IV.49). Im Vergleich nimmt der D/L-Quotient im Temperaturexperiment I wesentlich stärker zu als im Temperaturexperiment II. Der höchste erreichte D/L-Quotient des Temperaturexperimentes II wurde bei der Probe gemessen, die 23 Tage (TE II 23) inkubiert wurde (0,2625), dieser Wert wird bei den Proben des Temperaturexperiments I weit übertroffen. So hat z.B. die Probe des Temperaturexperiments I, die 20 Tage inkubiert wurde, schon einen doppelt so hohen D/L-Quotienten (0,4591) wie TE II 23. Für das Temperaturexperiment I lässt sich eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem D/L-Asp-Quotienten und der Inkubationszeit feststellen. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson beträgt 0,949, mit zunehmender Inkubationszeit nimmt also auch der D/L-Asp-Wert zu. Dieser Zusammenhang ist bei dem Temperaturexperiment II weniger eng, der Korrelationskoeffizient nach Pearson beträgt hier 0,795 (mit $p=0,05$).

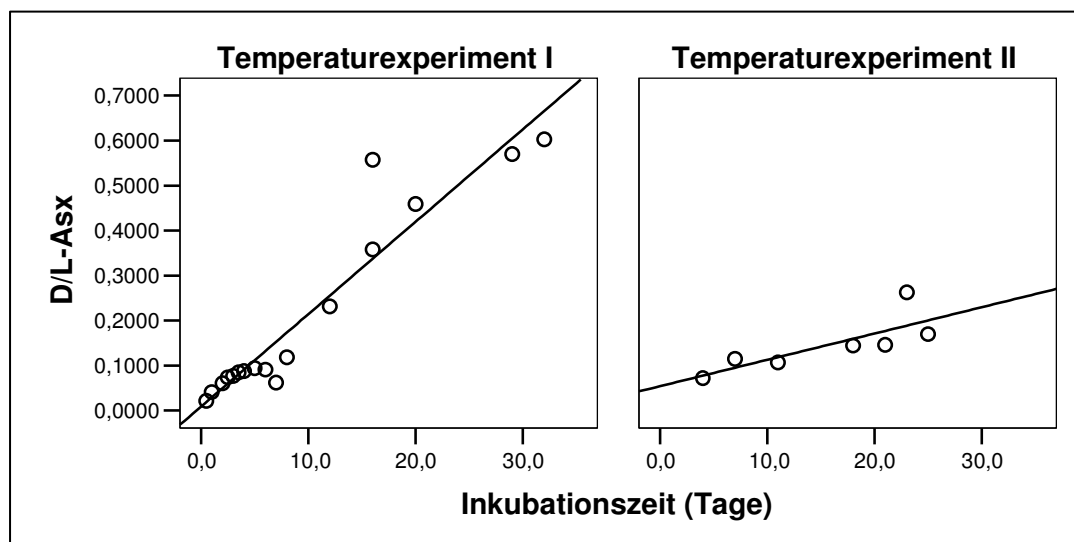


Abb. IV.49: Streudiagramm der D/L-Quotienten, aufgetragen gegen die Inkubationszeit der Temperaturexperimente I und II. Die Regressionsgerade verdeutlicht den Verlaufstrend

1.3.5 Intramolekulare Zusammenhänge

Intramolekulare Zusammenhänge werden bei archäologischem und *in vitro* degradiertem Material getrennt geprüft. Zusammenhänge mit dem Aminosäureprofil werden aufgrund der Komplexität der Daten und der abweichenden Datenskalierung gesondert besprochen.

Eine Prüfung des gesamten archäologischen Materials ($n=122$) auf Korrelationen nach Pearson zeigt eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion und dem prozentualen Kohlenstoffgehalt (Korrelationskoeffizient von 0,37), sowie Korrelationen zwischen dem Kollagengehalt nach Säureextraktion und dem Stickstoff- (Korrelationskoeffizient: 0,269) und Kohlenstoffgehalt (Korrelationskoeffizient: 0,472). Die niedrigen Korrelationskoeffizienten weisen darauf hin, dass der Zusammenhang nicht stark linear sein kann. Die Abbildung IV.50 zeigt den Zusammenhang von C% und Kollagengehalt nach Säureextraktion in Gew%.

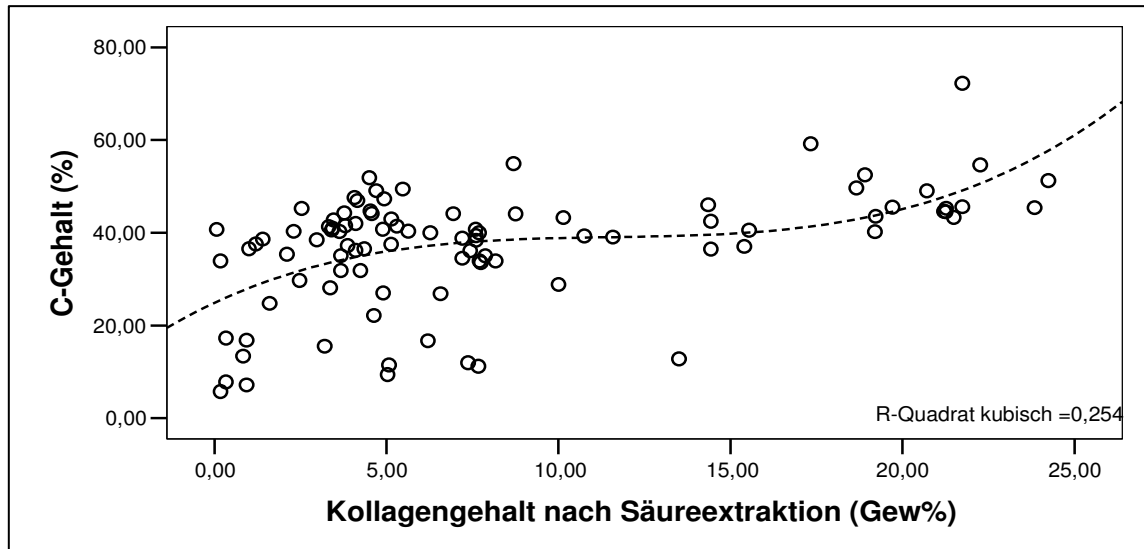


Abb. IV.50: Kohlenstoffgehalt aufgetragen gegen den Kollagengehalt nach Säureextraktion in Gew%; gestrichelte Linie zeigt den kubischen Charakter dieser Beziehung

Man erkennt, dass höhere Kollagengehalte ebenfalls höhere Kohlenstoffgehalte aufweisen und umgekehrt, wobei dieser Zusammenhang nicht linear ist, sondern in Proben, in denen unter 10 Gew% Kollagen festgestellt werden, genauso hohe C-Gehalte festgestellt werden können wie bei Proben, die z.B. 20Gew% Kollagen zeigen.

Der Aminosäurerazemisierungsgrad korreliert hochsignifikant negativ sowohl mit dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (Korrelationskoeffizient $-0,316$), wie auch nach Säureextraktion (Korrelationskoeffizient $-0,413$).

Die Abbildung IV.51 gibt diesen Zusammenhang, der wiederum nicht linear ist, wieder: Extrem hohe D/L-Asp-Werte kommen nur bei Proben mit niedrigen prozentualen Kollagenanteilen vor, die allerdings ebenso niedrige D/L-Asp-Werte aufweisen können. D/L-Asp-Quotienten von über 0,1 kommen hingegen nur bei Proben mit unter 4 Gew% Kollagen vor.

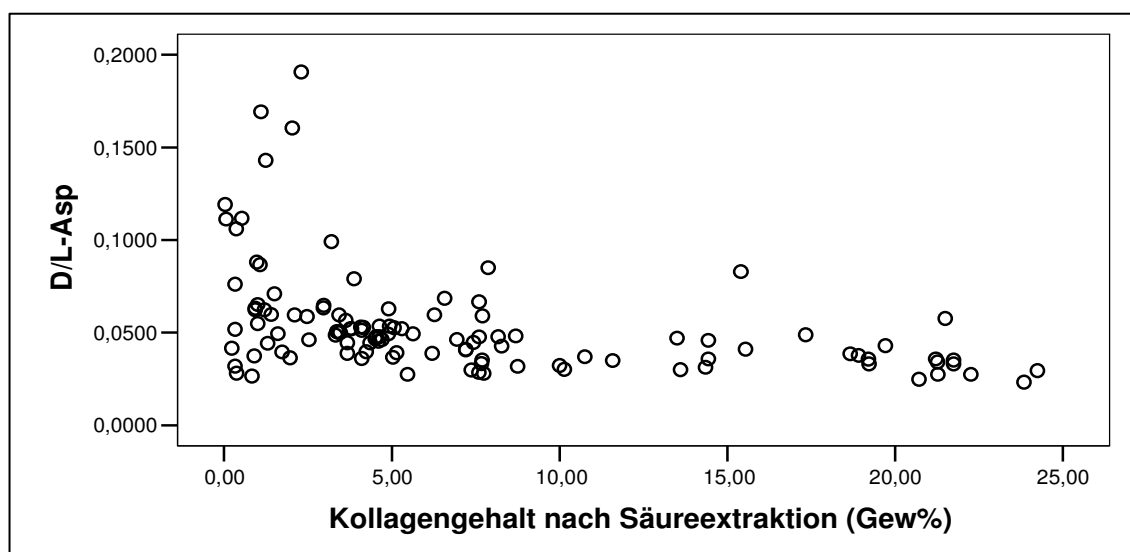


Abb. IV.51: Nichtlinearer Zusammenhang zwischen Kollagengehalt nach Säureextraktion (Gew%) und dem D/L-Asp-Quotienten

IV Ergebnisse

Der Kollagengehalt nach Gelatine- und Säureextraktion, C- und N-Gehalt und der ARG zeigen, wie oben dargestellt, einen Zusammenhang mit der Liegezeit, so dass die hier gezeigten Korrelationen sekundär durch einen primären Zusammenhang mit der Liegezeit entstehen könnten.

Weitere signifikante Zusammenhänge der Merkmale C- und N-Gehalt, C/N-molar, D/L-Asp und Kollagengehalt in Gewichtsprozent lassen sich mittels der Korrelationsanalyse nach Pearson nicht nachweisen. Nach Umwandlung der Daten in ordinales Skalenniveau und Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Spearman vergrößern sich oben gezeigte Korrelationskoeffizienten und weniger lineare Zusammenhänge werden angezeigt (siehe Tab. IV.8).

Tab. IV.8: Korrelationsmatrix nach Spearman, welche die Zusammenhänge zwischen den intramolekularen Merkmalen des Kollagens zeigt. **=Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant, =Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant

		D/L-Asp	Kollagen- anteil (Gew%) nach GE	Kollagen- anteil (Gew%) nach SE	N%	C%	C/N molar
D/L-Asp	Korrelations- koeffizient	1,000	-,374(**)	-,551(**)	-,338(**)	-,301(**)	-,174
	Sig. (2-seitig)	.	,000	,000	,001	,003	,095
	n	115	115	113	93	93	93
Kollagenanteil (Gew%) nach GE	Korrelations- koeffizient	-,374(**)	1,000	,709(**)	,459(**)	,553(**)	,119
	Sig. (2-seitig)	,000	.	,000	,000	,000	,245
	n	115	122	120	97	97	97
Kollagenanteil (Gew%) nach SE	Korrelations- koeffizient	-,551(**)	,709(**)	1,000	,462(**)	,449(**)	,204(*)
	Sig. (2-seitig)	,000	,000	.	,000	,000	,047
	n	113	120	120	95	95	95
N%	Korrelations- koeffizient	-,338(**)	,459(**)	,462(**)	1,000	,588(**)	-,053
	Sig. (2-seitig)	,001	,000	,000	.	,000	,607
	n	93	97	95	97	97	97
C%	Korrelations- koeffizient	-,301(**)	,553(**)	,449(**)	,588(**)	1,000	,160
	Sig. (2-seitig)	,003	,000	,000	,000	.	,117
	n	93	97	95	97	97	97
C/N molar	Korrelations- koeffizient	-,174	,119	,204(*)	-,053	,160	1,000
	Sig. (2-seitig)	,095	,245	,047	,607	,117	.
	n	93	97	95	97	97	97

Die Korrelation der Merkmale des Temperaturexperimentes I ist Tab. IV.9 zu entnehmen. Es fällt auf, dass die Zusammenhänge linearer ausgeprägt sind, im Vergleich zum archäologischen Material (höhere Korrelationskoeffizienten nach Pearson). Dies gilt insbesondere für die Korrelation des ARG mit den anderen Merkmalen.

Wie oben gezeigt, korrelieren alle Merkmale ebenfalls mit der Inkubationszeit, so dass nicht auszuschließen ist, dass es sich bei den Korrelationen untereinander um sekundäre Zusammenhänge handelt. C-, N- und Kollagengehalte sinken mit zunehmender Inkubationszeit, während der C/N-molar-Quotient und der ARG zunehmen.

Der Razemisierungsgrad zeigt anhand seines hohen Korrelationskoeffizienten eine stark lineare Beziehung zur Inkubationszeit.

Bei dem Temperaturexperiment II lässt sich eine Korrelation des Razemisierungsgrades mit dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (Korrelationskoeffizient $-0,585$) und Säureextraktion (Korrelationskoeffizient $-0,729$) feststellen. Auch bei diesem Experiment findet sich eine Korrelation der Inkubationszeit mit dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion und dem Razemisierungsgrad, allerdings nicht mit dem Kollagengehalt nach Säureextraktion.

IV Ergebnisse

Tab. IV.9: Korrelationsmatrix nach Pearson der Merkmale vom Kollagen der Proben des Temperaturexperimentes I, *=signifikante Korrelation, **=hochsignifikante Korrelation

		Kollagen- gehalt nach GE (Gew%)	Kollagen- gehalt nach SE (Gew%)	N-Gehalt (%)	C-Gehalt (%)	C/N molar
Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (%)	Korrelations- koeffizient	1,000	,795(*)	,156	,486	,502(*)
	Sig. (2-seitig)	.	,010	,594	,078	,040
	n	17	9	14	14	17
Kollagengehalt nach Säureextraktion (%)	Korrelations- koeffizient	,795(*)	1,000	,214	,571	,259
	Sig. (2-seitig)	,010	.	,645	,180	,500
	n	9	9	7	7	9
N-Gehalt (%)	Korrelations- koeffizient	,156	,214	1,000	,736(**)	-
	Sig. (2-seitig)	,594	,645	.	,003	,034
	n	14	7	14	14	14
C-Gehalt (%)	Korrelations- koeffizient	,486	,571	,736(**)	1,000	-,103
	Sig. (2-seitig)	,078	,180	,003	.	,725
	n	14	7	14	14	14
C/N molar	Korrelations- koeffizient	,502(*)	,259	-,569(*)	-,103	1,000
	Sig. (2-seitig)	,040	,500	,034	,725	.
	n	17	9	14	14	17
D/L-Asp	Korrelations- koeffizient	-,941(**)	-,767(*)	-,323	-,600(*)	-,337
	Sig. (2-seitig)	,000	,016	,260	,023	,186
	n	17	9	14	14	17

Bei der Prüfung der Merkmale auf Zusammenhänge mit dem Aminosäureprofil dient die Einteilung des Kollagenerhaltes (gut, schlecht) als Qualitätsmerkmal. Den Zusammenhang zwischen den Merkmalen der Aminosäurekonzentration in 100mg Knochen zu prüfen ist überflüssig, weil diese per Definition vom Kollagengehalt abhängt.

Es ist kein statistischer Zusammenhang zwischen Kollagengehalt nach Säureextraktion oder nach Gelatineextraktion und der Kollagenqualität festzustellen (archäologisches Material, n=45). Auch Kollagengehalte unter 5Gew% zeigen Proben mit gutem Kollagen, als Trend ist allerdings festzustellen, dass Proben mit diesem geringem Gew% häufiger schlechtes Kollagen bei beiden Extraktionsmethoden zeigen (Abb. IV.52). Allerdings haben von den sechs archäologischen Knochenproben, die nach Gelatineextraktion Kollagengehalte von unter 1Gew% aufweisen fünf eine gute Kollagenqualität.

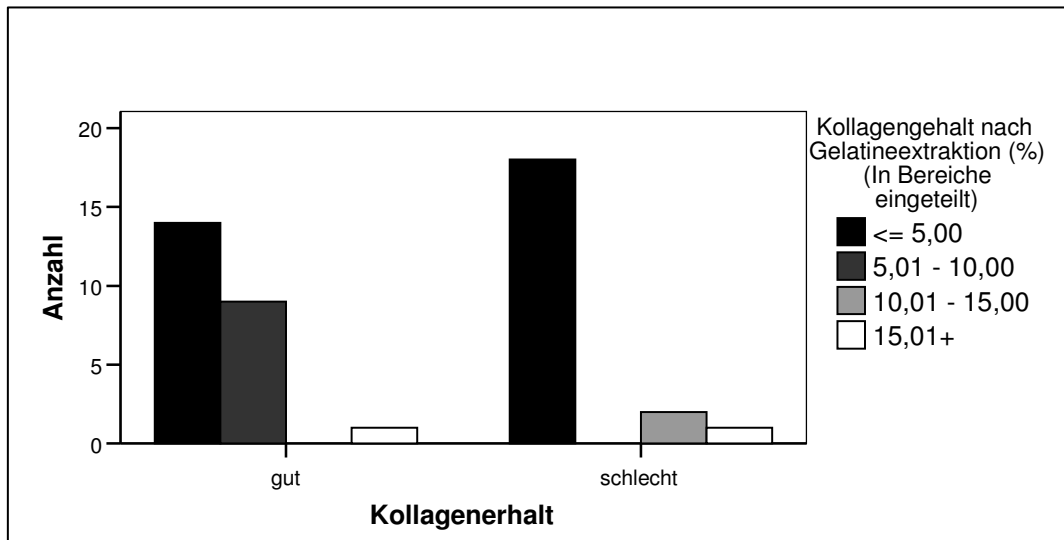


Abb. IV.52: Kollagengehalte der archäologischen Proben nach Gelatineextraktion getrennt dargestellt nach gutem und schlechtem Kollagenerhalt

Es kann kein statistischer Zusammenhang zwischen den C- und N-Gehalten und der Kollagenqualität festgestellt werden.

Für die Feststellung eines Zusammenhanges der Kollagenqualität (Kollagenerhalt) und des Quotienten C/N wurden die Werte des Quotienten in zwei Klassen eingeteilt. In der einen Klasse sind alle Proben mit den C/N-Quotienten von 2,9 bis 3,6 (Spannweite für gut erhaltenes Kollagen nach De Niro 1989) enthalten (keine Probe mit einem Wert unter 2,9), während die andere Klasse alle Proben mit einem Quotienten von über 3,6 angibt. Es konnte mit dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Fischer kein Zusammenhang zwischen Kollagenqualität (Kollagenerhalt) und C/N-Quotient gezeigt werden.

Die Abbildung IV.53 zeigt, dass Proben mit einem Wert zwischen 2,9 und 3,6 sowohl „gutes“ als auch „schlechtes“ Kollagen enthalten, gleiches gilt für Proben mit C/N-Quotienten von über 3,6.

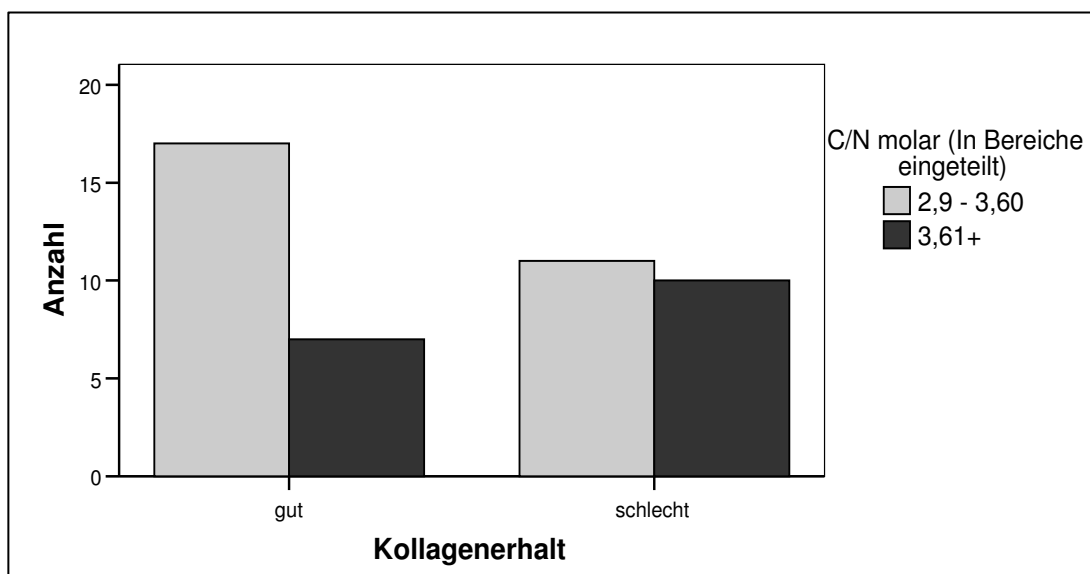


Abb. IV.53: Anzahl der archäologischen Proben mit C/N molar-Quotienten von 2,9 bis 3,6 bzw. darüber und ihrer Zuordnung zu gutem bzw. schlechtem Kollagenerhalt

IV Ergebnisse

Um eine Vergleichbarkeit des Razemisierungsgrades mit dem nominal skalierten Erhaltungsgrad des Kollagens („gut“, „schlecht“) zu erreichen, werden die D/L-Quotienten in fünf Klassen eingeteilt:

- Klasse 1: Proben mit D/L-Quotienten von 0,02 bis 0,03 (8 Proben)
- Klasse 2: Proben mit D/L-Quotienten über 0,03 bis 0,04 (17 Proben)
- Klasse 3: Proben mit D/L-Quotienten über 0,04 bis 0,05 (13 Proben)
- Klasse 4: Proben mit D/L-Quotienten über 0,05 bis 0,06 (5 Proben)
- Klasse 5: Proben mit D/L-Quotienten über 0,06 (1 Probe)

Wie man in Abbildung IV.54 erkennt, verteilen sich die erstellten D/L-Quotienten-Klassen unterschiedlich auf die Bereiche „gutes“ und „schlechtes“ Kollagen. So wird das Kollagen der Proben mit einem D/L-Quotienten von über 0,05 immer als schlecht klassifiziert. Allerdings sind Proben aller Klassen in dem Bereich „schlechtem“ Kollagens vorhanden. Proben mit D/L-Quotienten bis 0,04 zeigen weitaus häufiger gutes als schlechtes Kollagen. Der Craddock-Flood-Test zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem D/L-Asp-Quotienten und der Kollagenqualität.

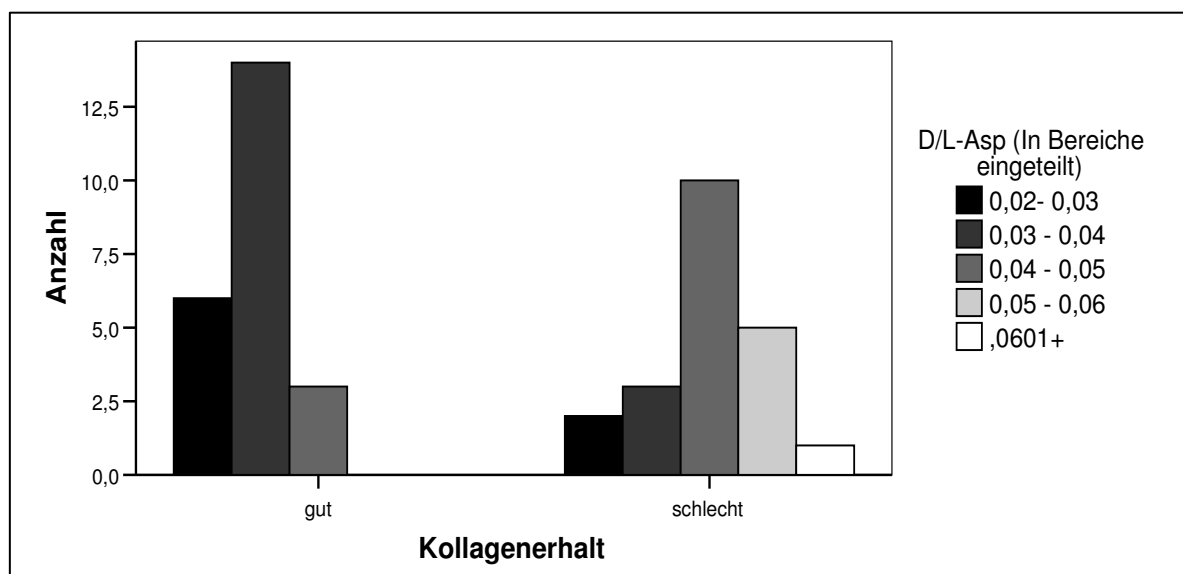


Abb. IV.54: Zusammenhang des D/L-Quotienten mit dem Kollagenerhaltungsgrad (Kollagenqualität) bei archäologischem Probenmaterial

Der prozentuale Kollagengehalt nach Gelatineextraktion weist statistisch weder bei dem Temperaturexperiment I noch bei dem Temperaturexperiment II einen Bezug zur Kollagenqualität auf. Auch bei dem Temperaturexperiment I nach Säureextraktion ist kein statistischer Zusammenhang des anteiligen Kollagengehaltes mit der Kollagenqualität festzustellen. Es fällt auf, dass die Proben mit einem Kollagengehalt von über 10Gew% durchgehend „gute“ Kollagenerhalte zeigen, allerdings haben Proben mit anteiligem Kollagengehalt von unter 5Gew% sowohl „gute“ wie auch „schlechte“ Kollagenqualitäten (festgestellt bei Säureextrahierten Proben, Abb. IV.55). Auch bei prozentualen Kollagengehalten unter 0,5% (z.B. Gü2 mit 0,14Gew%) konnte eine gute Qualität des Kollagenextraktes festgestellt werden (vgl. I: 4.2).

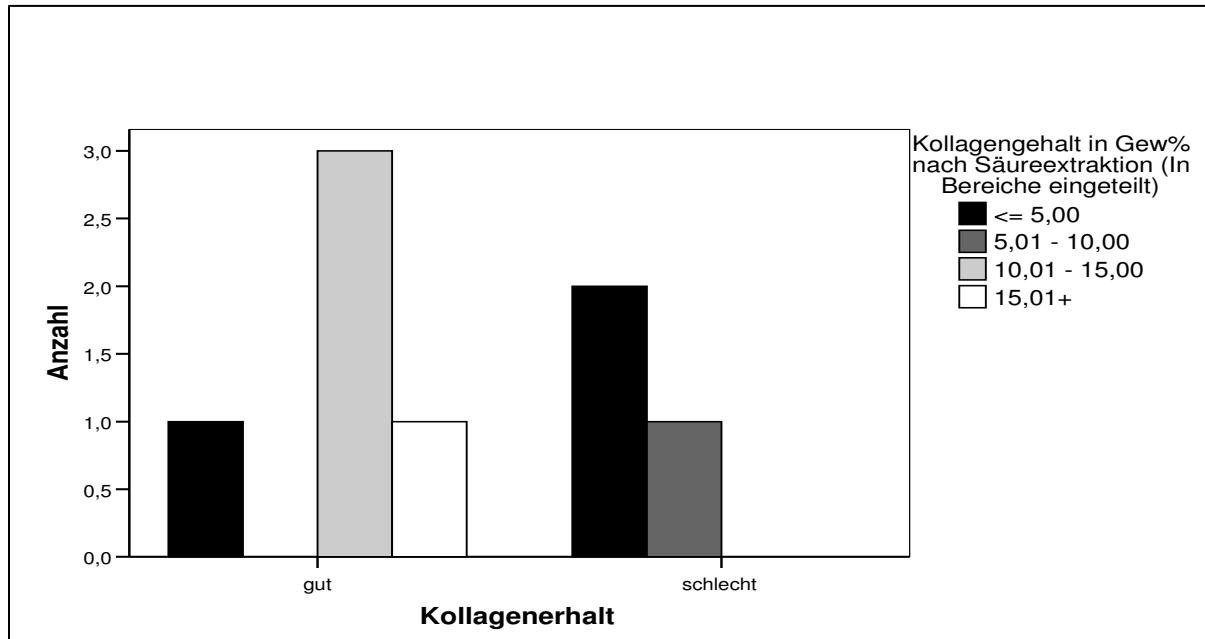


Abb. IV.55: Kollagengehalte der Proben des Temperaturexperimentes I nach Säureextraktion, getrennt dargestellt nach gutem und schlechtem Kollagenerhalt (festgestellt bei säureextrahierten Proben)

Nur bei den Proben des Temperaturexperimentes I wurden C%, N% und der C/N-Quotient ermittelt, so beziehen sich folgende Aussagen ausschließlich auf diese.

Statistisch ist kein Zusammenhang zwischen N-Gehalt und Kollagenerhaltungsgrad nachzuweisen. Es fällt allerdings auf, dass bei allen Proben mit N-Gehalten von über 10% durchgehend ein „guter“ Kollagenerhaltungsgrad auftritt und Proben mit N% unter 5 nur „schlechte“ Kollagenqualität liefern (vgl. Abb. IV.56).

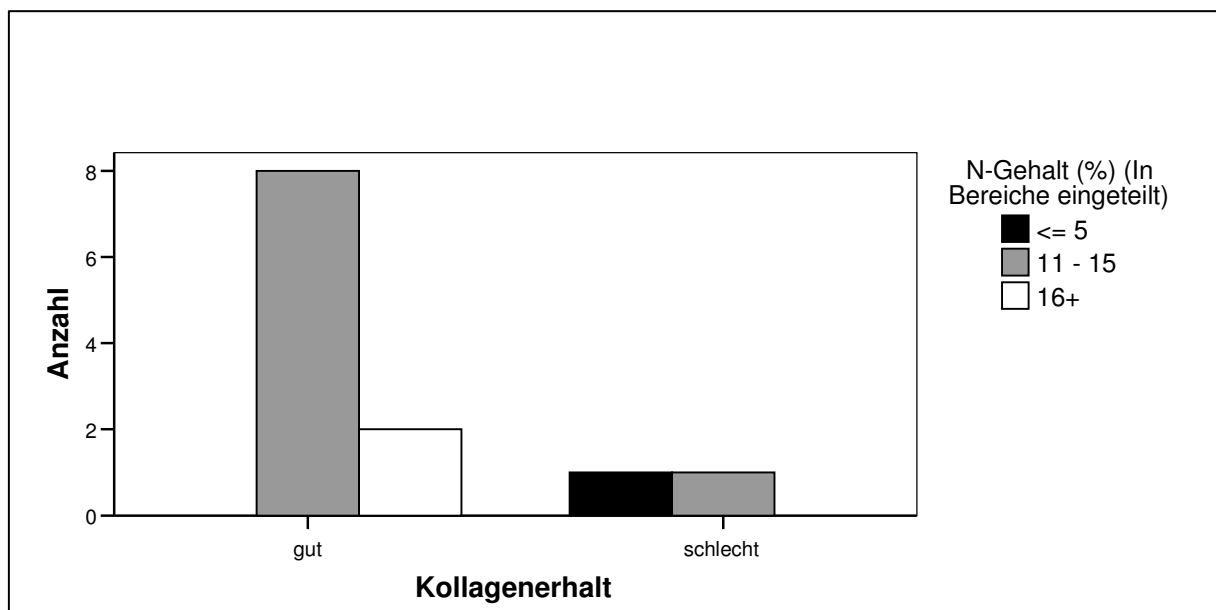


Abb. IV.56: N-Anteile (%) und Kollagenerhalt der Proben des Temperaturexperimentes I

Auch die C-Gehalte und der Kollagenerhalt weisen statistisch keinen Zusammenhang auf. Es zeigt sich aber, dass Proben mit einem C%-Gehalt von 15% ausschließlich „schlechtes“ Kollagen

IV Ergebnisse

zeigen, während Proben mit einem Gehalt über 40Gew% (keine Proben mit Werten zwischen 15% und 41% vorhanden) mit einer Ausnahme (TE I 1) einen „guten“ Kollagengehalt aufweisen. Inwieweit diese Beobachtung eine Folge des Zusammenhanges der Merkmale mit der Inkubationszeit ist, kann nicht festgestellt werden.

Die Abbildung IV.57 zeigt die Proben mit einem C/N-Quotienten innerhalb und außerhalb des von DeNiro (1985) aufgestellten Rahmens im Zusammenhang mit der Beurteilung des Kollagenerhaltes. Alle Proben mit C/N-Quotienten von 2,9-3,6 weisen „gutes“ Kollagen auf. Allerdings zeigen auch die meisten Proben mit Werten von über 3,6 einen „guten“ Kollagenerhalt. Ein statistischer Zusammenhang zwischen diesen beiden Merkmalen kann nicht gefunden werden (Chi-Quadrat, exakter Test nach Fischer)

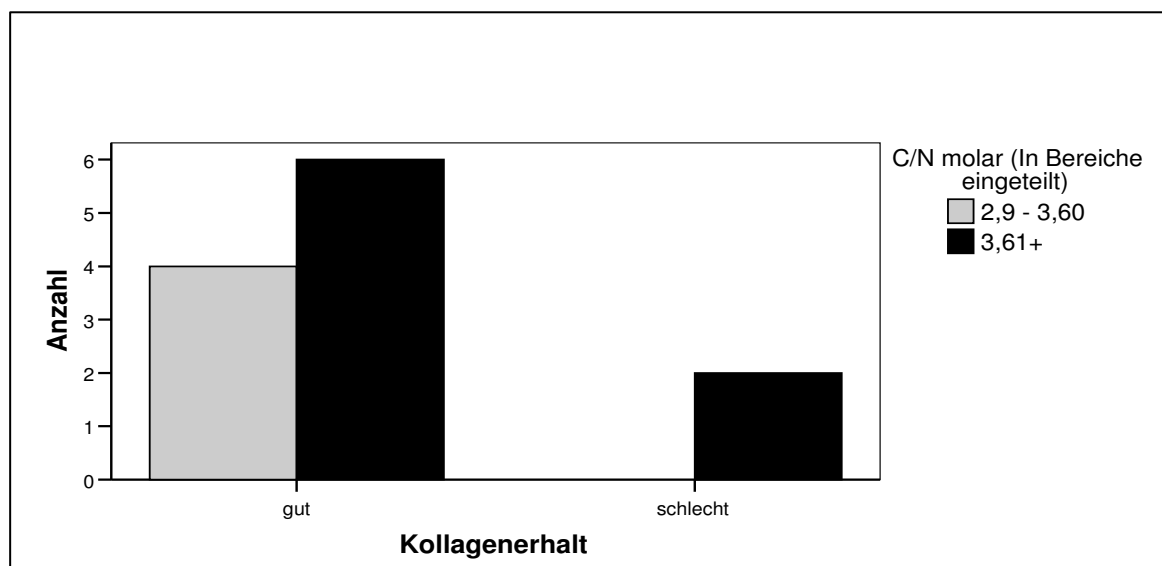


Abb. IV.57: Anzahl der Proben des Temperaturexperimentes I mit C/N molar-Quotienten von 2,9 bis 3,6 bzw. darüber und ihrer Zuordnung zu gutem bzw. schlechtem Kollagenerhalt

Um eine Vergleichbarkeit des Razemisierungsgrades mit dem Erhaltungsgrad des Kollagens zu erreichen, werden die D/L-Quotienten in Klassen wie schon bei dem archäologischen Material (s. o.) eingeteilt. Diese werden allerdings aufgrund der geringeren Stichprobe weiter gefasst:

- Klasse 1: Proben mit D/L-Quotienten unter 0,05 (2 Proben)
- Klasse 2: Proben mit D/L-Quotienten über 0,05 bis 0,1 (8 Proben)
- Klasse 3: Proben mit D/L-Quotienten über 0,1 bis 0,15 (3 Proben)
- Klasse 3: Proben mit D/L-Quotienten über 0,15 (2 Proben)

Es ist kein statistischer Zusammenhang nachweisbar. Es zeigt sich aber, dass die Proben im Temperaturexperiment I über einen Wert von 0,11 „schlechtes“ Kollagen aufweisen, dies betrifft alle Proben, die mehr als 8 Tage inkubiert wurden. Weiterhin findet sich „schlechtes“ Kollagen in der Probe TE I 1, mit einem geringen Razemisierungswert von 0,02.

Im Temperaturexperiment II zeigen Proben mit einem D/L-Quotienten von über 0,14 (ab einer Inkubation über 18 Tagen) ausschließlich „schlechtes“ Kollagen. Aufgrund der geringen Stichprobe kann auch hier keine statistische Überprüfung stattfinden.

1.4 DNA

Stichprobenweise werden sowohl bei archäologischen (n=48) und bei kremierten (n=10) Proben sowie den Proben des Temperaturexperimentes I (n=17) und des Temperaturexperimentes II (n=6) molekulargenetische Analysen durchgeführt.

Die Ergebnisse der Analyse der archäologischen Fundplätze Panker, Trier, Hemmingstedt und Flensburg, sowie insbesondere des Temperaturexperimentes I werden ausführlich bei Harbeck (2002) besprochen, so dass diese Ergebnisse hier nur vertiefend im Zusammenhang mit den neu ermittelten Werten gezeigt werden sollen. Da die Aussagen der Ergebnisse hinsichtlich der Allelverteilung oder der Geschlechtsbestimmung der Proben in dieser Arbeit keine Rolle spielen, ist nur die allgemeine Amplifizierbarkeit der Proben dargestellt.

1.4.1 Signale der Agarosegelelektrophorese

Bei Betrachtung aller Fundkomplexe zeigen ca. 10% der Proben kein DNA-typisches Signal in der Agarosegelelektrophorese. Bei keiner Probe ist eine hochmolekulare Bande (siehe III: 11.3) nachzuweisen, sondern es zeigt sich in verschieden starker Ausprägung eine feine „Schmier“ (siehe Abb. IV.59) über die gesamte Lauffront. Mittels eines Index wurde die Stärke der Fluoreszenz beurteilt. Die Verteilung (Median 1) in der archäologischen Stichprobe zeigt Abbildung IV.58.

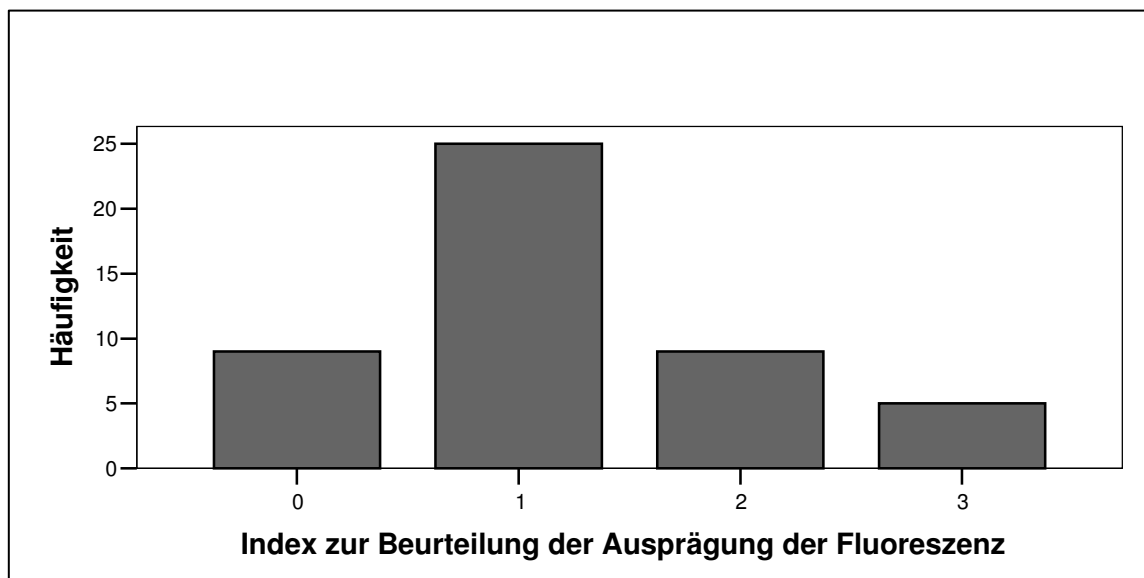


Abb. IV.58: Verteilung der Ausprägung der Fluoreszenz bei Betrachtung der Proben in der Agarosegelelektrophorese. Beurteilung erfolgt durch einen Index (0=keine Fluoreszenz, 3= stark ausgeprägte Fluoreszenz)

Von den untersuchten Proben aus Gürcütepe (n=1), Geböklitepe (n=1) und Nevalı Çori (n=4) konnten keine DNA-typischen Signale in der Agarosegelelektrophorese festgestellt werden. Eine blaugrüne Fluoreszenz ist bei den Proben Gö2 und NC13 ersichtlich. Das DNA-Extrakt des Eiderschädels zeigt in der Agarosegelelektrophorese ebenfalls keine DNA-Signale, sondern einen stark bläulich fluoreszierenden Schmier.

IV Ergebnisse

Die Proben des Ettinger Fundkomplexes zeigen bis auf eine (E29) schwache DNA-Signale in der Agarosegelelektrophorese, allerdings keine hochmolekularen Banden, sondern „Schmier“ über die Lauffront. Blaugrünliche Fluoreszenz zeigte sich nicht (siehe Abb. IV.59).



Abb. IV.59: Agarosegel mit aufgetrennten Extrakten des Ettinger Fundkomplexes. Das Foto wurde aufgehellt und der Kontrast automatisch verstärkt (Photoshop 5.0.2). Man erkennt keine klar differenzierbaren Banden, sondern einen fluoreszierenden „Schmier“ über der Laufbahn

Bei Betrachtung des gesamten archäologischen Knochenmaterials zeigen ca. 65% der Proben keine grünlichblaue Fluoreszenz bei Auftrennung im Agarosegel. Bei 27% ist eine schwache grünliche Fluoreszenz zu erkennen, während jeweils 4% der Proben stärkere bis stark ausgeprägte Signale hervorrufen.

Die Proben des Temperaturexperimentes I zeigen ebenfalls nur eine feine „Schmier“ über die gesamte Laufbahn. Dabei nimmt die Intensität der Fluoreszenz mit zunehmender Inkubationszeit der Proben ab. Ab der Probe des sechsten Tages sind keine Signale mehr feststellbar (Harbeck 2002). Im Gegensatz hierzu ergibt sich bei keiner Probe des Temperaturexperimentes II eine DNA-typische Fluoreszenz. Grünliche Fluoreszenz ist bei keiner Probe der Temperaturexperimente zu beobachten.

Bei sieben Extrakten der Proben des kremierten Knochenmaterials erscheint ein, wenn auch meist nur schwaches, Signal in der Agarosegelelektrophorese. Hochmolekulare DNA ist nicht festzustellen, ebenso keine blaugrünliche Fluoreszenz.

1.4.2 Amplifizierbarkeit mittels Duplex- bzw. Triplex-PCR

Die in der vorliegenden Untersuchung analysierten Proben wurden mittels Triplex-PCR auf ihre Amplifizierbarkeit getestet, während jene in vorhergehenden Untersuchungen (Harbeck 2002, von Wurmb-Schwark et al. 2003) mittels Duplex-PCR amplifiziert wurden, so dass eine Vergleichbarkeit nur bedingt gegeben ist. Insgesamt ließen sich humanspezifische kleine Fragmente bei 54% der Proben amplifizieren, während dementsprechend 46% der Proben keine Amplifizierung zuließen.

Von den Proben aus Gürcütepe (n=1), Geböklitepe (n=1), Nevalı Çori (n=4) und dem Eiderschädel gelang keine Amplifikation. Sechs Proben des Ettinger Fundkomplexes (40%) ließen sich amplifizieren; diese zeigten mit Ausnahme der Probe E3a nur schwache Signale.

Durch Anwendung des Haldane-Dawson-Tests zeigt sich, dass die Amplifizierbarkeit der Proben signifikant fundplatzabhängig ist ($p=0,000924$); eine Liegezeitabhängigkeit kann statistisch nicht nachgewiesen werden. Die Verteilung innerhalb der Fundkomplexe entnehme man Abbildung IV.60.

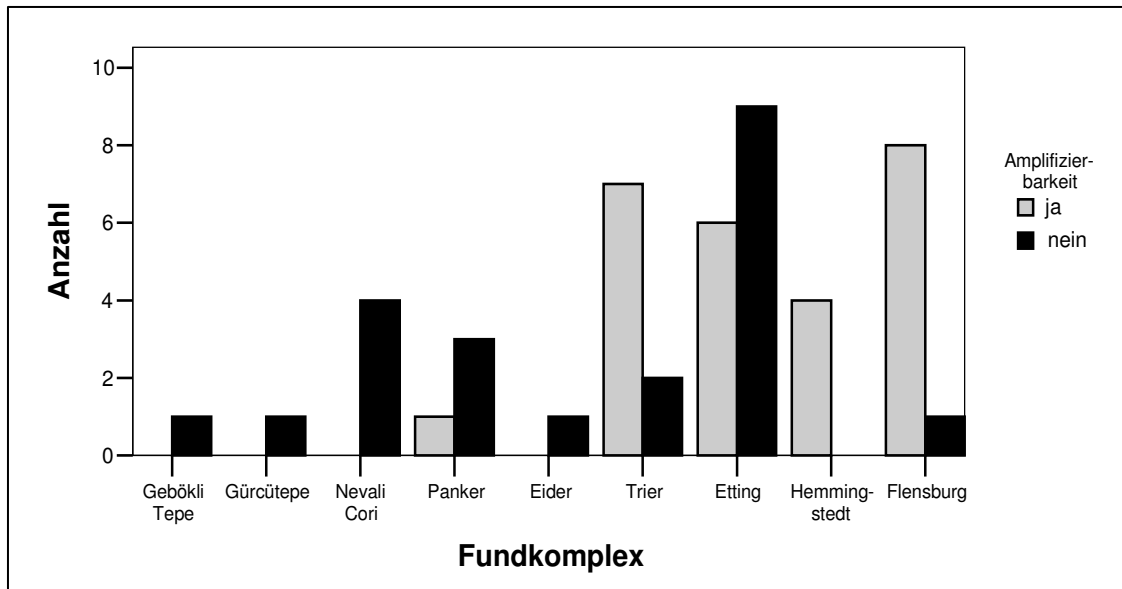


Abb. IV.60: Anzahl der amplifizierbaren und nicht amplifizierbaren Proben pro untersuchtem Fundkomplex

Man erkennt anhand der Abbildung IV.60, dass die wenigsten Proben von den ältesten Fundplätzen amplifiziert werden konnten. Ein Zusammenhang zwischen Liegezeit und Fundplatz soll statistisch nicht untersucht werden, da gerade die älteren Fundplätze nur in geringer Probenzahl vertreten sind und es so zu statistischen Fehleinschätzungen kommen kann.

Die Proben des Temperaturexperimentes I waren ab dem achten Inkubationstag nicht mehr amplifizierbar, wobei ab dem dritten Tag schon Ausfälle beobachtet wurden (Harbeck 2002).

Keine Probe des Temperaturexperimentes II ist amplifizierbar.

Die Amplifizierung von genomischer und mitochondrialer DNA des kremierten Knochenmaterials gelang mittels Duplex-PCR reproduzierbar in neun Fällen, während bei einer Probe (K95) nur die Amplifizierung von mitochondrialer DNA möglich war.

1.4.3 Inhibitortests

Die Proben des archäologischen Materials wurden stichprobenartig auf Inhibitoren getestet, dies geschah zum einen durch Inhibitortests (siehe III: 11.4), zum anderen durch den bei der Triplex-PCR vorhandenen internen Prüfstandard. Von den 37 getesteten Proben zeigten 46% Inhibitoren, bei 54% ließen sich keine feststellen. Während sich bei den untersuchten Proben aus Gebökli Tepe und Nevalı Çori Inhibitoren feststellen lassen, gibt es bei keiner Probe des Ettinger Fundkomplexes einen Hinweis auf Inhibition (vgl. Abb. IV.61).

IV Ergebnisse

Mittels des Haldane-Dawson-Tests lässt sich nachweisen, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen Fundplatz und Inhibitorenanwesenheit besteht ($p=0,0000$); statistisch kann kein Zusammenhang mit der Liegezeit festgestellt werden, da es sich um nominale Daten handelt.

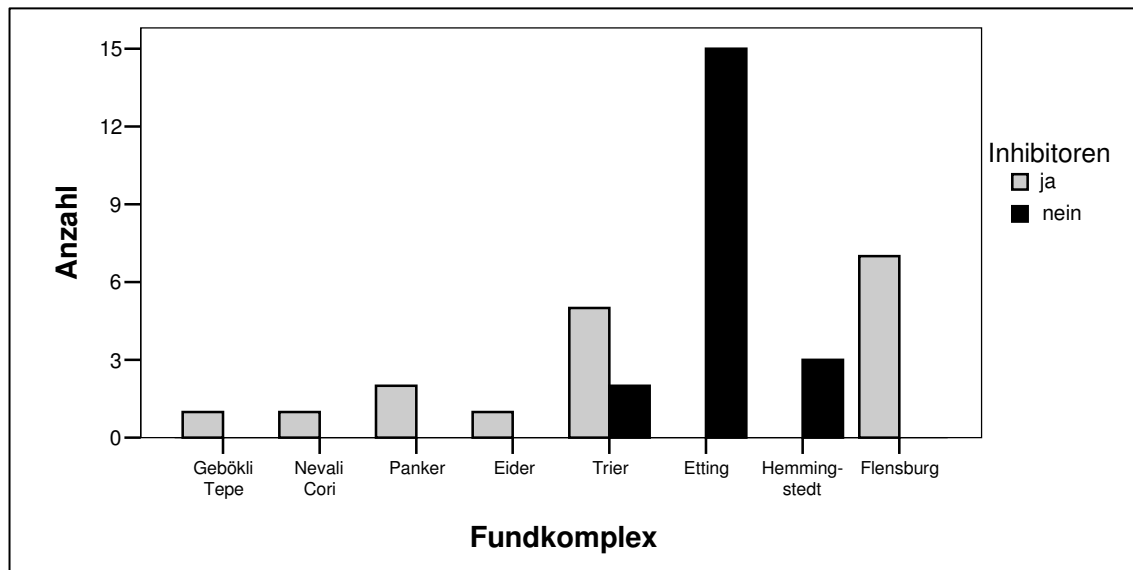


Abb.IV.61: Anzahl der Proben, die Inhibitoren enthalten, pro Fundkomplex

Keine Proben der Temperaturexperimente I oder II zeigen Inhibitoren.

Bei den kremierten Knochenproben ist eine schwache Inhibierung zu erkennen.

1.4.4 Multiplex-PCR: Fragmentierungsgrad

Der Fragmentierungsgrad des archäologischen Materials wurde mittels Multiplex-PCR ausschließlich durch Harbeck (2002) untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Anzahl der amplifizierbaren STR-Systeme im Trend mit zunehmender Liegezeit abnimmt (Korrelationskoeffizient nach Spearman: -0,49).

Außerdem sinkt die Anzahl der Proben, bei denen ein System amplifiziert werden kann, mit zunehmender Länge des Amplifikationsproduktes des entsprechenden Systems. Abbildung IV.62 zeigt diesen Zusammenhang für das archäologische Material, die Proben des Temperaturexperiment I und die kremierten Proben.

Auffällig ist, dass die kremierten Proben diesen Zusammenhang nicht zeigen, dies weist auf eine mögliche Kontaminierung hin.

Die Typisierung der mittels Schleimhautabstrich gewonnenen Kontrollproben der kremierten Proben war bei allen sieben Kontrollproben möglich.

Die Ermittlung von STR-Allelen der kremierten Proben gelang bei nur einer Probe (K100) vollständig. Allerdings war es möglich, mindestens zwei STRs pro Probe zu amplifizieren. Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen auftretenden Systeme entnehme man Abbildung IV.62.

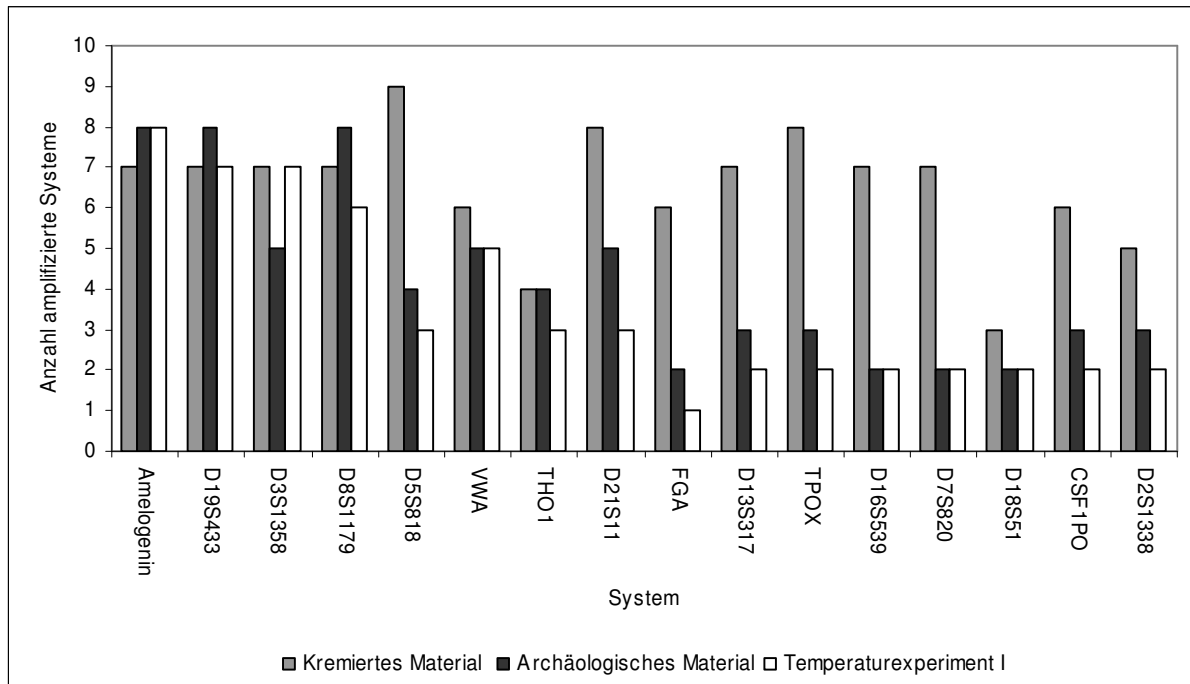


Abb.IV.62: Häufigkeit der amplifizierbaren Systeme mittels Identifiler Plus der unterschiedlichen Materialkomplexe. Die Systeme sind nach der Größe ihrer Amplifikationsprodukte geordnet (links: Amelogenin mit dem kleinsten Amplifikationsprodukt, rechts: D2S1338 mit längstem Amplifikationsprodukt)

Ein Vergleich der Ergebnisse der Kontrollproben mit dem kremierten Material befindet sich im Anhang. Bei keiner Probe ist eine Übereinstimmung des ermittelten Profils zwischen Kontrollprobe und kremiertem Material festzustellen. So ist davon auszugehen, dass die amplifizierte DNA nicht von den kremierten Individuen, sondern von externer DNA (Kontaminationen) stammt.

Bei einigen Proben ist eine Kontamination der in die PCR eingesetzten Probe durch das Auftreten von mehr als 2 Allelen in einem Genort eindeutig zu erkennen (K97, K98, K99, K100). Eine Reproduktion der Ergebnisse gelingt nicht, verschiedene Durchläufe einer Probe durch die PCR zeigen in allen Fällen unterschiedliche Allelmuster.

1.4.5 Intramolekulare Zusammenhänge

Es besteht eine statistisch signifikante Assoziation (exakter Chi-Quadrat-Test nach Fischer mit $p=0,007$) zwischen der Signalgebung auf dem Agarosegel und der Amplifizierbarkeit einer Probe. Diese Assoziation wird anhand einer Kreuztabelle (Tab. IV.10) deutlicher: Wenn kein Signal bei der Agarosegelelektrophorese festgestellt wurde, wird in den meisten Fällen auch keine Amplifizierbarkeit erreicht. Ist allerdings ein Signal detektierbar, kann die Probe in 64% der Fälle amplifiziert werden.

IV Ergebnisse

Tab. IV.10: Kreuztabelle der Merkmale Signal bei Agarosegelelektrophorese und Amplifizierbarkeit

		Amplifizierbarkeit			
		ja	nein	Gesamt	
Signal bei der Agarosegelelektrophorese	ja	Anzahl	25	14	39
		%	64,1%	35,9%	100,0%
	nein	Anzahl	1	8	9
		%	11,1%	88,9%	100,0%
Gesamt		Anzahl	26	22	48
		%	54,2%	45,8%	100,0%

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Amplifizierbarkeit und Inhibitoren kann nicht nachgewiesen werden (Signifikanzprüfung mittels exaktem Chi-Quadrat-Test).

Wie in Abbildung IV.63 zu erkennen, besitzen amplifizierbare Proben einen fast genau so großen Anteil an Proben mit Inhibitoren wie nicht amplifizierbaren Proben.

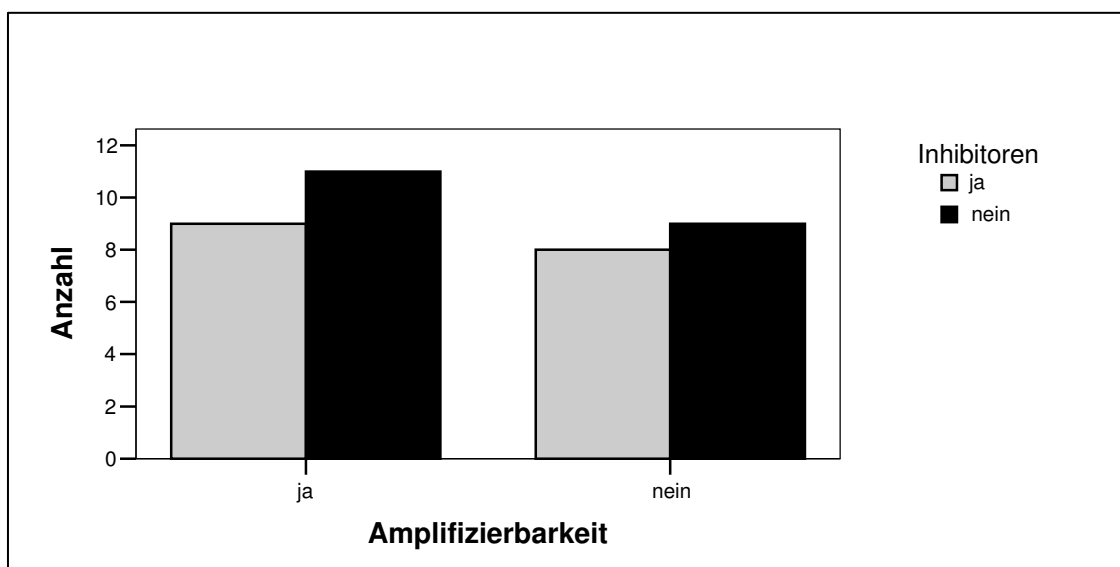


Abb. IV.63: Anzahl der amplifizierbaren Proben mit und ohne Inhibitoren

Es besteht eine signifikante Assoziation (exakter Test nach Fischer mit $p=0,000$) dem Auftreten der blaugrünen Fluoreszenz und der Inhibitorenanwesenheit.

Bei Proben mit Inhibitoren trat in 88% der Fälle eine blaugüne Fluoreszenz in der Agarosegelelektrophorese auf, nur bei zwei Proben war diese nicht festzustellen.

Bei Proben ohne Inhibitoren ($n=20$) konnte in keinem Fall eine blaugüne Fluoreszenz in der Agarosegelelektrophorese beobachtet werden.

1.5 Mineralische Matrix

1.5.1 Prozentualer Anteil anorganischer Substanz

Der Anteil mineralischer Substanz in den Knochenproben wird näherungsweise anhand des prozentualen Gewichtsanteils des extrahierten anorganischen Anteils bestimmt.

Von dem archäologischen Material wurde der prozentuale Anteil organischer Substanz an 46 menschlichen und 16 tierischen Proben (Gesamt-n=63) bestimmt. Die Verteilung hat einen Mittelwert von 58Gew% mit einem kleinsten Wert von 24,76Gew% (T9) und einem maximalen Wert von 84,2Gew% (T6). Die Abbildung IV.65 stellt die Spannweite sowie die Mittelwerte der einzelnen Fundkomplexe ohne Berücksichtigung der beeinflussenden Faktoren Alter und Spezies zur Übersicht graphisch dar.

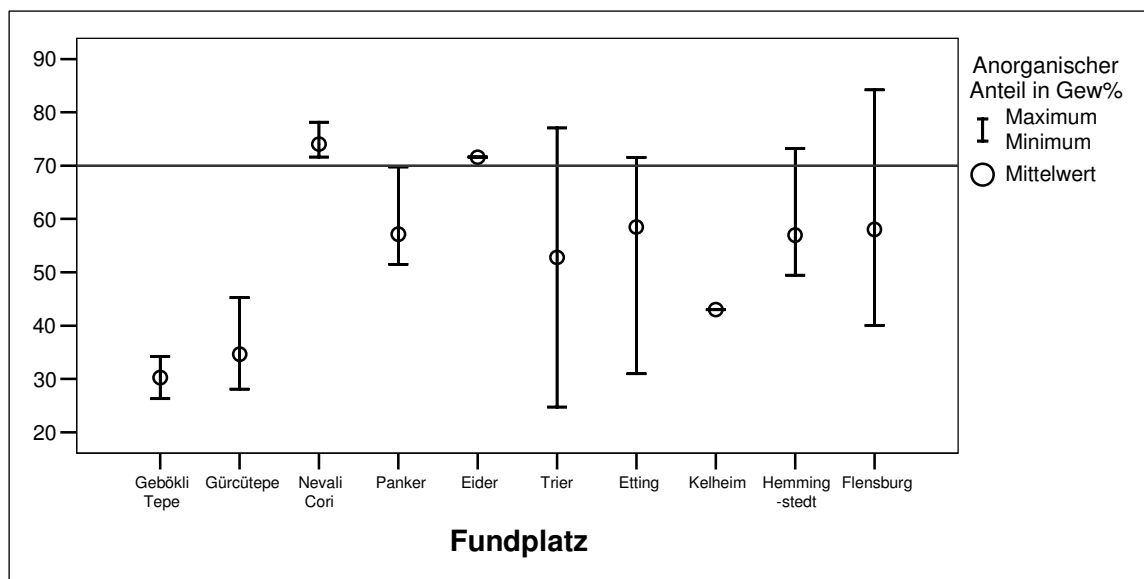


Abb. IV.64: Maximaler, minimaler und Mittelwert der Verteilung des anorganischen Anteils in den einzelnen Fundplätzen, die Linie zeigt den bei rezenten Knochen erwarteten Wert von 70Gew% an

Man erkennt die enorme Variationsbreite der anorganischen Anteile des Knochens auch innerhalb eines Fundplatzes. Die unterschiedlichen Variationsbreiten der einzelnen Fundplätze können nicht mit den Faktoren Alter- und Spezies erklärt werden. Bei dem Großteil der Proben sind weniger mineralische Anteile als bei rezentem Knochen vorhanden. Ausnahmen bilden die Fundplätze Nevali Çori und Eider, wo höhere anorganische Anteile festgestellt werden können.

Betrachtet man die Fundplätze als unterschiedliche Stichproben, kann der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt werden. Dieser zeigt, dass die unterschiedlichen Fundplätze nicht aus einer Grundgesamtheit stammen und sich in der Tendenz hochsignifikant unterscheiden.

Ein Zusammenhang zwischen Liegezeit und anorganischem Anteil der Probe (nach Umwandlung in ordinale Daten) kann nicht bestätigt werden.

IV Ergebnisse

In den Proben des Temperaturexperimentes I schwankt der Anteil der mineralischen Substanz stark, nimmt aber im Trend aufgrund der Abnahme der organischen Matrix (vergleiche IV: 1.3.1) mit zunehmender Inkubationszeit der Proben zu (vgl. Abb. IV.65).

Es tritt ein minimaler Wert von ca. 43% (TE I 1) und ein maximaler Wert von ca. 96% (TE I 32) auf. Der Mittelwert beträgt ca. 63Gew% mit einer Standardabweichung von 13,5Gew%.

Das Temperaturexperiment II zeigt hingegen keine tendenzielle Zunahme des anteiligen mineralischen Gehalts (siehe Abb. IV.65); der minimale Wert entspricht 13,5Gew%, während der maximale Wert 52,7Gew% ist. Hier ergibt sich ein Mittelwert von 55Gew% und eine Standardabweichung von 17Gew%.

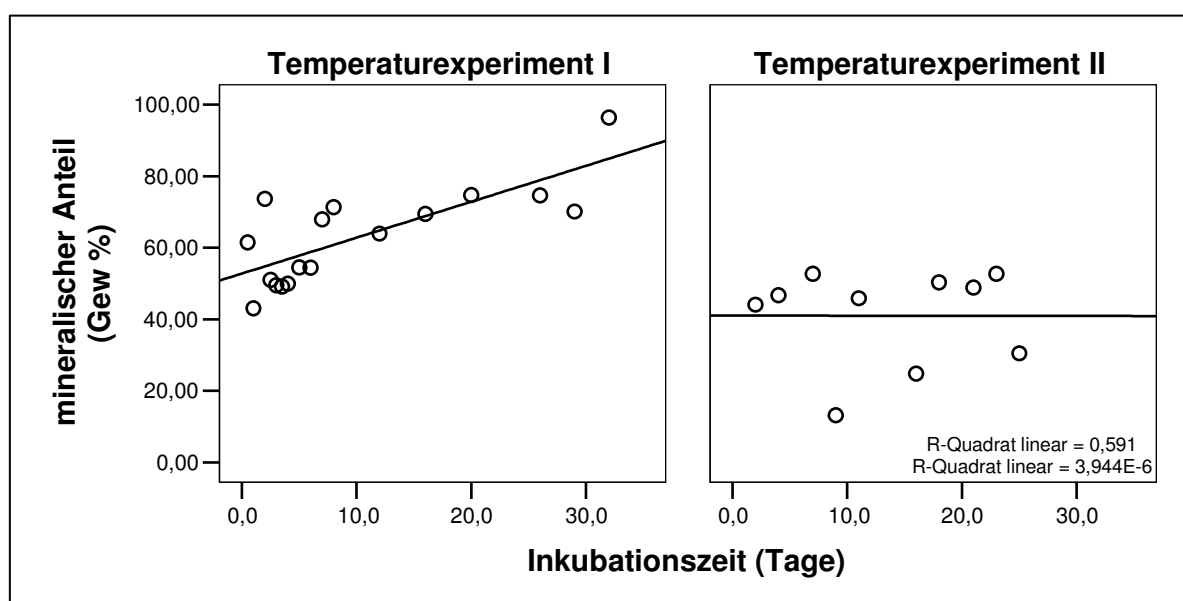


Abb.IV.65: Mineralischer Anteil in Gew% der Proben der Temperaturexperimente I und II gegen ihre Inkubationszeit aufgetragen, die Regressionsgeraden zeigen den tendenziellen Verlauf während des Experimentes

Wie Abbildung IV.65 zu entnehmen ist, unterscheiden sich die Proben des Temperaturexperimentes I und II in ihrer Abhängigkeit von der Inkubationszeit stark. So korrelieren der mineralische Anteil der Proben in Gew% des Temperaturexperimentes I mit der Inkubationszeit (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,769, hochsignifikant), während dies bei den Proben des Temperaturexperimentes II nicht der Fall ist.

Bei allen Proben des kremierten Materials wurde der anorganische Anteil festgestellt, der Mittelwert der Stichprobe beträgt 70% Gewichtsanteil mit einer Standardabweichung von 11,28% Gewichtsanteil, was wiederum auf eine nur unvollständige Verbrennung hinweist. Der minimal auftretende Wert ist 51,96%, der maximale 87,46% (Spannweite 35,50%).

1.5.2 Ca/P-Quotient

Bei 40% der Proben des untersuchten archäologischen Materials ($n=25$) ist der Ca/P-Quotient höher, bei 20% niedriger als die Referenzangaben (2,1 – 2,3, siehe I: 1.2). Der Mittelwert des gesamten archäologischen Probenmaterials beträgt 2,3 mit einer Standardabweichung von 0,36. Es tritt ein minimaler Wert von 1,97 und ein maximaler Wert von 3,13 auf.

Die Konzentrationen in ppm entnehme man dem Anhang, während die Tabelle IV.11 (Seite 158) die Ca/P-Quotienten für die einzelnen Proben auflistet.

Betrachtet man die Ca/P-Werte der Proben innerhalb eines Fundplatzes (Abb. IV.66), dann fällt auf, dass alle Proben der Fundplätze Nevalı Çori und Gürcütepe, wie auch der Eiderschädel von den Referenzwerten abweichende Ca/P-Quotienten haben. Dies gilt mit einer Ausnahme (E2) auch für die analysierten Proben des Fundplatzes Etting.

Die Proben der Fundplätze Trier und Flensburg liegen hingegen innerhalb des Referenzbereiches oder um wenigstens (höchstens um ein 0,1) darunter, allerdings nie darüber. Die Proben des Hemmingstedter Fundkomplexes sind die einzigen, die geschlossen innerhalb des Referenzbereiches liegen.

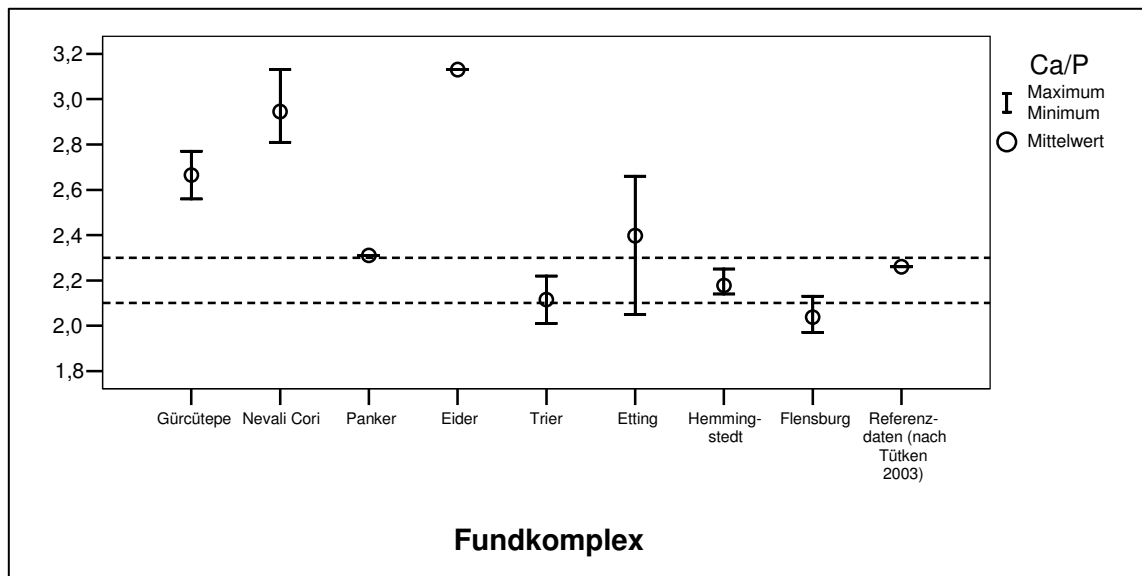


Abb. IV.66: Mittelwerte, Maximum und Minimum der Ca/P-Quotienten der einzelnen Fundkomplexe, der gestrichelt linierte Bereiche umschließt den rezenten Referenzbereich (2,1 – 2,3)

Der Ca/P-Quotient korreliert hochsignifikant negativ mit der Rangposition der Fundkomplexe, mit einem Korrelationskoeffizienten nach von $-0,73$. Die Ca/P-Quotienten der Fundplätze mit der längeren Liegezeit (niedrigste Rangpositionen) sind also erhöht. Aufgrund der Korrelation zwischen Rangplatz eines Fundplatzes und dem Ca/P ist davon auszugehen, dass auch die Fundplätze mit den Ca/P-Quotienten in Beziehung stehen, und bedarf so keiner weiteren statistischen Überprüfung.

Der Ca/P-Quotient liegt bei allen drei analysierten Proben des Temperaturexperimentes II im Referenzbereich (siehe Tab. IV.11).

Die kremierten Proben haben, mit Ausnahme von K92, im Vergleich zu den Referenzdaten (Hancock et al. 1982) erniedrigte Ca/P-Quotienten (1,84 – 1,89).

IV Ergebnisse

1.5.3 Elementkonzentrationen

Es wurden von 32 Knochenproben Matrix- und Spurenelementkonzentrationen bestimmt. Die berechneten Konzentrationsquotienten sind in Tabelle IV.11 dargestellt. Rot gekennzeichnete Felder signalisieren die Überschreitung der Referenzdaten (Gawlik. et al. 1982, Tütken 2003, Hancock 1993) der jeweiligen Elemente, während orange Felder nur die Grenzen einer der ausgewählten Vergleichsuntersuchungen überschreiten, wohingegen gelbe Felder eine Unterschreitung der Referenzwerte angeben. Felder ohne Werte zeigen diejenigen Fälle an, in denen die jeweiligen Elementkonzentrationen unterhalb der Messgrenze lagen.

Tab. IV.11: Element-Konzentrationsquotienten (Element/Ca x 1000) der mittels RFA analysierten Proben: Rote Felder = Überschreiten der Vergleichskonzentrationen aller drei zum Vergleich herangezogenen Daten (Tütken 2003, Hancock 1993, Gawlik et al 1982); orange Felder = Überschreiten der Vergleichskonzentration nur einer Analyse; gelbe Felder = Unterschreiten der unteren Variationsgrenze aller einbezogener Referenzdaten. Lag die Konzentration des Elementes unterhalb des messbaren Bereiches bleibt das entsprechende Feld leer

Probe	Ca/P	Mg	K	Cl	Fe	Mn	Zn	Si	F	Sr	Al	Ba	Na	S	Ti	U
Gü2	2,6	3,8	0,5		1,2	0,1		4,1		1,1	0,3		11,5		0,2	0,02
Gü3	2,8	4,1	0,7		1,9	0,5		5,2		1,8	1		10,5		0,2	0,02
NC14	2,8	18,3	4,1					13,1		17,7	4,7		9,3	2,3		
NC15	3	4,6	3,8		14,6			30		1,2	13,4		2			
NC 16	2,8	12,2	2,9		5,8			15,3		10,6	6,9	7,5	6,7	4,6		
NC19	3,1	3,6	2,6					17,6		3,4	4,3	15,9	6,1	6		
P1	2,3	2,5	0,3		1,4	0,4		2,6		0,6	0,2		10,5		0,2	
P3	2,3	2,4	0,5		1,3	0,5		3,6		0,5	0,2		11,5		0,2	0,04
ES	3,1	1,6			26,8	17,2		2,8		1	0,7		4,9	5,5		
T1	2,1	7,4						10,6		0,9	3,8		5,9	5,9		
T2	2,1	6		1,6				1,2		0,8	0,4		5,7	4		
T7	2,2	6,4								0,9			7,8	3		
T8	2	6,7						0,9		0,6	0,9		11,7	3,1		
E2	2	2,9						3,8		0,8	0,8		3,4	1,2		
E3c	2,6	6,3			10,8			12		0,8	4,3		6,9	1		
E7	2,4	3,3			5,2			9,2	3,1	0,5	4,3		4,8	1,7		
E19	2,4	6,8	2					8,5		0,7	4,6		10,2	2,4		
H1	2,3	4,1	3,2	4,3	59,2	9,1		1,3		1,2			10	6,7		
H2	2,1	2,9	4		32,9	4,5		1,3		1,1			10,9	5,3		
H3	2,1	4,4			13,8			2,3		1	0,5		15,5	10,2		
H4	2,2	4,4			9,5			3,9		1,3			9,6	3,2		
F1	2	2,6								1,5			4,7	1,6		
F4	2	4,8								0,4			7,5	2,9		
F5	2	2,2		2,4						0,8			5,2	2,6		
F10	2,1	2,1		1,6						0,6			6,7	5		
K91	1,9	16,2	2,2	7	3,2		1,3	4,3			0,8		22	1,9		
K92	2,1	26	8,7	2,4				2,4		0,4	0,8		95,8	8		
K93	1,9	23,3	27,2				2,6	3,5			1		185,5	5,4		
K98	1,9	26,2	41,3	1,8	2,9		2	16		0,5	3,8		230,7	2,6		
TE II 2	2,1	5,8						1,1		0,5	1,4		12,7	0,8		
TE II 16	2,1	6,6						6,9		0,4			10,2	1,1		
TE II 25	2,2	6,5					9	2			1,1		14,5	1,6		

Bei den Elementen Mangan, Silicium, Fluor, Barium und Titan, welche nur in sehr geringen Referenzkonzentrationen (bis zu einem Konzentrationsquotienten von Mn: 0,02, Si: 0,42, F: 0,53, Ba: 0,2, Ti: 0,16 und U: 0,04) auftreten, können auch eventuell vorliegende geringfügige Überschreitungen dieser Werte nicht angegeben werden, da sie sich unterhalb der Messgrenze befinden.

Keine archäologische Probe zeigt eine Elementverteilung, die durchgehend im Referenzbereich liegt. Die Natrium- und Magnesiumwerte liegen bei allen Proben mit einer Ausnahme (NC16) unterhalb des Referenzbereiches. Bis auf wenige Ausnahmen ist die Silicium-, Strontium- und Aluminiumkonzentration bei den untersuchten Proben erhöht. Ein erhöhte messbare Zn-Konzentration trifft man bei keiner Probe, eine erhöhte Fluorkonzentration nur bei der Probe E7 des Ettinger Fundkomplexes, während man erhöhte Bariumwerte nur bei zwei Proben aus Nevalı Çori feststellen kann (NC 16, NC 19). Die Schwefelkonzentration ist stark erhöht bei allen Proben des Fundkomplexes Hemmingstedt, dem Eiderschädel und bei vereinzelt Proben aus Nevalı Çori, Trier und Flensburg. Messbare Uran- und Titankonzentrationen können nur bei Proben der Fundkomplexe Gürcütepe und Panker festgestellt werden.

Tabelle IV.12 zeigt die prozentuale Anzahl der Proben, deren Konzentration sich außerhalb des Referenzbereiches der jeweiligen Elemente befindet.

Auffällig ist, dass der Grossteil der Proben stark von den Referenzwerten (Mg, Si, Sr, Al, Mn und Na) abweicht, während die Cl, Zn, F und Ba-Werte kaum verändert erscheinen.

Tab. IV.12: Prozentuale Anzahl der Proben deren Konzentration sich außerhalb des Referenzbereiches des jeweiligen Elementes befindet

Element	prozentuale Häufigkeit der Referenzbereichüber- bzw. unterschreitung	Element	prozentuale Häufigkeit der Referenzbereichüber- bzw. unterschreitung
Mg	96%	Sr	72%
K	24%	Al	68%
Cl	0%	Ba	8%
Fe	52%	Na	100%
Mn	28%	S	11%
Zn	0%	Ti	16%
Si	80%	U	12%
F	4%		

Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs und häufigen Unterschreitens der Messgrenze der einzelnen Elementkonzentrationen ist eine statistische Auswertung der Elementkonzentration der einzelnen Fundplätze nicht sinnvoll, so dass auf Angabe Kennwerte und schließender Statistik verzichtet wird.

Die drei untersuchten Proben des *in vitro* degradierten Materials des Temperaturexperimentes II zeigen, verglichen mit den Referenzdaten, ebenfalls einige Abweichungen. So sind wie beim archäologischen Material und im Gegensatz zum kremierten die Na- und Mg-Werte niedriger als bei den Referenzdaten, während Silicium und Aluminium wie bei den beiden anderen Materialgruppen erhöht sind. Die Probe TE II 25, also jene, die am längsten inkubiert wurde, zeigt die höchste gemessene Zinkkonzentration (vgl. Tab. IV.11).

IV Ergebnisse

Es wurden vier kremierte Proben (K91, K92, K93, K98) hinsichtlich ihrer Elementkonzentration analysiert. Bei Betrachten der Elementkonzentrationsquotienten fällt auf, dass die Magnesium- und vor allem die Natriumwerte im Gegensatz zu den beim archäologischen Material ermittelten fast durchgehend höher sind als die Referenzwerte, gleiches gilt für die Kaliumkonzentrationsquotienten. Im Gegensatz zu den archäologischen lassen sich bei den kremierten Proben außerdem Zn-Konzentrationen und Kaliumkonzentrationsquotienten in höheren Konzentrationen als bei den Referenzdaten feststellen. Wie beim archäologischen Material sind die Silicium- und Aluminiumwerte erhöht. Die Mangan-, Strontium-, Fluor-, Barium-, Titan- und Urankonzentrationsquotienten befinden sich hingegen unterhalb der Messgrenze bzw. liegen in dem Referenzbereich. Bei jeweils zwei Proben sind schwach erhöhte Eisen- (K91, K98) und Schwefelkonzentrationen (K92, K93) festzustellen.

1.5.4 Interne Zusammenhänge der Merkmale

Für die Feststellung von Zusammenhängen der Merkmale der mineralischen Matrix werden die Stichproben aufgrund ihres unterschiedlichen Charakters getrennt betrachtet. Die Merkmale des Knochenminerals betreffend, wird nur das archäologische Knochenmaterial betrachtet, da von den beiden anderen Stichproben für eine statistische Auswertung nur unzureichend Datenmaterial zur Verfügung steht.

Der prozentuale Anteil der anorganischen Substanzen der archäologischen Proben zeigt erwartungsgemäß keine signifikante Korrelation (nach Pearson) mit dem Ca/P-Quotienten. Für diese Feststellung wurden nur Proben der archäologischen Stichprobe verwendet ($n=20$), da die beiden anderen Stichproben nicht umfangreich genug sind. Anhand der Abbildung IV.67 erkennt man die zufällige Verteilung, die sich nach Auftragen der beiden Merkmale gegeneinander ergibt. Proben mit Ca/P-Quotienten im rezenten Bereich (2,1-2,3) haben anorganische Anteile von 44 Gew% (T7) bis 73 Gew% (H1). Es fällt auf, dass extrem niedrige Werte unter 40% nicht in diesem Bereich zu finden sind.

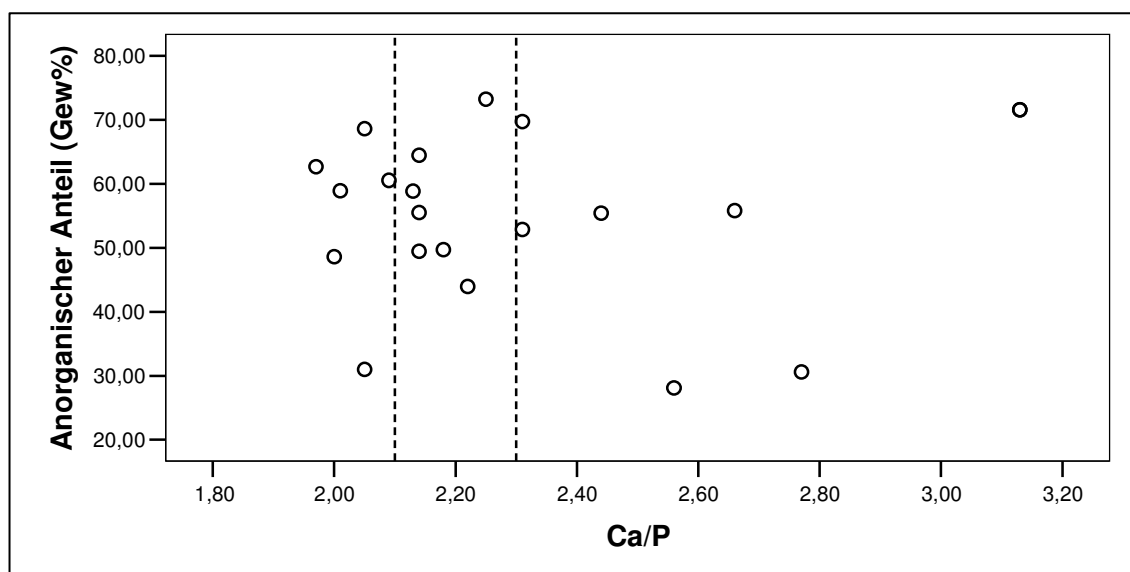


Abb. IV.67: Ca/P-Quotient der archäologischen Knochenproben gegen ihren anorganischen Anteil (Gew%) aufgetragen; der durch Linien begrenzte Bereich beinhaltet Proben mit einem Ca/P-Quotienten im Bereich rezenter Knochen (2,1 – 2,3)

Es kann keine Korrelation zwischen einer Elementkonzentration und dem prozentualen Anteil anorganischer Matrix festgestellt werden (Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson). Signifikante Korrelationen liegen zwischen dem Ca/P und Si (Korrelationskoeffizient von 0,66), Sr (Korrelationskoeffizient von 0,4) und Al (Korrelationskoeffizient von 0,512) vor. Die Abb. IV. 68 zeigt diesen Zusammenhang, der allerdings nicht linear zu sein scheint, sondern nur die Aussage zulässt, dass bei Proben mit höherem Ca/P-Quotienten wahrscheinlich hohe Silicium und Aluminiumwerte zu finden sind.

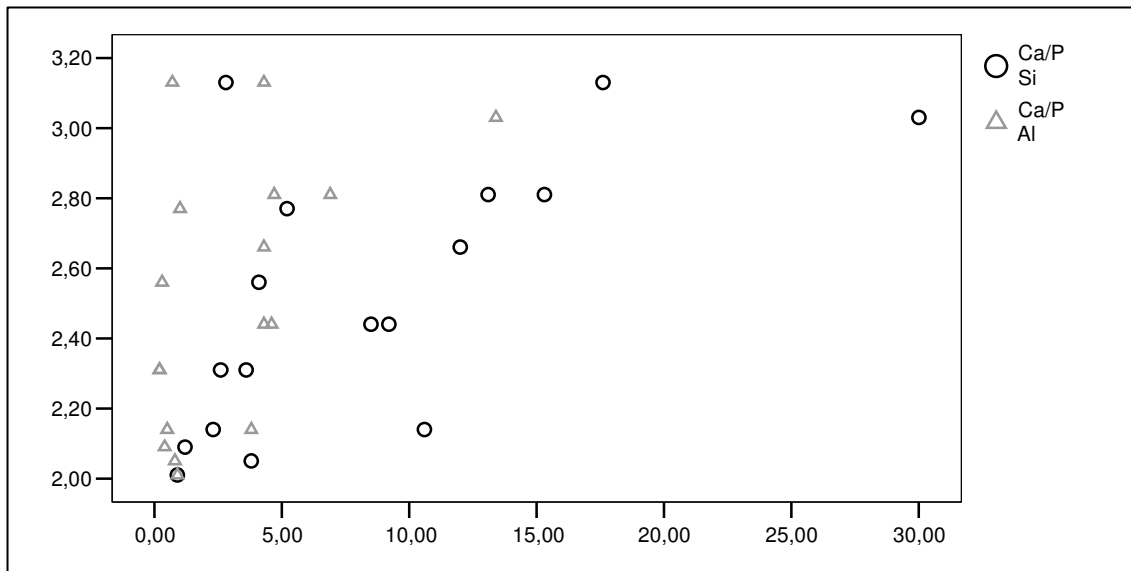


Abb. IV.68: Ca/P-Quotienten (y-Achse) gegen die Silicium- und Alumini-Quotienten (x-Achse) aufgetragen

1.6 Verhältnisse der stabilen Isotope von C, N und O

Die Verhältnisse der stabilen Isotope sollen im Zusammenhang mit den anderen erhobenen Merkmale diskutiert werden (siehe IV: 3.3). Daher wird an dieser Stelle nur eine kurze Darstellung der experimentell degradierten und kremierten Proben vorgenommen und der Informationsgehalt des archäologischen Materials bezüglich der Lebensweise vergangener Individuen vernachlässigt, da diese an anderer Stelle erörtert werden (Czermak 2004, Gaukler 2006, Lösch et al. im Druck, Strott, in Vorbereitung).

Die Proben des Temperaturexperimentes I zeigen bis inklusive des achten Inkubationstages relativ geringe Abweichungen in den Isotopenverhältnissen des Stickstoffs ($\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ (‰)) und des Kohlenstoffs ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰)) (siehe Abb. IV.69). Dabei ist die Schwankung der $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ -Werte (Spannweite: 1,07) ab der Probe des fünften Inkubationstages größer als die der Kohlenstoffverhältnisse (Spannweite: 0,51).

Bei den Proben mit Inkubationszeiten von höher als zwölf Tagen weichen die $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ (‰)- und die $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰)-Werte stark sowohl ins positive (TE I 12) als auch in ins negative (TE I 32) von den Ausgangsdaten ab. Die $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ (‰)-Werte zeigen eine Spannweite von 4,21 mit einem minimalen Wert von 6,38 (TE I 12) und einem maximalen von 10,59 (TE I 16). Die $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰)-

IV Ergebnisse

Werte zeigen eine Spannweite von 5,92 mit einem Minimum von -22,63 (TE I 12) und einem Maximum von -16,71 (TE I 16).

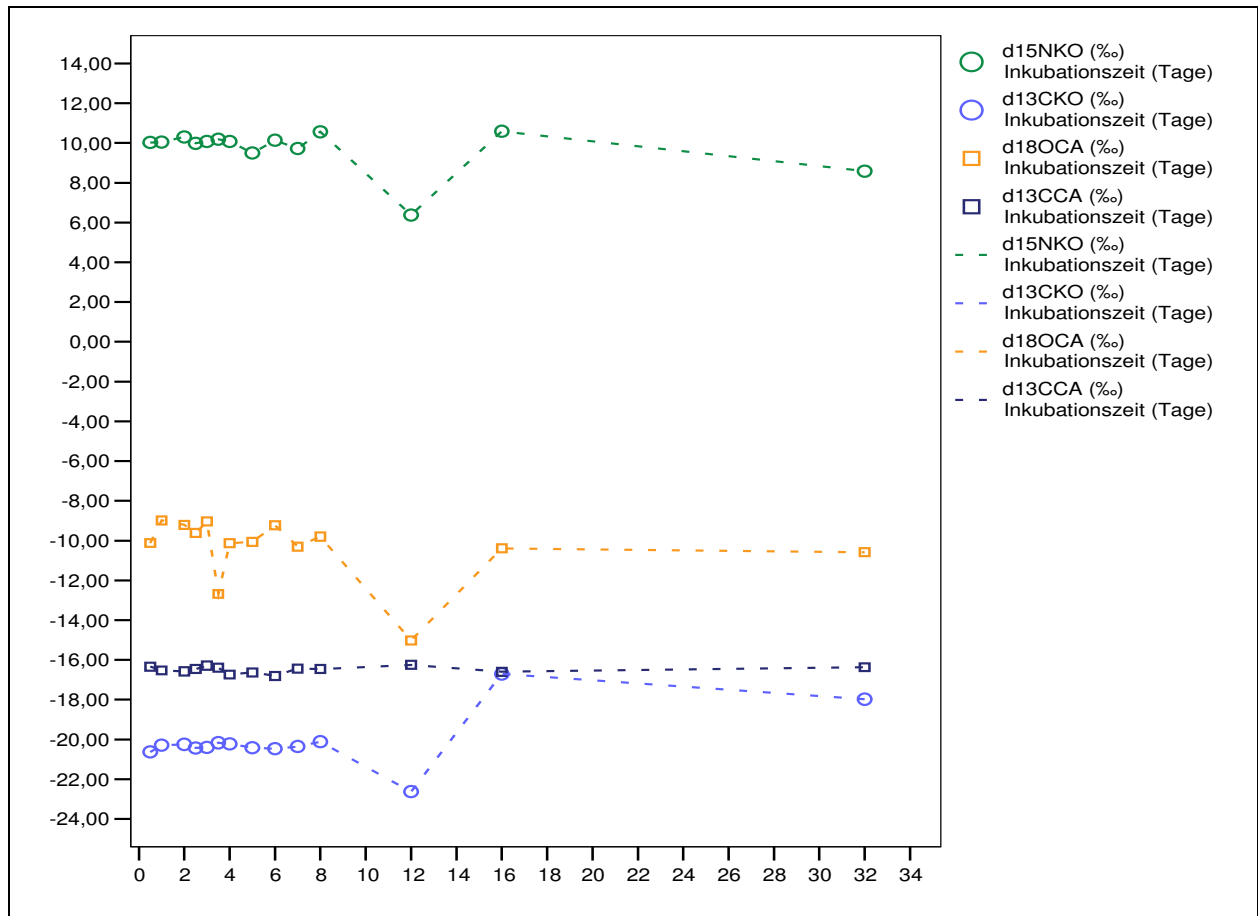


Abb. IV.69: Darstellung der $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ (‰)- ($\text{d15NKO}(\text{‰})$), $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰)- (d13CKO), $\delta^{18}\text{O}_{\text{Ca}}$ (‰)- (d18OCA) und $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ca}}$ (‰)- (d13CCA) Werte der *in vitro* degradierten Knochenproben mit unterschiedlicher Inkubationszeit; die gestrichelten Interpolationslinien stellen keinen Trend dar, sondern dienen zur besseren Darstellung der Schwankungen der Probenwerte

Bei den Werten der stabilen Isotopenverhältnisse des Kohlenstoffs aus Carbonat sind nur minimale Differenzen zu beobachten (Spannweite von 0,56). Die stabilen Isotopenverhältnisse bleiben also bei zunehmender Inkubationszeit konstant.

Die $\delta^{18}\text{O}_{\text{Ca}}$ (‰)-Werte zeigen starke Schwankungen ohne erkennbaren Zusammenhang mit der Inkubationszeit (Spannweite von 6). Die stärksten Abweichungen der Werte werden durch zwei extreme „Ausreißer“ verursacht (TE I 3,5; TE I 12), bei Ausklammern dieser zwei Werte ergibt sich für die $\delta^{18}\text{O}_{\text{Ca}}$ (‰) -Werte eine geringere Spannweite von 1,79.

Auffällig ist die Probe TE II 12, die in allen Fraktionen geringere Isotopenwerte zeigt, als andere Kollagenextrakte.

Die Abbildung IV.69 zeigt, dass die Differenz zwischen den stabilen Kollagenisotopenwerten des Kollagens und des Carbonats je nach Verhalten des $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰) -Wertes zu- oder abnimmt

Signifikante Korrelationen mit der Inkubationszeit zeigen die aus dem Kollagen, aber nicht die aus dem Carbonat gewonnen stabilen Isotopenverhältnisse (Korrelationskoeffizienten: $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ko}}$ (‰): -0,9 mit $p < 0,05$ und $\delta^{13}\text{C}_{\text{Ko}}$ (‰): 0,784 mit $p < 0,01$).

Die Differenz der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Kollagens und des Carbonats werden bei den Proben des Temperaturexperimentes I augenscheinlich hauptsächlich von der Veränderung der Kollagenwerte verursacht, da die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Carbonats konstant bleiben, während die $\delta^{13}\text{C}$ des Kollagens starke Abweichungen aufweisen (Abb. IV.69). So beinhalten die Proben bis inklusive des achten Inkubationstages Werte zwischen 3,66‰ und 4,29‰, die Probe des zwölften Inkubationstages zeigt eine Differenz von 6,3‰, während die Proben TE I 16 und TE I 32 Differenzen von 0,11 ‰, bzw. 1,61‰ aufweisen.

Da von dem kremierten Material keine Extraktion von Kollagen gelang konnten nur die Isotopenverhältnisse des Sauerstoffes und Kohlenstoffes aus dem Carbonat ermittelt werden. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Proben reichen von -25,40 bis -21,29‰, woraus sich ein Mittelwert von -24,025‰ ergibt. Im Vergleich zu den Werten des Temperaturexperimentes I, was einem Individuum der gleichen Region und gleichen Zeitstellung entspricht, den archäologischen Daten (Werte von minimal -15,38‰ (F9)) wie auch den in der Literatur beschriebenen Werten (siehe I: 2.2 und 2.4) sind die bei kremiertem Material festgestellten Werte abwegig niedrig und es ist davon auszugehen, dass es sie nicht den ursprünglichen Werten entsprechen, sondern diagenetische Änderungen durchlaufen haben.

Die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte haben einen minimalen Wert von -17,4‰ und einen maximalen Wert von -12,65‰ (Abb. IV.70). Der $\delta^{18}\text{O}$ -Wertes (Jahresdurchschnitt) des Oberflächenwasser der Heimatregion (Kiel: 54°19', 10°8', 34m) der kremierten Individuen beträgt -9,1‰ der gleichen Umgebung und zeigen Werte um -10‰. Im Vergleich zu diesen Daten ist ebenfalls davon auszugehen, dass die stabilen Isotopenwerte in dem kremiertem Material nicht dem organären Zustand entsprechen.

Die $\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰), sowie die $\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ Werte des kremierten Materials sind durchgehend niedriger als die des archäologischen, wie auch des *in vitro* degradierten Materials. Es zeigt sich außerdem eine hohe Variabilität (Spannweite 4,75 bzw. 4,11) der $\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ - (Minimum: -17,4 (K91), Maximum -12,65 (K99)) bzw. $\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ -Werte (Minimum: -25,40 (K100), Maximum: -21,29(K98)).

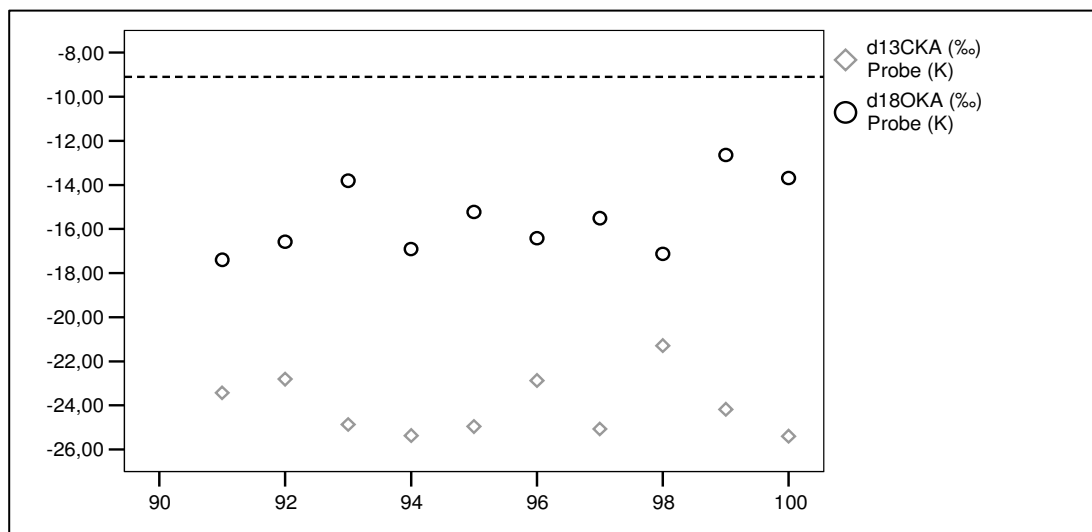


Abb. IV.70: $\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰), sowie die $\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ (‰) -Werte der kremierten Knochenproben, die gestrichelte Linie gibt den $\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰)- Wert des Oberflächenwassers der Heimatregion der Individuen an

2 Interstrukturelle Zusammenhänge

In diesem Abschnitt sollen Zusammenhänge zwischen den Merkmalen verschiedener Analysekomplexe analysiert werden (IV: 2.1). Da die genaue Ursache der Fluoreszenz des Knochens unklar ist (siehe I: 2.1) kann aus diesem Merkmal kein Informationsgewinn über diagenetische Zusammenhänge erlangt werden, so werden Beziehungen der Fluoreszenz zu den übrigen Merkmalen gesondert aufgeführt (IV: 2.2). Weiterhin werden Korrelationen zwischen den Individualdaten und den Merkmalsausprägungen analysiert (V: 2.3).

2.1 Korrelationen der Merkmale

Die Feststellung der Korrelationen der Merkmale dient der Aufklärung von allgemeinen Diageneseereignissen (siehe I: 5.1). Nur bei wenigen Proben (n=17) liegen Werte zu allen untersuchten Merkmalen vor, so dass eine auf rein statistischen Gesichtspunkten basierende Gruppierung der Proben anhand aller untersuchten Merkmale (z.B. mittels Clusteranalyse bzw. Konfigurationsfrequenzanalyse) nicht durchführbar ist. Eine Zusammenführung der Merkmale ist nur durch Einbeziehung sachlicher Überlegungen in der Diskussion möglich (siehe V: 1.2.4). Die statistische Analyse bezieht sich, soweit nicht anders angegeben, auf das humane archäologische Material.

2.1.1 Zusammenhänge von histologischen mit biomolekularen und mineralischen Merkmalen

Aufgrund der engen Korrelation des diffusen exogenen Materials mit dem bakteriellen Verfall, welcher vermutlich der Verursacher dieses Merkmals ist (siehe Punkt IV: 1.1.8), wird der Punkt aus der Betrachtung ausgenommen.

Die Tabelle IV.13 zeigt die Korrelationen der histologischen Merkmale mit den Merkmalen des Kollagens. Die eng korrelierenden Merkmale (siehe IV: 1.1.8) OHI, Doppelbrechung und bakterieller Befall zeigen hochsignifikante, wenn auch nicht eng lineare Zusammenhänge sowohl mit dem kollagenen Anteil, als auch mit den N- und C-Gehalten.

Tab. IV.13: Korrelationskoeffizienten nach Spearman zwischen histologischen Merkmalen und Proteinmerkmalen. Hochsignifikante Korrelationen sind durch ** gekennzeichnet.

	n	OHI	Doppelbrechung	Mikro-fissuren	bakterieller Befall	Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen	braune Verfärbung unter Strukturerehalt
Kollagengehalt (GE)	57	0,492**	0,588**	0,008	0,49**	-0,507**	-0,57
Kollagengehalt (SE)	56	0,556**	0,662**	0,147	0,526**	-0,403**	-0,02
N%	56	0,482**	0,427**	0,168	0,557**	-0,35**	0,119
C%	56	0,393**	0,432**	0,152	0,483**	-0,364**	-0,99
C/N-molar	56	-0,095	0,089	0,199	0,13	0,129	-0,313
D/L-Asp	56	0,276**	-0,345**	-0,399**	-0,275**	0,349**	0,255

Ein schwacher negativer Zusammenhang lässt sich zwischen den angesprochenen Merkmalen und dem D/L-Asp-Quotienten zeigen.

Betrachtet man die definierten histologischen Merkmalstypen (siehe IV: 1.1.8) und die Verteilung der Kollagenanteile, erkennt man in Abbildung IV.71, dass der histologische Merkmalstyp A durchschnittlich höhere Kollagenanteile, sowie eine höhere Variabilität aufweist. Die Merkmalstypen B und C zeigen durchschnittlich geringere Kollagenanteile und eine geringere Variationsbreite. Das Minimum des Kollagengehalts nach Gelatineextraktion der Proben des Merkmalstypen B ist 0,31Gew%, während A ein Minimum von 1,5Gew% hat. Mittels Chi-Quadrat-Test kann eine signifikante Korrelation des histologischen Merkmalstypen sowohl mit dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion, wie auch nach Säureextraktion ($p=0,005$, $p=0,00$, $n=55$ bzw. $n=54$) festgestellt werden. Hierzu wurde der Kollagengehalt in je drei gleich große Bereiche eingeteilt.

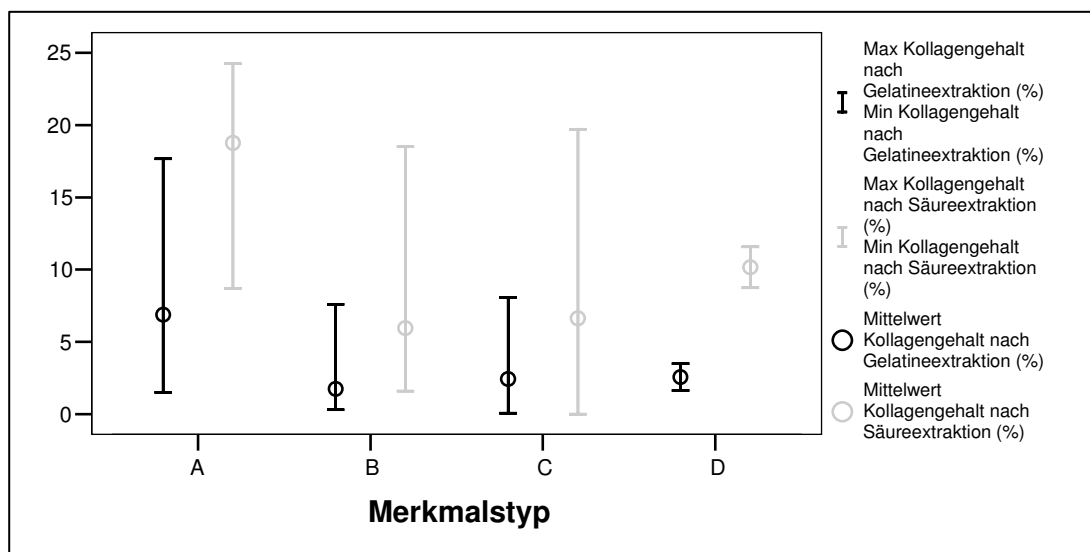


Abb. IV.71: Verteilung der Kollagenanteile (Gew%) auf die histologischen Merkmalstypen

Es besteht weiterhin ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Kollagenqualität (Erhaltungsgrad) und dem histologischen Merkmalstyp (Craddock-Flood-Test, $p=0,025346$, $n=42$).

Die Abbildung IV.72 zeigt die Verteilung der Kollagenerhaltungsgrade auf die histologischen Merkmalstypen. Der histologische Merkmalstyp B zeigt wesentlich mehr Proben mit schlechtem Erhaltungsgrad zeigt, als die anderen Typen. Der histologische Merkmalstyp A hingegen enthält vergleichsweise viele Proben mit gutem Kollagen.

Die vier als Typ H klassifizierten Proben gehören alle dem Merkmalstyp A an.

IV Ergebnisse

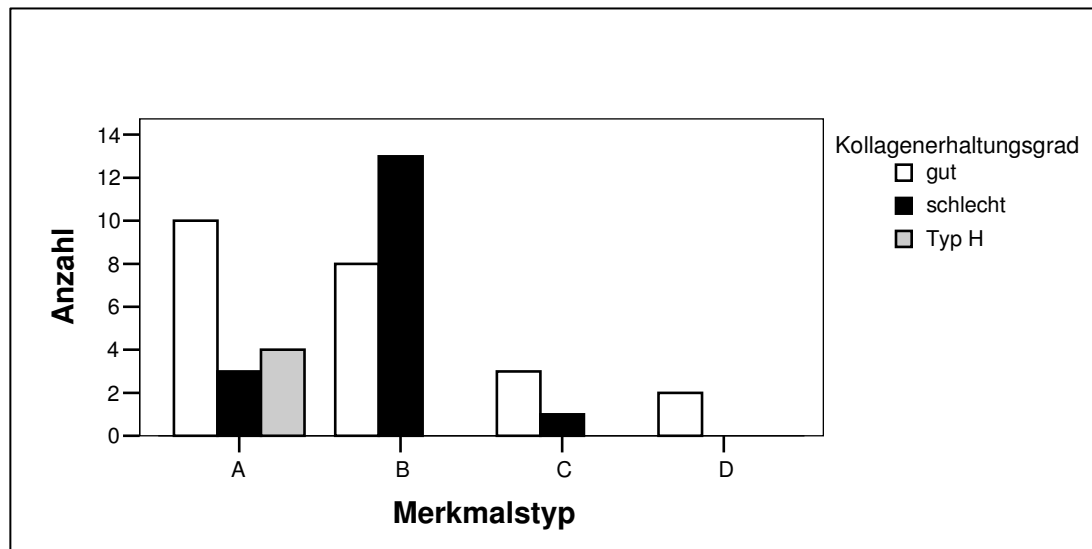


Abb. IV.72: Verteilung der Kollagenerhaltungsgrade (Kollagenqualität) auf die histologischen Merkmalstypen

Kein Zusammenhang kann zwischen den histologischen Merkmalen bzw. Merkmalstypen und dem C/N-Quotienten festgestellt werden: Proben, die innerhalb bzw. außerhalb des von DeNiro (1985) festgelegten Bereiches liegen, verteilen sich auf alle Merkmalstufen gleich.

Mittels des Craddock-Floods- χ^2 -Tests können weitere Zusammenhänge zwischen den histologischen Merkmalen und dem Kollagenerhaltungsgrad festgestellt werden.

So zeigt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen OHI und Kollagenerhaltungsgrad (Craddock-Flood-Test, $p=0,010372$, $n=43$). Proben mit geringen OHI (schlechter histologischer Erhaltungsgrad) zeigen tendenziell eher einen schlechten Kollagenerhaltungsgrad als Proben mit hohem OHI (vgl. Abb. IV.73).

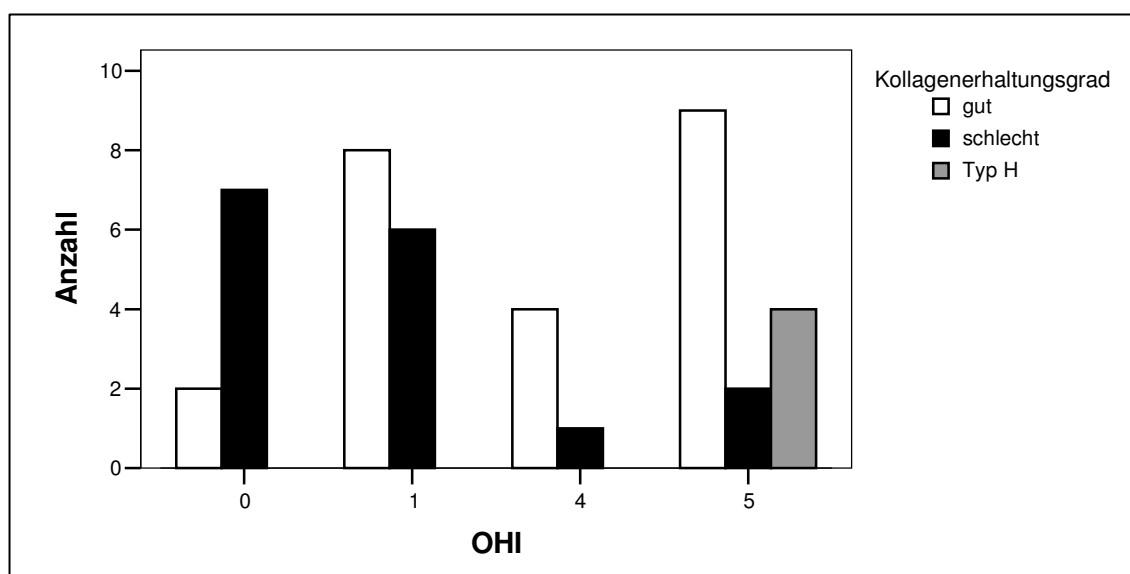


Abb. IV.73: Zusammenhang zwischen Kollagenerhaltungsgrad und OHI (ein OHI-Wert von 3 wurde nicht vergeben)

Es ist ein nur schwach ausgeprägter Zusammenhang zwischen der Doppelbrechung (Chi-Quadrat-Test, $p=0,042$, $n=55$) und dem Kollagenerhaltungsgrad feststellbar. Proben mit gut ausgeprägter Doppelbrechung haben tendenziell eher einen guten Kollagenerhaltungsgrad, allerdings sind alle möglichen Fälle vertreten.

Kein statistischer Zusammenhang lässt sich zwischen dem Ausmaß der Mikrofissuren und dem Kollagenerhaltungsgrad zeigen, allerdings ist die geringe Stichprobengröße zu bedenken ($n=23$). Auffällig ist, dass die beurteilbaren Proben (T1, ES, E3a, E19) mit schlechten Kollagenerhaltungsgraden ausschließlich keine Mikrofissuren aufweisen (Indexwert von 3).

Ein hochsignifikanter Zusammenhang besteht zwischen dem bakteriellen Befall und dem Kollagenerhaltungsgrad (Craddock-Flood-Test, $p=0,007347$, $n=43$).

Die Kreuztabelle IV.14 zeigt, dass sich der statistische Zusammenhang sich auf folgende Abweichungen von der erwarteten statistischen Häufigkeitsverteilung zurückführen lässt: Es weisen weniger Proben einen guten Kollagenerhalt bei starken bakteriellen Befall (Indexwert 0) auf als erwartet, sowie mehr Proben einen guten Kollagenerhalt bei geringem bakteriellem Befall (Indexwert 2). Umgekehrt zeigen mehr Proben als erwartet die Kombination schlechter Kollagenerhalt mit starkem bakteriellem Befall, sowie weniger Proben als erwartet schlechten Kollagenerhalt und fehlenden bakteriellen Befall. Proben mit dem Kollagenerhaltungstyp H zeigen ausschließlich keinen bakteriellen Befall.

Tab. IV.14: Kreuztabelle der Merkmale bakterieller Befall und Kollagenerhaltungsgrad mit beobachteter und erwarteter Anzahl

		bakterieller Befall				Gesamt
		0	1	2	3	
gut	Anzahl	6	2	6	9	23
	Erwartete Anzahl	9,1	2,1	3,2	8,6	23,0
Kollagen- erhaltungs- grad	Anzahl	11	2	0	3	16
	Erwartete Anzahl	6,3	1,5	2,2	6,0	16,0
Typ H	Anzahl	0	0	0	4	4
	Erwartete Anzahl	1,6	,4	,6	1,5	4,0
Gesamt	Anzahl	17	4	6	16	43
	Erwartete Anzahl	17,0	4,0	6,0	16,0	43,0

Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und dem Ausmaß der Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen oder dem Grad der braunen Verfärbung unter Strukturerehalt (Test nach Craddock-Flood).

Auf eventuelle Zusammenhänge mit den Merkmalen des DNA-Erhalts (Signale der Agarosegelelektrophorese, Amplifizierbarkeit, Inhibitorenanwesenheit) wird aufgrund der ordinalen Struktur der Daten mittels Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Test geprüft.

IV Ergebnisse

Ein Zusammenhang zwischen histologischen Merkmalen und Fragmentierungsgrad kann nicht überprüft werden, da der Fragmentierungsgrad nur bei wenigen Proben bestimmt werden konnte (siehe IV: 1.4).

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Amplifizierbarkeit der Proben und histologischem Merkmalstyp ist feststellbar (Craddock-Flood-Test, $p=0,043830$, $n=43$). In der Abbildung IV.75 erkennt man, dass mehr Proben des Merkmalstyp A amplifiziert werden können, während bei Proben mit dem histologischen Merkmalstyp B und C die nicht amplifizierbaren überwiegen.

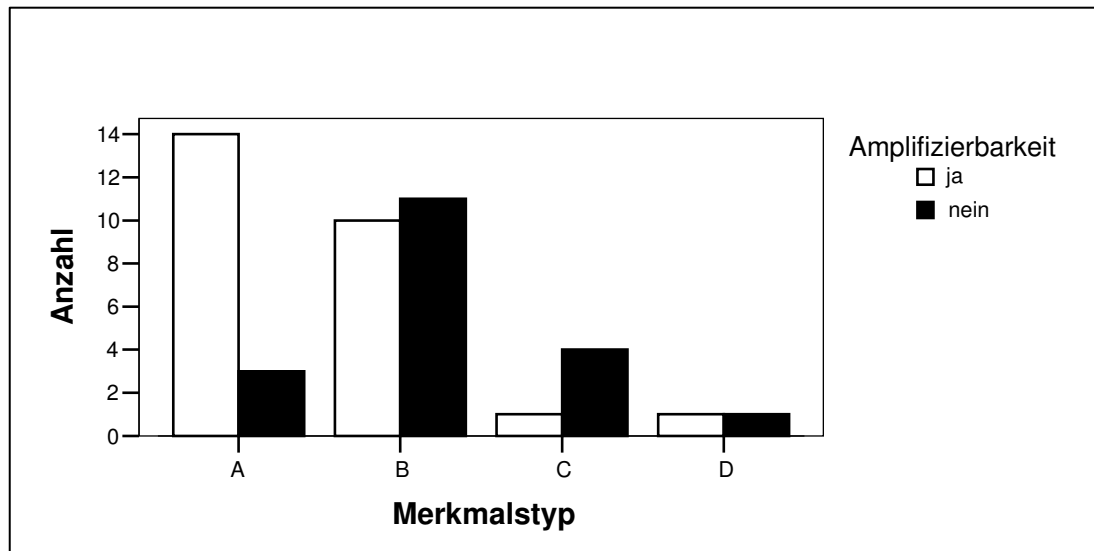


Abb. IV.74: Zusammenhang zwischen DNA-Amplifizierbarkeit der Proben und histologischem Merkmalstyp

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen histologischem Merkmalstyp und Inhibitorenachweis bzw. Signal bei der Agarosegelelektrophorese kann nicht gefunden werden.

Gleiches gilt für den OHI: Während ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen OHI-Wert und Amplifizierbarkeit der Proben gefunden werden kann (Craddock-Flood-Test, $p=0,0498$, $n=44$), der sich in einer höheren Anzahl amplifizierbarer Proben mit gutem histologischen Erhaltungsgrad (OHI-Index von 5) zeigt, ist dieser nicht zwischen dem OHI und der Inhibitorenanwesenheit bzw. den Signalen in der Agarosegelelektrophorese sichtbar.

Aufgrund der interstrukturellen Korrelationen zeigen auch die histologischen Merkmale „Doppelbrechung“ (Craddock-Flood-Test, $p=0,0428$, $n=44$) und „bakterieller Befall“ (Craddock-Flood-Test, $p=0,0498$, $n=44$) einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Amplifizierbarkeit, aber jedoch nicht mit der Anwesenheit von Inhibitoren oder der Ausprägung der Agarosegelelektrophoresesignale.

Die histologischen Merkmale „Anzahl der Mikrofissuren“, „Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen“ und „braune Verfärbung unter Strukturhalt“ zeigen mit einer Ausnahme keinen statistisch signifikanten Bezug zu den molekulargenetischen Merkmalen.

Nur die Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen weisen einen signifikanten Zusammenhang mit der Anwesenheit von Inhibitoren (Craddock-Flood-Test, $p=0,023301$, $n=36$) auf. Die Abbildung IV.75 lässt erkennen, dass Proben, die keine Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen zeigen nie Inhibitoren aufwiesen.

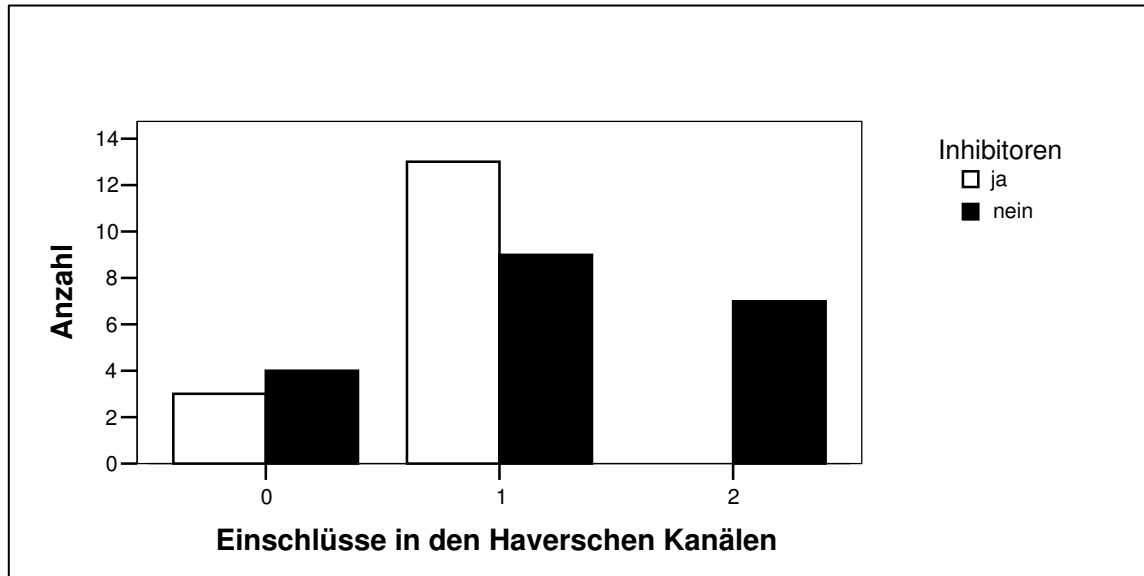


Abb. IV.75: Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von DNA-Inhibitoren und dem histologischen Merkmal Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen

Der prozentuale Gewichtsanteil des Minerals (in Gew%) korreliert erwartungsgemäß hochsignifikant, aber schwach negativ mit dem OHI (Korrelationskoeffizient nach Spearman: $-0,436$, $n=40$), der Doppelbrechung (Korrelationskoeffizient nach Spearman: $-0,473$, $n=40$) und dem Ausmaß des bakteriellen Befalls (Korrelationskoeffizient nach Spearman: $-0,490$, $n=40$).

Die Betrachtung der histologischen Merkmalstypen und der Ca/P-Quotienten-Verteilung zeigt, dass die Verteilung der Ca/P-Quotienten auf die Merkmalstypen ungleichmäßig erfolgt (vgl. aAbb. IV.76). Der histologische Merkmalstyp B beinhaltet wesentlich weniger Proben, die Ca/P-Werte in dem für rezente Knochen typischen Bereich von 2,1-2,3 zeigen als der Merkmalstyp A, während der Merkmalstypen C ausschließlich Proben mit Werten über 2,31 beinhaltet. Mittels Chi-Quadrat-Test lässt sich eine signifikante Assoziation dieser Merkmale feststellen ($p=0,035$, $n=23$).

Aufgrund des geringen Stichprobenumfanges erübrigen sich statistische Analysen zu einem Zusammenhang zwischen histologischen Merkmalen und Elementkonzentrationen.

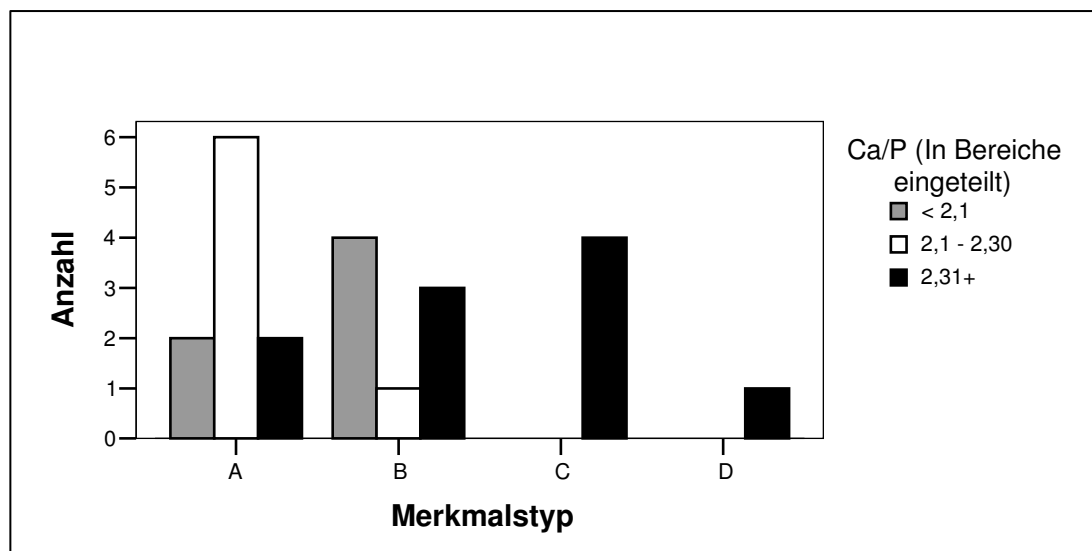


Abb. IV.76: Zusammenhang zwischen Ca/P der Proben und histologischem Merkmalstyp

Histologische Merkmale konnten nur bei den Proben des Temperaturexperimentes II bestimmt werden, eine statistische Auswertung ist aufgrund des geringen Stichprobenumfangs nicht möglich.

Wie unter Punkt IV: 1.1 aufgeführt, zeigen nur die Proben TE II 23 und TE II 25 reduzierte Doppelbrechungen und bräunliche Verfärbungen unter Strukturverlust. Bei diesen beiden Proben sind die Kollagengewichtsprozentage im Vergleich zu den Proben mit geringeren Inkubationszeiten nicht verändert, nur die Probe TE II 23 (vgl. IV: 1.3.1) zeigt stark erniedrigte Kollagengew% nach Säureextraktion, sowie den höchsten Razemisierungsgrad (D/L-Asp von 0,2625).

Weitere Variationen der Proben des Temperaturexperimentes II betreffen die Mikrofissuren, es besteht allerdings kein offensichtlicher Zusammenhang zu Merkmalen der Biomoleküle.

2.1.2 Zusammenhänge biomolekularer Merkmale

Der Kollagengehalt nach Säure- wie auch nach Gelatineextraktion wird, um eine Vergleichbarkeit zu erreichen, in Klassen zu je 4Gew% eingeteilt.

Weder der Kollagengehalt nach Gelatineextraktion, noch der Kollagengehalt nach Säureextraktion zeigen einen signifikanten Zusammenhang mit der Amplifizierbarkeit der DNA.

Es ist allerdings in beiden Fällen festzustellen, dass Proben mit relativ hohem Kollagengehalt (ab 12Gew%, nach SE ab 20Gew%) durchgehend amplifizierbar sind. Während bei Proben mit sehr geringem Kollagengehalt (unter 5Gew%) die nicht amplifizierbaren überwiegen (siehe Abb. IV.77). Statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen Kollagengehalt nach Säure- bzw. Gelatineextraktion und Signalen der Agarosegelelektrophorese sowie der Anwesenheit von Inhibitoren sind nicht festzustellen. Es fällt auf, dass alle Proben die kein Signal in der Agarosegelelektrophorese hervorrufen, Kollagengehalte nach Gelatineextraktion unter 4Gew% aufweisen.

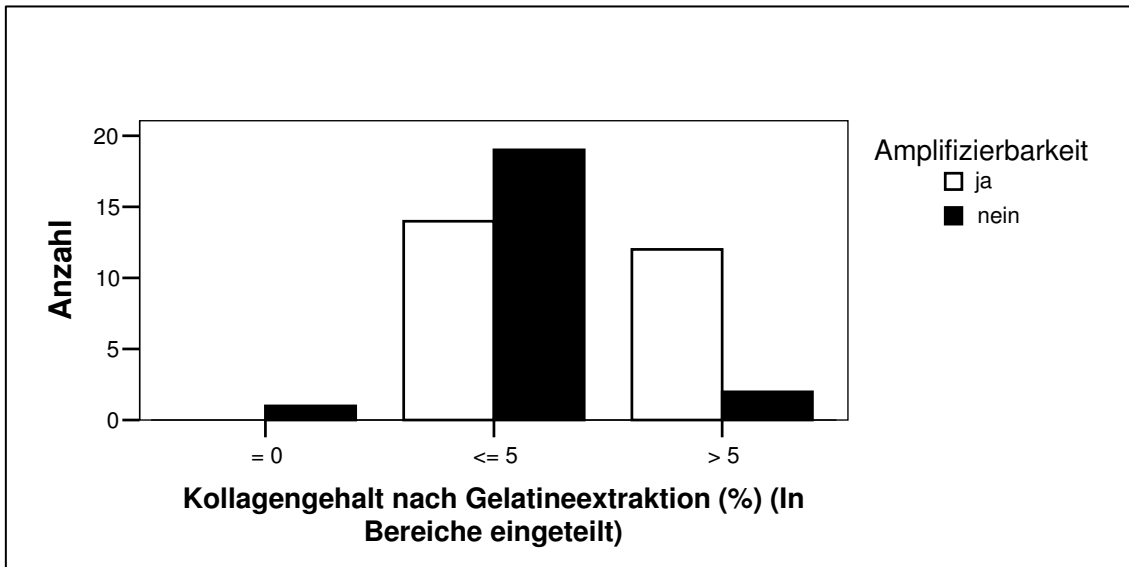


Abb. IV.77: Zusammenhang zwischen Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (Gew%) und DNA-Amplifizierbarkeit

Ebenfalls keine Zusammenhänge sind zwischen den Kollagenmerkmalen C/N-molar, sowie C% und N% und den DNA-Merkmalen Amplifizierbarkeit, Inhibitorenanwesenheit und Signal in der Agarosegelelektrophorese festzustellen.

Der Kollagenerhaltungsgrad zeigt keinen signifikanten Zusammenhang mit der Amplifizierbarkeit der Proben und dem Signal in der Agarosegelelektrophorese.

Es ist ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und der Anwesenheit von Inhibitoren festzustellen (Chi-Quadrat-Test, $p=0,001$, $n=34$). Wie man in der Abb. IV.78 feststellen kann, haben wesentlich mehr Proben mit Anwesenheit von DNA-Inhibitoren einen guten Kollagenerhaltungsgrad, als Proben ohne DNA-Inhibitoren, die überwiegend einen schlechten Kollagenerhaltungsgrad zeigen.

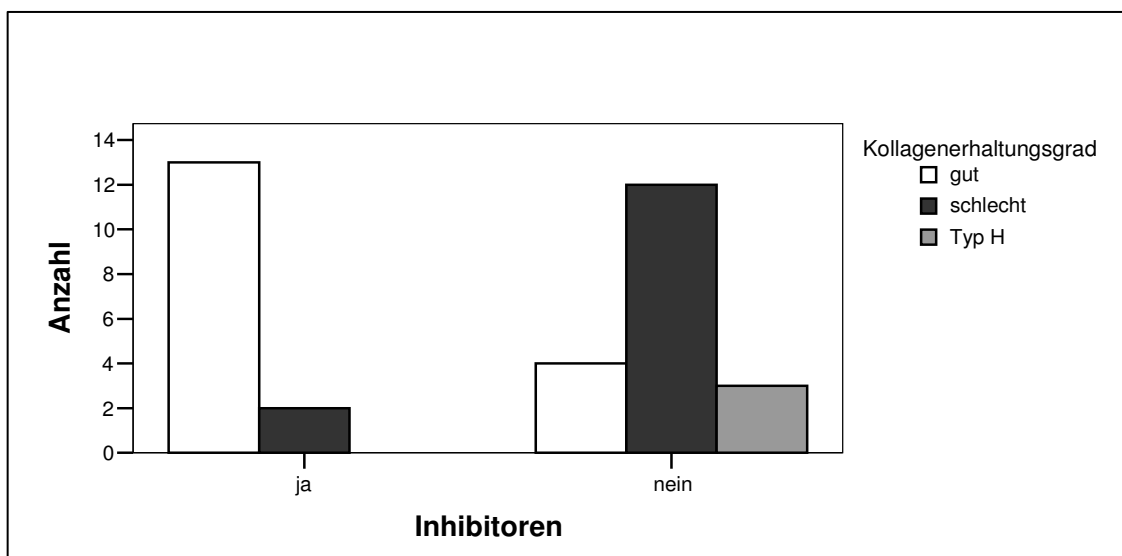


Abb. IV.78: Zusammenhang zwischen Kollagenerhaltungsgrad und Anwesenheit von Inhibitoren

IV Ergebnisse

Kein statistisch signifikanter Zusammenhang ist zwischen dem Razemisierungsgrad und den Signalen in der Agarosegelelektrophorese und der Anwesenheit von Inhibitoren festzustellen.

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht allerdings zwischen dem Razemisierungsgrad und der Amplifizierbarkeit (Chi-Quadrat-Test, $p=0,018$, $n=47$). Wie man in Abbildung IV.79 erkennen kann haben Proben, deren DNA sich amplifizieren ließ, niedrigere D/L-Asp-Werte als Proben, bei denen eine Amplifikation nicht gelang.

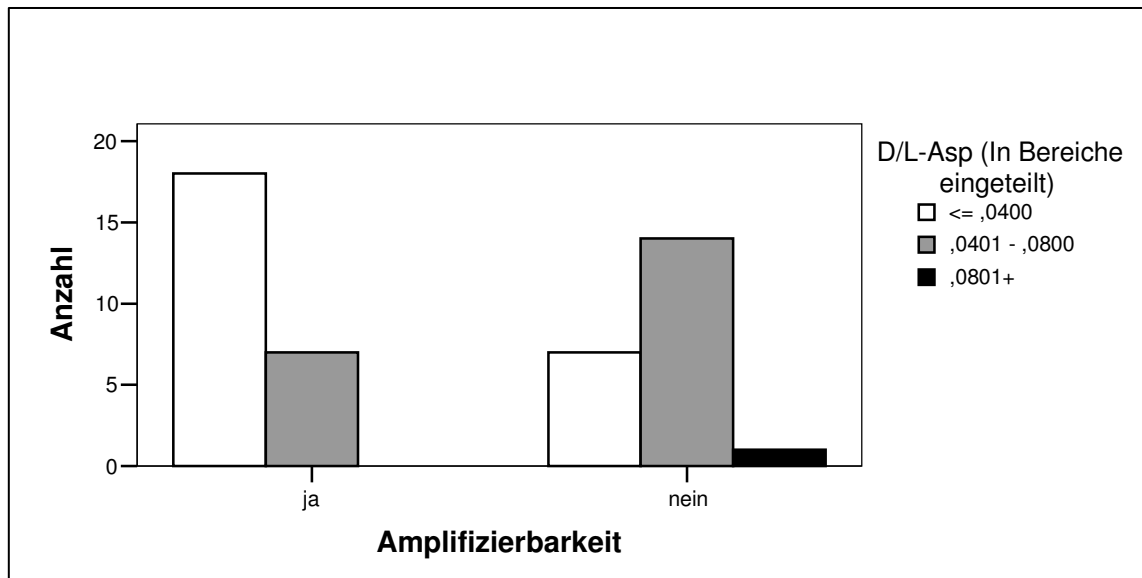


Abb. IV.79: Zusammenhang zwischen D/L-Asp-Quotienten und der DNA-Amplifizierbarkeit der Proben

Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs kann statistisch keine Aussage zu dem Zusammenhang zwischen Kollagen- und DNA-Merkmalen der Proben der Temperaturexperimente gemacht werden. Während es nicht gelang, eine Probe des Temperaturexperimentes II zu amplifizieren, waren die Proben des Temperaturexperimentes I bis zum dritten Tag durchgehend amplifizierbar und bis zum achten Inkubationstag konnten weiterhin unregelmäßig Signale erhalten werden. Die Tabelle IV.15 gibt die dazugehörigen Merkmalswerte des Kollagens an. Reproduzierbare Ergebnisse waren bis zu einem D/L-Asp-Quotienten des Kollagens nach SE von 0,07 zu erhalten (vgl. Harbeck 2002).

Mittels der Multiplex-PCR konnten bis zum vierten Entnahmetag Geschlechtsbestimmungen durchgeführt werden, das entspricht einem Kollagengehalt nach SE von 4,75Gew% und nach GE von 2,94Gew%, der D/L-Quotient beträgt 0,087.

Tab. IV.15: Merkmalswerte des Kollagens der Proben TE I 3 (amplifizierbar) und TE I 8 (nicht amplifizierbar)

Probe	Kollagengehalt (SE)	Kollagengehalt (GE)	N%	C%	C/N	D/L-Asp
TE I 3	-	4,62	15,52	47,27	3,55	0,0768
TE I 8	4,75	2,94	14,55	40,25	3,23	0,1183

Die Länge des längsten amplifizierbaren Fragments nimmt mit abnehmendem Kollagengehalt und zunehmendem D/L-Quotienten ab (siehe auch Harbeck et al. 2004).

2.1.3 Zusammenhänge von biomolekularen Merkmalen und mineralischer Matrix

Es kann keine Korrelation bei dem archäologischen Material zwischen dem Gewichtsanteil des Minerals (in Gew%) und dem Kollagengehalt nach Säure oder Gelatineextraktion (in Gew%) gefunden werden. Gleiches gilt für den Gewichtsanteil des Minerals (in Gew%) und dem C/N-Quotienten, sowie dem C% und N%-Gehalt, dem Kollagenerhaltungsgrad und dem D/L-Quotienten.

Der Ca/P-Wert korreliert mit dem D/L-Quotienten und zeigt keinen Bezug zu einem der anderen Kollagenmerkmale (Korrelationskoeffizient nach Spearman: 0,428, n=24). Proben mit hohem D/L-Asp-Wert (über 0,08) weisen immer einen Ca/P-Wert von über 3,6 auf.

Der Gewichtsanteil des Minerals (in Gew%), in drei gleich große Klassen eingeteilt, zeigt keinen statistischen Bezug zu DNA-Amplifizierbarkeit, Inhibitorenanwesenheit oder Signalen der Agarosegelelektrophorese.

Auffällig ist allerdings, dass alle Proben mit Mineralanteilen von unter 30Gew% keine Signale in der Agarosegelelektrophorese hervorrufen.

Der Ca/P-Quotient zeigt ebenfalls keinen Bezug zu den Merkmalen „Signal in der Agarosegelelektrophorese“ oder „Inhibitorenanwesenheit“. Allerdings lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Ca/P-Quotient und Amplifizierbarkeit nachweisen (Craddock-Flood-Test, $p=0,005004$, $n=21$). Die Abbildung IV.80 zeigt, dass nicht amplifizierbare Proben wesentlich häufiger einen hohen (über 2,3) Ca/P-Quotienten aufweisen als amplifizierbare Proben, die zumeist einen Ca/P unter 2,3 besitzen.

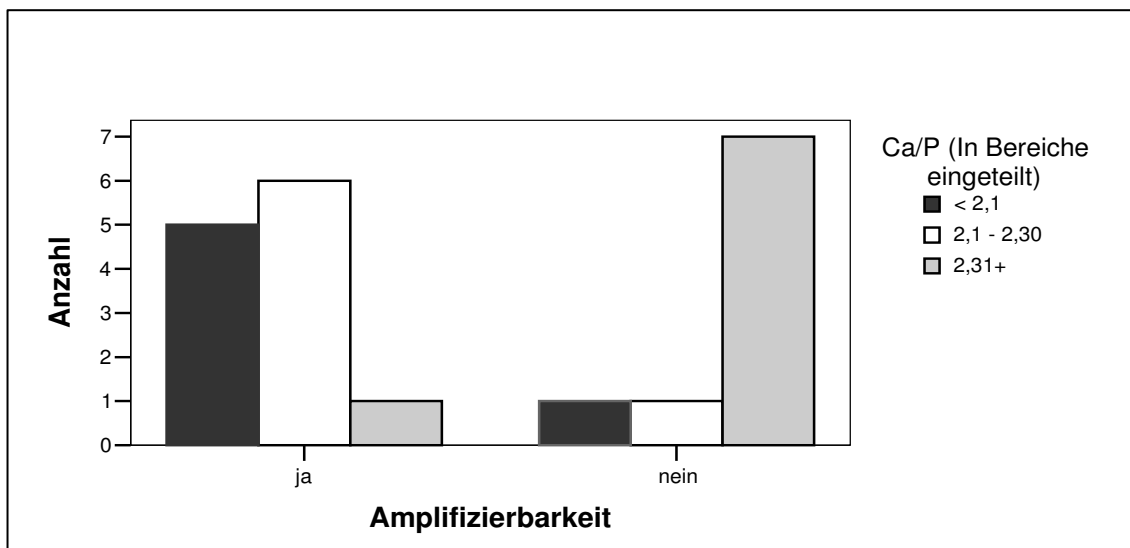


Abb. IV.80: Zusammenhang zwischen DNA-Amplifizierbarkeit und Ca/P-Quotient der Proben

Die Proben des Temperaturexperiments II lassen aufgrund der geringeren Datenmenge keine Feststellungen von Zusammenhängen zu.

IV Ergebnisse

Der Gewichtsanteil des Apatits des Temperaturexperimentes I korreliert hochsignifikant mit dem C-Gehalt (Korrelationskoeffizient nach Pearson: -0,685, dem N-Gehalt (Korrelationskoeffizient nach Pearson -0,704) und dem D/L-Asp-Quotienten (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,728). Mit zunehmendem Gewichtsanteil des Apatits nehmen also der C- und N-Gehalt ab und der D/L-Asp-Quotient zu. Weiterhin ist ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Kollagengewichtsprozenten und Gewichtsanteil des Apatits feststellbar (hochsignifikanter Korrelationskoeffizient nach Spearman: 0,6). Man beachte allerdings wiederum, dass es sich hierbei um sekundäre Zusammenhänge, begründet durch die Abhängigkeit der Merkmale von der Inkubationszeit handelt. Es ist kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Kollagenerhaltungsgrad und Mineralgewichtsanteil feststellbar.

Kein Zusammenhang ist zwischen dem Gewichtanteil des Carbonats und der Amplifizierbarkeit der Proben auszumachen. Dabei ist allerdings die geringe Probenzahl (7) zu berücksichtigen.

2.2 Zusammenhang der Fluoreszenzeigenschaften mit anderen Merkmalen

Mittels der Spearmaschen Rangkorrelation kann mit einer Ausnahme keine Korrelation zwischen den Fluoreszenzmerkmalen „Blauindex“, „Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz“ sowie „Farbmuster“ und den histologischen Merkmalen „OHI“, „Doppelbrechung“, „Mikrofissuren“, „bakterieller Befall“ und „Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen“ sowie „brauner Verfärbung unter Strukturerehalt“ bei Beurteilung des gesamten Querschnitts gefunden werden. Bei diesen Merkmalen ist also kein linearer Zusammenhang zu finden. Nur die Merkmale „Doppelbrechung“ und „Blauindex“ zeigen eine hochsignifikante Korrelation, allerdings mit relativ geringen Korrelationskoeffizienten (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,368, n=57).

Um eine statistisch bessere Vergleichbarkeit des Blauindex zu erhalten, werden die Indexwerte des Blauindex im Folgenden zu drei Gruppen zusammengefasst, die jeweils 2 Indexwerte beinhalten: Wenig: 0-1, mittel: 2-3, viel: 4-5.

Bei Prüfung auf einen Zusammenhang der vereinfachten Merkmale Blauindex und histologischer Erhaltungsgrad mittels des nichtlinearen Chi-Quadrat-Tests kann eine hochsignifikante Korrelation zwischen diesen Merkmalen festgestellt werden ($p=0,0001$, $n=57$). Wie die Abbildung IV.81 zeigt, treten Blauindexwerte von 4 und 5, also eine stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz, nur bei Proben auf, die einen guten histologischen Erhaltungsgrad zeigen, wohingegen wenig bis keine blaue Fluoreszenz sowohl bei histologisch guten wie auch schlechten Proben vorkommt.

Diese Proben mit gutem histologischen Erhaltungsgrad und geringen hellblauen Fluoreszenzanteilen ($n=13$) sind zum einen die gesamten Proben des Fundkomplexes Hemmingstedt und zum anderen Proben des histologischen Erhaltungsgrades C, der sich durch reduzierte Doppelbrechung bei gutem histologischem Erhalt auszeichnet. Dies erklärt die fehlende Rangkorrelation mit dem OHI und die stärkere Korrelation mit der Doppelbrechung. Diese Merkmalskombination weist außerdem der Eiderschädel auf.

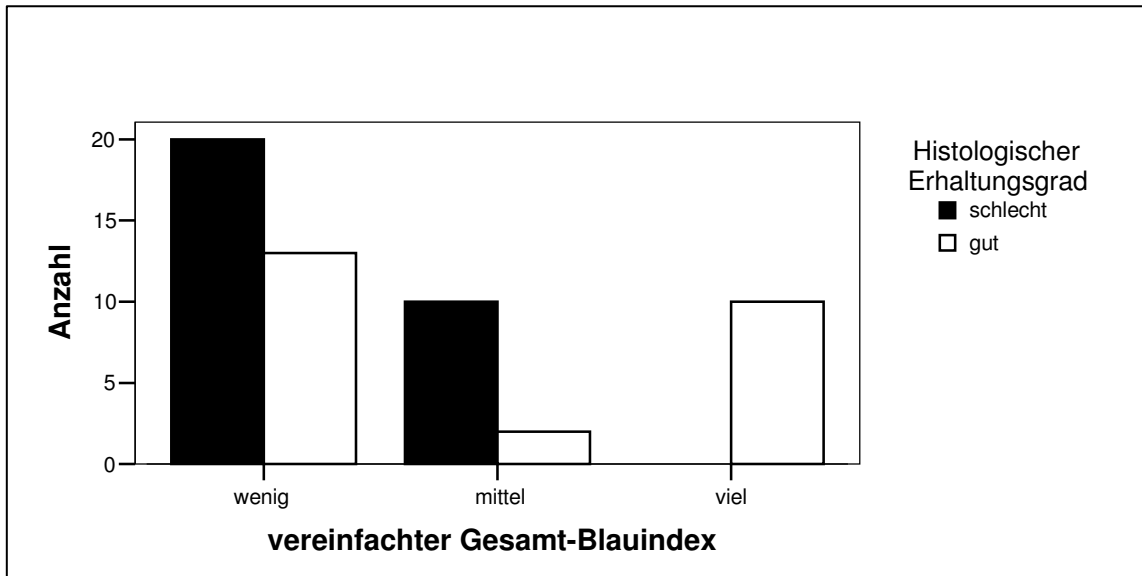


Abb. IV.81: Zusammenhang zwischen dem vereinfachten Gesamt-Blauindex und dem histologischen Erhaltungsgrad

Dementsprechend zeigen die histologischen Merkmalstypen einen hochsignifikanten Zusammenhang (Chi-Quadrat mit $p=0,0002$, $n=57$) mit dem Blauindex. Die Abbildung IV.82 zeigt, dass eine stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz nur bei Proben mit dem histologischen Merkmalstyp A vorkommt, während der histologische Merkmalstyp C nur Proben mit wenig blauer Fluoreszenz beinhaltet. Der Merkmalstyp B zeigt nie stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz, sondern es überwiegen Proben mit geringen hellblauen Fluoreszenzanteilen. Der Merkmalstyp A zeigt auffallenden Proben mit wenig oder mittlerer blauer Fluoreszenz, dies sind die schon erwähnten Proben des Fundplatzes Hemmingstedt, sowie die Proben T8 und F4.

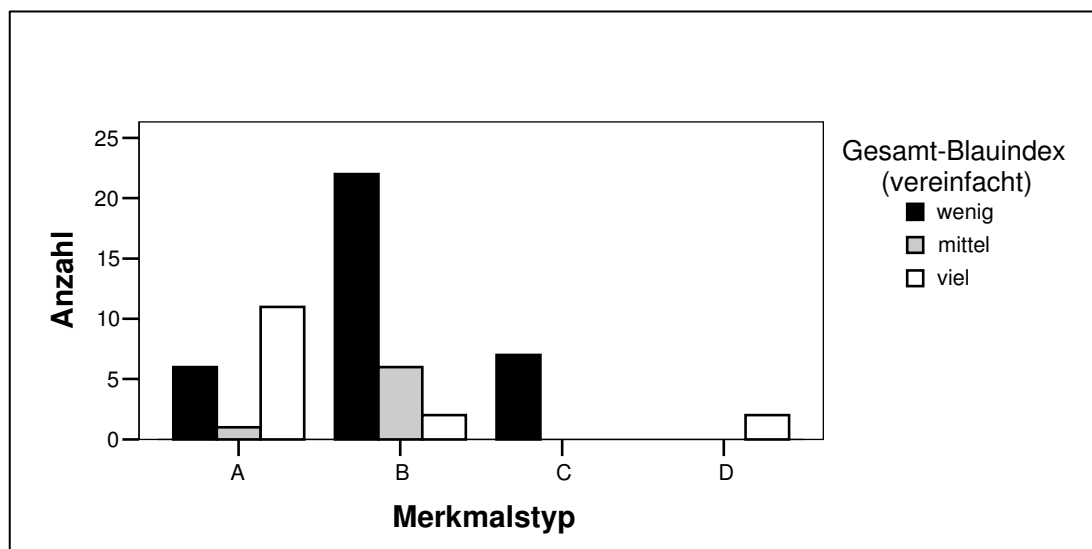


Abb. IV.82: Zusammenhang zwischen dem vereinfachten Gesamt-Blauindex und dem histologischen Merkmalstyp

IV Ergebnisse

Die Anwesenheit von lila Farbausprägung unter dem UV-Licht weist ebenfalls einen hochsignifikanten Zusammenhang mit dem histologischen Erhaltungsgrad auf (Chi-Quadrat, exakter Test nach Fischer mit $p=0,0000$, $n=57$). Sie ist bis auf drei Ausnahmen nur bei Proben mit schlechtem histologischen Erhaltungsgrad zu finden. Braun/gelbliche Fluoreszenz findet man gleichhäufig, sowohl bei Proben mit gutem als auch mit schlechtem histologischen Erhaltungsgrad. Einen großen Teil der Proben mit braun/gelblicher Fluoreszenz und gutem histologischem Erhaltungsgrad machen wiederum die Proben des Merkmalstyp C aus (8 von 13 Proben), die ausschließlich gelb/braune Fluoreszenz zeigen (vgl. Abb. IV.83).

Allerdings zeigen die Proben der Merkmalstypen A, B und C gleichhäufig gelblich/bräunliche Fluoreszenzanteile. Diese erstrecken sich allerdings nur bei Proben des Merkmalstypen C über die gesamte Fläche.

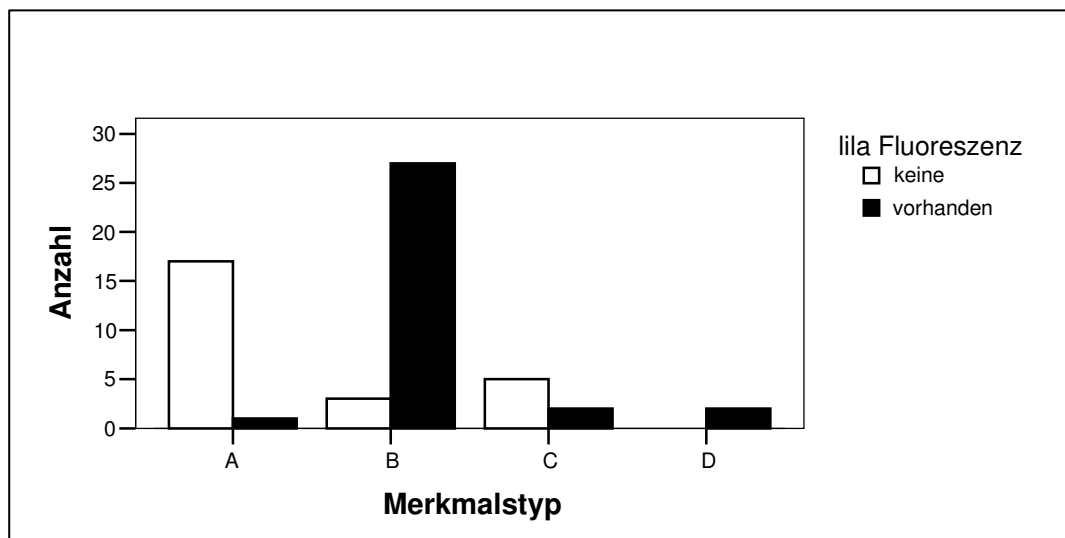


Abb. IV.83: Zusammenhang zwischen dem histologischen Merkmalstyp und der Anwesenheit von lila Fluoreszenzanteilen

Lila Fluoreszenz kommt, entsprechend ihres Zusammenhanges mit dem histologischen Erhaltungsgrad, hauptsächlich bei dem Merkmalstyp B vor, während der Merkmalstyp A nur bei einer Probe lila Fluoreszenzanteile zeigt (vgl. Abb. IV.83). Es besteht ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen histologischem Merkmalstyp und Vorhandensein der lila Fluoreszenzanteile (Chi-Quadrat mit $p=0,000$, $n=57$). Die Proben des Merkmalstypen C zeigen zum Teil Anteile lila Fluoreszenz.

Die braun/gelbe Fluoreszenz zeigt keine hochsignifikante Verteilung auf die Merkmalstypen, allerdings erkennt man (siehe Abb. IV.84), dass alle Proben des histologischen Merkmalstypen C diese Fluoreszenzanteile besitzen.

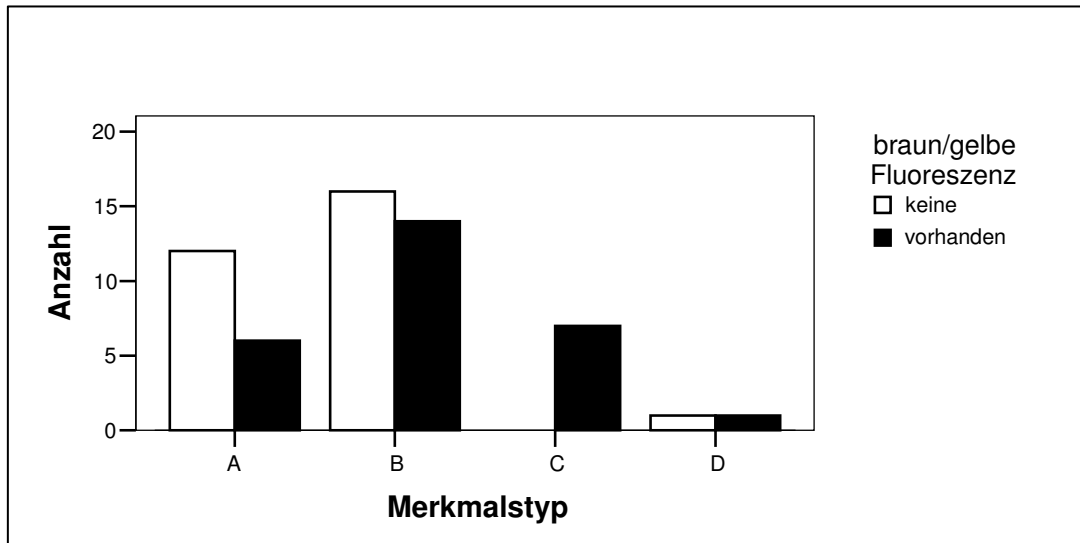


Abb. IV.84: Zusammenhang zwischen dem histologischen Merkmaltyp und der Anwesenheit von braun-gelben Fluoreszenzanteilen

Die nicht mit dem histologischen Erhaltungsgrad korrelierenden und nicht im histologischen Merkmaltyp erfassten Merkmale Mikrofissuren und Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen zeigen keinen Bezug zur Fluoreszenz.

Ein signifikanter Zusammenhang besteht zwischen der bräunlichen Verfärbung unter Strukturerhalt und der Ausprägung der braun/gelben Fluoreszenz (Chi-Quadrat mit $p=0,049$, $n=57$). So sind Proben mit braun/gelber Fluoreszenz in allen Indexklassen zur Beurteilung der bräunlichen Verfärbung unter Strukturerhalt vorhanden. Alle Proben mit weitflächiger brauner Verfärbung (Indexwerte 0 und 1) zeigen ausschließlich braun/gelbe Fluoreszenz.

Man kann den histologischen Merkmaltypen also folgende Fluoreszenzfarbgebungen zuordnen:

- Merkmaltyp A: Meistens stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz, nur in Ausnahmefällen keine hellblaue Fluoreszenz vorhanden, dann mit dunkelblauer Farbausprägung (Hemmingstedter Fundmaterial). Keine großflächigen lila und gelb/braunen Farbgebungen.
- Merkmaltyp B: Mittelstarke bis wenig ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz. Immer Anteile von lila Fluoreszenz vorhanden, zum Teil kleinflächige braun/gelbe Fluoreszenzanteile.
- Merkmaltyp C: Keine hellblaue Fluoreszenz oder nur vereinzelt sehr kleine Areale. Immer gelb-braune Fluoreszenz vorhanden, zum Teil mit geringen lila Farbanteilen.
- Merkmaltyp D wird nur von zwei Proben vertreten und wird so aus der Betrachtung ausgeschlossen.

Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Kollagengehalt (in Gew%) nach Säureextraktion (Chi-Quadrat mit $p=0,034$, $n=56$) und dem vereinfachten Blauindex, dieser ist bei dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion nicht nachzuweisen. Wie man in Abbildung IV.85 erkennen kann, haben Proben mit höherem Kollagenanteil eher eine stark ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz, während Proben unter 8Gew% Kollagen nie stark ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz zeigen. Allerdings weisen auch Proben mit Kollagenanteilen von 20 bis 24% wenig bis keine hellblaue Fluoreszenz auf.

IV Ergebnisse

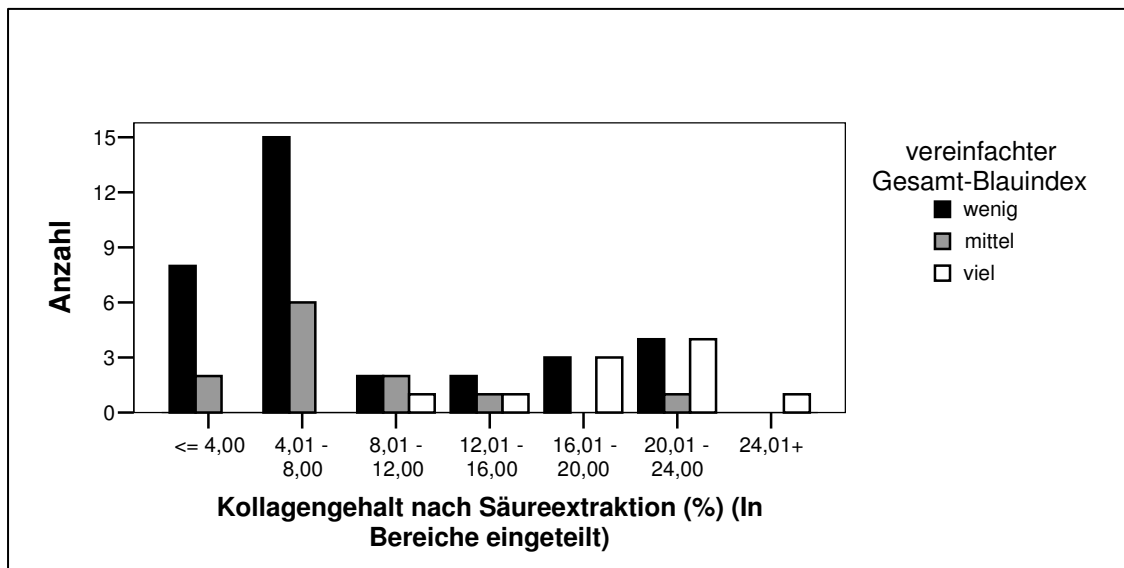


Abb. IV.85: Zusammenhang zwischen dem histologischen Merkmalstyp und der Anwesenheit von braun-gelben Fluoreszenzanteilen

Die Ausprägung der lila Fluoreszenz zeigt einen stärkeren Zusammenhang mit dem Kollagengehalt, so kann mittels Chi-Quadrat-Test ein Zusammenhang sowohl zu dem Kollagenanteil nach Gelatineextraktion ($p=0,01$, $n=57$), als auch zu dem Kollagenanteil nach Säureextraktion ($p=0,0000$, $n=56$) festgestellt werden.

Lila Fluoreszenzanteile können nur bei Proben festgestellt werden, die unter 8Gew% (Gelatineextraktion) bzw. unter 18Gew% (Säureextraktion) Kollagenanteil haben.

Gelb/braune Fluoreszenz hingegen zeigt keinen Bezug zum Kollagenanteil, solche Farbanteile kommen in allen Kollagengehaltsklassen annähernd gleichhäufig vor.

Es kann kein Zusammenhang der Fluoreszenzausprägung der Proben mit dem C%-Anteil sowie dem C/N-Quotienten festgestellt werden, während das Vorhandensein der hellblauen und lila Fluoreszenz einen Zusammenhang mit dem N%-Anteil zeigt (Signifikanz durch Chi-Quadrat mit $p=0,016$ bzw. $p=0,05$, $n=57$).

Es kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und dem vereinfachten Blauindex festgestellt werden. Anhand von Abbildung IV.86 kann man allerdings erkennen, dass Proben mit gutem Kollagenerhaltungsgrad öfter stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz zeigen.

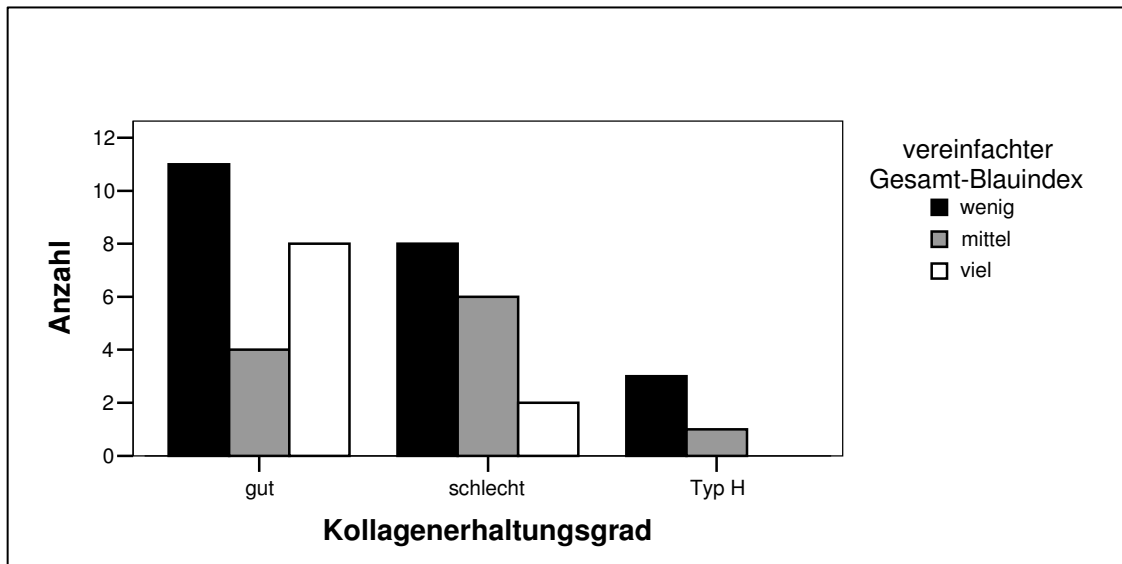


Abb. IV.86: Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und dem vereinfachten Gesamtblauindex

Es ist kein Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und der Ausprägung der braun/gelben Fluoreszenz erkennbar. Statistisch signifikant (Chi-Quadrat mit $p=0,07$, $n=43$) ist der Zusammenhang der Anwesenheit der lila Fluoreszenz mit dem Kollagenerhaltungsgrad. Proben mit schlechtem Kollagenerhaltungsgrad zeigen unverhältnismäßig oft eine meist großflächig ausgeprägte lila Fluoreszenz (vgl. Abb. IV.87).

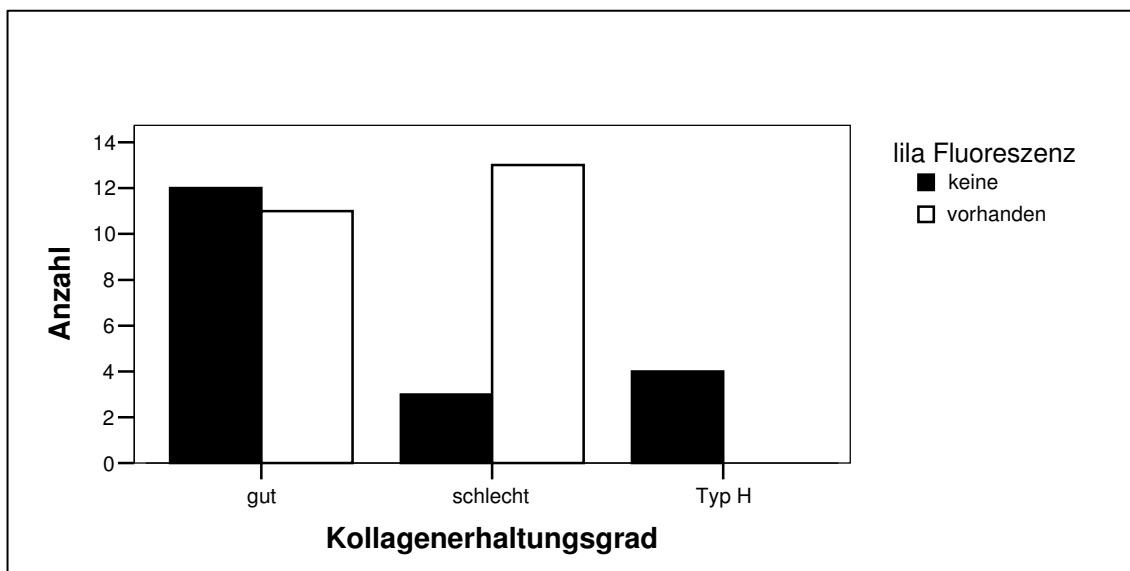


Abb.IV.87: Zusammenhang zwischen dem Kollagenerhaltungsgrad und der Anwesenheit der lila Fluoreszenz

Ein signifikanter Zusammenhang mit dem D/L-Asp-Wert ist nur mit vereinfachtem Gesamtblauindex festzustellen (Chi-Quadrat mit $p=0,038$, $n=57$), nicht mit der lila oder gelb/braunen Fluoreszenz. Alle D/L-Asp-Klassen zeigen Proben mit geringen Anteilen hellblauer Fluoreszenz; viel hellblaue Fluoreszenz sieht man nur bei Proben mit D/L-Asp-Werten unter 0,06.

IV Ergebnisse

Zwischen den Signalen der Agarosegelelektrophorese und den erfassten Fluoreszenzfarbgebungen ist statistisch kein Zusammenhang zu erkennen. Allerdings fällt auf, dass die der Mehrzahl der Proben, die in der Agarosegelelektrophorese ein starkes Signal zeigen, lila Fluoreszenzanteile haben (vgl. Abb. IV.88).

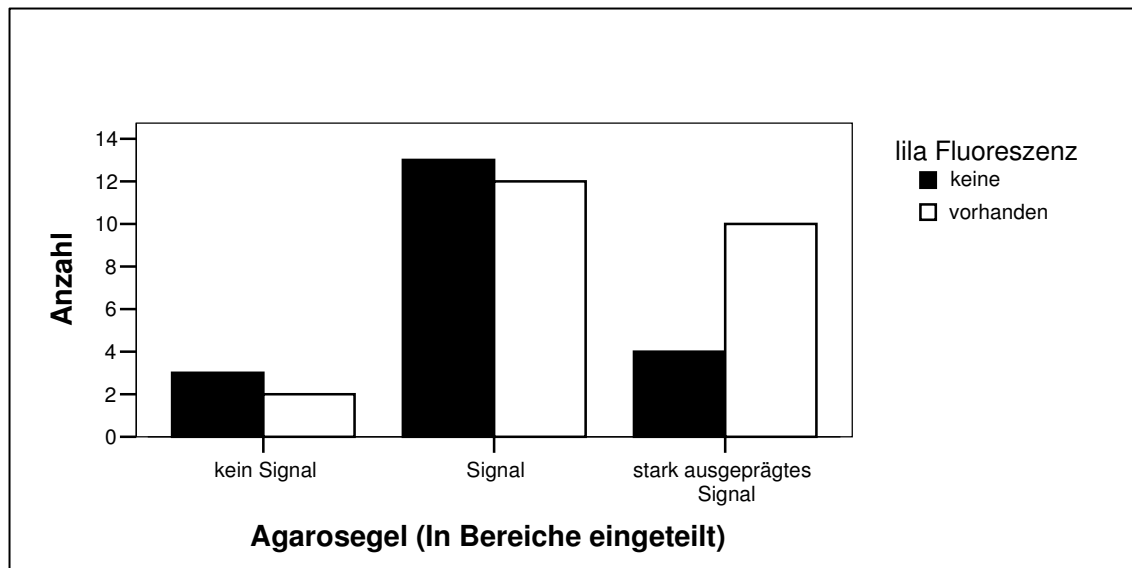


Abb. IV.8: Zusammenhang zwischen einem Signal in der Agarosegelelektrophorese (Bewertung des Signals in der Agarosegelelektrophorese zusammengefasst zu: 0 = kein Signal, 1,2 = Signal, 3 = stark ausgeprägtes Signal)

Es kann statistisch kein Zusammenhang zwischen der Fluoreszenzfarbgebung bzw. Ausprägung (Blauindex) der Proben und der Amplifizierbarkeit hergestellt werden. In Abbildung IV.89 erkennt man allerdings die Tendenz, dass Proben mit stark ausgeprägter blauer Fluoreszenz eher amplifiziert werden können.

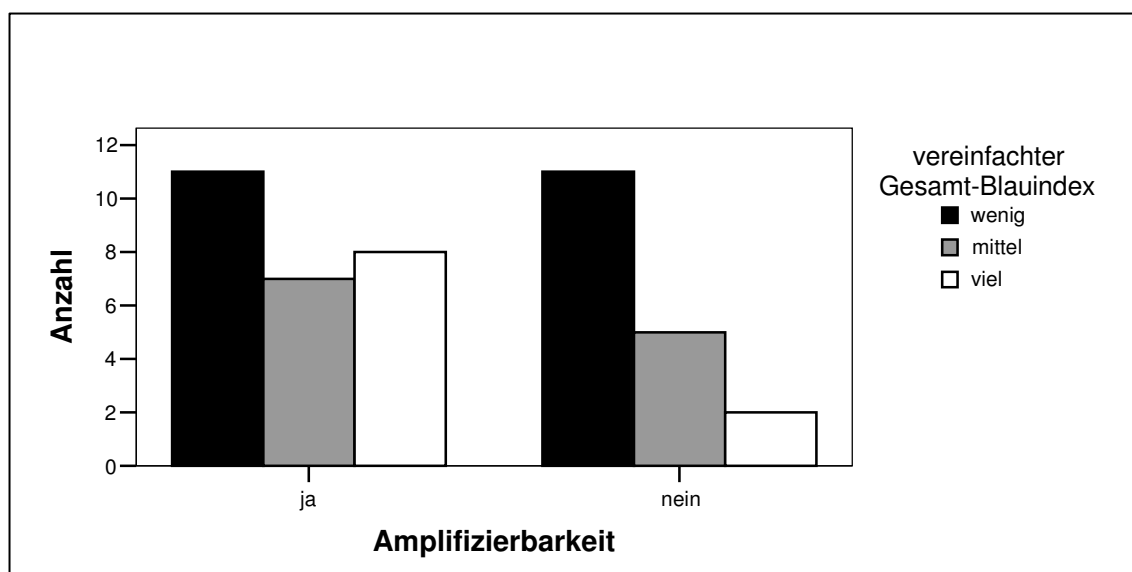


Abb. IV.89: Zusammenhang zwischen der DNA-Amplifizierbarkeit der Proben und dem vereinfachten Gesamt-Blauindex: Proben mit stark ausgeprägter Fluoreszenz können eher amplifiziert werden

Die braun/gelbe Fluoreszenz zeigt im Gegensatz zu dem Blauindex oder der lila Fluoreszenz einen signifikanten Zusammenhang mit der Anwesenheit von Inhibitoren (Chi-Quadrat, exakter Test nach Fischer, $p=0,001$, $n=36$). Proben, bei denen Inhibitoren festgestellt werden, zeigen signifikant öfter eine braun/gelbe Fluoreszenz als Proben, die keine Inhibitoren aufweisen (vgl. Abb. IV.90).

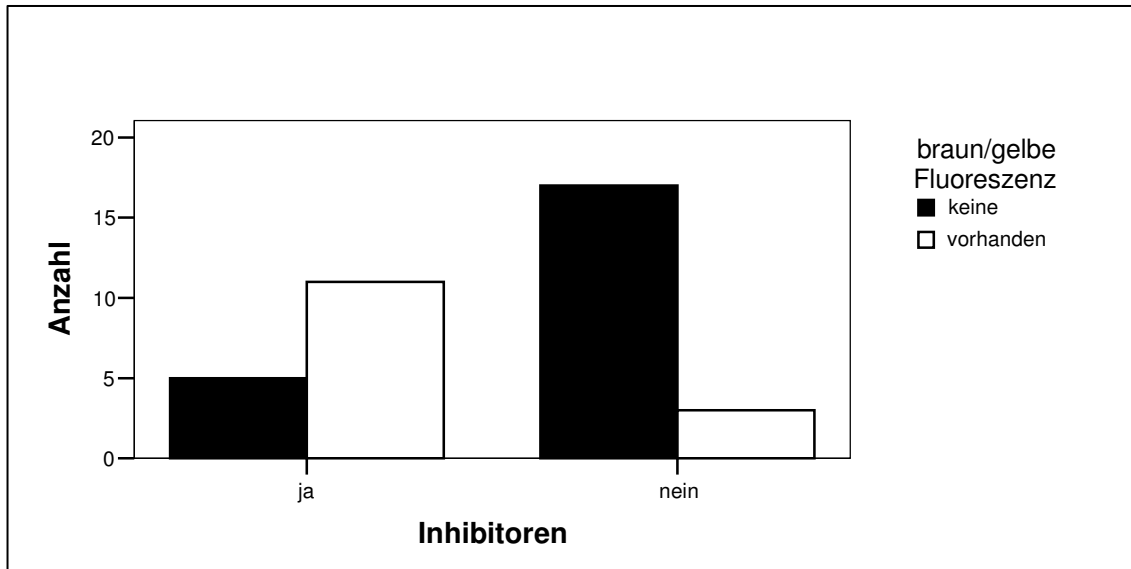


Abb. IV.90: Zusammenhang zwischen der Inhibitorenanwesenheit und der braun/gelben Fluoreszenz

In Bezug auf den mineralischen Gewichtsanteil kann nur bei der lila Fluoreszenz ein Zusammenhang gefunden werden (Craddock-Flood-Test, $p=0,002190$, $n=57$).

Wie die Abbildung IV.91 zeigt, weisen mehr Proben mit hohem Mineralanteil (über 60%) lila Fluoreszenzanteile auf, als Proben mit niedrigerem Mineralanteil. Proben mit stark ausgeprägter blauer Fluoreszenz kommen in allen Bereichen vor.

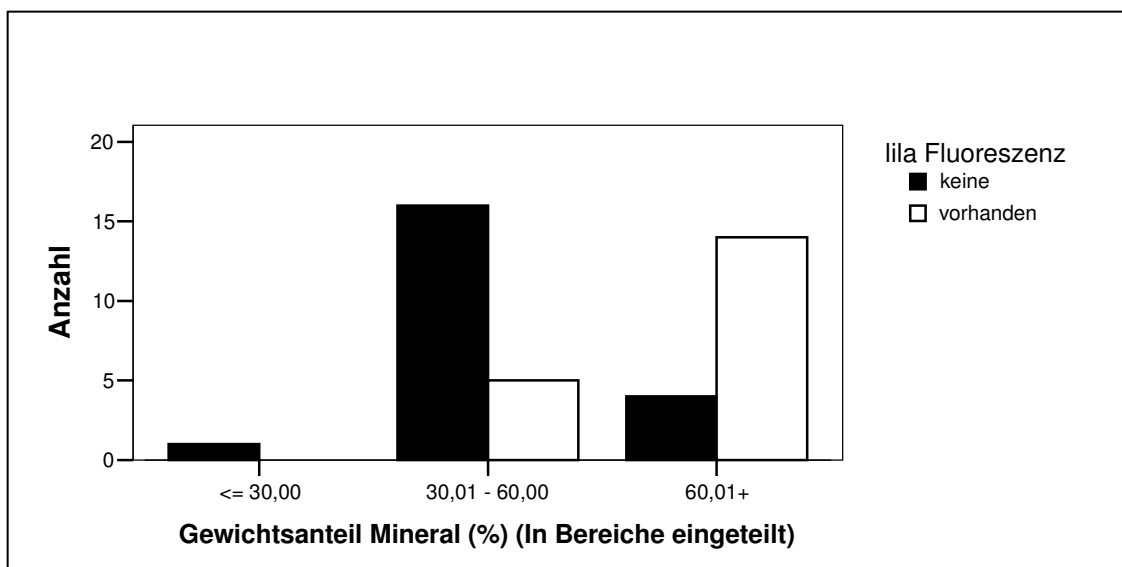


Abb. IV.91: Zusammenhang zwischen dem Gewichtsanteil des Minerals (in Prozent) und der Ausprägung der lila Fluoreszenz

IV Ergebnisse

Einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem Ca/P-Wert zeigt nur die lila Fluoreszenz (Craddock-Flood-Test, mit $p=0,044906$, $n=23$). So besitzt nur eine der sieben Proben mit einem Ca/P-Wert im Bereich von 2,1 bis 2,3 (entspricht rezenten Knochen) geringfügige lila Fluoreszenzanteile (T1). Proben, die außerhalb dieses Bereiches liegen, zeigen wesentlich öfter lila Fluoreszenzanteile (vgl. Abb. IV.92).

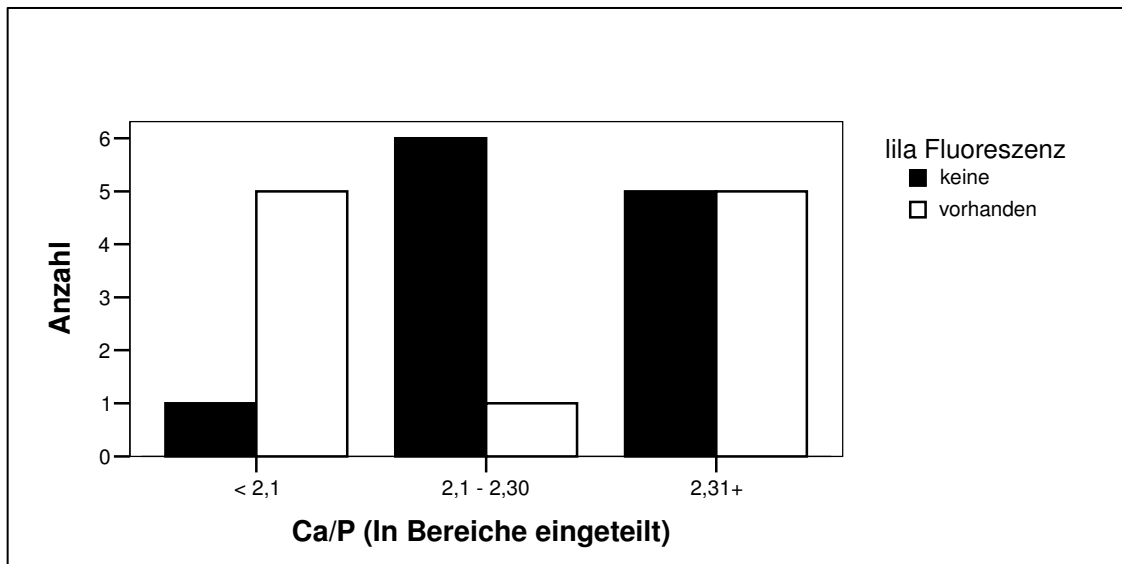


Abb. IV.92: Zusammenhang zwischen dem Ca/P-Quotienten und dem Vorhandensein der lila Fluoreszenz

Bei einem Abgleich mit den Elementkonzentrationen fällt auf, dass die Proben mit dunkelblauen Fluoreszenz auffällig hohe Eisenwerte, sowie zum Teil erhöhte Manganwerte besitzen. Die Abbildung IV.93 zeigt diese vier Proben und die jeweiligen Eisen- bzw. Mangankonzentrationen.

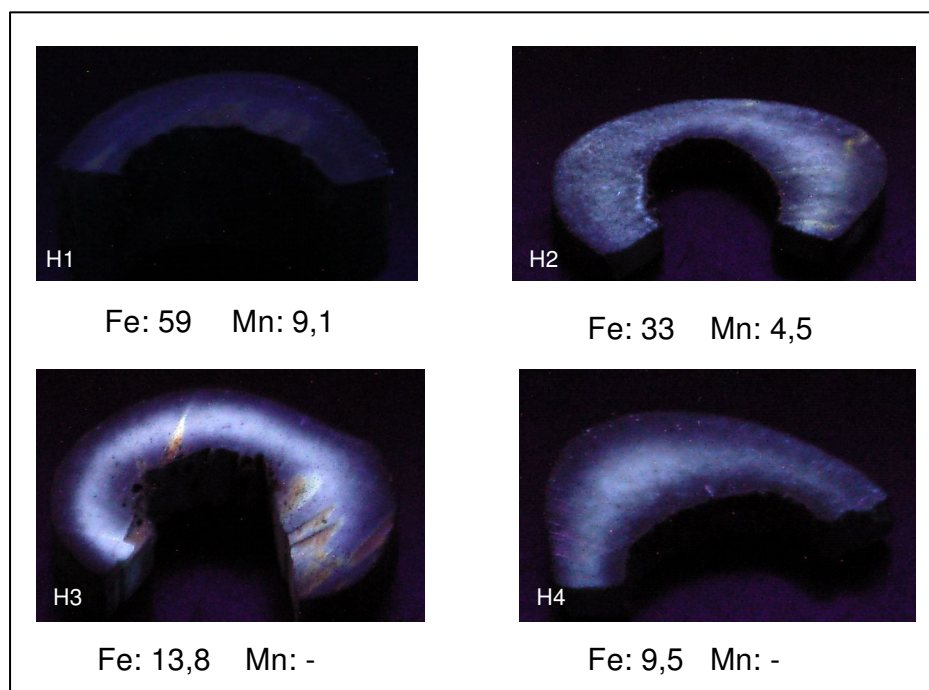


Abb. IV.93: Fluoreszenzmuster des Hemmingstedter Fundmaterials und dazugehörige Element-Konzentrationsquotienten (siehe III.10) von Eisen (Fe) und Mangan (Mn), bei den bräunlichen Anteilen der Probe H3 handelt es sich um Sägeartefakte

Man erkennt, dass die dunkelblaue Fluoreszenz in typischen Diffusionsmustern (U-Form) auftaucht (Liang et al. 1996, Millard & Hedges 1995, Reiche et al. 2003), in denen der periostale Rand dunkelblau gefärbt ist, während im mittleren Bereich oft hellblaue Fluoreszenz verbleibt.

Die Quantität der dunkelblauen Fluoreszenz ist eindeutig mit der Eisenkonzentrationen in Verbindung zu bringen (siehe Abb. IV.93). Die Probe mit der stärksten Ausprägung der Fluoreszenz (H1) zeigt die höchsten Eisen- und Manganwerte. H2 zeigt stärkere Anteile hellblauer Fluoreszenz als H1, aber weniger als H3 und H4 und hat zudem einen mittleren Eisen- und Manganwert, während H2 und H3 die am schwächsten ausgeprägte dunkelblaue Fluoreszenz und die niedrigsten Eisenwerte zeigen; die Manganwerte waren unterhalb der Messgrenze.

Hohe Mangan- und Eisenwerte treten im untersuchten Material immer gemeinsam auf, so dass schwer festzustellen ist, welche dieser Komponenten im Zusammenhang mit der dunkelblauen Fluoreszenz steht.

Stark erhöhte Eisen- und Manganwerte (26,8 und 17,2) hat außer dem Hemmingstedter Fundmaterial der Eiderschädel, der durch extrem dunkle lila Farbgebung im mittleren Bereich auffällt und im periostalen und endostalen Bereich gelb-braune Anteile zeigt. Der Knochen ist aufgrund der besonderen Liegebedingungen (siehe II: 1.5) und der Tatsache, dass es sich hierbei um ein Kraniumfragment mit höherem spongiösen Anteil und nicht um einen Femurquerschnitt handelt, nicht direkt mit dem Hemmingstedter Material vergleichbar.

Ebenfalls erhöhte Eisenwerte zeigen NC 15 und NC 16, die beide ausschließliche braune Fluoreszenzanteile aufweisen.

Weiterhin fällt auf, dass Proben mit brauner Fluoreszenz im Vergleich mit anderen Proben oft überdurchschnittlich erhöhte Elementkonzentrationen (mit Ausnahme von Mg und Na) zeigen.

Die Proben des Temperaturexperimentes I zeigen mit zunehmender Inkubationszeit eine stärkere Ausprägung der lila Fluoreszenz mit verminderter hellblauer Fluoreszenz, nur die Probe mit 32 Tagen Inkubationszeit lässt Anzeichen brauner Fluoreszenz erkennen.

Mit zunehmender Inkubationszeit nehmen Kollagengehalt, C- und N-Gehalt und Amplifizierbarkeit ab, sowie der D/L-Quotient, der C/Nmolar-Quotient und der Fragmentierungsgrad der DNA zu. Eine statistischer Abgleich ist aufgrund der geringen Probenmenge und der schwierigen Quantifizierbarkeit der Anteile hellblauer Fluoreszenz nicht möglich.

2.3 Zusammenhänge mit Individualdaten

Da die Informationen zu Geschlecht, Individualalter und Körpergröße bei einer Vielzahl der humanen Knochenproben vorhanden sind (siehe II: 1), ist es möglich, nach einem Zusammenhang mit den erhobenen Merkmalen zu suchen.

Eine statistische Auswertung hinsichtlich des Geschlechts und eventueller Zusammenhänge mit den erhobenen Merkmalen ist kritisch zu sehen, da keine Zufallsstichprobe vorliegt, sondern

IV Ergebnisse

aufgrund der Fragestellung (z.B. Etting: männliche Individuen wurden ausgewählt) oder der Fundplatzsituation (z.B. Hemmingstedt: Kriegergrab) überproportional viele männliche Individuen (65%) in der Stichprobe vorhanden sind. Trotzdem soll eine Auswertung mittels Kreuztabellen und Signifikanztest erfolgen, weil so zumindest eventuelle Tendenzen sichtbar werden können.

Bei den histologischen Merkmalen konnte ein signifikanter Zusammenhang mit dem Geschlecht nur mit der Ausprägung der Mikrofissuren hergestellt werden (Craddock-Flood-Test, $p=0,022844$, $n=20$). Die Abbildung IV.94 zeigt die Verteilung der nach der Häufigkeit der Mikrofissuren beurteilten Proben auf die Geschlechter. Ein Indexwert von 0 (fast alle Osteone sind von Mikrofissuren betroffen) kam nicht vor. Man erkennt deutlich, dass nur Proben von weiblichen Individuen den Indexwert 1 aufweisen, also viele Osteone mit Mikrofissuren aufweisen, während männliche Individuen überwiegend nur vereinzelt oder gar keine Mikrofissuren zeigen. Interessanterweise ist die gleiche Verteilung bei den Proben des Temperaturexperimentes II zu beobachten, wobei dieses Ergebnis nach dem Craddock-Flood's Chi-Quadrat-Test auch bei der geringen Probenzahl als signifikant einzustufen ist ($p=0,035674$). Alle untersuchten männlichen Individuen ($n=4$) zeigten nur vereinzelt Mikrofissuren (Indexwert 2), während die Mehrzahl der Frauen ($n=4$) viele Osteone mit Mikrofissuren aufweisen (Indexwert 1). Bei jeweils einer Frau können die Indexwerte 0 und 2 festgestellt werden. Eine Probe ohne Mikrofissuren (Indexwert 3) kam nicht vor.

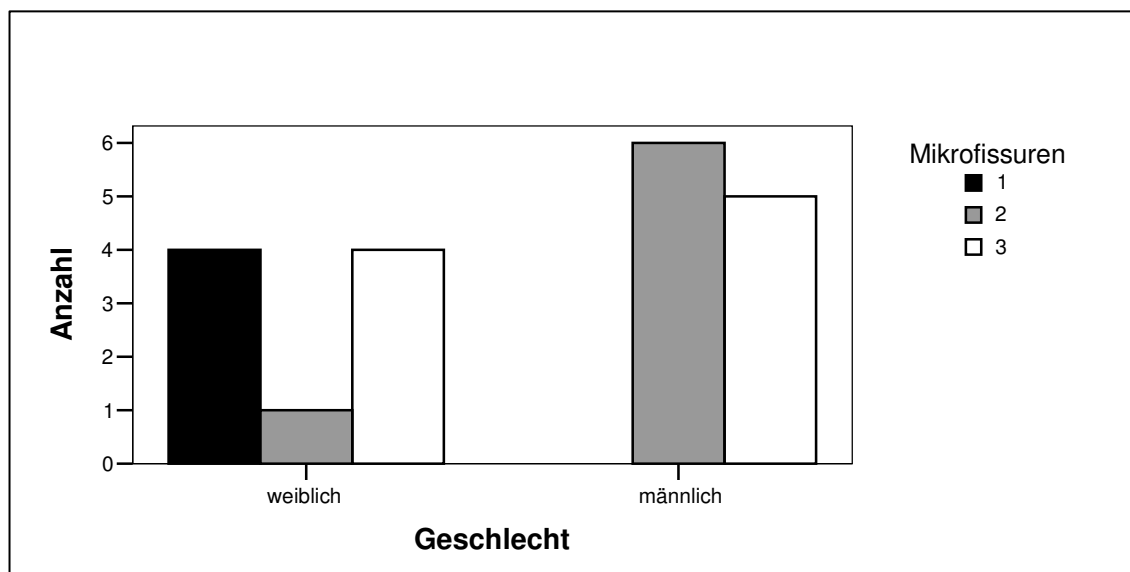


Abb. IV.94: Verteilung der nach der Häufigkeit der Mikrofissuren beurteilten Proben auf die Geschlechter; ein Indexwert von 0 (fast alle Osteone sind von Mikrofissuren betroffen) kam nicht vor

Es lässt sich hinsichtlich der braunen Fluoreszenz ein signifikanter Geschlechterunterschied feststellen (Chi-Quadrat, exakter Test nach Fischer, $p=0,27$, $n=45$). So zeigen mehr Proben von weiblichen Individuen braun/gelbe Fluoreszenz als männliche (siehe Abb. IV.95).

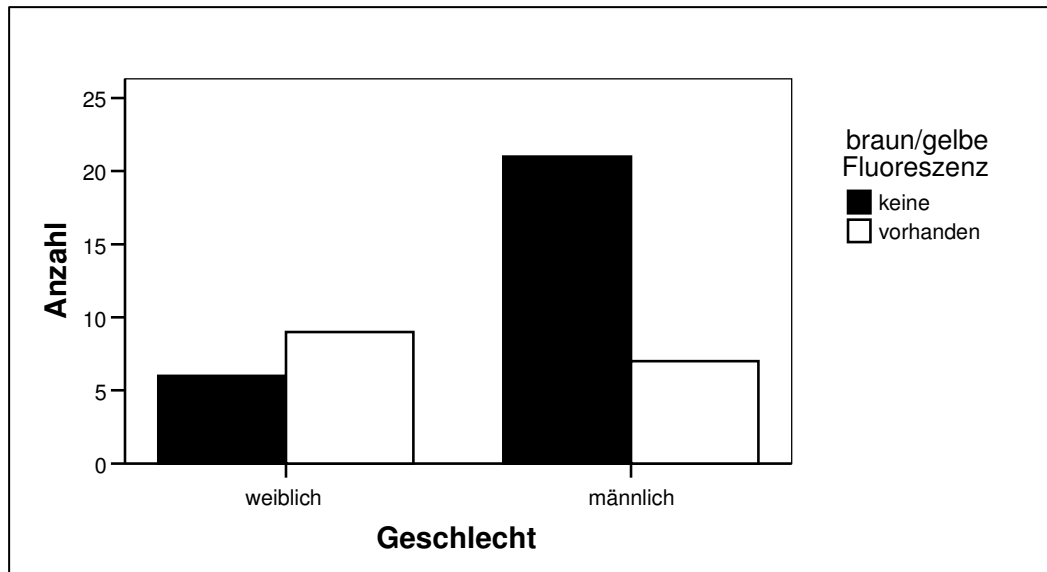


Abb. IV.95: Verteilung der braun/gelben Fluoreszenz auf die beiden Geschlechter

Das Geschlecht zeigt außerdem Bezug zu einigen Kollagenmerkmalen. So besteht ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen Kollagenerhaltungsgrad und Geschlecht (exakter Test nach Fischer $p=0,000317$, $n=34$). Der Typ H des Erhaltungsgrades wurde von dem statistischen Test ausgenommen, da er nur bei einem Fundplatz (Hemmingstedt) mit ausschließlich männlichen Individuen vorkommt. Die untersuchten weiblichen Individuen weisen ausschließlich eine gute Kollagenqualität auf, während Proben von männlichen Individuen überwiegend eine schlechte Kollagenqualität zeigen. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass bei der geringen Stichprobe ($n=34$) der auf den Erhaltungsgrad untersuchten Proben, der Männerüberschuss durch Vorauswahl (Fundplatz Ettingen) besonders zum Tragen kommt (s. o.), so dass eine statistische Signifikanz nicht gewährleistet ist.

Es ist ein Zusammenhang zwischen DNA-Inhibitorenanwesenheit und Geschlecht zu registrieren, so sind bei Proben von männlichen Individuen signifikant weniger Inhibitoren festzustellen als bei weiblichen (Chi-Quadrat, exakter Test nach Fischer, $p=0,015$, $n=30$).

Ein Zusammenhang des Geschlechts mit Merkmalen der mineralischen Matrix kann nicht festgestellt werden.

Das Individualalter korreliert unter den histologischen Merkmalen nur mit dem Grad der Mikrofissuren signifikant (Korrelationskoeffizient nach Spearman: $-0,481$, $n=21$). Die negative Korrelation weist darauf hin, dass ältere Individuen tendenziell mehr Mikrofissuren aufweisen.

Die Proben des Temperaturexperimentes II stammen alle von Individuen der Altersklassen Maturitas und Senilis, so dass Zusammenhänge mit den erhobenen Merkmalen nicht gefunden werden können.

Ein Zusammenhang der Individualaltersklasse mit Merkmalen der Fluoreszenz, des Kollagens der DNA und der mineralischen Matrix kann nicht festgestellt werden.

Die Körpergröße (sowohl auf nominal als auch ordinal skaliertem Niveau) zeigt kein Zusammenhang mit den histologischen, Fluoreszenz-, Kollagen-, Mineral- und DNA-Merkmalen.

3. Diagenese und Spurenkunde: Spezielle Fragestellungen

Unter Punkt I: 5.2 wurden mehrere spezielle Fragestellungen der Schnittstelle Diagenese/ Spurenkunde postuliert. In diesem Abschnitt wird eine Beantwortung dieser Fragen mittels der unter den Abschnitten IV: 1 und IV: 2 gefundenen Resultate und Anwendung verschiedener Statistikverfahren (siehe III: 12) angestrebt.

3.1 Aminosäurerazemisierung und Erhitzungsvorgänge

Die Erhitzung der Knochenproben der Temperaturexperimente I und II zeigen, dass die D/L-Quotienten mit zunehmender Inkubationszeit in Wasser zunehmen (vgl. IV: 1.3.4), wobei das Temperaturexperiment II einen geringeren Anstieg aufweist. Nach zwölfstündigem Inkubieren der Proben in Wasser von 90°C (also nichtkochendem Wasser) kommt es zu einem Anstieg des D/L-Quotienten von ca. 0,01, nach weiteren 12 Stunden kann man wiederum einen Anstieg von 0,01 verzeichnen. Dieser relative lineare Anstieg (siehe auch den hohen Korrelationskoeffizient mit der Inkubationszeit in IV: 1.3.4) lässt die Annahme von einer Zunahme des D/L-Quotienten von ca. 0,0008 pro Stunde bei einer Inkubationstemperatur von 90°C zu. Somit ist die Differenzierung mittels des D/L-Quotienten zwischen gekochtem und ungekochtem Material bei Kochzeiten von ein bis zwei Std. und diesen Temperaturen schwierig, bei höheren Temperaturen sollten sich diese Werte allerdings vervielfachen (von Endt & Ortner 1984), so dass größere Differenzen entstehen.

Von dem Fundkomplex Nevalı Çori wurde von 10 humanen und 40 tierischen Knochenproben der D/L-Asp-Quotient bestimmt. Wie schon in Abbildung IV.51 dargestellt wurde, variieren die Werte beider Gruppen beträchtlich. Man erkennt außerdem, dass die D/L-Quotienten der Menschen in der Spannbreite der Werte der Tiere liegen. Da bekannt ist, dass Umwelteinflüsse wie auch Liegezeit und evt. Individualdaten wie das Alter Einfluss auf den D/L-Quotienten haben (siehe I: 3.2.2), soll im Folgenden eine Aufteilung nach diesen Kriterien stattfinden, um ggf. Unterschiede zwischen Mensch- und Tierknochen zu erkennen. Es werden folgende Parameter auf statistische Zusammenhänge mit dem D/L-Asp-Quotienten der Proben in Nevalı Çori geprüft:

- Tierspezies
- Knochentyp (Unterscheidung in Langknochen, Schädelknochen und „spongioser Knochen“, wobei bei letzterem Knochen mit hauptsächlich spongiosem Anteil, wie z.B. die Fußwurzelknochen, aber auch Rippen gemeint sind).
- Fundschichtkomplex (Einteilung der Fundschichten (siehe II: 1.3) in Komplexe von 1 (Schicht I) bis 7 (nachneolithisch); Proben mit unsicherer Zuordnung wie Schicht I-II werden dem höheren Schichtkomplex II zugeordnet.

Um eine Prüfung des metrisch skalierten D/L-Quotienten auf Zusammenhänge mit diesen Faktoren zu ermöglichen wurde dieser in 3 Klassen ($\leq 0,08$; $0,08 - 0,16$; $> 0,16$) bzw. 5 Klassen ($\leq 0,04$; $0,041 - 0,080$; $0,081 - 0,120$; $0,121 - 0,160$; $0,161+$) eingeteilt.

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zeigt sich nur zwischen dem D/L-Quotienten und der Fundschicht (5 Klassen: Prüfgröße: Haldane-Dawson's $U=1,7300$, $p=0,041815$).

Dieses Ergebnis wird auch durch die Anwendung der Varianzanalyse (Dreifaktoriell (Fundschicht, Spezies und Knochentyp); Prozedur Univariat, vgl. Tab.IV.16) bestätigt, im Falle der D/L-Quotienten ist nach Sichtung der Daten von Varianzhomogenität auszugehen (siehe III: 12).

Tab. IV. 16: Ergebnisse der dreifaktoriellen Varianzanalyse mittels Prozedur Univariat (F=Freiheitsgrade)

Abhängige Variable: D/L-Asp						
Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
Korrigiertes Modell	,043 ^a	33	,001	2,505	,087	,912
Konstanter Term	,131	1	,131	253,569	,000	,969
Fundschicht	,021	6	,003	6,746	,008	,835
Knochentyp	,000	2	9,84E-005	,190	,830	,045
Spezies	,009	10	,001	1,700	,232	,680
Fundschicht * Knochentyp	,000	1	,000	,710	,424	,082
Fundschicht * Spezies	,002	2	,001	1,847	,219	,316
Knochentyp * Spezies	,001	1	,001	,974	,352	,109
Fundschicht * Knochentyp * Spezies	,000	0	.	.	.	,000
Fehler	,004	8	,001			
Gesamt	,242	42				
Korrigierte Gesamtvariation	,047	41				

a. R-Quadrat = ,912 (korrigiertes R-Quadrat = ,548)

Die Tab.IV.16 zeigt die Ergebnisse der Varianzanalyse, man erkennt, dass nur der Faktor Fundschicht einen signifikanten Einfluss auf den D/L-Quotienten nimmt, während sich ein Einfluss der Faktoren Knochentyp und Spezies nicht signifikant bestätigen lässt. Die ermittelten partiellen Eta²-Werte verdeutlichen, dass der Faktor Fundschicht die Varianz der Stichprobe zu 83% erklären kann. Die Abbildung IV.96 zeigt, dass die Varianz der D/L-Asp-Werte von der Fundschicht abhängt. So kommen in der ältesten Fundschicht eine breite Anzahl von Werten vor, während in den Fundschichten II und III, aus denen die meisten Proben stammen, die Werte näher beieinander liegen und einen Wert von 0,08 bzw. 0,12 nicht überschreiten. Ähnliches gilt für die Fundschichten IV und VI-VIII, während die Fundschicht V wiederum sehr hohe Werte über 0,12 aufweist.

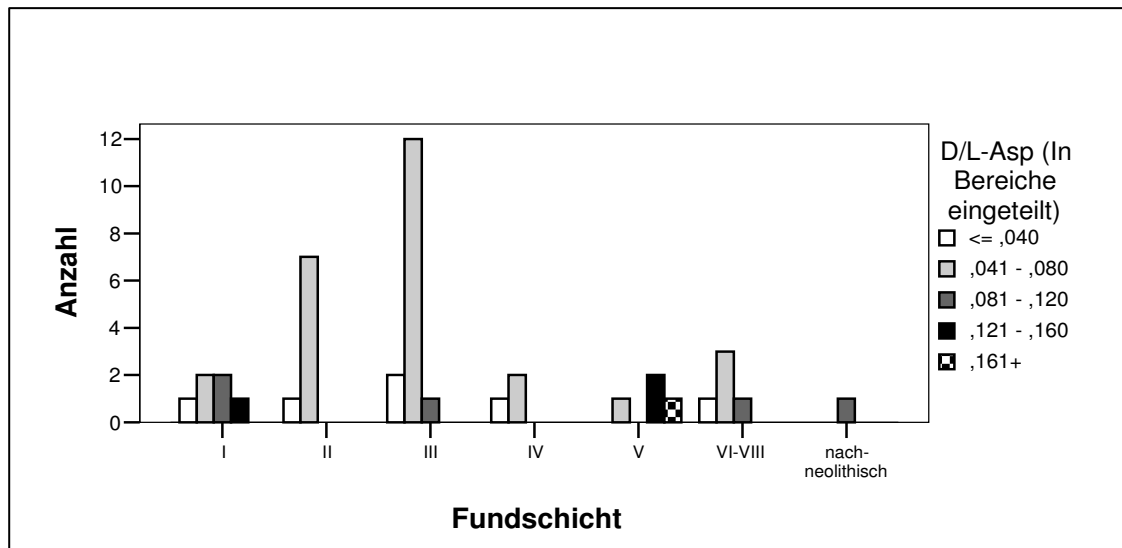


Abb. IV.96: Beziehung zwischen Fundschrift und D/L-Asp-Quotienten

Die Prüfung der Beeinflussung des Merkmals Tier oder Mensch (als Kovariaten) unter Einbeziehung des beeinflussenden Faktors Fundschrift (fester Faktor) zeigt, dass keine statistische Beeinflussung des Tier/Mensch-Merkmals auf den D/L-Asp-Quotienten auch nach Einbeziehung der Fundschrift gefunden werden kann.

Von den Fundplätzen Kehlheim und Unterigling wurden 10 humane Knochen und 13 Rinderknochen untersucht (siehe I: 5.2). Die Proben entstammen einer Fundschrift, eine Aufteilung nach Knochentyp wird aufgrund der geringen Stichprobengröße nicht vorgenommen. Weder mittels des Haldane-Dawson-Tests, noch mittels Varianzanalyse (univariat, feste Faktoren: Mensch/Tier, Fundort) konnte eine Beeinflussung der Spezies (Mensch/Rind) oder des Fundortes auf den ARG festgestellt werden.

3.2 Screeningmöglichkeiten

Um von einer Untersuchungsmethode auf die Erfolgsmöglichkeiten einer anderen zu schließen, muss ein Zusammenhang zwischen diesen beiden bestehen. Diese Zusammenhänge wurden in Abschnitt IV: 2 dargestellt, so können mögliche, für Screeninguntersuchungen in Frage kommende Merkmale festgestellt werden. Diese sollen in diesem Abschnitt miteinander verglichen und auf Eignung untersucht werden, wobei aufgrund des Stichprobenumfangs nur das archäologische Material betrachtet werden soll.

3.2.1 Kollagen

Da sich Säureextraktion und Gelatineextraktion in ihrer Ausbeute unterscheiden, aber nur die Gelatineextraktion für die in der Spurenkunde relevante Isotopenanalyse eingesetzt wird, wird sich hier auf diese beschränkt.

Es wurde gezeigt, dass eine Korrelation zwischen histologischen Merkmalen und den Kollagenanteilen in Gew% beider Extraktionsmethoden besteht (vgl. IV: 2.1.1.). Dabei zeigt das Merkmal Doppelbrechung den höchsten Korrelationskoeffizienten und folglich den engsten Zusammenhang. Den zweithöchsten Korrelationskoeffizienten zeigt der OHI, der so auch als Screeningfaktor in Frage kommt.

Zusammenhänge mit den Kollagenanteilen in Gew% beider Extraktionsmethoden zeigen auch die hellblaue und lila Fluoreszenz. Diese Zusammenhänge sind weniger linear als die des Merkmals Doppelbrechung. So enthalten Proben mit lila Fluoreszenz weniger Kollagenanteile als Proben ohne lila Fluoreszenz. Während stark ausgeprägte Fluoreszenz bedeutet, dass über 8 Gew% Kollagen in den Proben enthalten ist, zeigen aber auch Proben mit wenig oder keiner sichtbaren hellblauen Fluoreszenz hohe Kollagengehalte (siehe IV: 2.2).

Um die diskriminatorische Stärke des Doppelbrechungsindex festzustellen, wird dieser zunächst neu rangskaliert (automatisch mittels *SPSS*) und der Kollagengehalt in Gew% nach Gelatine- bzw. Säureextraktion in Gruppen eingeteilt, um eine Diskriminanzanalyse durchzuführen. Es wird folgende Gruppeneinteilung gewählt:

- o Kollagen bis 5Gew% extrahierbar: ≤ 5
- o Kollagen über 5Gew% extrahierbar: > 5

Es wird eine Diskriminanzanalyse zur Abschätzung der Trennkraft durchgeführt. Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse kann zunächst nachgewiesen werden, dass das Merkmal hochsignifikant die aufgestellten Kollagengehaltsgruppen trennt.

Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient der berechneten Diskriminanzfunktion beträgt 0,077 die Konstante -2,244 (vgl. III: 12).

Um eine Einordnung der Merkmalswerte zu ermöglichen wird Fishers Klassifizierungsfunktion für die beiden Gruppen (Kollagen unter 5Gew%, sowie Kollagen über 5 Gew%) berechnet. Es ergeben sich folgende Funktionen für die drei Merkmalswerte:

Merkmalswert 0 (keine Doppelbrechung, Rang 13):

$$F (\leq 5\text{Gew}\%) = -2,428 + 0,144 \cdot 13 = \mathbf{-0,556}$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -6,528 + 0,264 \cdot 13 = -3,096$$

Merkmalswert 0,5 (reduzierte Doppelbrechung, Rang 33) :

$$F (\leq 5\text{Gew}\%) = -2,428 + 0,144 \cdot 33 = \mathbf{2,324}$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -6,528 + 0,264 \cdot 33 = 2,184$$

Merkmalswert 1 (ausgeprägte Doppelbrechung, Rang 49):

$$F (\leq 5\text{Gew}\%) = -2,428 + 0,144 \cdot 49 = 4,628$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -6,528 + 0,264 \cdot 49 = \mathbf{6,408}$$

Proben ohne Doppelbrechungsphänomene sind dementsprechend nach der berechneten Funktion in die Gruppe mit Kollagengehalten unter 5Gew% einzuordnen, während Proben mit reduzierter oder ungestörter Doppelbrechung eher Kollagengehalte von über 5Gew%

IV Ergebnisse

aufweisen. Mit dieser Funktion können 84,2% der Fälle korrekt eingeordnet werden (siehe Tab. IV.17).

Tab. IV.17: Klassifizierungsergebnisse nach Klassifizierung mit linearer Funktion nach Fischer

Klassifizierungsergebnisse^{b,c}					
		Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (%) (In Bereiche eingeteilt)	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		Gesamt
			<= 5	> 5	
Original	Anzahl	<= 5	37	6	43
		> 5	3	11	14
	%	<= 5	86,0	14,0	100,0
		> 5	21,4	78,6	100,0
Kreuzvalidiert ^a	Anzahl	<= 5	37	6	43
		> 5	3	11	14
	%	<= 5	86,0	14,0	100,0
		> 5	21,4	78,6	100,0

a. Die Kreuzvalidierung wird nur für Fälle in dieser Analyse vorgenommen. In der Kreuzvalidierung ist jeder Fall durch die Funktionen klassifiziert, die von allen anderen Fällen außer diesem Fall abgeleitet werden.

b. 84,2% der ursprünglich gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert.

c. 84,2% der kreuzvalidierten gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert.

Auch die diskriminatorische Stärke des Index für die blaue Fluoreszenz hinsichtlich des Kollagengehalts kann mittels Diskriminanzanalyse berechnet werden.

Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse kann zunächst nachgewiesen werden, dass das Merkmal signifikant die aufgestellten Kollagengehaltsgruppen trennt ($p=0,5$).

Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient der berechneten Diskriminanzfunktion beträgt 0,622, die Konstante -1,091. Es wird wiederum Fishers Klassifizierungsfunktion für die beiden Gruppen (Kollagen unter 5Gew%, sowie Kollagen über 5Gew%) berechnet:

Merkmalswert 0

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 0 = \mathbf{-1,135}$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 0 = -1,901$$

Merkmalswert 1

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 1 = \mathbf{-0,51}$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 1 = -0,934$$

Merkmalswert 2

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 2 = \mathbf{1,029}$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 2 = 0,033$$

Merkmalswert 3

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 3 = 0,617$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 3 = \mathbf{1}$$

Merkmalswert 4

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 4 = 1,201$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 4 = \mathbf{1,967}$$

Merkmalswert 5

$$F (<=5\text{Gew}\%) = -1,135 + 0,584 \cdot 5 = 1,785$$

$$F (> 5\text{Gew}\%) = -1,901 + 0,967 \cdot 5 = \mathbf{2,934}$$

Man erkennt also, dass Proben mit einem Merkmalswert von 3 oder höher, also mit mittlerer bis stärker ausgeprägter Fluoreszenz, in die Gruppe der Proben mit Kollagenanteilen über 5% gestellt werden.

Mit dieser Funktion können 70,2% der Fälle korrekt eingeordnet werden (vgl. Tab. IV.18).

Tab. IV.18: Klassifizierungsergebnisse des Kollagengehalts durch Beurteilung der blauen Fluoreszenz nach Klassifizierung mit linearer Funktion nach Fischer

Klassifizierungsergebnisse ^a						
		Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (%) (In Bereiche eingeteilt)		Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		Gesamt
				<= 5	> 5	
Original	Anzahl	<= 5	34	9	43	
		> 5	8	6	14	
	%	<= 5	79,1	20,9	100,0	
		> 5	57,1	42,9	100,0	

a. 70,2% der ursprünglich gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert.

Der Zusammenhang des Kollagengehaltes mit der Ausprägung der lila Fluoreszenz kann aufgrund des nominalen Datenniveaus nicht mittels Diskriminanzanalyse näher beleuchtet werden. Allerdings soll versucht werden, die Stärke des Zusammenhanges näher zu bestimmen. Mittels exaktem Test nach Fischer wurde ermittelt, dass der Zusammenhang zwischen der Anwesenheit und der lila Fluoreszenz signifikant ist (vgl. IV: 2.2). Die Tabelle IV.19 zeigt die entsprechende Kreuztabelle. Man erkennt anhand der Prozentsätze, dass bei einer Abwesenheit von lila Fluoreszenz keine Aussage über den Kollagengehalt gemacht werden kann. Ist allerdings lila Fluoreszenz vorhanden, kann man in den meisten Fällen von einem niedrigen Kollagengehalt ausgehen.

Tab.IV.19: Kreuztabelle der lila Fluoreszenz mit dem Kollagengehalt nach Gelatineextraktion

		Kollagengehalt nach Gelatineextraktion (%) (in Bereiche eingeteilt)		Gesamt	
		<= 5	> 5		
lila Fluoreszenz	keine	Anzahl	13	12	25
		%	22,80%	21,1	43,9
	vorhanden	Anzahl	30	2	32
		%	52,6	3,5	56,1
Gesamt		Anzahl	43	14	57
		%	75,4	24,6	100

IV Ergebnisse

Aus dieser Tabelle lässt sich das Zusammenhangsmaß Cramer'V berechnen: 0,481; welches nur eine relativ geringe Zusammenhangsstärke anzeigt. Weiterhin lässt sich das Prognosemaß Lambda berechnen. Der Lambda-Wert von 0,4 besagt, dass die Wahrscheinlichkeit der richtigen Einschätzung einer Probe hinsichtlich ihres Kollagengehaltes um 40 Prozentpunkte erhöht ist, wenn die Ausprägung der lila Fluoreszenz bekannt ist.

Die Treffsicherheit nach Kombination der beiden Fluoreszenzmerkmale ist nicht berechenbar, dürfte aber die Wahrscheinlichkeit der richtigen Einordnung erhöhen.

Einen Zusammenhang sowohl mit dem Kollagengehalt, als auch mit dem Kollagenerhaltungsgrad zeigt der Razemisierungsgrad von Asparaginsäure (vgl. IV: 1.3.5).

Obwohl der Kollagengehalt nach Kollagenextraktion für die Feststellung des D/L-Quotienten feststeht, könnte der D/L-Asp-Wert sich für ein Screening auf die Kollagenqualität anbieten.

Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse kann zunächst nachgewiesen werden, dass das Merkmal hochsignifikant die Gruppen geordnet nach Kollagenerhaltungsgrad trennt ($p=0,000$). Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient der berechneten Diskriminanzfunktion beträgt 152,577, die Konstante -6,104. Es wird wiederum Fishers Klassifizierungsfunktion für die beiden Gruppen (Kollagenqualität gut/schlecht) berechnet (Klassifizierungskoeffizienten: gut: 794,960; Konstante: -14,266, schlecht: 1113,231; Konstante: -24,310). Es können 83% der Fälle korrekt klassifiziert werden.

Die Grafik IV.97 zeigt, dass es einen relativ großen Überschneidungsbereich der beiden Gruppen Kollagenerhaltungsgrad gut (1) bzw. schlecht (2) gibt. Der Typ H (3) (in der Diskriminanzanalyse nicht berücksichtigt) weist die größte Variationsbreite auf.

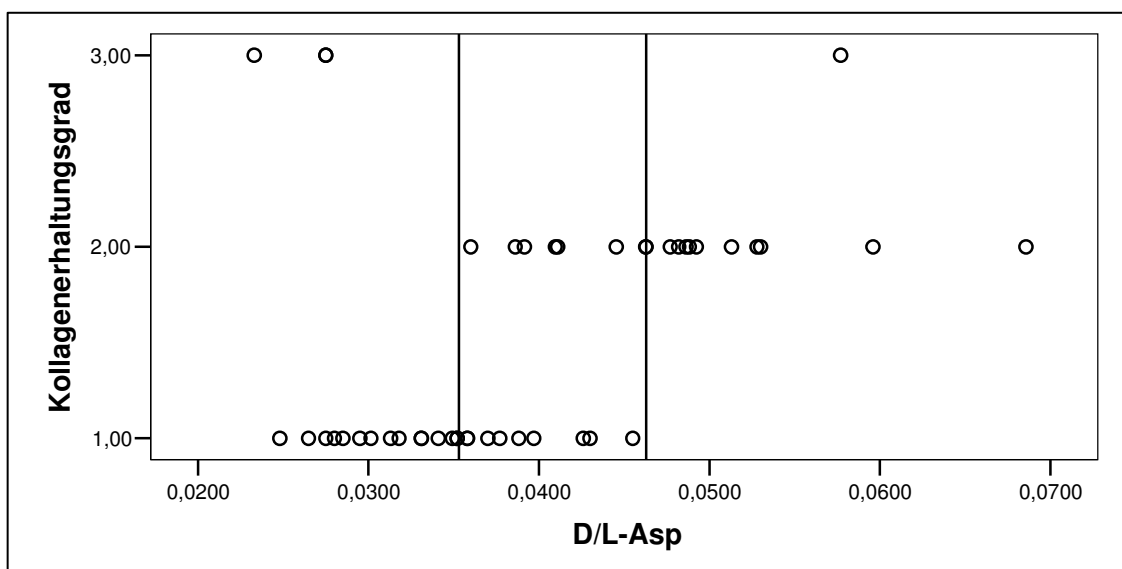


Abb. IV.97: Verteilung der D/L-Asp-Werte auf die Kollagenerhaltungsgradgruppen (1=gute Kollagenqualität, 2=schlechte Kollagenqualität, 3=Typ H). Die senkrechten Linien verdeutlichen den Überschneidungsbereich

Prinzipiell gilt, dass geringere Razemisierungsgrade nur Proben mit gutem Kollagenerhalt besitzen, während schlechte Kollagenqualität mit hohen Razemisierungsgraden einhergeht,

allerdings gibt es einen Überschneidungsbereich von 0,036 bis 0,0455 bei der die Zuordnung unsicher ist. Auf eine genaue rechnerische Zuordnung aller Werte wird verzichtet.

3.2.2 DNA

Von Interesse ist die Amplifizierbarkeit der DNA. Diese zeigt Zusammenhänge mit dem OHI. Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse vor der Diskriminanzanalyse lässt sich kein signifikanter Trennwert des OHI für die Amplifizierbarkeit der DNA feststellen (Gleichheitstest der Gruppenmittelwerte, Signifikanz: $p=0,65$), sondern allenfalls ein statistischer Trend.

So zeigt sich auch in der Diskriminanzanalyse (Diskriminanzkoeffizient: 0,622, Konstante: -1,091) und anschließender Klassifizierung nach Fischer (Klassifizierungskoeffizienten: für Amplifizierbarkeit: 0,736, Konstante: -1,825; keine Amplifizierbarkeit: -1,825, Konstante: -1,120), dass eine Zuordnung der Proben mittels des OHI in nur 61,4% der Fälle korrekt möglich war.

Auch die DNA-Amplifizierbarkeit zeigt einen signifikanten Zusammenhang mit dem D/L-Asp-Quotienten (IV: 2.1.2). Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse kann zunächst nachgewiesen werden, dass das Merkmal signifikant die Gruppen trennt ($p=0,016$).

Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient der berechneten Diskriminanzfunktion beträgt 75,403, die Konstante -3,174. Es wird wiederum Fishers Klassifizierungsfunktion für die beiden Gruppen (Amplifizierbarkeit ja/nein) berechnet (Klassifizierungskoeffizienten: amplifizierbar: 213,439; Konstante: -4,638, nicht amplifizierbar: 268,732; Konstante: -7,110).

Es können 68% der Fälle korrekt klassifiziert werden.

Die Abbildung IV.98 zeigt, dass eine genaue Voraussage der Amplifizierbarkeit mittels des D/L-Asp-Quotienten nicht gegeben ist, da der Überschneidungsbereich der Werte sehr groß ist. Sehr hohe D/L-Asp-Werte (über 0,07) machen die Amplifizierbarkeit von Proben unwahrscheinlich.

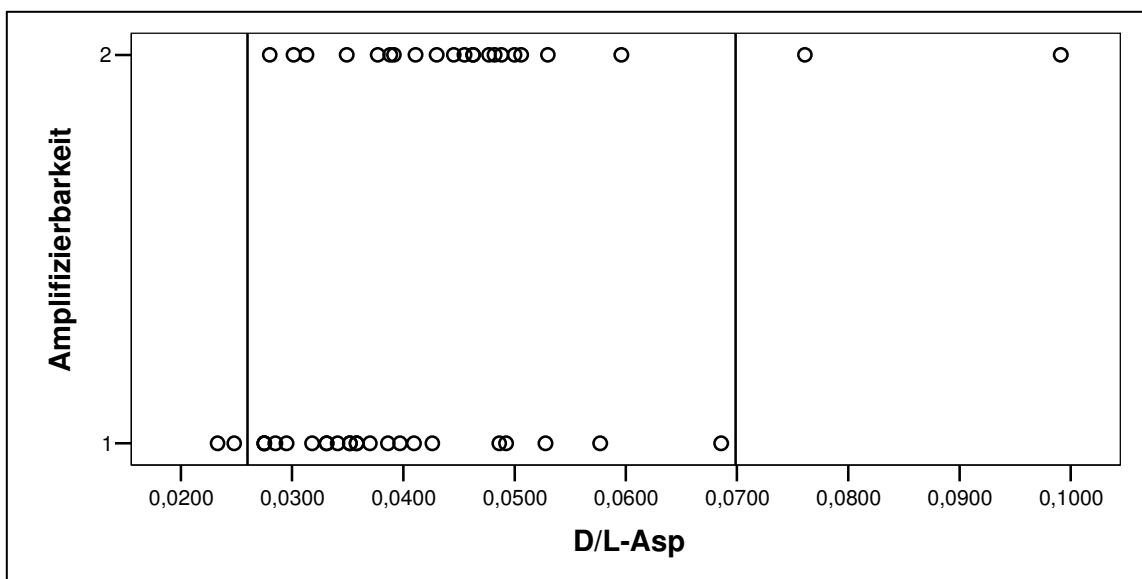


Abb. IV.98: Verteilung der D/L-Asp-Werte auf die amplifizierbaren (1) und nicht amplifizierbaren (2) Probengruppen. Die senkrechten Linien verdeutlichen den Überschneidungsbereich

IV Ergebnisse

Ein weiteres Merkmal, das einen Zusammenhang mit der DNA-Amplifizierbarkeit aufweist, ist der Ca/P-Quotient (siehe IV: 2.1.3).

Für die Diskriminanzanalyse wird die Klassifizierung des Ca/P-Quotienten nach rezenten Werten und unterhalb bzw. oberhalb von diesen liegende vorgenommen (Gruppe 1 = <2,1, Gruppe 2 = 2,1-2,3, Gruppe 3 >2,3).

Die einfaktorielle Varianzanalyse zeigt, dass die Verteilung des Merkmals in den unterschiedlichen Gruppen trotz geringer Stichprobenzahl (n=21) hochsignifikant unterschiedlich ist (p=0,003). Der kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizient der berechneten Diskriminanzfunktion beträgt 1,481, die Konstante -3,102.

Um eine Einordnung der Merkmalswerte zu ermöglichen, wird Fishers Klassifizierungsfunktion für die beiden Gruppen (Amplifizierbarkeit ja bzw. nein) berechnet. Es ergeben sich folgende Funktionen für die drei Merkmalswerte:

Merkmalswert 1:

$$F(\text{amplifizierbar}) = -3,738 + 3,654 \cdot 1 = \mathbf{-0,084}$$

$$F(\text{nicht amplifizierbar}) = -8,488 + 5,846 \cdot 1 = -2,642$$

Merkmalswert 2:

$$F(\text{amplifizierbar}) = -3,738 + 3,654 \cdot 2 = \mathbf{3,57}$$

$$F(\text{nicht amplifizierbar}) = -8,488 + 5,846 \cdot 2 = 3,204$$

Merkmalswert 3:

$$F(\text{amplifizierbar}) = -3,738 + 3,654 \cdot 3 = 7,224$$

$$F(\text{nicht amplifizierbar}) = -8,488 + 5,846 \cdot 3 = \mathbf{9,05}$$

Proben mit Ca/P-Quotienten unter oder im rezenten Bereich sind also nach der berechneten Funktion in die Gruppe mit amplifizierbaren Proben einzuordnen, während Proben mit Ca/P-Quotienten über dem rezenten Bereich eher nicht amplifizierbar sind. Mit dieser Funktion können 85,7% der Fälle korrekt eingeordnet werden (vgl. Tab.IV.20).

Tab.IV.20: Klassifizierungsergebnisse amplifizierbarer Proben durch Beurteilung nach Ca/P-Quotienten nach Klassifizierung mit linearer Funktion nach Fischer

Klassifizierungsergebnisse ^a					
			Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		Gesamt
			ja	nein	
Original	Anzahl	ja	11	1	12
		nein	2	7	9
	%	ja	91,7	8,3	100,0
		nein	22,2	77,8	100,0

a. 85,7% der ursprünglich gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert.

3.3 Kollagenqualitätskriterien

In der vorliegenden Arbeit soll die Qualität des Kollagens vorrangig im Hinblick auf die Validität der stabilen Isotopenverhältnisse überprüft werden.

3.3.1 Überprüfung der Kollagenqualitätskriterien anhand des *in vitro* degradierten Materials

Durch die experimentelle Degradation ist es möglich, die diagenetische Veränderung der erhobenen Parameter zu verfolgen und so die Wirksamkeit der Kollagenqualitätskriterien zu überprüfen. Das Verhalten der Merkmale im Temperaturexperiment zeigt Abbildung IV.99.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte schwanken bei allen Proben bis einschließlich zum achten Inkubationstag um einen Mittelwert von $-20,34\text{‰}$, mit einer geringen Standardabweichung von $0,15\text{‰}$. Die Werte der Proben mit 16 bzw. 32 Tagen Inkubationszeit ($-16,71$ bzw. $-17,1$) weichen bis zu mehr als 3‰ (ca. 18%) von dem Ausgangswert ab. Diese experimentell degradierten Kollagene sind also mit ^{13}C angereichert, während der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Probe mit 12 Inkubationstagen mit schwerem Isotop abgereichert erscheint ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert: $-22,63$).

Bis inklusive des achten Inkubationstages wirken sich also die diagenetischen Änderungen nicht auf das stabile Isotopenverhältnis aus, während ab dem zwölften Inkubationstag starke, die Interpretation beeinflussende Veränderungen zu beobachten sind. Die Abbildung IV.99 zeigt die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, sowie einige der als Qualitätskriterien vorgeschlagenen Merkmale (vgl. I: 4.2).

Der prozentuale Kollagengehalt (nach Gelatineextraktion, da an diesen Proben die stabilen Isotopenwerte gemessen wurden) der Probe des achten Inkubationstages zeigt einen Wert von ca. $3\text{Gew}\%$, während alle Proben ab dem zwölften Inkubationstag einen Wert von unter $0,5\text{Gew}\%$ aufweisen.

Die Gewichtsprozentanteile des Kohlenstoffs und Stickstoffs schwanken ebenfalls bis zum achten Inkubationstag um einen Mittelwert von $44,9\%$ (Standardabweichung: $2,6$) bzw. $14,3\%$ (Standardabweichung: $0,9$) mit geringen Abweichungen. Bei den Proben nach dem achten Inkubationstag ist eine starke Abweichung von diesen Werten festzustellen. Die prozentualen Kohlenstoffanteile sinken auf Werte zwischen 6 (TE I 12) und $11\text{Gew}\%$ ab (TE I 16), während die prozentualen Stickstoffanteile im Verhältnis, weniger aber kontinuierlich auf 6% (TE I 12) und schlussendlich auf $0,7\%$ (TE I 32) sinken. Folglich ist die Zusammensetzung des Kollagens verändert, es enthält nun proportional mehr Stickstoffanteile.

Es lässt sich so feststellen, dass auch bei Proben mit höheren als den von Ambrose (1993) angegebenen Grenzwerten von 3% für C und 1% für N, Änderungen der stabilen Isotopenverhältnisse vorkommen (ab 11% C und 6% N).

Der molare C/N-Quotient (siehe IV: 4.2) nimmt bei Proben mit unveränderten Isotopenverhältnissen (bis zum achten Inkubationstag) Werte zwischen $3,23$ und $4,17$ an, überschreitet also die von DeNiro (1985) bestimmte Spanne von $2,9$ bis $3,6$.

Im weiteren Verlauf des Experimentes nimmt der C/N-Quotient zunächst einen stark niedrigen Wert von $1,22$ an, während er bei den Proben TE I 16 und TE I 32 Werte von $6,39$ und $12,25$ aufweist. Diese Werte sind weit außerhalb der von DeNiro aufgestellten Spannweite. Bei keinem der analysierten Werte, mit Ausnahme des Kollagengewichtsanteils, findet eine kontinuierliche

IV Ergebnisse

Zu- oder Abnahme statt. Die Abweichung vom Ausgangszustand erfolgt bei allen untersuchten Merkmalen ab einem kritischen Punkt, der nach dem achten und vor dem zwölften Inkubationstag liegt.

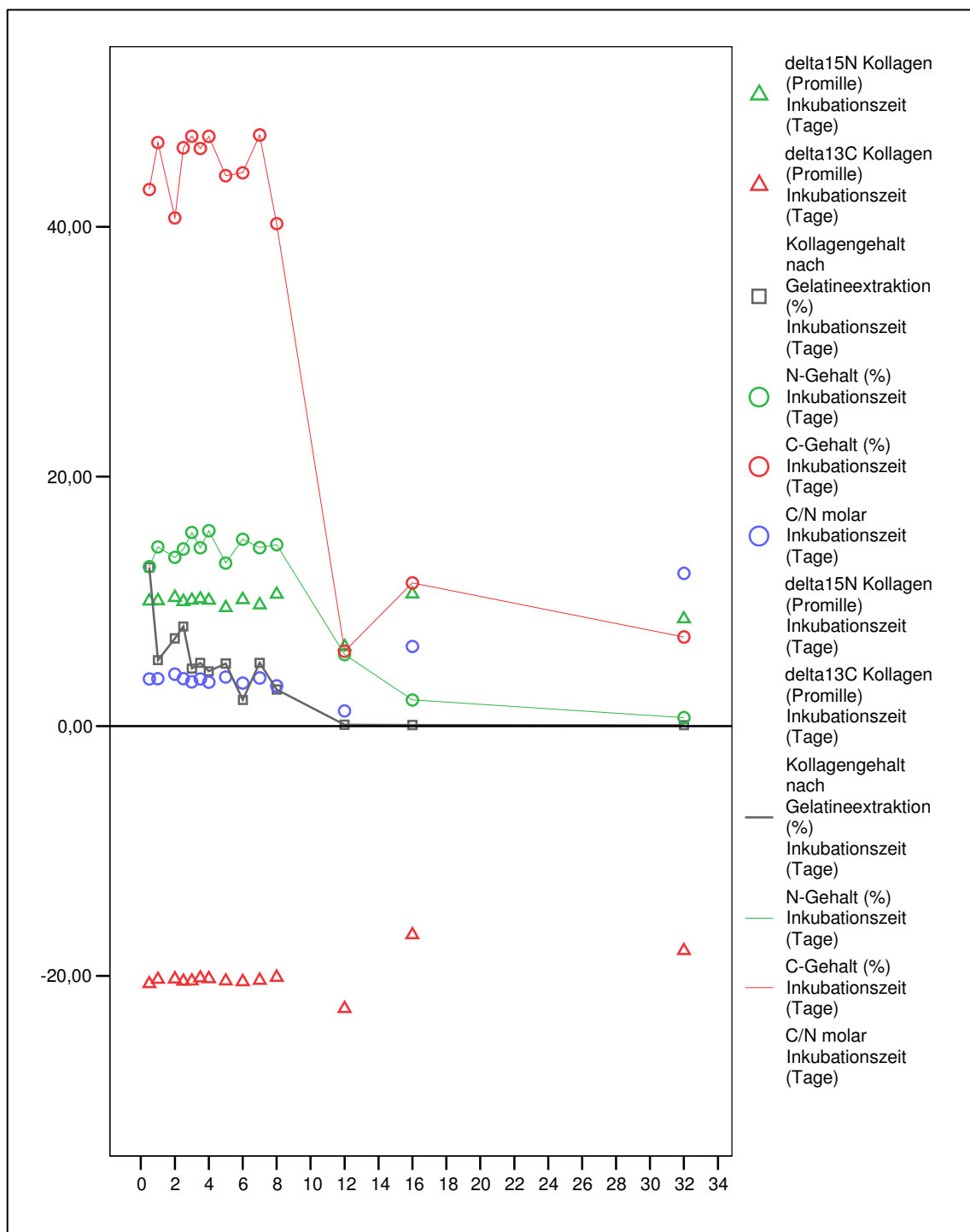


Abb.IV.99: Verhalten der Kollagenmerkmale mit der Inkubationszeit im Temperaturexperiment I

Ein weiterer Anhaltspunkt für die Kollagenqualität und somit für die Unverändertheit der stabilen Isotopenverhältnisse soll das Aminosäureprofil sein (vgl. I: 4.2).

Die Aminosäureprofile der Proben mit unveränderten stabilen Isotopenwerten (bis zum achten Inkubationstag) sind mit einer Ausnahme als gut beurteilt worden (vgl. IV: 1.3.3). Die Probe mit

dem abweichenden Profil (TE I 1) zeigt geringe Abweichungen von rezentem Kollagen, die das als Typ H klassifizierte Muster aufweisen. Von den Proben mit veränderten Isotopenwerten konnte nur von der Probe TE I 16 ein Aminosäureprofil erstellt werden, welches starke Abweichungen von dem kollagentypischen Muster zeigt. So lässt sich feststellen, dass die Proben mit gutem bzw. mit Typ H klassifizierten Kollagenerhaltungsgrad unveränderte stabile Isotopenwerte aufweisen, während eindeutig als schlecht klassifiziertes Kollagen stark veränderte Isotopenwerte mit sich bringt.

3.3.2 Überprüfung des archäologischen Materials

Die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des archäologischen Material aus Kollagen ($n=97$) zeigen eine große Variabilität (siehe auch IV: 1.6). Interessanterweise korrelieren die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte hochsignifikant sowohl mit dem Kollagengehalt nach Gelatine, als auch nach Säureextraktion (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,324 bzw. 0,278). Die Abbildung IV.100 zeigt diesen Zusammenhang exemplarisch für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und den Kollagengehalt nach Säureextraktion: Mit zunehmendem Kollagengehalt nehmen im Trend die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zu.

Auch die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des archäologischen Materials korrelieren hochsignifikant mit den prozentualen Kollagengehalten nach Gelatine- und Säureextraktion (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,459 bzw. 0,402). Der Fundplatz mit dem größten Stichprobenumfang (Nevalı Çori) zeigt intern diese Beziehung. So korreliert sowohl der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert signifikant mit dem Kollagengehalt nach Gelatine bzw. Säureextraktion (Korrelationskoeffizienten nach Pearson: 0,290 bzw. 0,203), wie auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert (Korrelationskoeffizient nach Pearson: 0,369 bzw. 0,374). Diese Beziehungen können als Zeichen für die Beeinflussung der Isotopenwerte durch diagenetischen Abbau gewertet werden

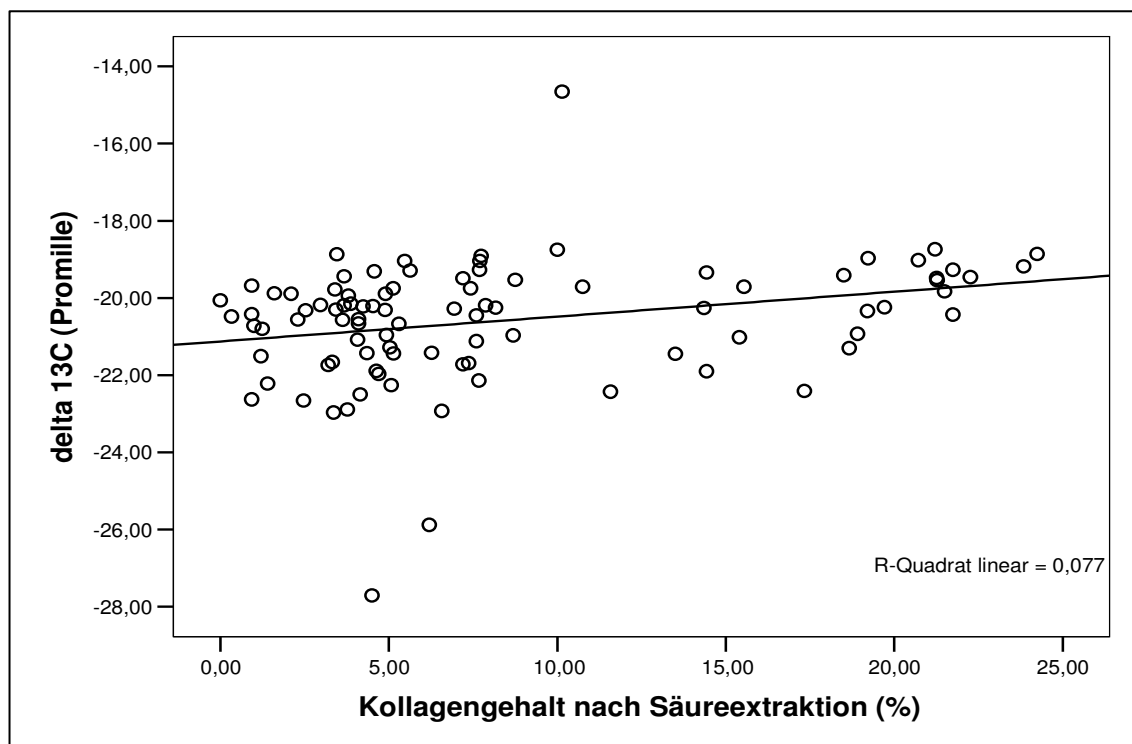


Abb.IV.100: Zusammenhang zwischen Kollagengehalt nach Säureextraktion und den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten

IV Ergebnisse

Die molaren C/N-Verhältnisse des archäologischen Knochenmaterials reichen von 2,31 bis 4,46. Bezieht man nur Proben mit C/N-Verhältnissen innerhalb der Grenzen zwischen 2,9-3,6 in die Stichprobe mit ein, müssen 44 Proben (verbleibendes n=53) ausgeschlossen werden. Die Korrelation von Kollagengehalt mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten bleibt mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,4 (Gelatineextraktion) bzw. 0,38 (Säureextraktion) bestehen und ist hochsignifikant. Gleiches gilt für die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte mit Korrelationskoeffizienten von 0,560 (Gelatineextraktion) bzw. 0,527 (Säureextraktion). So ist nicht davon auszugehen, dass alle Proben mit diagenetisch veränderten stabilen Isotopenverhältnissen ausgeschlossen wurden. Diese weisen N% von 4,11 – 37,29% und C% von 9,4% bis 54,68% auf. Der Kollagengehalt nach Gelatineextraktion liegt zwischen 0,6Gew% und 14,86Gew% (Mittelwert 2,9Gew%).

Auch bei Ausschluss der einen Probe unter 1Gew% Kollagenanteil verbleiben eben genannte Korrelationen.

3.4 Überprüfung der stabilen Isotopenwerte des Carbonats

Für die stabilen Isotopenwerte des Carbonats liegen keine Qualitätskriterien vor (vgl. I: 4.2). Die Ergebnisse des Temperaturexperimentes zeigen keine Veränderung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes, während eine Veränderung des $\delta^{18}\text{O}$ -Wertes festzustellen ist (siehe IV: 1.6). Es kann kein Zusammenhang der stabilen Isotopenwerte mit anderen, an den Proben des Temperaturexperimentes I erhobenen Merkmalen (wie z.B. anorganischer Gewichtsanteil) gezeigt werden.

Bei der Überprüfung des archäologischen Materials sind keine signifikanten Zusammenhänge der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte mit den erhobenen Merkmalen festzustellen.

Hingegen zeigen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte signifikante Korrelationen (Korrelationskoeffizient nach Spearman) mit folgenden Merkmalen:

- Blauindex: 0,37
- Doppelbrechung: -0,413
- Histologischer Erhaltungsgrad: -0,46
- Bakterieller Befall: -0,517
- Gewichtsanteil Mineral: 0,410

Dabei handelt es sich durchgehend um Merkmale, die zumindest zum Teil von dem Erhaltungszustand der mineralischen Matrix beeinflusst werden. Eine Korrelation mit einem Merkmal eines Biomoleküls wird nicht festgestellt.

V

Diskussion

Knochendekomposition beinhaltet eine Vielzahl von Prozessen, die gleichermaßen für Zerstörung und Erhalt von Knochen verantwortlich sein können. Diese Prozesse werden von internen wie externen Faktoren kontrolliert und sind in noch ungeklärter Weise miteinander verknüpft. Es handelt sich um einen äußerst komplexen Vorgang, zu dessen Verständnis die vorliegende Arbeit beitragen soll.

Aufgrund dieser Komplexität ist es unumgänglich, vereinfachte Modelle zu bilden, um ein umfassendes Bild der Prozesse zu gewinnen. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass der eigentliche Diageneseverlauf nicht verfolgt werden kann, sondern von seinem Ergebnis, dem jeweiligen Erhaltungszustand, auf das abgelaufene Geschehen zurück geschlossen werden muss. Wie unter I: 5 beschrieben, werden die erarbeiteten Daten unter zwei Gesichtspunkten diskutiert. Zunächst sollen die Ergebnisse in einen diagenetischen Zusammenhang gestellt werden (V: 1). In einem zweiten Schritt wird die Bedeutung der gewonnenen Erkenntnisse bezogen auf spurenkundliche Methodik diskutiert (V: 2), während in einem dritten Abschnitt die resultierenden Schlussfolgerungen zusammengefasst werden und auf weitere entstandene Fragestellungen hingewiesen wird (V: 3).

1 Diageneseprozesse

1.1 Diagenesestatus der analysierten Merkmale

In diesem Abschnitt sollen die analysierten Merkmale besprochen und Hinweise auf allgemeingültige Muster diagenetischer Prozesse abgeleitet werden. Es ist für die Interpretation der Ausprägung einiger Merkmale unumgänglich, auch Ergebnisse aus anderen Merkmalskomplexen einzubeziehen, so dass keine stringente Abfolge eingehalten werden kann. Im Mittelpunkt der Betrachtung stehen hier die archäologischen und die im Temperaturexperiment *in vitro* degradierten Proben. Kremierte und im Temperaturexperiment II *in vitro* degradierte Proben werden gesondert besprochen (siehe V: 1.4).

1.1.1 Mikrostruktur

Bimodale Verteilung des Histologischen Erhaltungsgrads (OHI)

Der allgemeine histologische Erhaltungsgrad wird mit dem OHI-Index beschrieben. Er hängt vor allem von der Unversehrtheit des mineralischen Anteils der Probe ab. Folglich kann auch bei vollständigem Abbau des organischen Anteils die Mikrostruktur des Knochens erhalten bleiben (siehe auch V: 1.2.1).

Wie in anderen Studien beschrieben (Hedges et al. 1995, Jans et al. 2004), zeigt sich auch bei der vorliegenden Untersuchung eine bimodale Verteilung des histologischen Erhaltungsgrades. Dies resultierte in einer Polarisierung des Probenmaterials (guter vs. schlechter histologischer Erhaltungsgrad). Es wurden keine mittleren Erhaltungsstadien gefunden, was zeigt, dass eine begonnene mikrostrukturelle Zerstörung des Knochens schnell zu einer vollständigen Destruktion führt.

Ursachen der mikrostrukturellen Zerstörung: Bakterieller Befall

Für die Zerstörung der Mikrostruktur von Knochen werden in der Literatur hauptsächlich Mikroorganismen verantwortlich gemacht (siehe I: 3.2.1). Dies wird durch die in der vorliegenden Untersuchung festgestellte Korrelation des Index für bakteriellen Befall mit dem OHI bestätigt. Entsprechend dieses ausgeprägten Zusammenhanges zeigt auch das Merkmal „bakterieller Befall“ eine bimodale Verteilung.

In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen (z.B. Jans et al. 2004) zeigen die Proben fast ausschließlich fokale Zerstörung, nur eine Probe (T5) zeigt lamellären bakteriellen Befall gemischt mit punktuellen Mustern.

Ähnlich enge Verbindung zum OHI und insbesondere zum bakteriellen Befall zeigt das histologische Merkmal „diffuses exogenes Material“, so dass seine Genese mit Mikroorganismen in Verbindung gebracht werden kann: Mikroorganismen sorgen zum einen für Kristallumlagerungen (siehe I: 3.2.1) und können zum anderen auch exogenes Material einschleppen (z.B. Grupe 2001), so dass hierdurch das Bild des beschriebenen diffusen exogenen Materials entsteht.

Beide auf mikrobiellen Befall hinweisenden Merkmale (bakterieller Befall, diffuses exogenes Material) weisen keine signifikanten Unterschiede im Grad der Zerstörung des periostalen, mittleren und endostalen Anteils auf. Dies kann ein weiterer Hinweis auf die schnelle Besiedlung des Knochens mit Mikroorganismen und folglich seiner schnell voranschreitenden Destruktion sein. Eine alternative Erklärung könnte sein, dass die Mikroorganismen nicht ausschließlich von endostal oder periostal in den Knochen eindringen, sondern die Ausbreitung von Mikroorganismen, sind sie einmal in das Innere des Knochens eingedrungen, ebenfalls über die Havers'schen und Volkmann'schen Kanäle stattfindet.

Für letztes spricht das oft beschriebene Vorhandensein von Bakterien in den Havers'schen Kanälen (z.B. Garland 1989).

Auch das Verteilungsmuster des mikrostrukturellen Erhaltes spricht für eine Ausbreitung der Mikroorganismen des Knochens über interne Kanäle: Bei mikrostrukturell schlecht erhaltenen Proben finden sich Verteilungsmuster, in denen einer oder beide Randbereiche besseren histologischen Erhalt aufweisen als der mittlere Bereich, während gut erhaltene Proben häufiger einen besseren Erhalt im mittleren Bereich zeigen. Eine statistische Signifikanz kann trotz des relativ großen Stichprobenumfangs ($n=57$) nicht beobachtet werden.

Doppelbrechungsphänomene und deren Reduktion

Die Erzeugung von Doppelbrechungsmustern bei Betrachtung eines Knochenquerschnittes unter polarisiertem Licht wird auf unterschiedliche Ursachen zurückgeführt (siehe I: 3.2.1), bei denen der Erhalt von Kollagen meist eine zentrale Rolle spielt. Die in der vorliegenden Untersuchung gefundene Korrelation des Kollagengehaltes mit der Ausprägung der Doppelbrechung bestätigt diese Beobachtungen.

Die Korrelation und damit der Zusammenhang der Merkmale Kollagengehalt und Doppelbrechung ist nicht klar linear (Korrelationskoeffizient von 0,588 bzw. 0,662). Dies kann entweder durch einen Extraktionsverlust verursacht sein (Collins & Galley 1998, s. u.) oder darauf hinweisen, dass die Doppelbrechung nicht allein vom Kollagen verursacht wird, sondern auf der Kollagen/Kristall-Ordnung beruht, die mit höherer Wahrscheinlichkeit bei niedrigen Kollagenanteilen nicht mehr vorhanden ist, aber auch bei höheren Kollagengehalten gestört sein kann.

Für den letzten Punkt sprechen auch die Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Proben des Temperaturexperimentes II. So tritt bei den Proben mit reduzierter Doppelbrechung (TE II 21 und TE II 25) ein Kollagengehalt (in Gew%) auf, der ebenfalls von Proben mit normaler Doppelbrechung erreicht, bzw. sogar unterschritten wurde. Inwieweit die Veränderung der Kristallstruktur eine Rolle spielt kann durch die vorliegende Untersuchung nicht klar beantwortet

werden: Durch Inkubation von Knochen bei hohen Temperaturen mit Wasser können die Kristalleigenschaften nicht geändert werden, da dies bei neutralem pH-Wert nicht zu einer Lösung des Minerals führt. Folglich kann die beobachtete reduzierte Doppelbrechung aber auch nicht von einer Hydroxylapatitänderung herrühren.

Zusammengenommen sprechen diese Hinweise für die Theorie, dass eine Reduzierung der Doppelbrechung durch Störung der Kollagen/Kristall-Ordnung zustande kommt. Dem Kollagen kommt in diesem Zusammenhang evt. eine verstärkte Bedeutung zu. Auch bei einer kompletten Dekalzifizierung des Knochens sind Doppelbrechungsphänomene sichtbar, allerdings mit reduzierter Intensität (Garland 1989). Das Merkmal Doppelbrechung bezieht sich also im Gegensatz zum OHI nicht ausschließlich auf den mineralischen Anteil der Probe, sondern umfasst ebenfalls den Kollagenstatus.

Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen und Ausprägung von Mikrofissuren

Die Merkmale „Mikrofissuren“ und „Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen“ lassen sich weder den histologischen Merkmalstypen eindeutig zuweisen (s. u.), noch zeigen sich engere Zusammenhänge mit den anderen Merkmalen (siehe IV: 1.1.8).

Bei Einschlüssen von externem Material in den Havers'schen Kanälen kann es sich um organische oder anorganische Komponenten handeln, die vor allem durch Grundwasserbewegung in den Knochen gelangen (z.B. Garland 1987). Bei der beobachteten Korrelation von Kollagengehalt und dem Merkmal „Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen“ kann es sich um eine Scheinkorrelation handeln: Sowohl Kollagengehalt als auch die Einschlüsse sind Liegemilieu- und bedingt Liegezeitabhängig.

Mikrofissuren finden sich in vielen archäologischen Proben (vor allem des Merkmalstypes C, s. u.) und bei allen Proben des Temperaturexperiments II. Gemeinsam ist den meisten Proben mit stark ausgeprägten Mikrofissuren ein relativ geringer Kollagengehalt (IV: 2.1.1).

Die Genese der Mikrofissuren ist weitestgehend ungeklärt, es wird sowohl die Degradation des organischen und anorganischen Knochenanteils für ihr Entstehen verantwortlich gemacht, als auch eine reine Artefaktbildung in Betracht gezogen (siehe I: 3.2.1). Die vorliegenden Ergebnisse machen wahrscheinlich, dass Mikrofissuren in der Mehrzahl keine Artefakte darstellen, sondern mit diagenetischen Veränderungen und verringertem Kollagengehalt einhergehen: Geringer Kollagengehalt von den mit Mikrofissuren durchsetzten Knochen, das häufige Beobachten von Mikrofissuren in sekundärmineralisierten Knochen (IV: 1.1.8, vgl. Grupe im Druck, Pfretschner 2000) sowie die Alters- und Geschlechtsabhängigkeit der Ausprägung der Mikrofissuren (siehe V: 1.3.2) zeigen einen Zusammenhang der Ausprägung der Mikrofissuren mit Kollagengehalt und diagenetischen Prozessen. Aufgrund der ausgeprägten Mikrofissuren bei den Proben des Temperaturexperimentes II ist es unwahrscheinlich, dass eine Veränderungen der mineralischen Matrix (die in diesen Proben nicht stattgefunden hat) für die Ausbildung von Mikrostrukturen verantwortlich ist.

Pfretschner (2000) weist den Mikrofissuren große Bedeutung bei Fossilisierungsprozessen zu, da Mikrofissuren die sekundäre Osteone umgebende Zementlinie durchbrechen und somit die

Diffusionsgeschwindigkeit in Havers'schen Knochen erhöht. Er verlegt die Zeit der Bildung der Mikrofissuren in die Frühdiagenese.

Diese früh gebildeten Mikrofissuren sollen nach Pfretschner (2000) den Fossilisierungsprozess beschleunigen können, da der Knochen aufgrund der besseren Diffusionsmöglichkeiten schneller mineralisiert werde. Dies könnte eine Erklärung für das häufige Auftauchen von Mikrofissuren bei sekundärmineralisiertem Material sein. So wären die Mikrofissuren ursächlich für eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Fossilisierung und nicht, wie oft angenommen (vgl. I: 3.2.1) Rekristallisierung und Sekundärmineralisierung ursächlich für die Mikrofissuren.

Bräunliche Verfärbung unter Strukturerhalt

Bräunliche Verfärbungen unter Strukturerhalt können auf zwei unterschiedliche Ursachen zurückgeführt werden. Zum einen können sie durch Einlagerung anorganischer Komponenten bzw. Sekundärmineralisierungen entstehen, zum anderen kann die Einwanderung organischer Komponenten, vor allem Huminstoffen, zur bräunlichen Verfärbungen (z.B. Jans et al. 2002) des Knochenquerschnittes führen. Die unterschiedlichen Ursachen sind durch ausschließliche Betrachtung des histologischen Bildes im Einzelfall schwer zu unterscheiden.

Die häufig auftretende Verfärbung des gesamten Querschnittes einer Probe des histologischen Merkmalstypen C ist wahrscheinlich auf anorganische Komponenten zurückzuführen (s. u.). Jüngere Proben vor allem des Merkmalstypen A zeigen hingegen häufig Verfärbungen im periostalen und endostalen Bereich (siehe IV: 1.1.7), welche eher mit Huminstoffeinlagerungen in Zusammenhang zu bringen sind.

Eine braune Verfärbung des histologischen Bildes kommt nie in der Kombination mit starkem bakteriellem Befall vor (siehe IV: 2). Dies hat zum einen die Ursache, dass Huminstoffe bakteriellen Befall hemmen (Nicholson 1998), zum anderen kann es zu keiner, bräunliche Verfärbung hervorrufenden, Sekundärmineralisierung kommen, wenn der Knochen bakteriell befallen ist, da dann ein schneller Abbau der Knochenstruktur stattfindet (s. o.). So ist diese Beobachtung gut mit den postulierten Ursachen für die braune Verfärbung erklärbar.

Bildung der Histologischen Erhaltungstypen

Die meisten Proben zeigen entweder einem guten histologischen Erhaltungsgrad mit vollständig erhaltener Doppelbrechung (Merkmalstyp A) oder einen schlechten histologischen Erhaltungsgrad mit reduzierter oder nicht vorhandener Doppelbrechung (Merkmalstyp B). Die dritte Gruppe (Merkmalstyp C) zeigen zwar einen guten histologischen Erhaltungsgrad, allerdings ebenfalls reduzierte Doppelbrechung (siehe IV: 1.1.8).

Noch obigen Ausführungen ist für die Polarisierung der Proben in die Merkmalstypen A und B der mikrobielle Befall verantwortlich. Sind Proben mikrobiellen Abbauprozessen ausgesetzt, ergibt sich das Bild des Merkmalstypen B mit fehlender Doppelbrechung und zerstörter Mikrostruktur. Findet kein mikrobieller Angriff statt, bleiben die Knochen zumindest histologisch erhalten und es zeigt sich der Merkmalstyp A.

Die Proben des Merkmalstyps C stellen den seltensten Fall dar (nur 17% der Stichprobe): Ohne oder mit nur geringem bakteriellem Einfluss wird die Kollagen/Kristall-Ordnung durch den chemischen Kollagenabbau gestört und so die Doppelbrechung reduziert wird. Dass dies durch rein chemische Diagenesevorgänge möglich ist, zeigt Temperaturexperiment II (vgl. auch Collins et al. 2002).

Die bei diesen Proben ebenfalls beobachtbare Veränderung der mineralischen Matrix (festgestellt durch Abweichung des Ca/P-Verhältnisses) weisen zusammen mit dem guten mikrostrukturellen Erhaltungsgrad bei reduzierter Doppelbrechung auf eine Sekundärmineralisierung der Proben des histologischen Merkmalstypen C hin.

Eine Ausnahme in diesem Einteilungssystem bilden zwei Proben (T5 und E7). Die Probe T5 wies als einzige Probe ein abweichendes Muster des bakteriellen Befalls auf (IV: 1.1.4) der sich nur auf einige Gebiete erstreckt; zwischen diesen ist allerdings ebenfalls ein histologischer Strukturverfall ohne bakteriellen Einfluss zu sehen ist. Die Probe E7 (Abb. IV.6) zeigt ebenfalls histologischen Strukturverfall ohne erkennbaren bakteriellen Einfluss. Weitere Auffälligkeiten dieser Proben zeigten sich nicht. Als Ursache für die histologische Zerstörung kommen unerkannte bakterielle Abbauvorgänge in Frage.

Diagenese der Mikrostruktur

In dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Material kommen nie alle drei Merkmalstypen in einem Fundkomplex vor. Bei den älteren Fundkomplexen finden sich vorwiegend die Typen B und C, während die jüngeren Fundkomplexe die Typen A und B zeigen. Hier könnten die Faktoren Liegezeit und Umgebung gemeinsam verantwortlich sein: Die Proben der älteren Fundkomplexe (Liegezeiten über 4000 Jahre) sind je nach Mikroklima entweder durch mikrobiellen Abbau strukturell nicht mehr erhalten (Typ B) oder liegen sekundärmineralisiert (Typ C) vor. Die Wahrscheinlichkeit, dass Proben des Merkmalstyp A lange Liegezeiten überdauern ohne sekundärmineralisiert vorzuliegen oder bakteriell zerstört zu sein, ist gering.

Bei den Proben jüngerer Fundplätze hat (bis auf eine Ausnahme: KH1, vgl. V: 1.3.1) noch keine Sekundärmineralisierung stattgefunden, die Proben liegen je nach mikrobieller Angreifbarkeit im ursprünglichen Zustand oder, aufgrund des, wenn einmal begonnenen schnell fortschreitenden mikrobiellen Abbaus (s. o.) mikrostrukturell zerstört vor.

Zusammengefasst weist die Verteilung der mikrostrukturellen Merkmale auf zwei prinzipiell unterschiedliche Abbauwege hin, die ebenfalls von mehreren Autoren beschrieben werden (z.B. Grupe im Druck, Collins et al. 2002). Die Einpassung der formulierten histologischen Merkmalstypen zeigt Abb. V.1.

Mikrobielle Abbauprozesse spielen eine entscheidende Rolle im diagenetischen Abbau. Wenn diese verhindert werden (z.B. durch Huminstoffe), kann es zum Erhalt der Knochen unter Sekundärmineralisierung kommen: Der histologische Merkmalstyp C entwickelt sich aus dem Merkmalstypen A. Schaffen die Umgebungsbedingungen die Möglichkeit des mikrobiellen Befalls, resultieren Proben mit dem histologischen Merkmalstyp B, auf den die vollständige Destruktion des Knochens folgt.

Wenn es bei diesem Prozess zu Änderungen der Umweltbedingungen kommt (in der Abb. V.1 durch einen doppelten Kreis gekennzeichnet), kann der Prozess des mikrobiellen Abbaus aufgehalten werden und es besteht die Chance einer Sekundärmineralisierung, so dass Proben des Merkmalstyps C mit geringem bakteriellem Befall aus Proben des Merkmalstyps B entstehen. Dieser Fall tritt nur selten auf, was in dem schnellen Fortschreiten des bakteriellen Abbaus (s. o.) begründet ist.

Sekundärmineralisierungsprozesse brauchen eine gewisse Liegezeit des Knochens. So ist eine Sekundärmineralisierung nur bei fast vollständigem Kollagenverlust möglich, der je nach Umweltbedingungen durch rein chemische Degradation tausende von Jahren in Anspruch nimmt (Collins et al. 1995, Smith et al. 2002). Folglich tritt der Merkmalstyp C nur bei längerer Liegezeit auf, während der Merkmalstyp B sowohl bei Proben mit längerer als auch mit kürzerer Liegezeit vorkommen kann, je nach Zeitpunkt der Besiedlung der Probe mit Mikroorganismen. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine Probe den Merkmalstypen A aufweist sinkt allerdings mit zunehmender Liegezeit, da die Wahrscheinlichkeit der Sekundärmineralisierung bzw. der mikrobiellen Zerstörung mit der Zeit zunimmt. Der Einfluss der Liegezeit ist allerdings nicht absolut, sondern stark von den herrschenden Umweltbedingungen abhängig. In der Abbildung V.1 ist daher der Einfluss der Liegezeit nicht angegeben.

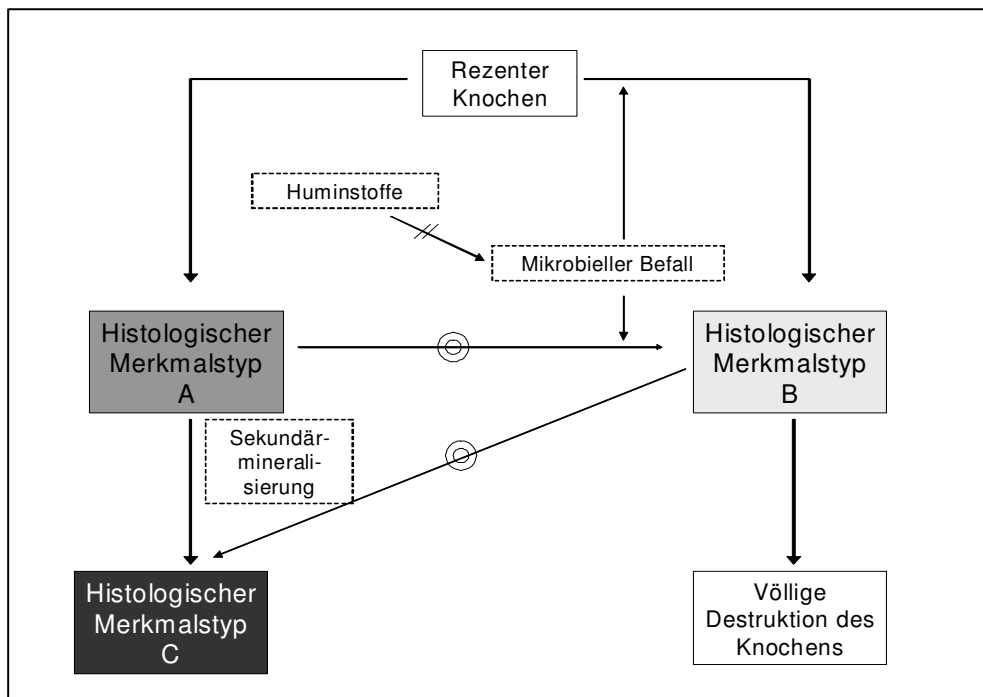


Abb.V.1: Modell zur Entstehung der histologischen Merkmalstypen (Erklärung siehe Text), der doppelte Kreis signalisiert eine Änderung des Mikroklimas, der doppelt durchgestrichene Pfeil zeigt Hemmungen an, Umwelteinflüsse werden gestrichelt umrahmt

1.1.2 Fluoreszenz

Die Ursachen für ein Fluoreszieren von Materialien sind unterschiedlich und im Falle von Knochen ungeklärt. Prinzipiell wird aus der auftreffenden Strahlung Energie absorbiert, durch die Elektronen eines Kristallgitters oder Atoms in ein höheres Energieniveau angeregt werden. Bei Zurückfallen auf das Ausgangsniveau gibt das Elektron die Energiedifferenz als sichtbares Licht ab. Die angeregten Elektronen können dabei im Atom bzw. Molekül bleiben oder, bei genügend Energiezufuhr, vom Atom getrennt frei im Kristallgitter beweglich sein. Bei den meisten Mineralien sind die eigentlichen Ursachen für die auftretende Fluoreszenz im Realkristall eingelagerte Fremdionen oder Defekte (Störstellen im Kristallgitter) (extrinsische Fluoreszenz); seltener ist eine durch Baugruppen der Minerale bedingte Fluoreszenz (intrinsische Fluoreszenz). Fremdionen und Defekte fungieren als Aktivatoren der Lumineszenz. Durch die Anwesenheit dieser Aktivatoren entstehen neue mögliche Energiezustände für Elektronen. Während das Grundgitter eines bestimmten Metalls z.B. nur zwei mögliche Energiebereiche besitzt (Valenzband und Leitungsband), sorgen Aktivatoren für Energiezustände, die nicht dem Grundgitter entsprechen und energetisch in der Energielücke zu finden sind. Eine verstärkte Konzentration von Fremdionen, die als Aktivatoren wirken, hat allerdings bei der Überschreitung bestimmter Konzentrationen eine Verminderung der Intensität zur Folge. Bestimmte Metallionen, sog. Quencher können Lumineszenz löschen. Weiterhin können Sensibilatoren (andere Fremdionen) vorkommen, die ebenfalls die Energie absorbieren und an die Aktivatoren weiterleiten (Steffen 2000).

Mineralischer Hydroxylapatit fluoresziert im UV-Licht prinzipiell orange, kann aber je nach Substituenten auch andere Farben annehmen. Der Hydroxylapatit im Knochen ist dadurch gekennzeichnet, dass er eine Großzahl von Defektstellen und Substituenten besitzt (siehe I: 1.2), die für seine spezifische Fluoreszenz verantwortlich sind.

Auch von organischen Molekülen wie dem Kollagen ist bekannt, dass sie Fluoreszenzeigenschaften besitzen.

Das komplizierte Wechselspiel zwischen Aktivatoren, Quenchern, Sensibilatoren, Fluoreszenz durch Kristall-Baugruppen und organischer Fluoreszenz machen die Ursachenbestimmung für einzelne Fluoreszenzphänomene im Fall des biologischen Hydroxylapatits schwierig.

Die in der vorliegenden Arbeit angewandte deskriptive Beschreibung der Farbausprägung kann nur Interpretationen auf ultimativer Ebene ermöglichen. Einen Hinweis auf die Ursache der Farbausprägung gibt ein Abgleich der Fluoreszenz mit den histologischen Merkmalstypen, da hier ein starker Zusammenhang beobachtet werden kann (vgl. IV: 2.2).

Fluoreszenz des rezenten Knochens

Während Berg (1975) als Ursache blauer Fluoreszenz die Fibrillenlagen des Kollagens annimmt, schreibt Steffen (2000) zumindest die Fluoreszenz von Zähnen dem biologischen Hydroxylapatitanteil zu, welches blauweiß bis gelbweiß fluoresziert.

Für die erste Annahme sprechen einige in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse: Die Korrelation mit dem Kollagengehalt und die Abnahme der hellblauen Fluoreszenz während des Temperaturexperimentes I unter gleichzeitiger Abnahme des Kollagenanteils (IV.2) deuten in

diese Richtung (s. u.). Weiterhin fluoresziert der bei Auflösen der mineralischen Matrix (durch EDTA) verbleibende Kollagenanteil von Knochenquerschnitten intensiv blau (Doppler, S., persönliche Mitteilung).

Aufgrund der engen Verbindung von Kollagen und Apatitkristallen im Knochen (siehe I: 3) ist es wahrscheinlich, dass beide Komponenten zu der für Knochen typischen Fluoreszenz beitragen. Dafür spricht auch die beobachtete Korrelation zwischen dem histologischen Merkmal „Doppelbrechung“ und dem Merkmal „Gesamtblauindex“ (IV: 2.2), da das histologische Merkmal ebenfalls mit einer intakten Kollagen/Apatitverbindung in Zusammenhang gebracht werden kann (vgl. V: 1.1.1).

Knochen des histologischen Merkmalstyps A zeigen eine stark ausgeprägte, für rezenten Knochen typische, hellblaue Fluoreszenz. Geht man davon aus, dass dies ein Zeichen für intakte Kollagen/Mineralbindung ist, ist dies gut mit den Kennzeichen (unveränderte histologische Struktur und Doppelbrechung) dieser Merkmalsgruppe vereinbar. Knochen des Merkmalstypen C, die diese intakte Beziehung nicht besitzen, zeigen allenfalls kleine Areale hellblauer Fluoreszenz.

Braun/gelbe Fluoreszenz

Die Ursache der braun/gelben Fluoreszenz ist unklar. Das gehäufte Auftreten dieser Farbausprägung bei Proben des histologischen Merkmalstypen C könnte darauf hinweisen, dass diese Farbgebung die Lumineszenz des sekundärmineralisierten Hydroxylapatits widerspiegelt. Sekundärmineralisierung ist eine Substitution von Fremdionen, die als Aktivatoren (s. o.) dienen können und somit andersfarbige Fluoreszenz auslösen könnten. In diesem Zusammenhang ist vor allem Mangan, das in Böden häufig in Form von Manganoxid-Verbindungen vorkommt, zu nennen. Mangan konnte in vielen Proben des histologischen Merkmalstypen C festgestellt werden (IV: 12). Es gilt als eines der häufigsten und wichtigsten Aktivatoren in Mineralien und führt bei Einbau in das Apatit zu gelber Fluoreszenz (Steffen 2000) und in größeren Mengen zu einer Schwächung der Intensität der Fluoreszenz.

Der gelben und braunen Fluoreszenz die gleiche Genese zuzuschreiben, wäre zum einem durch ihr häufig gemeinsames Auftreten gerechtfertigt, andererseits entsteht der Eindruck einer braunen Farbgebung durch Abtönen einer warmen Grundfarbe (z.B. Gelb) mit dunklen Pigmenten. So ist „braune“ Fluoreszenz wahrscheinlich „gelbe“ Fluoreszenz gemischt mit nicht fluoreszierenden Anteilen, also im Prinzip reduzierte Lumineszenz. Für Mangan als Aktivator dieser Farbausprägung des archäologischen Materials spricht, dass gelbe Fluoreszenzanteile im Gegensatz zu lilafarbener oder blauer Fluoreszenz nicht mit dem Kollagenanteil in Verbindung gebracht werden konnten.

Alternativ könnte auch die Absenz von hellblauer Fluoreszenz, also eine gestörte Kollagen/Kristall-Verbindung bei einem niedrigen Kollagengehalt die gelb/braune Fluoreszenz bedingen, ohne dass Substitutionsreaktionen notwendig wären.

Hierfür spricht, dass in der Probe TE I 32 des Temperaturexperimentes I (bei Ausschluss von Mangan als Aktivator) ebenfalls gelbe Fluoreszenz im periostalen Bereich zu beobachten ist.

Allerdings zeigt sich bei weiteren Proben des Experimentes, bei denen ebenfalls kein Kollagen mehr festgestellt werden konnte, keine gelbe, sondern lilafarbene Fluoreszenz. Zwei Proben des Temperaturexperimentes II zeigen ebenfalls gestörte Doppelbrechung bei weiterhin hellblauer Fluoreszenz. Folglich ist obige Annahme über Fremdioneneinwanderung, die als Quencher wirken, als Ursache für braun/gelbe Fluoreszenz wahrscheinlicher.

Lilafarbene Fluoreszenz

Die lilafarbene Fluoreszenz ist bei Merkmalstyp B und bei Proben des Temperaturexperiments I zu sehen, die mit sinkendem Kollagengehalt stärker lila gefärbte Farbausprägungen erhalten. Weiterhin ist eine Assoziation der lila Farbgebung mit dem Kollagenerhaltungsgrad vorhanden, welcher hochgradig von bakteriellem Abbau beeinflusst wird, der wiederum für den histologischen Merkmalstyp B kennzeichnend ist. Dies spricht dafür, dass lila Fluoreszenz eine Veränderung der Kollagen/Mineralbeziehung anzeigt, bei archäologischem Material bakteriell induziert, bei *in vitro* degradiertem Material chemisch.

Bei der Interpretation von Farbgebungen muss berücksichtigt werden, dass Farbwahrnehmung stets zu einem gewissen Grad subjektiv ist, die „erlebte“ Farbe nicht der Wirklichkeit entspricht, sondern z.B. eine Mischung von Grundfarben oder durch Schwarzanteile (keine Farbe) andere Farbeindrücke entstehen, wie z.B. Braun (s. o.) darstellt. Das reelle Lichtfarbenspektrum gibt Tab. V.1 wieder.

Tab. V. 1: Farbspektrum des Lichts

Lichtfarbe	Wellenlänge in Nanometer (nm)
Ultraviolett A	320 bis 370
Violett	370 bis 410
Indigo	410 bis 430
Blau	430 bis 480
Blaugrün	480 bis 500
Grün	500 bis 540
Gelbgrün	540 bis 560
Gelb	560 bis 580
Orange	580 bis 610
Rot	610 bis 650
Tiefrot	650 bis 780
Infrarot A	780 bis 1400

Speman (1998) stellt bei der Analyse zweier merowingerzeitlicher humaner Knochenproben mittels Ionolumineszenzspektrographie nur zwei Farbausprägungen (2 unterschiedliche Wellenbereiche) fest: blau (440nm) und orange (590 nm). Die unterschiedlichen Messpunkte unterscheiden sich durch den Anteil beider Banden am Gesamtspektrum. Der beschriebene orange Farbanteil könnte der hier beobachteten Farbe gelb/braun entsprechen.

So wäre es möglich, dass die lilafarbene Fluoreszenz keine eigene Farbausprägung darstellt, sondern eine Mischung aus orangen und blauen Farbpunkten die das menschliche Auge als nur eine Farbe wahrnimmt. Geht man davon aus, dass die Fluoreszenz des reinen biologischen Hydroxylapatits diese Farbe aufweist (s. o.), könnte bei den Proben mit lila Farbausprägung eine kleinflächige Mischung aus blauen und gelb/orangen Farbanteilen, basierend auf dem Status des Kollagen/Mineral-Verbandes, zu dem Farbeindruck lila führen.

Dunkelblaue Fluoreszenz

Dunkelblaue Fluoreszenz wurde bei allen Proben des Hemmingstedter Materials festgestellt. Es fiel vor allem das U-förmige Profil der dunkelblauen Fläche auf, wobei noch im mittleren Bereich bei einigen Proben hellblaue Fluoreszenz festgestellt werden konnte. Dieses Profil weist auf extern eingewanderte Ionen (z.B. Millard & Hedges 1995) als Verursacher der dunkelblauen Fluoreszenz hin. Mittels Elementkonzentrationsanalyse wurden extrem hohe Eisenkonzentrationen festgestellt, die mit der Ausprägung der Fläche der dunkelblauen Fluoreszenz in Verbindung gebracht werden konnte (siehe IV: 2.2).

Sowohl zwei- wie auch dreiwertiges Eisen ist als Quencher bekannt, wobei dreiwertiges Eisen schon in Bruchteilen von Prozenten eine Lumineszenz unterbinden kann (Marfunin 1979). Eisen kann sowohl in das Kristallgitter des Apatits integriert werden (siehe I: 3.2.4), als auch an Kollagen binden (Rosmus et al. 1968).

Der Eindruck von dunkelblauer Fluoreszenz ist folglich auf nicht fluoreszierende also schwarze Anteile in dem betreffenden Gebiet zurückzuführen, so dass man in diesem Fall von einer reduzierten Fluoreszenz ausgehen kann.

Interpretation der Farbverteilung in der archäologischen Stichprobe

Mit den oben gemachten Annahmen lässt sich die Ergebnissituation folgendermaßen interpretieren:

Der Index für die hellblaue Fluoreszenz zeigt, dass die meisten archäologischen Proben keine oder nur wenig hellblaue Fluoreszenzanteile besitzen, dabei ist die hellblaue Fluoreszenz meist im mittleren Bereich des Knochenquerschnitts vorhanden. Nie ist der umgekehrte Fall mit stärkerer blauer Fluoreszenz in den Randbereichen zu beobachten. Nach obiger Ausführung entsteht eine von hellblauer Fluoreszenz abweichende Farbgebung im archäologischen Material durch äußere Einflüsse wie Aktivatoreneinlagerung und/oder Zerstörung des Kollagen/Mineralverbandes. Da diese Einflüsse oft von außen ins Knocheninnere gelangen ist es schlüssig, dass hellblaue Fluoreszenz auch eher im mittleren Probenbereich erhalten bleibt.

Die genannten äußeren Einflüsse, die zu einer Reduzierung der hellblauen Fluoreszenz führen, sind im Einzelfall unterschiedlich und vom jeweiligen Liegemilieu abhängig, so ist sowohl das Muster der hellblauen Fluoreszenz als auch ihre Ausprägung (Gesamt-Blauindex) fundplatz- und nicht liegezeitspezifisch.

Auch bei Betrachtung der Proben des Temperaturexperimentes I erkennt man eine Abnahme der hellblauen Fluoreszenz vom periostalen Bereich zur Knochenmitte hin, der am stärksten den Umweltbedingungen, in diesem Fall Wasser und Temperatur ausgesetzt ist.

Viele Proben weisen unterschiedlicher Fluoreszenzfarbgebungen auf (IV: 1.2.2). Dunkelblaue (also reduzierte) Fluoreszenz tritt nicht mit lilafarbigen Fluoreszenzanteilen auf. Dies kann unter Annahme obiger Thesen durch den Geneseweg bedingt sein: Lilafarbige Fluoreszenzanteile treten bei archäologischem Material mit bakteriellem Befall auf, während reduzierte Fluoreszenz durch Quencher verursacht wird, die wie Eisen (s. o.) gleichzeitig bakteriellen Befall hindern können. Der Eindruck braun/gelber Fluoreszenz entsteht durch Aktivatoreneinfluss, die gleichzeitig mit Quenchern auftreten können. Da die beeinflussenden Faktoren umweltabhängig sind, ist die starke Assoziation zwischen Fundplatz und Farbmuster leicht erklärbar, im Einzelfall aber auch vom Mikromilieu abhängig.

Eine Analyse der Verteilung liefert ebenfalls Hinweise auf allgemeine Muster zwischen den einzelnen Fluoreszenzmerkmalen.

Es kann festgestellt werden, dass braune Fluoreszenz bei Proben mit ansonsten blauer Fluoreszenz nur am periostalen Rand vorkommt, wo evt. Aktivatoren wie z.B. Mangan am ehesten eindringen können. Sind bei brauner Fluoreszenz hellblaue Reste vorhanden, sind diese gleichmäßig über den Querschnitt verteilt.

Bei dunkelblauer Fluoreszenz erkennt man stets das typische Diffusionsmuster, wobei die Quencheranteile an den Rändern des Querschnitts am stärksten ausgeprägt sind und dementsprechend in der Mitte die Fluoreszenz am wenigsten reduziert ist. Stark ausgeprägte hellblaue Fluoreszenz kann Anteile brauner Fluoreszenz am Rand besitzen, aber nie lila Anteile. Dies spricht für bakteriellen Abbau als Ursache für lila Farbgebungen, da dieser schnell voranschreitet und so nicht als kleinflächiges Feld in ansonsten intaktem Knochen zu sehen ist.

Hypothese zur Ursache der verschiedenen Farbausprägung

Aus oben erläuterten Beobachtungen der Fluoreszenzverteilung und daraus resultierenden Annahmen konnten hypothetische Ursache-Wirkungsbeziehung der Fluoreszenzausprägung von Knochenmaterial aufgestellt werden, die hier zusammengefasst werden sollen:

Eine hellblaue Fluoreszenz ergibt sich aus der speziellen Beziehung zwischen Kollagen und Mineral im rezenten Knochen. Wird z.B. durch Integration von Ionen die als Quencher dienen können (z.B. Eisen) die Fluoreszenz stellenweise unterdrückt, nimmt das menschliche Auge durch die Mischung hellblauer und farbloser Partikel eine dunkelblaue Fluoreszenz wahr.

Weiterhin existiert eine gelb/orange Farbausprägung, die entweder auf den Einfluss von Aktivatoren wie z.B. Mangan oder auf die Eigenfluoreszenz von Hydroxylapatit zurückzuführen ist. Der Eindruck von brauner Fluoreszenz ergibt sich analog zu dem Eindruck dunkelblauer Fluoreszenz durch die punktuelle Mischung von Knochenanteilen mit gelb/oranger und absenter Fluoreszenz.

Die lilafarbene Fluoreszenz hingegen resultiert aus einer Mischung von hellblauen und gelb/orangen Farbpunkten.

1.1.3 Kollagen

Als Merkmale des Kollagens wurden der Kollagengehalt, die Kollagenqualität, der ARG, der Quotient C/N molar, sowie die prozentualen Anteile von C und N am Kollagengehalt festgestellt und miteinander in Beziehung gesetzt. Im Folgenden werden hieraus prinzipielle Aussagen zum Kollagenabbau postuliert.

Kollagengehalt und Kollagenabbauwege

Der Kollagengehalt der archäologischen Knochenproben variiert stark, trotzdem lassen sich einige Trends feststellen:

Knochenproben von Fundplätzen mit hoher Liegezeit wie Gebökli Tepe, Gürcütepe und Nevalı Çori (Liegezeiten über 8000 Jahre) enthalten durchschnittlich weniger prozentuale Kollagenanteile als Proben von anderen Fundkomplexen, wobei die jüngsten Proben die höchsten Kollagenwerte zeigen. Allerdings kann man feststellen, dass die Variationen innerhalb eines Fundplatzes ähnlich groß sind wie die Variation zwischen den Fundplätzen, so dass sich allenfalls ein Trend abzeichnet.

Die Proben der Fundkomplexe Flensburg und Hemmingstedt sowie eine Probe des Fundkomplexes Trier zeigen anteilige Kollagenprozentage (nach SE), die den Wert für rezentes Knochenmaterial z. T. bis zu 4Gew% überschreiten. Der Kollagenanteil bei rezenten Knochenmaterial ist nicht konstant und es ist möglich, dass rezente Knochen Werte bis zu 25 Gew% erreichen (vgl. I: 1.1.1), so dass theoretisch authentische Kollagengehalte vorliegen. Allerdings ist im Fall dieses bodengelagerten Materials eher davon auszugehen, dass nichtkollagenes Material mitextrahiert wurde (s. o.) und so den anteiligen Kollagengehalt über eine rezentes Niveau hinaus erhöht oder bereits ein Mineralverlust stattgefunden hat.

Der Verlust von Kollagen aus dem Knochen kann durch chemischen oder biogenen Abbau erfolgen, wobei sich beide Abbauwege ergänzen können. Da histologische Merkmale einen Hinweis auf den bakteriellen Befall bieten (vgl. V: 1.1.1) wird durch sie die Bestimmung des Abbaumodus möglich.

Die meisten Proben von Fundplätzen mit Liegezeiten über 8000 Jahren zeigen keine oder geringe Spuren bakteriellen Befalls, sowie einen geringen Kollagengehalt. Dies lässt auf vorrangig chemischen Abbau schließen, der unter bestimmten mikroklimatischen Bedingungen auch in archäologischen Zeiträumen stattfinden kann. Dabei spielen erhöhte Temperaturen, fließendes Wasser und extreme pH-Werte (Collins et al. 2002, Miles et al. 2000) eine Rolle. Die sehr niedrigen Kollagenwerte der Proben von Gürcütepe, sowohl nach GE als auch nach SE (mit Ausnahme der subrezenten Probe Gü2) lassen sich vor allem durch die stark schwankenden Bodenfeuchtigkeitsverhältnisse erklären. So führt chemische Hydrolyse von Kollagen zur Bildung von Peptidfragmenten, die unter diesen Bedingungen aus dem Knochen herausgeschwemmt werden. Die Ausnahme Gü2 weist eine wesentlich geringere Liegezeit auf als die anderen Proben, zeigt aber nach GE ebenso keinen Ertrag. Nach Säureextraktion zeigt sich ein höherer Kollagenanteil, was in den weniger qualitativen Ansprüchen dieser Methode begründet ist. So

scheint es, dass das Kollagen zwar fragmentiert vorliegt, aber noch nicht alle durch SE extrahierbaren Substanzen aus dem Knochen geschwemmt wurden.

Die jüngeren Fundplätze zeigen hinsichtlich des Kollagengehaltes einen engeren Zusammenhang zum histologischen Erhalt, was auf überwiegend biogene Abbauprozesse hinweist.

Der starke Einfluss des biogenen Abbaus wird durch die Korrelation von OHI und Kollagenquantität (Tab. IV.13) und die Assoziation zwischen histologischem Merkmalstyp und Kollagengehalt bestätigt. Allerdings existiert ein breiter Überschneidungsbereich des Kollagengehaltes auch zwischen den histologischen Merkmalstypen (siehe Abb. IV.71).

Dieser wird bei Betrachtung nur eines Fundkomplexes minimiert. Zum Beispiel zeigen alle Proben mit Kollagengehalt über 3Gew% im Fundkomplex Trier den Merkmalstypen A, während alle unter diesen Wert fallenden Proben den Typen C zeigen. Ähnliches gilt beim Fundkomplex Flensburg, bei dem die Grenze des Kollagengehaltes zwischen den beiden histologischen Merkmalstypen bei 6Gew% liegt.

Diese Fundplatzabhängigkeit und die Variation des Kollagengehaltes innerhalb des gleichen histologischen Merkmalstypen weist auf zusätzliche Einflussfaktoren, wie Umweltbedingungen oder Liegezeit hin.

Der Kollagenanteil der Proben des Temperaturexperiment I nimmt sowohl nach SE als auch GE mit zunehmender Inkubationszeit ab. Das Kollagenmolekül wird im Laufe des Experimentes durch nichtenzymatische Hydrolyse zerstört, es kommt zur Freigabe von Peptidfragmenten, die aus dem Knochen austreten und so den Kollagenanteil der Probe verringern. Der Zusammenhang von Inkubationszeit und Kollagenanteil ist eng (Korrelationskoeffizient von -0,77). Dass es trotz ausgeschlossenen mikro- und makroklimatischen Faktoren zu leichten Variationen des Kollagenanteils im Knochen kommt, zeigt, dass interne Faktoren der jeweiligen Knochenprobe Einfluss auf die Geschwindigkeit des Kollagenabbaus nehmen (wie z.B. leichte Variationen in Knochengröße und -dicke); weiterhin schwanken die „Ausgangs“-Kollagenanteile, da ein Femur an unterschiedlichen Stellen verschiedene Mineralisierungsgrade und Kollagenanteile aufweist. Individualdaten wie z.B. das Alter des Individuums spielen keine Rolle, da es sich durchgehend um die gleiche Person handelt. Die Abnahme des Kollagens verläuft nicht durchgehend linear sondern verlangsamt sich ab Kollagengehalten unter 5Gew%.

Der Zusammenhang zwischen Inkubationszeit und Kollagenanteil ist im Experiment vor allem nach der Gelatineextraktion wesentlich enger als beim archäologischen Material und der Liegezeit. Dies weist wiederum auf den großen Einfluss von Umweltfaktoren auf den Diagenesestatus hin.

Abweichung des C- und N-Anteils sowie des C/N molar - Quotienten

Wie auch der prozentuale Kollagenanteil, variieren prozentualer Kohlenstoff- und Stickstoffanteil der Proben innerhalb der Fundkomplexe (siehe IV: 1.3.2.). Diese Werte sind prozentual auf das Kollagengewicht bezogen und geben so keinen Hinweis auf die Kollagenquantität, sondern, bei

einem Vergleich mit rezentem Material auf die Kollagenqualität, bzw. Zusammensetzung des Extraktes.

Bei dem untersuchten archäologischen Material geht eine (im Vergleich zu rezenten Material, vgl. I: 1.1.1) Verminderung der prozentualen Kohlenstoffanteile immer mit der Reduzierung des Stickstoffanteils einher. Dies spricht dafür, dass der Kollagenextrakt externe organische oder inorganische Verunreinigungen mitführt, die auch während des Extraktionsprotokolls aufgrund ihrer engen Bindung an das Kollagen nicht entfernt werden konnten. Weiterhin ist es möglich, dass die mineralische Matrix während des Extraktionsvorganges nicht vollständig entfernt wurde, was aber aufgrund der Zentrifugen- und Filtrationsschritte des Extraktionsprotokolls unwahrscheinlich ist. Diese Verunreinigung erhöht das Ausgangsgewicht des Kollagens, die C- und N-Anteile fallen folglich in der Relation geringer aus.

Viele Proben vor allem der jüngeren Fundplätze (unter 4000 Jahren Liegezeit), zeigen einen, im Vergleich zu rezenten Material (vgl. I: 1.1.1), stark erhöhten Kohlenstoffanteil (über 45%). So hohe prozentualen Kohlenstoffanteile im Kollagen weisen auf zusätzlichen organischen Kohlenstoff, also auf Kontamination des Extraktes mit Biomasse hin (z.B. van Klinken 1999). Ein erhöhter Kohlenstoffanteil tritt im Untersuchungsgut oft mit einem erhöhten Stickstoffanteil auf, was wiederum auf externes Material hindeutet.

Besonders stark erhöhte Kohlenstoffanteile zeigen die Fundplätze Flensburg, Etting und Hemmingstedt. Ein Zusammenhang mit bakteriellem Befall oder anderen histologischen Merkmalen ist statistisch nicht nachweisbar. Allerdings fällt auf, dass viele dieser Proben (z.B. auch alle Proben des Fundkomplexes Hemmingsstedt) braune Verfärbung im Randbereich aufweisen, die auf Huminstoffe zurückgeführt werden (vgl. V: 1.1.1) Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass diese für den durch die Extraktionsprozedur nicht entfernbaren (van Klinken & Hedges 1995) organischen Stoffeintrag verantwortlich sind. Eine Veränderung des prozentualen Anteils von Kohlenstoff und Stickstoff im Kollagen ist ebenfalls durch den selektiven Abbau von Aminosäuren möglich (s. u.).

Die gleichen Mechanismen, die für eine Veränderung der prozentualen Stickstoff- und Kohlenstoffanteile verantwortlich sind, bedingen ebenso eine Veränderung des molaren C/N-Quotienten. Da dieser ein atomares, also absolutes, Verhältnis darstellt, wird er nicht durch inorganische Stoffeinlagerung beeinflusst, reagiert aber stärker auf Veränderungen des Aminosäureprofils (s. u.). Etwa die Hälfte der Proben liegt außerhalb des für unverändertes Kollagen archäologischer Knochen von DeNiro (1985) festgelegten Bereiches (vgl. I: 1.3.2.). Dabei liegt nur ein Wert (Gö 2) unterhalb dieses Bereiches, zeigt also eine Verschiebung des Verhältnisses C/N in Richtung Stickstoff, während 29 Proben aus allen Fundkomplexen (insbesondere aber Etting und Kelheim) eine Erhöhung des C/N-Quotienten zeigen, was auf Kontaminationen (Erhöhung des relativen C-Gehaltes der Probe) hinweist (DeNiro 1985, DeNiro & Weiner 1988) oder ebenfalls eine Folge der Veränderung des Aminosäureprofils sein kann (s. u.).

Die Proben des Temperaturexperimentes I zeigen ab dem achten Inkubationstag einen abrupte Änderung der C%, N% und C/N-molar -Werte. Bis zu diesem Zeitpunkt schwanken die Werte des C/N-Quotienten inkubationszeitunabhängig zwischen 3,4 bis 4,2 und überschreiten so die

von DeNiro (1985) postulierten Werte für unverändertes Kollagen (bis 3,6). Ebenso die C- und N-Anteile überschreiten die angegebenen Werte (siehe I: 1.1.1) öfter (vgl. IV: 1.3.2).

Die am zwölften Inkubationstag entnommene Probe zeigt eine starke Abnahme des Kohlenstoffanteils bei einer weniger starken Abnahme des Stickstoffanteils, sowie einen verringerten C/N-molar Quotienten (1,22). Dies spricht für einen tatsächlich vorrangigen Verlust von Kohlenstoff. Verantwortlich hierfür können Positionseffekte innerhalb von Aminosäuren sein, wie auch ein selektiver Austritt von Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteinbindung.

Die Proben TE I 16 und TE I 32 zeigen hingegen erhöhte Werte des C/N-Quotienten (6,4 bzw. 12,3), aber ebenfalls erniedrigte C% und N%, wobei der anteilige Kohlenstoff weniger stark abnimmt als bei der Probe TE I 12.

Auch für diese Beobachtung kommt ein selektiver Austritt von Aminosäuren, wie auch Positionseffekte in Frage. Ein positiveres C/N-Verhältnis entsteht durch Zunahme des Kohlenstoffanteils in Relation zum Stickstoffanteil bzw. durch relative Abnahme des Stickstoffs.

Die Aminosäuren haben unterschiedliche C/N-Verhältnisse, so haben Phenylalanin (9), Leucin (6), Tyrosin (9) und Methionine (5) und Isoleucin (6) sehr hohe C/N-Verhältnisse, während Glycin (2) und Histidin (2) niedrigere Werte zeigen. Durch die Mischung der Aminosäuren entsteht das beobachtete C/N-Verhältnis. Verliert das Knochenkollagen durch chemische Diagenese z.B. präferiert Glycin (sehr hydrophil und wegen seiner Größe auch leicht löslich), würde dies ein insgesamt höheres C/N-Verhältnis begründen. Für diese Erklärung spricht das Aminosäureprofil der Probe TE I 16, in welchem gly relativ zu den übrigen Aminosäuren die stärkste Abnahme zeigt (s. u.), während Aminosäuren mit höheren C/N-Verhältnissen wie leu, OH-pro und asp eine relative Zunahme zeigen.

Gleiches gilt für die Probe TE I 2, welche ebenfalls eine relative Glycin-Abnahme und hohe C/N-Verhältnisse aufweist (4,17).

Eine Verunreinigung der Proben mit externem Material oder bakterieller Befall kann aufgrund des Versuchdesigns ausgeschlossen werden. Folglich konnte gezeigt werden dass Veränderungen von C%, N%, sowie dem Quotienten C/N molar aus rein chemischer Diageneseprozesse resultieren können.

Veränderung der Aminosäureprofile

Bei den archäologischen Proben kommt es häufig zum Ausfall einzelner Aminosäuren im Aminosäureprofil (vgl. IV: 1.3.3). Die Analyse der Ausfallraten zeigt, dass zum einen Aminosäuren, die in geringen Mengen im Kollagen vorkommen häufig nicht mehr detektiert werden können, zum anderen auch kohlenstoffreiche Aminosäure begünstigt auszufallen scheinen. Dies ist auf den bevorzugten Abbau von kohlenstoffreichen Aminosäuren als Energiequelle von Mikroorganismen (Balzer et al. 1998, Grupe et al. 2000) zurückzuführen.

Dieser selektive Prozess führt zu einer Abnahme der C/N-Verhältnisse: Der Kohlenstoffanteil nimmt durch den Abbau der kohlenstoffreichen Aminosäuren in Relation zum Stickstoffanteil ab, da die abgebauten kohlenstoffreichen Aminosäuren höhere C/N-Verhältnisse besitzen (vgl. auch Balzer et al. 1998).

Er erklärt aber nicht die häufiger beobachteten erhöhten C/N-Verhältnisse (s. o.).

Die untersuchten archäologischen Proben wurden aufgrund ihrer Aminosäureprofile in drei Gruppen (guter/schlechter Kollagenerhaltungsgrad, sowie Typ H) eingeteilt.

Ausschließlich Proben mit guten Kollagenerhaltungsgraden ergaben die Fundplätze Gürcütepe, Panker, Trier (mit einer Ausnahme) und Flensburg. So sind Proben mit gutem Kollagenerhalt sowohl in Fundkomplexen mit langer Liegzeit als auch im jüngsten Fundkomplex vorhanden. Dies zeigt, wie wenig Einfluss der zeitliche und wie viel Einfluss der Liegemilieu-Aspekt hat (vgl. auch V: 1.3.1).

Die meisten Proben der Fundkomplexe Nevalı Çori und Etting (zwei Ausnahmen) sowie der Eiderschädel zeigen einen schlechten Kollagenerhaltungsgrad.

Dabei unterscheiden sich die Proben der beiden Fundkomplexe Nevalı Çori und Etting in der Art der Abweichung der Proben von den Aminosäureprofilen. Die Proben aus Nevalı Çori zeigen selektiven Verlust von bestimmten Aminosäuren und dadurch die Erhöhung anderer Aminosäuren z.B. von Glycin, Prolin, Alanin oder Arginin.

Hingegen findet man bei den Proben des Fundkomplexes Etting eine relative Abnahme fast aller Aminosäuren inklusive Glycin, mit einer hierdurch bedingten Erhöhung der normalerweise quantitativ geringeren Aminosäuren (wie Arginin oder OH-Prolin). Die Mehrzahl dieser Proben zeigt eine durch den relativen Glycinverlust erklärbare Erhöhung des C/N-Verhältnisses. Die Proben des Fundplatzes Nevalı Çori hingegen zeigen nur bei einer Probe erhöhte Werte.

Das Hemmingstedter Material zeigt ein in dem untersuchten archäologischen Material einzigartiges Aminosäureprofil (Typ H), welches durch die hohen Hydroxyprolinwerte mit leicht erniedrigten Glycinwerten auffällt. Weiterhin fallen die Proben durch den im Vergleich zu dem übrigen archäologischem Material hohen Kollagenanteil auf (s. o.) Das Aminosäureprofil entspricht dem der Probe TE I 2 des Temperaturexperimentes I.

Alle Proben mit diesem Profil zeigen leicht erhöhte C/N-Werte (Hydroxyprolin hat ein höheres C/N-Verhältnis als Glycin). Die Probe TE I 2 zeigt allerdings trotz verändertem Aminosäureprofil keine Abweichung der Isotopenverhältnisse.

Auch Elster et al. (1991) sowie Grupe & Turban-Just (1998) beschreiben dieses Aminosäureprofil. Elster et al. (1991) sehen die Reduzierung von Glycin mit verbundener Erhöhung des Hydroxyprolinanteils als Folgen der Aufarbeitung des Materials. So soll es durch ein übertriebenes Eindampfen der Proben zu einem Verlust von Glycin gekommen sein, da dies flüchtiger als Hydroxyprolin und Asparagin ist. Ein Verlust von Glycin aufgrund seiner höheren Flüchtigkeit ist auch in der vorliegenden Arbeit aufgrund des Aufarbeitungsprotokolls nicht auszuschließen. Allerdings leuchtet nicht ein, warum dies vor allem bei Proben bestimmter Fundkomplexe wie allen Proben des Fundortes Hemmingstedt (vgl. auch Grupe & Turban-Just 1998) vorkommen sollte. Als Ursache dieses Phänomens ist vielmehr eine Kombination aus besonderem Kollagenstatus (z.B. vermehrte Cross-links durch Autohumifizierung oder Huminstoffe) und Aufarbeitungsartefakt denkbar.

Asparaginsäurerazemisierungsgrad

Das archäologische Material zeigt bezüglich des Grades der Asparaginsäurerazemisierung auch innerhalb eines Fundplatzes (siehe IV: 1.3.4) große Variabilität, die auf den starken Einfluss von mikroklimatischen Umweltfaktoren (vor allem Wasserverhältnisse, s. u.) hinweist.

Es kann allerdings trotz dieser hohen Variabilität in einem Fundkomplex ein Zusammenhang zwischen Liegezeit und Razemisierungsgrad gezeigt werden: Der Razemisierungsgrad der Proben nimmt mit zunehmender Liegezeit der Proben zu. Der Korrelationskoeffizient ist zwar hochsignifikant aber relativ gering (-0,392), so dass nur von einer schwachen Beziehung auszugehen ist, die von anderen Faktoren überlagert wird.

Wie unter I: 2.2.2 angedeutet, hängt der ARG stark vom Degradationsstatus des Kollagens ab. Dies drückt sich in der gefundenen Korrelation zwischen D/L-Asp-Quotient und Kollagengehalt (nach Säure- und nach Gelatineextraktion, vgl. IV: 1.3.5) aus.

In nichtdenaturiertem Kollagen ist eine Razemisierung von Aminosäuren innerhalb der Tripelhelixstruktur nicht möglich. Kollagen enthält allerdings auch nichthelikale Bereiche (Telopeptidregionen), die eine Razemisierung erlauben. Im Laufe der Degradation des Kollagens wird seine Tripelhelix zerstört und die D-Formen können sich an den entstehenden Fragmentenden bilden. Folglich hängt der Grad der Asparaginsäurerazemisierung nicht nur vom Degradationszustand des Kollagens ab, sondern auch vom Verlust der hierbei auftretenden Peptidfragmente (vgl. auch Collins 1999). Dementsprechend ist die Korrelation mit dem Kollagengehalt nach Säureextraktion enger, da hier auch Proteinfragmente extrahiert werden, die keine kollagene Struktur mehr aufweisen.

Die hohe Variabilität des Razemisierungsgrades in einem Fundplatz wird sicherlich auch durch die, die Kollagendegradation beeinflussenden Faktoren bestimmt. Es kann angenommen werden, dass vor allem biogene Umweltfaktoren, wie der Grad des Befalls durch Mikroorganismen entscheidend sind, da einige Mikroorganismen Kollagen spalten und so Peptidfragmente mit höheren ARG produzieren.

Zwei Knochen mit identischem Zustand der Kollagendegradation können folglich unterschiedliche D/L-Quotienten aufweisen. Knochen, bei dem z.B. aufgrund von fließendem Wasser an seinem Lagerungsort Peptidfragmente austreten, hätte niedrigere D/L-Quotienten als Knochen der aufgrund anderer Umweltbedingungen weniger Kollagenfragmente verloren hat. Eine auffällig große Spannweite der D/L-Quotienten zeigt der Fundkomplex Nevalı Çori, in dem besonders hohe Razemisierungsgrade auftreten. Als Ursache für diese Beobachtung sind zum einen die unterschiedlichen Liegezeiten der Proben, sowie ihre Lagerung in unterschiedlichen Schichten, als auch verschiedene Ausgangsstadien (z.B. vorheriges Kochen) denkbar. Dieser Aspekt wird unter V: 2.3 eingehender diskutiert.

Die Proben des Temperaturexperimentes I zeigen, im Gegensatz zu dem archäologischen Knochenmaterial, einen sehr engen Bezug zur Inkubationszeit (Korrelationskoeffizient von 0,95). Fast eben so eng ist die Beziehung zum Kollagengehalt (Korrelationskoeffizient von - 0,729), was wiederum die starke Abhängigkeit des D/L-Quotienten von der Kollagenfragmentierung und dem Austritt von Peptidstücken zeigt: Das Kollagen denaturiert im Laufe des

Temperaturexperimentes und wird durch nichtenzymatische Hydrolyse fragmentiert. So werden Peptidfragmente freigegeben, die aus dem Knochen austreten können. Da stabile Umweltbedingungen herrschen, sind diese Prozesse hauptsächlich eine Funktion der Zeit, so dass der beobachtete enge Zusammenhang zwischen Razemisierungsgrad und Inkubationszeit auftritt.

Es lässt sich festhalten, dass mehrere Faktoren für die Ausprägung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades verantwortlich sind:

- o Unterschiedliche Ausgangsstadien (verursacht durch Individualdaten oder Knochengröße). So wird z.B. bei älteren Individuen eine höhere Anzahl von Cross-links gebildet, welche die Degradation des Kollagens verlangsamen (vgl. auch Dobberstein 2005).
- o Temperaturgeschichte des Knochens, sowohl während der Liegezeit im Boden (Umgebungstemperatur), als auch durch biostratonomische Prozesse (z.B. Erhitzen des Knochens vor der Bestattung zur Nahrungsaufbereitung) und Temperaturereignissen nach der Bergung (z.B. Lagerungsbedingungen, Kollagenextraktionsprotokoll).
- o Mikroklimatische Faktoren wie z.B. die Wasserverhältnisse, Mikroorganismen und Temperatur. Der pH-Wert spielt eine geringere Rolle, so haben Bada & Shou (1980) gezeigt, dass die Razemisierungsrate in Knochenfragmenten nicht von dem pH-Wert abhängt, da die mineralische Matrix des Knochens als Puffer das System stabilisieren kann.
- o Liegezeit, welche durch oben genannte Faktoren stark überlagert wird.

Zusammenhänge von Kollagenmerkmalen

Statistisch signifikante Zusammenhänge können in der vorliegenden Untersuchung zwischen den Kollagenmerkmalen Kollagengehalt, C%, N% sowie ARG festgestellt werden (vergleiche die Besprechung der einzelnen Merkmale). Isoliert hingegen steht der C/N molar-Quotient, bei dem sich kein statistischer Zusammenhang zu einem der anderen Merkmale herstellen lässt.

Die Kollagenqualität zeigt einzig einen Zusammenhang mit dem Razemisierungsgrad (vgl. Abb. IV.54), wobei keine Aussage über die Stärke der Assoziation gemacht werden kann. Bei Proben mit einem D/L-Asp-Quotienten über 0,05 kann kein guter Kollagenerhaltungsgrad festgestellt werden.

Die Art dieses Zusammenhanges (ursächlich bzw. scheinbar) ist schwierig zu beurteilen. Ein ursächlicher Zusammenhang wäre theoretisch denkbar. Der D/L-Asp-Quotient hängt neben der Kollagendegradation davon ab, ob die durch Kollagendegradation entstandenen Fragmente im Knochen verbleiben (s. o.). Beide Faktoren beeinflussen auch das Aminosäureprofil. Werden z.B. die degradierten Fragmente aus dem Knochen herausgespült, wodurch nur intaktes Kollagen vorhanden bleibt, sollten sowohl niedrige Asparaginsäurerazemisierungsgrade, wie auch ein unverändertes Aminosäureprofil beobachtet werden können.

In der Literatur werden oft Zusammenhänge zwischen Kollagenquantität und -qualität sowie den Merkmalen C%, N% und C/N molar thematisiert (z.B. Ambrose 1990, De Niro 1985, Schoeninger et al. 1989).

Die hier gefundenen Ergebnisse weichen in einigen Punkten von denen vorhergehender Studien ab. So kann zwar die Korrelation oben genannter Merkmale auch in dieser Untersuchung

bestätigt werden, allerdings findet sich kein abrupter Abfall der C- und N-Konzentrationen unter 2Gew% des Kollagens wie von Ambrose (1990) dargestellt. Ebenso wenig zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung die in der Arbeit von Ambrose postulierte Konstanz der C- und N-Konzentrationen über 5%.

Im Gegensatz zu Studien von Ambrose (1990, 1993) kann kein statistischer Zusammenhang zwischen prozentualem Kollagengehalt und Kollagenqualität festgestellt werden. Nach diesen Studien sollen Proben, die Kollagengehalte unter 5Gew% zeigen kein qualitativ gutes Kollagen enthalten. In der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch bei 14 Proben mit Kollagengehalten unter 5Gew% ein guter Kollagenerhalt beobachtet werden.

Diese Diskrepanzen erklären sich durch die Verwendung verschiedener Indikatoren zur Beurteilung der Kollagenqualität. Während in der vorliegenden Untersuchung Aminosäureprofile als Indikatoren für den Kollagenerhalt dienen, klassifiziert Ambrose (1990) gut und schlecht erhaltenes Kollagen nach der Ausprägung des C/N molar-Quotienten.

In der vorliegenden Untersuchung wird jedoch gezeigt, dass kein statistischer Zusammenhang zwischen der Kollagenqualität (festgestellt anhand des Aminosäureprofils) und dem C/N-molar-Quotienten festgestellt werden kann.

Proben mit unverändertem Aminosäureprofil zeigen Werte außerhalb des von DeNiro (1985) postulierten Bereiches. Auch bei den Proben des Temperaturexperimentes I lässt sich kein direkter Zusammenhang zwischen den Merkmalen feststellen, so besitzen auch hier Proben mit C/N-Quotienten, die nicht zwischen 2,9 und 3,6 liegen, unveränderte Aminosäureprofile.

Dass die in dieser Arbeit beobachtete Kombination von guter Kollagenqualität (festgestellt mittels Aminosäureprofil) und von rezenten Werten abweichenden C/N-Verhältnissen, eine Folge der eingesetzten Analysemethoden ist, kann nicht ausgeschlossen werden. Nach van Klinken (1999) sind 20 bis 50Gew% des Kollagens aufgrund diagenetischer Veränderungen wie Cross-link-Bildung in archäologischen Proben nicht hydrolysisierbar und somit nicht in der Aminosäureanalyse sichtbar, in der folglich nur der intakte Part des Kollagens gezeigt wird. Dementsprechend ergeben sich gute Aminosäureprofile in der Analyse, während in der Gesamtprobe veränderte Aminosäureprofile vorherrschen, die den C/N-Quotienten verändern. Weiterhin können auch Kontaminationen, die eine Veränderung des C/N-Quotienten, wie auch der stabilen Isotopendaten bedingen, nicht immer im Aminosäureprofil sichtbar sein.

Allerdings ändert dies nichts an der Unbrauchbarkeit des C/N-molar-Quotienten für die Beurteilung der Kollagenqualität, da so schlechter Kollagenerhalt in Kombination mit rezenten C/N-molar – Verhältnissen nicht erklärt werden kann (vgl. Lösch et al. im Druck).

Nach oben ausgeführter Abhängigkeit des C/N-Quotienten von mehreren Faktoren ist es theoretisch denkbar, dass qualitativ schlecht erhaltene Proben C/N-Quotienten im rezenten Bereich besitzen. So kann der Quotient durch den vermehrten Abbau kohlenstoffreicher Aminosäuren sinken, während gleichzeitig organisches Fremdmaterial die Anhebung des Quotienten verursacht, so dass ein C/N-molar-Wert resultiert, der nach DeNiro (1985) in einem Bereich liegt, der für unverändertes Kollagen spricht.

Weiterhin gibt van Klinken (1999) an, dass nur bei starker Degradation und bei Proben unter 5Gew% eine Änderung der Aminosäureprofile zu sehen wäre. Die Ergebnisse dieser Studie widersprechen dieser Angabe (vgl. Abb. IV.52).

Diagenese von Kollagen

Die Stichproben des archäologischen und experimentell degradierten Materials unterscheiden sich hinsichtlich der intrastrukturellen Beziehungen der erhobenen Merkmale. Es finden sich Merkmale mit hohen Korrelationskoeffizienten (vgl. IV: 1.3.5) bei den Proben des Temperaturexperiments I, die beim archäologischen Material keine Beziehung bzw. nur einen sehr geringen Korrelationskoeffizienten zeigen. Dies weist darauf hin, dass zwischen den Merkmalen der Proben des Temperaturexperimentes I keine primär kausalen Beziehungen zwischen den Merkmalen vorliegen, sondern von der Inkubationszeit bzw. Liegezeit induzierte, also sekundäre Korrelationen.

Deutlich wird dies bei der Korrelation zwischen dem C/N molar- und dem D/L-Asp-Quotienten. So ist bei den archäologischen Knochenproben keine Korrelation dieser beiden Merkmale festzustellen, während bei den Proben des Temperaturexperimentes I eine hochsignifikante Beziehung auszumachen ist (Korrelationskoeffizient von 0,8). Die chemischen Diageneseprozesse wie Hydrolyse des Kollagens und Austreten von Peptidfragmenten wirken sich Experiment mit zunehmender Zeit im gleichen Ausmaß auf beide Merkmale aus (s. o.). Unter nichtexperimentellen Bedingungen hingegen gibt es Faktoren, die die beiden Merkmale in unterschiedliche Richtungen beeinflussen.

Die Abbildung V.2 gibt die postulierten Prozesse des Kollagenabbaus im Temperaturexperiment wieder.

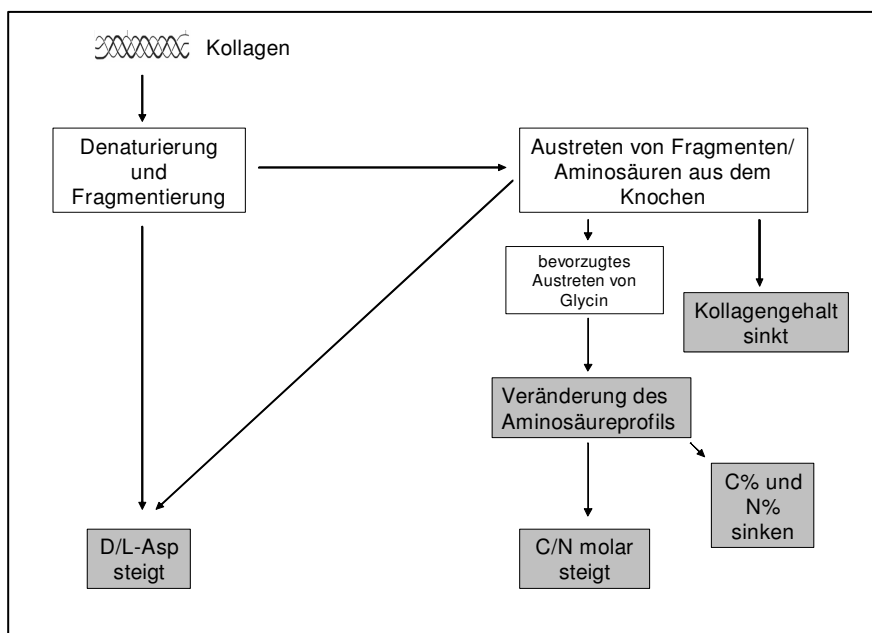


Abb. V.2: Beobachtetes Verhalten der Merkmale bei der experimentellen Degradation mit zunehmender Inkubationszeit (graue Felder) und die hierzu führenden Degradationsprozesse (weiße Felder), man erkennt, dass nur einige Merkmale in direktem Zusammenhang stehen

V Diskussion

Das Austreten von Fragmenten aus dem Knochen führt zu einer Erniedrigung des Kollagenanteils (in Gew%). Durch selektives Austreten von Glycin wird das Aminosäureprofil verändert, der C/N-Quotient steigt, während der Kohlenstoffanteil stärker sinkt als der Stickstoffanteil. Der Kollagengehalt weist also keinen direkten Zusammenhang mit dem Aminosäureprofil, dem C/N-Quotienten und dem prozentualen Anteil von Stickstoff und Kohlenstoff auf.

Während Änderungen eben genannter Merkmale hauptsächlich von dem Austreten von Fragmenten aus dem Knochen verursacht werden, wird der D/L-Asp-Quotient zusätzlich von der Denaturierung und der Fragmentierung der im Knochen verbleibenden Elemente geprägt. Die Razemisierung weist keinen direkten Bezug zu den Merkmalen „Kollagengehalt“, „C und N-Anteil“, „C/N-Quotient“ und „Aminosäureprofil“ auf.

Das archäologische Knochenmaterial zeigt zum Teil andere Zusammenhänge der Merkmale. Die Einbeziehung von Umweltfaktoren, vor allem von biogenen Abbaumechanismen (s. o.) oder Konservierungsstoffen (siehe V: 1.4.2) verkompliziert das Bild. Eine Übersicht über die Wirkung ausgewählter Umweltfaktoren auf verschiedene Kollagenmerkmale zeigt Abbildung V.3.

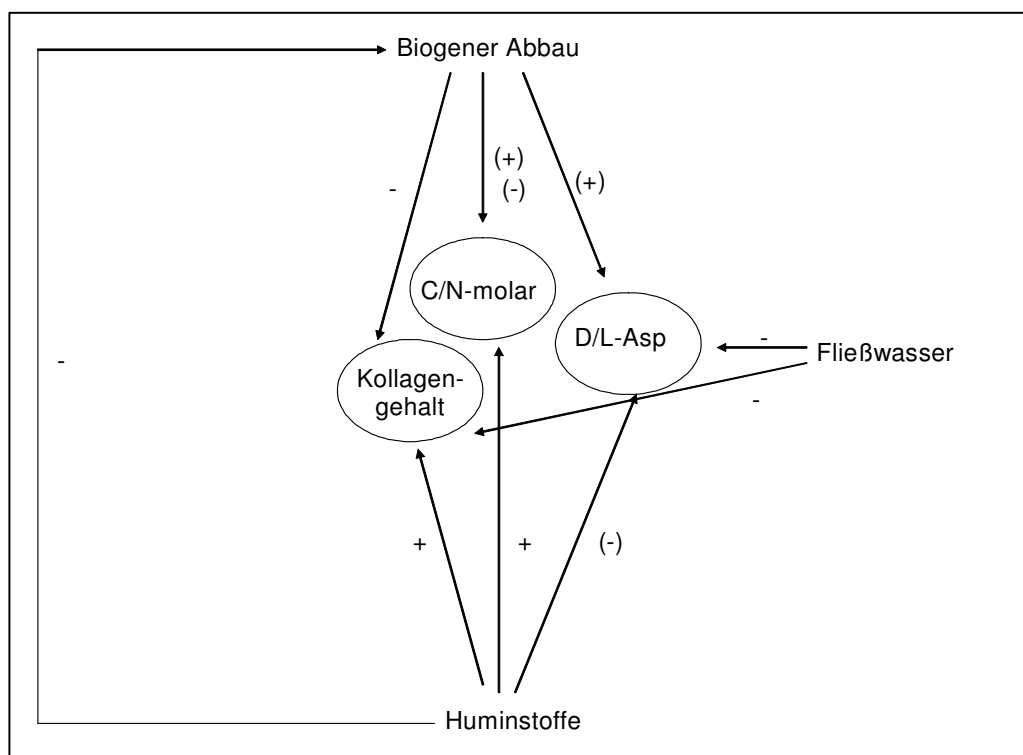


Abb.V.3: Mögliche Einflussnahme verschiedener Umweltfaktoren auf ausgewählte Merkmale des Kollagens (Kreise), mit „+“ wird eine Erhöhung des Merkmalswert angedeutet, während mit „-“, eine Erniedrigung angezeigt wird, Zeichen in Klammern stehen für indirekte Beeinflussung

Biogener Abbau führt zu einer Denaturierung und Fragmentierung des Kollagens und steigert somit den D/L-Asp-Quotienten (Abb. V.3).

Weiterhin verändert bakterielle Degradation das Aminosäureprofil indem gezielt Aminosäuren mit hohen Kohlenstoffanteilen abgebaut werden, was wiederum zu einer Erniedrigung des C/N-

Quotienten führt. Mikrobieller Abbau wirkt sich also erniedrigend auf den C/N-Quotienten aus, während er den D/L-Asp-Quotienten steigern kann.

Verbleibende mikrobielle Abbaumasse kann aber ebenfalls den C/N-Quotienten stark erhöhen. Dieses exogene Material kann nicht immer durch die angewendeten Extraktionsverfahren entfernt werden, insbesondere bei der Säureextraktion, die weniger Reinigungsschritte beinhaltet besteht die Gefahr der verbleibenden Kontamination mit Biomasse.

Ein weiterer Faktor, der sich unterschiedlich auf die beiden Merkmale auswirkt, ist die Anwesenheit von Huminstoffen (vgl. V: 1.4.2). So könnten diese für das Verhindern von Kollagenaturierung und Fragmentierung verantwortlich sein. Der D/L-Asp-Quotient bliebe dann unverändert, während eine Kontamination mit diesen organischen Substanzen zu einer Erhöhung des C/N-Quotienten führen könnte (s. o.).

Durch Einfluss dieser Umweltfaktoren ist die bei den Proben des Temperaturexperiments vorhandene, bei den archäologischen Proben dagegen fehlende Korrelation zwischen C/N-molar und D/L-Asp zu erklären. So führt z.B. fließendes Wasser zu einer Erniedrigung des D/L-Asp-Quotienten bei gleichzeitiger Erniedrigung des Kollagengehaltes, da Peptidfragmente (mit höherem D/L-Asp-Quotienten) aus dem Knochen gespült werden. Diese Konstellation steht im Gegensatz zu dem bei dem Temperaturexperiment beobachteten Anstieg des D/L-Asp-Quotienten bei sinkendem Kollagengehalt und bietet so eine Möglichkeit, die wesentlich geringere Korrelation zwischen Kollagengehalt und D/L-Asp-Quotient beim archäologischem Material zu erklären.

1.1.4 DNA

Hinweise auf den Erhaltungsstatus der DNA geben die Merkmale „Amplifizierbarkeit“ und „Fragmentierungsgrad“. Die Signale in der Agarosegelelektrophorese dienen vor der PCR als Test auf DNA-Erhalt und werden in Abschnitt V: 2.1 besprochen.

Es konnten 54% der Proben mittels Duplex- bzw. Triplex-PCR nicht amplifiziert werden, dies kann folgende Ursachen haben: Die Probe enthält keine amplifizierbaren DNA-Fragmente oder die Amplifikation wird durch die Anwesenheit von Inhibitoren verhindert.

Fast alle Proben, bei denen eine Amplifikation nicht möglich war, zeigen Inhibitoren. Folglich ist eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Ursachen nicht möglich. Es macht allerdings auch deutlich, wie groß der Einfluss von inhibierenden Substanzen auf den Erfolg der DNA-Analytik ist.

Sowohl Amplifizierbarkeit der Proben wie auch Inhibitorenanwesenheit sind fundplatzabhängig, wobei die Fundplätze mit der höchsten Liegezeit eher Inhibitoren aufwiesen als jüngere Fundplätze.

Eine Ausnahme stellt der relativ junge (ca. 1300 Jahre) Fundkomplex Etting dar, dessen nicht amplifizierbare Proben keine Inhibitoren zeigen. Dies wird auf die Tatsache zurückgeführt, dass hier Zähne verwendet wurden, die aufgrund ihrer geschützten Lage im Kiefer und ihrem höheren mineralischen Anteil weniger Stoffen ausgesetzt sind, die als Inhibitoren wirken können.

V Diskussion

Die Schwierigkeiten, DNA jüngerer Fundkomplexe zu amplifizieren, ist bekannt (vgl. I: 3.2.3) und verweist auf eine schnelle Degradation des Großteils der DNA nach dem Tod des Individuums.

Auf eine schnelle Fragmentierung der DNA weisen ebenfalls die Ergebnisse des Temperaturexperimentes I hin. Erwartungsgemäß fragmentiert die DNA im Laufe des Temperaturexperimentes. Dies kann anhand der Abnahme der Intensität der Banden in der Agarosegelelektrophorese wie auch durch die Abnahme der Signalintensität mit zunehmender Dauer des Experimentes in der Duplex-PCR festgestellt werden.

Nach der Probe des dritten Inkubationstages ist die Konzentration der amplifizierbaren Fragmente in der Lösung so gering, dass es nicht immer gelingt, die erforderliche Menge einzusetzen.

Die Proben des Temperaturexperimentes lassen sich ab dem dritten Inkubationstag nicht mehr reproduzierbar amplifizieren, d.h. es gelingt nicht immer die erforderliche Menge DNA einzusetzen um eine Amplifizierung zu erreichen. Ab dem achten Inkubationstag ist keine Amplifizierung mehr möglich. Bei der Multiplex-PCR lassen sich reproduzierbare Signale des kürzesten Systems (112bp) bis zum fünften Inkubationstag erzeugen, dabei werden die amplifizierbaren Systeme im Verlauf des Experimentes immer kürzer. Es zeigt sich also ein rasch verlaufender Degradationsprozeß der DNA, wobei die stärkste Fragmentierung zwischen 12 und 24 Std. stattfindet (vgl. auch Harbeck et al. 2004).

Dementsprechend ist die DNA schon lange vor dem Kollagen vollständig fragmentiert (Extraktion von Kollagen bis zum 16. Inkubationstag möglich). Diese Ergebnisse stützen ebenfalls die Hypothese die u. a. auch von Rolle et al. (2002) vertreten wird, dass der Hauptteil der DNA schnell nach dem Tod fragmentiert (siehe auch Bär et al. 1988) und schon bevor der Knochen starke diagenetische Veränderungen zeigt zum größten Teil abgebaut ist. Diese These scheint aufgrund des Verlustes der Reparaturmechanismen nach dem Tod und der Empfindlichkeit der DNA plausibel. Dass die Moleküle trotzdem Jahrhunderte überdauern können, scheint mit der Möglichkeit zusammenzuhängen, dass diese an das Hydroxylapatit adsorbieren können (siehe V: 1.2.3).

Die Variabilität der Amplifizierbarkeit innerhalb eines Fundplatzes weist auf den starken Einfluss des Mikromilieus hin (vgl. I: 3.2.3). Während einige Umweltfaktoren, die den DNA-Erhalt beeinflussen identifiziert werden konnte (siehe I: 3.2.3), ist der Einfluss von biogenem Abbau des Knochens auf den DNA-Erhalt ungeklärt.

Die Ergebnisse der Multiplex-PCR zeigen, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit der Amplifikation eines Genortes mit zunehmender Produktgröße abnimmt, dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen (z.B. Hummel et al. 1999), da mit zunehmendem Fragmentierungsgrad der DNA (vgl. I: 3.2.3) eine Amplifikation langer Sequenzabschnitte nicht mehr möglich ist.

1.1.5 Mineralische Matrix

Einflüsse auf den prozentualen Apatitgehalt

Der anorganische Gewichtsanteil der Knochenprobe hängt vor allem von dem verbliebenen organischen Anteil (je niedriger, desto höher der prozentuale anorganische Gewichtsanteil) sowie sekundär eingelagerten Ionen und Elementen (siehe I: 3.2.4) und ihrer Entfernbareit durch das Extraktionsprotokoll ab. Die Aufnahme zusätzlichen Materials führt zu einer Erhöhung des anorganischen Anteils.

Zu einer Erniedrigung des prozentualen anorganischen Gewichtsanteils kann es durch Umlagerung des Hydroxylapatits in löslichere Formen kommen, die z.B. bei wechselnden Wasserständen aus dem Knochen geschwemmt werden können. So ist eine große Variationsbreite innerhalb des Fundplatzes ähnlich wie beim Kollagenanteil (vgl. V: 1.1.3) aufgrund des unterschiedlichen Mikroklimas nicht verwunderlich.

Es ist unmöglich bei jedem Einzelfall nachzuvollziehen welche Umstände zu einer Erhöhung oder Erniedrigung des anorganischen Anteils geführt haben. Das archäologische Material zeigt keine Korrelation des organischen mit dem anorganischen Anteil (vgl. IV: 2.1.3). Hieraus lässt sich schließen, dass bei der Mehrzahl der Proben der anorganische Anteil unabhängig von dem organischen Anteil zu oder abgenommen hat, also Veränderungen der mineralischen Matrix oder Einlagerungen externen Materials stattgefunden haben.

Ein höherer, anorganischer Anteil als bei rezentem Material, wie es bei Proben der Fundplätze Nevalı Çori, Eider, Hemmingstedt und Flensburg der Fall ist, kann dementsprechend mehrere Ursachen haben. Der veränderte Ca/P-Wert (s. u.) zeigt, dass im Fall von Nevalı Çori und dem Eiderschädel eine Erhöhung des Gewichts nicht nur durch Absenkung des organischen Anteils erfolgt, sondern anorganische Substitutionen z.B. durch calciumhaltiges Wasser (vgl. Piepenbrink 1989) eine Rolle spielen. Der Fundkomplex Hemmingstedt fällt durch hohe Eiseneinträge auf (s. o.), so dass auch hier mit einer geringen Erhöhung des Gewichts des anorganischen Anteils gerechnet werden konnte. Folglich zeigt auch die Probe mit dem höchsten Eisenanteil (H1) den höchsten anorganischen Gewichtsanteil.

Bei den Fundplätzen Gebökli und Gürcütepe ist es zu Sekundärmineralisierungen des Knochens gekommen (siehe V: 1.1.1), wofür ebenfalls der veränderte Ca/P-Wert spricht (s. u.), so dass Umkristallisierungsprozesse angenommen werden können, zu denen zumindest eine vorübergehende Löslichkeit des Minerals notwendig war. Das Fließwasser, welches in Gürcütepe belegt ist (vgl. II: 1.1) kann daher zu Abreicherung von anorganischer Substanz geführt haben.

In den Proben des Temperaturexperimentes I, in denen es im Gegensatz zum archäologischen Knochenmaterial zu keinen Austauschreaktionen, Fremdeinlagerungen oder Umkristallisierungen gekommen sein kann, wird der anorganische Anteil nur durch den Verlust des organischen Anteils bestimmt und steigt dementsprechend mit der Inkubationszeit an, so dass sich eine Korrelation dieser Komponenten nachweisen lässt.

Veränderung des Ca/P-Quotienten

Etwa 60% des archäologischen Knochenmaterials zeigen im Vergleich zu rezentem Material abweichende Ca/P-Quotienten.

In den meisten Fällen lässt sich ein höherer Wert beobachten, also eine Erhöhung des Calciumanteils relativ zum Phosphatanteil.

In Calcitreichen Böden bzw. bei Kontakt des Knochens mit carbonathaltigem (Grund-)Wasser kann es zur Einlagerung von Calciumcarbonat auf die Oberfläche und in die Poren des Knochens (in Form von Calcit), zu Adsorption- oder Austauschreaktionen auf der Oberfläche des Apatits (Krueger 1991) oder zur Inkooperation in das Kristallgitter (Le Geros 1981, Koch et al. 1997) in Form von Calciumkarbonat kommen. Im letzten Fall ist eine vorhergehende Lösung und Rekristallisierung des Minerals erforderlich.

Die Ca/P-Werte wurden an Knochenquerschnitten ohne Extraktion des mineralischen Anteils gemessen, so dass oberflächliche Substitutionen nicht entfernt wurden und alle drei Möglichkeiten für eine Erhöhung des Ca/P-Wertes in Frage kommen (siehe z.B. White & Hannus 1983).

Die Fundkomplexe Nevalı Çori und Gürcütepe sowie der Eiderschädel zeigen besonders hohe Ca/P-Quotienten. Knochen, die Calcit enthalten, weisen häufig höhere Ca/P-Werte auf, als wenn Calciumcarbonat adsorbiert oder inkooperiert wurde (Nielsen-Marsh & Hedges 2000b). Folglich könnten die hohen Messwerte von Nevalı Çori und dem Eiderschädel auf Calciteinlagerungen hinweisen, während der leicht erhöhte Wert der Proben des Fundortes Gürcütepe auch Adsorption- oder Inkooperationsvorgänge anzeigen kann.

Ebenfalls viele Proben des im Verhältnis jungen Fundkomplexes Etting zeigen veränderte Ca/P-Werte, wobei sowohl erhöhte als auch erniedrigte Werte vorkommen.

Niedrige Werte des Ca/P-Verhältnisses weisen auf einen diagenetischen Verlust von Calciumcarbonat hin, welche eine Umordnung oder einen Verlust der mineralischen Phase bedingt (bei einem Verlust von Calciumphosphat würde der Ca/P-Quotient keine Veränderung erfahren). Im Fall der Ettinger Proben passt diese Erklärung zu den beobachteten niedrigen Mineralanteilen der Proben. Diese Proben sind weiterhin stark bakteriell zerstört, weshalb es nahe liegt, Mikroorganismen als Ursache für die Lösung des Minerals anzunehmen (vgl. Boquete et al. 1973).

Auch Proben des Flensburger und Trierer Fundkomplexes weisen z. T. erniedrigte Ca/P-Werte auf, die mit erniedrigten Anteilen der mineralischen Matrix und bakteriellem Befall einhergehen und auf die gleiche Ursache zurückzuführen sein dürften.

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Liegezeit der Proben und den Ca/P-Werten. Erhöhte Ca/P-Verhältnisse kommen fast ausschließlich bei Proben mit relativ langer Liegezeit (über 3000 Jahren) vor, während Proben jüngeren Datums eher niedrigere Werte zeigen. Dies lässt sich mit einer natürlichen Selektion der Knochenproben durch den Diageneseprozess erklären: Ein niedriger Ca/P-Wert weist auf Verluste der mineralischen Phase und Umordnungsreaktionen hin (s. o.). Dies führt zu einem Auflösen der Knochensubstanz und damit zu einem Vergehen des Knochens. Hohe Ca/P-Werte zeigen Sekundärmineralisierungen an, die den Knochen „stabilisieren“, so dass solche Knochen eine längere Zeit überdauern

können. Folglich besteht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit Knochen mit erhöhten Ca/P-Quotienten in Proben mit längerer Liegezeit anzutreffen.

Theoretisch können archäologische Knochen, die ähnliche Ca/P-Werte wie rezente Knochen aufweisen, ebenfalls Calciumcarbonateinlagerungen oder Umordnung bzw. Verlust der mineralischen Phase durchgemacht haben. Durch die jeweils entgegen gesetzte Wirkung dieser Prozesse auf den resultierenden Ca/P-Quotienten kann so ein „rezenten“ Wert (ca. 2,3) entstehen: Sollten z.B. zunächst Calciumadsorptionen stattgefunden haben und im Folgenden geänderte Umweltbedingungen zu Umkristallisierung oder Verlust von Carbonat führen wurde die mineralische Matrix zwar verändert vorliegen aber einen Ca/P-Quotienten im rezenten Bereich zeigen.

Dementsprechend ist ein Ca/P –Quotient im rezenten Bereich zwar ein Anhaltspunkt, aber keine Garantie für eine unveränderte mineralische Matrix.

Es kann kein statistischer Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil der mineralischen Matrix und der Ausprägung des Ca/P-Quotienten festgestellt werden (vgl. IV: 1.5.4). Allerdings haben alle Proben mit sehr niedrigen prozentualen Anteilen der anorganischen Matrix (unter 40Gew%) Ca/P-Quotienten außerhalb des rezenten Bereiches. Ebenfalls niedrige organische Anteile dieser Proben weisen auf adsorbierte bzw. eingelagerte Elemente hin, die während des Extraktionsprotokolls entfernt werden konnten, wodurch sich ein verminderter prozentualer Anteil im Vergleich zum Ausgangsgewicht ergibt (s. o.). Die Feststellung des Ca/P-Quotienten hingegen erfolgte ohne vorherige Aufarbeitung, so dass z.B. evt. Calciteinlagerungen bzw. adsorptiv gebundene Elemente diesen beeinflussten. Dementsprechend ist keine Aussage von dem in der vorliegenden Untersuchung festgestelltem Ca/P-Quotienten auf das Material nach dem angewendeten Aufreinigungsprotokoll möglich, da dieser nach Entfernung dieser Substanzen sich auch im rezenten Bereich befinden könnte.

Haupt- und Spurenelementverteilung

Die untersuchten archäologischen Knochenproben zeigen in mehr als der Hälfte der untersuchten Elemente Konzentrationsquotienten, deren Werte außerhalb der Referenzbereiche liegen (vgl. Tab. IV.11).

Geringere Elementkonzentrationsquotienten als die Referenzwerte zeigen die leichten chemischen Elemente Magnesium und Natrium bei allen archäologischen und experimentell degradierten Proben (Temperaturerperiment II). Die Tendenz dieser Ionen, aufgrund ihrer hohen Löslichkeit und der geringen Bindung an das Hydroxylapatit aus dem Knochen auszutreten, ist in der Literatur belegt (Lambert et al. 1985, Pate et al. 1989, Michel et al. 1996 Reiche et al. 2003).

Elemente wie Si, Al, Sr und Mn, die in Bodenbestandteilen (z.B. Lehm, Sulfate, Carbonate, Silikate) reichlich vorkommen, liegen, verglichen mit rezentem Knochenmaterial, in erhöhter Konzentration vor. Weniger häufig überschreiten Zn, Cl, F, S, Ti und U den Referenzbereich, also genau diejenigen Elemente, die auch nur in geringen Anteilen im Boden vorhanden sind (vgl.

auch Linderholm & Lundberg 1994). Weiterhin spielen die Ionenradien der Elemente eine Rolle, so ist z.B. das Ba-Ion zu groß um in hohen Mengen in den Knochen einwandern zu können.

Auch im experimentell degradierten Material liegen die Al, Si und vor allem Zn-Konzentrationen erhöht vor. Als Quelle für diese Elemente können Verunreinigungen während der Vor- oder Nachbehandlung (vgl. III: 1) des Materials oder des im Experiment verwendeten Wasser in Frage kommen. Im letzten Fall wäre es durch Diffusionsprozesse zu einer Adsorption an die mineralische Matrix des Knochens gekommen.

Unterschiedliche Faktoren beeinflussen die Aufnahme bzw. Abgabe von Elementen in den Knochen: Die Konzentration der Elemente im Grundwasser und Sediment, ihre Diffusionsraten, die Temperatur, der pH-Wert, das Redoxpotential des Bodens und die Begräbnisumgebung, interne Faktoren, sowie biostratonomische Vorgänge wie z.B. Digestion (Fernández-Jalvo et al. 2002, Sandford & Weaver 2000, Williams et al. 1997). Folglich ist der resultierende Konzentrationsquotient immer eine Mischung verschiedener Ursachen, die im Einzelfall aufgrund des unbestimmbaren Mikromilieus nicht zu rekonstruieren sind.

Auffällig ist sind die stark erhöhte Eisenwerte der Proben des Fundkomplexes Etting. Es wird ein für Eiseneinlagerung in Knochen typisches U-förmige Profile festgestellt, das auf Diffusion des Minerals in das Knocheninnere hinweist (z.B. Quottropani et al. 1999). Eisen kann vom Hydroxylapatit adsorbiert oder substituiert werden, sowie in Form von Eisenhydroxidkristallen präzipitieren (z.B. Reiche et al. 2003). Da die Eisenionen die Hemmung der Fluoreszenz verursachen (welche ebenfalls in einem typisch U-förmigen Profil auftritt) ist es im Fall der untersuchten Proben wahrscheinlich, dass diese nicht adsorptiv gebunden sind sondern in den Kristall inkooperiert wurden, wo sie als Quencher wirken (siehe V: 1.1.2). Allerdings ist nicht auszuschließen, dass es auch zu einer Bindung an das Kollagen ist (Rosmus et al. 1968). Es ist anzunehmen, dass die auffallend hohen Eisenkonzentrationen der Proben dieses Fundkomplexes auf mit den Individuen bestattete Waffen und Rüstungsreste zurückzuführen sind, da es sich bei diesem Fundkomplex um eine Massengrab mit in einer Schlacht gefallenen Individuen handelt (siehe II: 1.9).

Sowohl die Silicium- als auch die Aluminiumkonzentrationen korrelieren hochsignifikant mit dem Ca/P-Quotienten. Obwohl ein direkter Zusammenhang nicht ausgeschlossen werden kann, ist es wahrscheinlicher, dass diese Beziehung in der Liegezeit begründet ist: Proben mit hohen Liegezeiten haben mit höherer Wahrscheinlichkeit veränderte Ca/P-Quotienten und Einlagerungen bzw. Inkooperationen der häufigen Bodenelemente.

1.2 Interstrukturelle Zusammenhänge

In diesem Abschnitt wird die Ursache der statistischen Korrelationen diskutiert und eine prinzipielle Beziehung der Diageneseprozesse zwischen den verschiedenen Knochenebenen hergestellt.

1.2.1 Zusammenhänge von histologischen mit biomolekularen und mineralischen Merkmalen

Viele histologische Merkmale korrelieren in der vorliegenden Untersuchung mit Merkmalen des Kollagens (siehe IV: 2.1.1), die Ursachen dieser statistischen Zusammenhänge sollen im Folgenden diskutiert werden.

Histologische Merkmale und Kollagenquantität

Mit zunehmender Destruktion des mikrostrukturellen Erhaltungsgrades des Knochens kann ein abnehmender Kollagengehalt festgestellt werden. Die Korrelation des histologischen Erhaltungsgrads (festgestellt mittels OHI) mit der Kollagenquantität (Korrelationskoeffizient von 0,5 (nach GE)) ist durch die Abhängigkeit der beiden Merkmale von dem Faktor mikrobieller Abbau zu erklären: Dieser führt im histologischen Bild zur Zerstörung der Mikrostruktur und trägt entscheidend zum Kollagenabbau bei (vgl. V: 1.1.3).

In der vorliegenden Untersuchung vorkommende Proben mit gutem strukturellem Erhalt und geringer Kollagenausbeute zeigen allerdings, dass ebenfalls eine rein chemische Degradation des Kollagens stattfindet. Chemische Degradation von organischem Material beeinflusst das histologische Bild des Knochens nicht (vgl. Temperaturexperimente). Die Kombination von gutem histologischen Erhalt und geringer Kollagenausbeute ist hauptsächlich bei Proben des histologischen Merkmalstypen C anzutreffen (vgl. V: 1.2.4).

Das Merkmal „Doppelbrechung“ ist im Gegensatz zu dem „OHI“ von einer intakten Kollagen-Mineral-Verbindung abhängig und reagiert folglich auch sensibel auf chemische Kollagendegradation. Aus diesem Grund zeigt sich hier ein höherer Korrelationskoeffizient (0,66 nach GE) der auf den engeren Zusammenhang der beiden Merkmale hinweist.

Hedges et al. (1995) und Pfeiffer & Varney (2000) finden eine schwächere bzw. keine Korrelation zwischen Kollagengehalt und Mikrostruktur. Die Autoren werten dies als Zeichen, dass Mikroorganismen keine große Rolle im Kollagenabbau spielen. Der engere Zusammenhang dieser Studie deutet allerdings darauf hin, dass der mikrobielle Abbau, zumindest bei einem großen Teil des Materials, eine entscheidende Rolle für den Kollagengehalt spielt. Auch sind mikrobieller und chemischer Abbau nicht von einander getrennt zu sehen, so ist denkbar, dass Mikroorganismen durch die Zerstörung von Knochensubstanz chemische Abbauprozesse fördern.

Die Korrelationen der histologischen Merkmale mit dem C- und N-Gehalt, sowie dem D/L-Asp-Quotienten ergeben sich aus dem erläuterten Zusammenhang zwischen Kollagengehalt und Mikrostruktur.

Neben den miteinander zusammenhängenden, histologischen Merkmalen „OHI“, „Doppelbrechung“ und „bakterieller Befall“ (vgl. IV: 1.1.8) zeigt weiterhin nur das Merkmal „Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen“ eine Korrelation mit dem Kollagengehalt, wobei es sich wie unter Punkt V: 1.1.1 beschrieben um einen Scheinzusammenhang handeln könnte.

Histologische Merkmale und Kollagenqualität

Auch Histologie (Merkmal „OHI“) und Kollagenqualität (Merkmal „Aminosäureprofil“) zeigen signifikante statistische Zusammenhänge (vgl. IV: 2.1.1).

Analog zu dem Zusammenhang zwischen Kollagenquantität und Histologie, ist für diese Assoziation die gemeinsame Abhängigkeit der Merkmale von dem Faktor „Mikroorganismenbefall“ verantwortlich, da Mikroorganismen sowohl das Aminosäureprofil verändern (Zusammenfassung bei Grupe et al. 2000) wie auch die histologische Struktur zerstören können (vgl. V: 1.1.1). Eine Veränderung des Aminosäureprofils durch chemische Degradation bei erhaltener Mikrostruktur kommt im archäologischen Material selten vor (in der untersuchten Stichprobe findet sich nur eine Probe mit dieser Kombination). Dass dies prinzipiell möglich ist, zeigen die Ergebnisse des Temperaturexperiments I, bei denen eine Veränderung des Aminosäureprofils nach rein chemischer Diagenese stattgefunden hat.

Histologische Merkmale und DNA-Amplifizierbarkeit

Die in der vorliegenden Arbeit festgestellte Assoziation zwischen Mikrostruktur (im speziellen der Merkmale „OHI“, „Doppelbrechung“, „bakterieller Befall“ und des histologischen Merkmalstypen) und DNA-Amplifizierbarkeit (siehe IV: 2.1.1) im archäologischen Material entspricht den Resultaten vorhergehender Studien (z.B. Colson & Bailey 1997, Guarino et al. 2006, Haynes et al. 2002).

Der Erhaltungsgrad der histologischen Struktur beruht hauptsächlich auf der Unversehrtheit der mineralischen Matrix. So kann auch bei fast vollständigem Kollagenverlust die histologische Struktur intakt sein (Beispiel histologischer Merkmalstyp C). Ein DNA-Molekül kann aufgrund seines negativ geladenen Rückgrats an den Hydroxylapatit der mineralischen Matrix adsorbieren (siehe I: 3.2.3 und V: 1.1.4). Ist die mineralische Matrix und somit auch das histologische Bild intakt, ist die Wahrscheinlichkeit des Erhaltes der an den mineralischen Teil des Knochens bindenden DNA-Moleküle erhöht, was sich in der beobachteten Korrelation auswirkt (zur Diskussion der Mineral/DNA-Beziehung siehe IV: 1.2.3).

1.2.2 Zusammenhänge biomolekularer Merkmale

Viele Studien über die Zusammenhänge von Kollagen- und DNA-Erhalt (z.B. Poinar et al. 1996, Poinar & Stankiewicz 1999, Bada et al. 1999) zielen darauf ab mittels Kollagenstatusbestimmung den DNA-Gehalt voraussagen zu können (sog. Screeningverfahren siehe I: 4.1), während relativ wenig über die diagenetischen Abbauprozesse beider Moleküle sowie deren Zusammenhang bekannt ist (siehe auch Collins et al. 1999)

Kollagengehalt und DNA-Amplifizierbarkeit

In der vorliegenden Arbeit kann bei dem archäologischen Knochenmaterial keine Korrelation zwischen Kollagengehalt, C% und N% sowie DNA-Amplifizierbarkeit festgestellt werden. Das *in vitro* degradierte Material zeigt eine Abnahme des Kollagengehaltes bei gleichzeitig steigender Fragmentierung der DNA. Ähnliche Beobachtungen machen auch Götherström et al. (2002), bei denen experimentell degradiertes Material eine Korrelation zwischen DNA- und Kollagengehalt zeigt, während das archäologische Material nur einen Trend in diese Richtung ohne statistische Signifikanz aufweist. Andere Autoren hingegen finden eine Korrelation auch im archäologischen Material (z.B. Colson & Bailey 1997).

Der gleichförmige Verlauf der DNA- und Kollagen Degradation im Temperaturexperiment zeigt, dass in diesem Fall Faktoren auf das Material gewirkt haben, die beide Biomoleküle in gleicher Richtung beeinflussen: Inkubation in Wasser bei hohen Temperaturen steigern in beiden Fällen die chemische Diageneserate.

Ein biologisch ursächlicher Zusammenhang lässt sich von der Korrelation der Faktoren Kollagengehalt und DNA-Amplifizierbarkeit im experimentell degradierten Material nicht ableiten.

Im archäologischen Material konnte diese Korrelation nicht gefunden werden. Unter realen Bedingungen wirken folglich Faktoren auf die Biomoleküle ein, die diese nicht in gleicher Weise beeinflussen. So ist die Annahme von Götherström et al. (2000), dass der Degradationsprozess des Kollagens mit dem der DNA gleich zu setzen ist, da beides helicale Makromoleküle sind, falsch: Die Kollagen Degradation wird z.B. in massivem Ausmaß von Mikroorganismen beschleunigt, während der Einfluss von Mikroorganismen auf den DNA-Erhalt ungeklärt ist (siehe V: 1.1.5). Weiterhin ist von einer Bindung der DNA an das Hydroxylapatit auszugehen (siehe V: 1.2.3), mit weitgehend unbekanntem Folgen für ihren Degradationsverlauf. Es ist zu bedenken, dass die mineralische Matrix bestehen bleiben kann, auch wenn das Kollagen vollständig abgebaut ist (siehe V: 1.2.1) und die Geschwindigkeiten der Degradationsprozesse der beiden Biomoleküle sich völlig unterscheiden (vgl. V: 1.1.4).

Kollagen soll jedoch die mineralische Matrix vor mikrobiellem Befall schützen (s. u.). Dies könnte eine ursächliche Erklärung für beobachtbare Korrelationen (z.B. Colson & Bailey 1996) zwischen dem Kollagen und dem an das Mineral gebundene DNA-Molekül sein: Degradiert das Kollagen und setzt somit die mineralische Matrix frei, kann diese ebenfalls Veränderungsreaktionen unterworfen sein, die zu seiner Auflösung führen können. Dementsprechend wäre nur in Fällen, in denen das Mineral nach der Kollagen Degradation einer

Umwelt ausgesetzt ist, welche zu seinem diagenetischen Abbau oder Umbau führt, eine Korrelation zwischen Kollagen und DNA-Erhalt zu erwarten.

Ein allgemeingültiger ursächlicher Zusammenhang der Degradationsprozesse der Biomoleküle und damit generell gleicher Verlauf der Diagenese von DNA und Kollagen im Knochen kann nicht angenommen werden.

Asparaginsäurerazemisierungsgrad und DNA-Amplifizierbarkeit

Ein Zusammenhang zwischen DNA-Amplifizierbarkeit und ARG wird z.B. von Poinar et al. (1996) postuliert. In einer Studie von 28 Proben geben die Autoren aufgrund empirischer Beobachtung einen D/L-Asp-Quotienten von 0,1 als Limit für einen authentischen DNA-Gehalt an. Weiterhin wird ein Zusammenhang zwischen DNA-Erhalt und Asparaginsäurerazemisierungsgrad angenommen, da die Razemisierung durch die gleichen Faktoren beeinflusst wird wie die Depurination von DNA, welche für die spontane Degradation von Nukleinsäuren verantwortlich ist.

Diese Beziehung wird 1999 von Poinar & Stankiewicz mit der Feststellung relativiert, dass das Wissen über den Einfluss von Umweltbedingungen auf den Erhalt von Biomolekülen unvollständig und auch ein selektiver Erhalt nur eines Moleküls möglich ist. Folglich könne so nicht vom Erhaltungsgrad eines Moleküls generell auf ein anderes geschlossen werden.

Trotz diese Erkenntnis dient in vielen Studien der D/L-Asp-Quotient als Screeningmethode auf DNA-Erhalt (z.B. Krings et al. 1997, 2000, Kumar et al. 2000).

In der vorliegenden Arbeit wird eine signifikante Assoziation zwischen DNA-Amplifizierbarkeit der Proben und D/L-Asp-Quotienten in der archäologischen Stichprobe festgestellt. Im Temperaturexperiment zeigt die DNA mit steigendem Fragmentierungsgrad zunehmende Asparaginsäurequotienten. Ähnlich wie für den Kollagengehalt diskutiert, lässt sich auch hier kein ursächlicher Zusammenhang ableiten. Die Ausprägung des D/L-Asp-Quotienten hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, wie z.B. der Struktur und Sequenz des Proteins, der Temperatur, der Anwesenheit von Schwermetallionen (siehe I: 2.2.2) und auch der DNA-Erhalt wird entscheidend von Umweltfaktoren beeinflusst (siehe Burger et al. 1999). Erhöhte Temperatur und die Anwesenheit von Wasser beschleunigen bei beiden Merkmalen den diagenetischen Abbau. Je nachdem welche Faktoren auf den Knochen einwirken, können zeigen sich Assoziation der Merkmale im archäologischen Fundgut. Allerdings sind ebenfalls Faktoren vorstellbar, die sich auf die Asparaginsäurerazemisierung und die DNA-Depurination in unterschiedlichem Maße auswirken. So beeinflusst der biogene Abbau den ARG (Child et al. 1993), während eine Auswirkung auf den DNA-Erhalt nicht bekannt ist. Umgekehrt sind DNA-Moleküle sehr anfällig für UV-Strahlung (Lindahl 1993) während Kollagenmoleküle resistenter sind.

Die Asparaginsäurerazemisierung ist eine Funktion der Kollagen Degradation, da in den intakten Kollagenmolekülen eine Razemisierung innerhalb der Tripelhelixstruktur unmöglich ist und ausschließlich in nichthelicalen Bereichen (Telozeptidregionen) vorkommen kann. Im Laufe der Degradation wird die Tripelhelix zerstört und an den Enden der entstehenden Fragmente kommt es zur Bildung der D-Form von Asparagin. Der ARG hängt folglich vom Degradationszustand

des Kollagens (Collins et al. 1999) und vom Verbleib des Kollagens im Knochenmaterial ab. Inwieweit dies den Zusammenhang zwischen ARG und DNA-Erhalt beeinflusst, kann durch eine Erweiterung des unter V: 1.1.3 gezeigten Beispiels dargestellt werden: Zwei Knochen mit identischem Zustand der Kollagendegradation und damit gleichem Erhaltungszustand dieses Biomoleküls können unterschiedliche D/L-Asp-Quotienten aufweisen. Ein Knochen, der z.B. aufgrund von fließendem Wasser an seinem Lagerungsort mehr Kollagen verloren hat, hätte die niedrigeren D/L-Asp-Quotienten und würde somit einen besseren Erhalt von DNA versprechen, obwohl sein Degradationszustand dem Knochen aus dem die gebildeten Peptidfragmente nicht ausgetreten sind entspricht (Collins 1999).

Die in dieser Arbeit gefundene Assoziation zwischen dem D/L-Asp-Quotienten und der Amplifizierbarkeit der Proben ist daher nicht als kausale Beziehung zu interpretieren.

Wie Abbildung IV.79 zeigt, sind viele Proben mit sehr niedrigen D/L-Quotienten nicht amplifizierbar. Dies mag zum einem an dem oben erläuterten Fragmentverlust aus dem Knochen liegen, zum anderen wird nicht der DNA-Erhalt an sich beurteilt, sondern die Amplifizierbarkeit der Proben.

Diese ist wie unter V: 1.1.4 ausgeführt nicht nur von der Quantität und Qualität der DNA abhängig, sondern ebenfalls von der Anwesenheit von Inhibitoren, die eine Amplifikation trotz DNA-Gehalt verhindern können.

Zusammengefasst kann man feststellen, dass die beobachtbare Assoziation zwischen D/L-Asp-Quotient und DNA-Gehalt nicht kausal, sondern in bestimmten Fundsituationen auf gemeinsame Einflussfaktoren zurückzuführen ist.

Kollagenqualität und DNA-Amplifizierbarkeit

Der Kollagenerhaltungsgrad zeigt keine Korrelation mit der DNA-Amplifizierbarkeit, was auf die unterschiedlichen Abbauege der Biomoleküle zurückzuführen ist. Allerdings lässt sich eine Assoziation zwischen Kollagenqualität und Inhibitorenanwesenheit feststellen. Proben mit DNA-Inhibitoren weisen signifikant öfter gute Kollagenerhaltungsgrade auf, als Proben in denen sich keine DNA-Inhibierung zeigt (vgl. Abb. IV.77).

Dies lässt vermuten, dass diejenigen Substanzen im Knochen, die eine Inhibierung der Amplifikation verursachen, auch für einen guten Kollagenerhaltungsgrad verantwortlich sind.

So hemmen z.B. Huminstoffe bekanntermaßen die DNA-Amplifikation (siehe I: 2.3.1), während sie den Kollagenerhalt, durch Hemmung der bakteriellen Aktivität (siehe V: 1.1.1) fördern.

Eine alternative Erklärung wäre, dass bei gutem Kollagenerhalt das Kollagen selbst als DNA-Inhibitor wirkt (Scholz et al. 1998). Dies ist allerdings in Anbetracht des Extraktionsverfahrens, welches mittels einer Silicamatrix spezifisch DNA bindet, relativ unwahrscheinlich. Es ist nicht bekannt, dass Kollagen mit DNA Komplexe bildet (wie z.B. die Huminstoffe) und so mitextrahiert werden könnte.

1.2.3 Zusammenhänge biomolekularer Merkmale und mineralischer Matrix

Kollagen- und Mineralanteil

In dem archäologischen, wie auch in dem *in vitro* degradierten Material lässt sich keine Korrelation zwischen dem Kollagenanteil in Gew% und dem Apatitanteil in Gew% feststellen.

Dies ist auf den ersten Blick erstaunlich, theoretisch sollte der Kollagenanteil einer Probe mit zunehmendem Apatitanteil abnehmen, da dies die Hauptkomponenten des Knochengefüges sind und bei abnehmendem Anteil des einen der jeweils andere steigen müsste.

Unter Einbeziehung des Extraktionsverfahrens in die Betrachtung wird der fehlende Zusammenhang erklärbar: Bei der GE wird nur intaktes Kollagen extrahiert, während bei der SE neben jeglichem Kollagen zusätzliche organische Bestandteile (vor allem NCPs und Kollagenfragmente) im Extrakt vorgefunden werden (DeNiro & Weiner 1988). Bei der Mineralextraktion werden nur primäre, also in den Kristall eingebundene Bestandteile extrahiert (V: 1.1.5), während assoziierte oder eingelagerte anorganische Bestandteile verworfen werden.

Der Gewichtsanteil des Apatits berechnet sich aus dem Gesamtgewicht des Knochenmehls abzüglich des organischen Anteils und den nicht in den Kristall integrierten anorganischen Bestandteilen. Der Gewichtsanteil des Kollagens setzt sich je nach Extraktionsmethode aus dem Gesamtgewichtsanteil des Knochens abzüglich der anorganischen Anteile und den nichtintakten Kollagenanteilen, sowie NCPs (GE) bzw. abzüglich einiger NCPs (SE) zusammen. Die Faktoren „nichtintegrierte anorganische Anteile“, „nichtintakte Kollagenanteile“ bzw. NCPs variieren zwischen den verschiedenen Knochenproben, so dass die verbleibenden miteinander verglichenen Gewichtsprozent des Minerals und Kollagens keine Assoziation miteinander zeigen können.

In Temperaturexperiment I zeigt sich, im Gegensatz zum archäologischen Material, eine Korrelation des Apatitanteils mit C% und N% sowie mit dem D/L-Asp-Quotienten. Der Apatitanteil steigt mit zunehmender Dauer des Experimentes durch Verlust des organischen Materials an, ebenso steigt der D/L-Asp-Quotient und sinkt der C% und N%-Wert pro eingesetztem Kollagenextrakt. Hier kann trotz statistischer Korrelation kein kausaler Zusammenhang angenommen werden. Die Korrelation entsteht durch gleichgerichtete chemische Degradation der Moleküle durch die Inkubationsbedingungen.

Ca/P-Wert und Asparaginsäurerazemierungsgrad

Bei dem archäologischen Knochenmaterial korreliert einzig der Ca/P-Wert als Merkmal des Minerals mit dem ARG. Die Beziehung ist nicht sehr eng (Korrelationskoeffizient 0,4) und vor allem bei extrem hohen Werten zu erkennen (vgl. IV: 2.1.3): So weisen Proben mit einem hohem D/L-Asp-Wert (über 0,08) stets einen Ca/P-Wert von über 3,6 auf. Hohe Ca/P-Werte kommen durch Calciteinlagerung oder Umlagerungsreaktionen des Knochenminerals zustande (siehe V: 1.1.5), dies geschieht nur wenn der Großteil des Kollagen abgebaut wurde (z.B. Person et al. 1996). Verbleiben die Fragmente des degradierten Kollagens im Knochen, so zeigen diese hohe D/L-Asp-Quotienten, wenn eine dementsprechend lange Liegezeit vorliegt. Beide Merkmale sind also durch einen kausalen Zusammenhang miteinander verbunden, der nur für den Fall von

hohen Ca/P-Werten gilt. Ohne Umlagerungsreaktionen, also mit Ca/P-Quotienten unter 3,6 besteht kein Bezug der Amplifizierbarkeit zu dem ARG.

Mineral/Kollagen-Beziehung

Die Beziehung zwischen mineralischer und organischer Fraktion ist fundamental für die Knochenarchitektur und den Knochenerhalt. Kontrovers diskutiert wird die Frage, ob Kollagen das Mineral vor diagenetischen Abbauprozessen schützt, oder umgekehrt Mineral das Kollagen. Verschiedene Studien kommen zu unterschiedlichen Aussagen. Die Präsenz von organischen Molekülen verlangsamt die Rate der Minerallösung (z.B. Kleter et al. 1994), verhindere Ionenaustauschreaktionen (Walsh et al. 1994) und Rekristallisierung (Person et al. 1996, siehe auch Schutkowski et al. 1999). Umgekehrt schützt die mineralische Phase das Kollagen vor chemischer Degradation (Klont et al. 1991) und vollmineralisiertes Kollagen soll aufgrund der geringen Porengröße resistent gegenüber mikrobiellen Angriffen (Gernay et al. 2001, Nielsen-Marsh et al. 2000) sein.

Die Frage nach den Zusammenhängen von mineralischer und organischer Phase ist entscheidend für die Klärung diagenetischer Prozesse. Sollte z.B. das Kollagen die mineralische Phase schützen bedeutet dies, dass mikrobieller Abbau von Knochen nur stattfinden kann, wenn bestimmte nichtbiologische Konditionen, die zur Dissolution des Minerals führen, vorliegen (siehe auch Hedges 2002, V: 1.3.1). Hierzu sei bemerkt, dass viele Bakterien starke Säuren produzieren, die den Hydroxylapatit auflösen können, um leichter an das Knochenprotein zu kommen (Grupe et al. 1993). Weiterhin konnten Balzer et al. (1997) den bakteriellen Befall von Knochen ohne eine vorherige Auflösung des Minerals experimentell nachstellen. Daher ist biogener Abbau wahrscheinlich nicht auf eine vorherige Dissolution des Merkmals angewiesen.

Beziehung zwischen Mineral und DNA

Eine ähnliche Diskussion wie bei der Kollagen-Mineralbeziehung herrscht auch bei der Beziehung von Mineral und DNA.

In der vorliegenden Arbeit konnte ein Zusammenhang von DNA-Amplifizierbarkeit und der mineralischen Matrix (mit dem Ca/P-Quotienten) festgestellt werden (vgl. Abb. IV.81): Nichtamplifizierbare Proben weisen häufiger einen hohen Ca/P-Quotienten (über 2,3) auf, als amplifizierbare Proben. Aufgrund der Adsorptionsfähigkeit der DNA an das Hydroxylapatit (Paget et al. 1992, Romanowski et al. 1991, Tuross 1993) ist hier ein ursächlicher Zusammenhang zu vermuten.

Eine scheinbare Korrelation ist allerdings nicht auszuschließen, da beide Faktoren von der Liegezeit beeinflusst werden (Vgl. IV: 1.4.2, 1.5.2).

Studien, die sich auf andere, als in dieser Untersuchung genutzte Merkmale der mineralischen Matrix beziehen, finden einen engen Zusammenhang zwischen DNA-Erhalt und Kristallinitätsindex der mineralischen Matrix (z.B. Götherström et al. 2002).

Die Bindung soll auf die Adsorption der negativ geladenen Phosphat-Gruppen des DNA-Moleküls an die Hydroxylgruppen des Hydroxylapatits (Kawasaki et al. 1985) basieren, vorstellbar wäre auch eine Bindung an das positiv geladene Calcium-Ion. Ob nun allerdings dabei das Mineral die DNA vor Degradation schützt, indem es dem Molekül mehr Stabilität verleiht (Götherström et al. 2002), oder umgekehrt das DNA-Molekül das Mineral, da Biomoleküle mit hoher Affinität zu Hydroxylapatit die Dissolution des Minerals inhibieren (Long et al. 1998), ist ungeklärt. Fest steht, dass DNA-Moleküle an den Hydroxylapatit des Knochens adsorptiv binden können (vgl. V: 1.2.3), wobei unbekannt ist unter welchen Umständen dies geschieht bzw. welche Faktoren dies beeinflusst.

Guarino et al. (2002, 2006) weisen in archäologischen Material DNA-Moleküle in den Ostocytelakunen nach, wo sie geschützt vor Autolyse und mikrobieller Aktivität vorliegen. Geigl (2002) und Geigl et al. (2004) vermuten ein Überleben von DNA in einer unlöslichen Form durch eine verstärkte Bindung an die mineralische Matrix in sog. Molekularen Nischen.

Die Elementkonzentrationswerte zeigen keinen Bezug zur Amplifizierbarkeit der DNA. Prinzipiell kann allerdings davon ausgegangen werden, dass es bei der Anreicherung von radioaktiven Elementen, wie z.B. Uran, zu einer Zerstörung der genetischen Substanz durch radioaktive Strahlung kommt.

1.2.4 Diagenesetypologie

Anhand der festgestellten Zusammenhänge (siehe IV: 2.1.1) sollen Merkmalstypen gebildet werden, um ein zwar im Detail vereinfachtes, aber umfassenderes Bild von den Zusammenhängen diagenetischer Abbauprinzipien zu erhalten. Wie bei jeder Typologie gilt auch hier, dass diese Merkmalstypen ein statistisches Produkt sind, die nur allgemeine Muster widerspiegeln, während einzelne Proben von diesem Schema abweichen können.

Alle Merkmale des Kollagens sowie die molekulargenetischen Merkmale des archäologischen Materials zeigen den engsten Zusammenhang mit den histologischen Merkmalen (siehe V: 1.2.1 bis 1.2.3), während Korrelationen zwischen den genannten Merkmalen oft auf scheinbare Zusammenhänge zurückgeführt werden konnten.

Insbesondere zu den postulierten histologischen Merkmalstypen konnte eine Beziehung gezeigt werden, diese gibt Tabelle V.2 wieder. Merkmale, die aufgrund einer Korrelation mit den in Tabelle V.2 aufgeführten Merkmalen ebenfalls eine Korrelation zu histologischen Faktoren zeigen (siehe V: 1.2.1 bis 1.2.3), werden nicht aufgeführt. Ebenfalls nicht betrachtet werden Merkmale, wie Mineralgehalt, C/N-Quotient und ARG, die trotz Assoziation eine starke Variabilität in ihrer Ausprägung auch innerhalb eines Merkmalstypen zeigen.

Tab.V.2: Beziehung der Merkmale zu dem histologischen Merkmalstyp

Merkmal	Beziehung zu histologischem Merkmalstyp		
	Signifikanz/Stichprobenumfang	Art der Beziehung	Darstellung
Kollagengehalt (Kollagenquantität)	p=0,005 (GE), p=0,000 (SE), n=57, 56	Assoziation	Abb. IV.71
Kollagenerhaltungsgrad (Kollagenqualität)	p=0,025, n=44	Assoziation	Abb. IV.72
DNA-Amplifizierbarkeit der Proben	p=0,044, n=45	Assoziation	Abb. IV.74
Ca/P	p=0,035, n=23	Assoziation	Abb. IV.76
Fluoreszenz	p=0,0000, n=57	Assoziation mit vereinfachtem Gesamtblauindex, Vorhandensein der lila Fluoreszenz	Abb. IV.82 Abb. IV.83

Die gezeigten Zusammenhänge der Merkmale mit der histologischen Struktur und insbesondere den histologischen Merkmalstypen erlaubt die Zusammenfassung von Erhaltungsgraden der unterschiedlichen Knochenebenen zu Typen.

Diese zeigt Tabelle V.3. Wie beim histologischen Bild lassen sich drei Merkmalstypen unterscheiden, die in Abgrenzung zu den rein histologischen Merkmalstypen mit römischen Nummern beziffert werden.

Tab.V.3: Zusammenfassung der histologischen Merkmalstypen (A,B,C) und den mit ihnen korrelierende Merkmalen der organischen und mineralischen Matrix zu Diagenesemerkmalestypen

Histologischer/ Diagenese- Merkmalstyp:	A/I	B/II	C/III
Kollagengehalt (Kollagenquantität)	hoch (ca. 3 bis 18 Gew%)	gering (0 bis 8 Gew%)	gering (0 bis 9 Gew%)
Kollagenerhalt (Kollagenqualität)	eher gut, Typ H	eher schlecht	eher gut
DNA-Amplifizierbarkeit	hohe Wahrscheinlichkeit für DNA-Amplifizierbarkeit	Amplifizierbarkeit / Nichtamplifizierbarkeit gleich wahrscheinlich	Proben eher nicht amplifizierbar
Ca/P	hauptsächlich im rezenten Bereich	selten im rezenten Bereich, oft über 2,3 oder unter 2,1	stets höher als 2,3

Typ I (30% des Materials) zeigt einen guten mikrostrukturellen Erhaltungsgrad mit vollständig erhaltener Doppelbrechung und wenig bakteriellem Befall. Die Kollagenausbeute und die Chance der Amplifizierbarkeit von DNA sind hoch, die Ca/P-Werte der mineralischen Matrix befinden sich hauptsächlich im rezenten Bereich.

Typ II (53% des Materials) zeigt einen schlechten histologischen Erhaltungsgrad mit reduzierter oder nicht mehr vorhandener Doppelbrechung sowie stark ausgeprägtem bakteriellem Befall. Die

Kollagenausbeute ist eher gering, die Kollagenqualität eher schlecht. Die mineralische Matrix zeigt meist einen veränderten Ca/P-Quotienten.

Unter Einbeziehung der unter Punkt V: 1.1 gemachten Interpretationen ist davon auszugehen, dass dieser Merkmalstyp die Folge von hauptsächlich biogenem Abbau ist. Dieser zerstört sowohl das histologische Bild als auch die Doppelbrechungsphänomene (siehe V: 1.1.1), beeinflusst die DNA-Amplifizierbarkeit allerdings nicht stark (siehe V: 1.1.4), kann aber die mineralische Matrix verändern kann (Grupe et al. 1993), so dass abweichende Ca/P-Werte entstehen.

Der diagenetische Merkmalstyp III (17%) zeichnet sich durch einen guten histologischen Erhaltungszustand mit reduzierter oder gänzlich fehlender Doppelbrechung aus. Weiterhin ist oft eine braune Verfärbung des gesamten Probenquerschnitts, sowie eine erhöhte Anzahl von Mikrofissuren zu beobachten (siehe IV: 1.1.8). Der Kollagengehalt ist eher gering, im Unterschied zum Typ I ist das Aminosäureprofil häufig unverändert. Der D/L-Asp-Quotient zeigt bei vielen Proben stark erhöhte Werte (über 0,07). Eine DNA-Amplifizierung ist oft nicht mehr möglich, wobei der Ca/P-Quotient bei allen Proben höher als beim rezenten Material ist (vgl. auch V: 1.2.3).

Eine Diskussion über die Genese der drei beobachteten Diagenesemerkmale unter Einbeziehung interner und externer Einflussfaktoren sowie eine Abgleich mit existierenden Modellen zum diagenetischen Abbau findet in Abschnitt V: 1.5 statt.

1.3 Einflussfaktoren

Der diagenetische Prozess wird von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst (siehe I: 3.2.5). Aufgrund der Komplexität des Zusammenwirkens dieser Einflüsse ist eine Bestimmung der wirkenden Faktoren im Detail nicht immer möglich (vgl. V: 1.1). Es kann allerdings durch Vergleich des archäologischen und *in vitro* degradierten Materials sowie der Fundplätze untereinander ein Trend hinsichtlich der Variabilität und Stärke der beeinflussenden Umweltfaktoren und der Liegezeit festgestellt werden (V: 1.3.1.).

Neben externen Einflussfaktoren können auch interne Faktoren (I: 3.2.5) den Diageneseprozess des Knochens beeinflussen. Viele dieser internen Faktoren wie z.B. Knochendichte oder Vernetzungsgrad des Kollagens sind alters-, geschlechts- oder auch körpergrößenabhängig (I: 1), bei einem vorliegenden Einfluss interner Faktoren sollten sich Beziehungen zu diesen Individualdaten feststellen lassen (V: 1.3.2).

1.3.1 Externe Umweltfaktoren und Liegezeit

Alle untersuchten Merkmale des archäologischen Knochenmaterials wurden auf einen Zusammenhang mit dem Fundkomplex und der Liegezeit getestet (siehe Kapitel IV: 1). Die Tabelle V.4 fasst die Ergebnisse zusammen. Man erkennt, dass bei der überwiegenden Anzahl der Merkmale ein Zusammenhang mit dem Fundort, allerdings nicht mit der Liegezeit besteht.

Hieraus lässt sich auf einen wesentlich stärkeren Einfluss des Umgebungsmilieus auf den Erhaltungszustand des Knochens schließen, während die Liegezeit nur eine untergeordnete Rolle spielt. Nach *in vitro* Degradation zeigen die meisten Merkmale einen deutlichen Zusammenhang mit der Inkubationszeit. Das Temperaturexperiment kann nur chemische Diagenese ohne Einfluss externer Faktoren simulieren. Bei dem archäologischen Material wird dieser zeitliche Einfluss durch biogene Abbaueignisse und unterschiedliche Umwelteinflüsse bis zur Unkenntlichkeit überlagert. Diese Erkenntnis stimmt mit Studien zum Diageneseverhalten einzelner Knochenkomponenten (z.B. Burger et al. 1999, Denys et al. 1996, Hedges et al. 1995, Merbs 1997) überein, die ebenfalls Umweltparametern eine große Rolle zuschreiben.

Merkmale, die eine Korrelation mit der Liegezeit und dem Fundort zeigen, sind „Kollagengehalt“ (und abhängig davon der D/L-Asp-Quotient), „Inhibitorenanwesenheit“, sowie „Fragmentierungsstatus der DNA“ und „Ca/P-Quotient“. Der Zusammenhang zwischen Liegezeit und Ca/P-Quotient ist sekundär und ergibt sich aus einer natürlichen Selektion der Knochen: Das Umformieren der mineralischen Matrix ist eine Voraussetzung dafür, dass der Knochen erhalten bleibt (vgl. V: 1.1.5, Grupe im Druck). Folglich weisen Knochen mit langer Liegezeit zwangsläufig höhere Ca/P-Quotienten auf. Wie unter V: 1.2.3 beschrieben hängt der DNA-Status mit der mineralischen Matrix zusammen, so dass sich hier ebenfalls ein Bezug zur Liegezeit ableiten lässt.

Die Wahrscheinlichkeit einer Inhibitoreinwanderung in den Knochen wie auch der Kollagenverlust ist mit zunehmender Liegezeit größer. Bei diesen Merkmalen scheint der Faktor Zeit eine größere Rolle zu spielen als bei anderen Merkmalen wie z.B. dem Erhalt der Mikrostruktur (siehe V: 1.1.1). Eine Ausnahme dieser Beziehung zwischen Kollagengehalt und Liegezeit sind Proben, bei denen Huminstoffe nachgewiesen werden können, diese Proben zeigen ebenfalls häufig aufgrund der Huminstoffe Inhibitionen in der PCR-Analyse. Proben bei

V Diskussion

denen histologisch Huminstoffe zu erkennen sind, weisen im Vergleich zu anderen Proben ihres Fundplatzes relativ hohe Kollagengehalte auf (zum Einfluss von Huminstoffen, sowie Autohumifizierung des Kollagens siehe V: 1.4.2)

Tab.V.4: Zusammenfassung der statistischen Zusammenhänge des Materials mit Fundkomplex bzw. Liegezeit (siehe Kapitel IV)

Ebene	Merkmal	Archäologisches Material		Temperatur-		
		Zusammenhang mit Liegezeit	Zusammenhang mit Fundkomplex	experiment I		
				Zusammenhang mit Inkubationszeit		
Mikrostruktur	Oxford histologischer Index	nein	ja			
	Verteilung des mikrostrukturellen Erhalts	nein	ja			
	Doppelbrechung	nein	ja			
	Index zur Abschätzung der Anzahl der Mikrofissuren	nein	nein			
	Index zur Abschätzung des bakteriellen Befalls	nein	nein			
	Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen	nein	nein			
	braune Verfärbung unter Strukturerhalt	nein	ja			
Fluoreszenz	Blauindex	nein	ja	ja		
	Verteilungsmuster der hellblauen Fluoreszenz	nein	ja			
	Farbmuster	nicht feststellbar	ja	nein		
Bio-moleküle	Kollagen	Gewichtsprozent organischer Anteil	ja	ja	ja	
		Kohlenstoffgewichtsprozent	nein	ja	ja	
		Stickstoffgewichtsprozent	gering	ja	stark	
		C/N-molar	nicht feststellbar	ja	ja	
	DNA	Aminosäuregehalt	nein	ja	ja	
		Aminosäureprofil	nein	ja	nein	
		Asparaginsäurerazemisierungsgrad	gering	ja	stark	
		DNA-"Gehalt" (Signal in der Agarosegelelektrophorese)	nein	ja	ja	
Mineral	DNA	Amplifizierbarkeit	nicht feststellbar	ja	ja	
		Inhibitorenanwesenheit	ja	ja		
		Fragmentierungsgrad	ja	ja	ja	
		Mineral	Mineralgehalt in Gewichtsprozent	nein	ja	ja
			Ca/P	ja	ja	
	Elementkonzentration	nicht feststellbar	ja	nein		

Trotz der Korrelation der Merkmale mit dem Fundkomplex, kann man eine große Variabilität der Merkmalsausprägung auch bei Knochen innerhalb eines Fundortes feststellen, die häufig ebenso groß ist wie diejenige zwischen den Fundorten (vgl. z.B. Abb. IV.21, Abb. IV.29 und Abb. IV.64). Die Merkmalsausprägung der einzelnen Fundorte unterscheidet sich dementsprechend nur in der Tendenz, während im Einzelfall mikroklimatische Faktoren eine Rolle spielen, die im Gegensatz zu den makroklimatischen Faktoren wie Temperatur, Niederschlagsmenge oder Bodenzusammensetzung nur räumlich begrenzt Einfluss nehmen.

Dabei kann es sich um lokale Bildung von Lufträumen und Wasseransammlungen oder Häufung von chemischen und biologischen Faktoren handeln (z.B. Nicholson 2001). Wie stark mikroklimatische Faktoren den Diageneseprozess beeinflussen können zeigen die häufig beobachtbaren variierenden Erhaltungszustände der Knochen ein- und desselben Individuums (z.B. Harbeck 2002).

Welche Umweltfaktoren bei der Diagenese des Knochens eine Rolle gespielt haben, ist im Einzelfall schwer zu rekonstruieren (zur Auflistung einzelner Faktoren siehe I: 3.2.5). In der vorliegenden Arbeit konnten vor allem Huminstoffe als bedeutende Umweltfaktoren identifiziert werden.

Huminstoffe sind hochmolekulare organische Verbindungen, die durch chemische und/oder mikrobielle Abbauprozesse während der Humifizierung von abgestorbenen Pflanzen- und Tiermaterial entstehen. Charakteristische Merkmale von Huminstoffen sind eine hohe strukturelle Heterogenität, die Fähigkeit, Metallionen zu komplexieren, und die Eigenschaft Wechselwirkungen mit einer Reihe organischer Substanzen einzugehen (Schnitzer 1982). Aufgrund der chemisch sehr heterogenen Zusammensetzung der Huminstoffe war es bisher nicht möglich, die chemische Struktur einzelner Vertreter dieser Stoffklasse zu bestimmen. Gemäß statistischer Berechnungen befinden sich in einem kg einer Huminstoff-Probe nur zwei identische Huminstoffmoleküle (Scheffer & Schachtschabel 2002).

Trotz der strukturellen Vielfalt weisen Huminstoffe einige charakteristische Bausteine und funktionelle Gruppen auf: Alle Huminstoffe enthalten Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und in sehr geringen Mengen Schwefel und Phosphor. Die Kohlenstoffatome kommen in aromatischen Ringen und aliphatischen Ketten, Sauerstoffatome in Hydroxy-, Carboxyl-, Carbonyl-, Ether- und Methoxygruppen vor. Die funktionellen Gruppen spiegeln die Ausgangsstoffe der Huminstoffe wieder, bei denen es sich unter anderem um Phenole, Alkohole, Carbonsäuren, Kohlenhydrate und Lignine handelt. Stickstoffatome kommen in Aminogruppen aus Aminen und Aminosäuren und in Heterocyclen, z.B. Melanin, vor. Es können sowohl größere Teile von Lignin, Polysacchariden und Proteinen als auch aromatische Carbonsäuren, Zuckerbruchstücke, sauerstoff- und stickstoffhaltige Heterocyclen und Aminosäuren als unzersetzte Bausteine in Huminstoffen enthalten sein (Stevenson 1994).

Anhand ihrer Löslichkeit in alkalischen und sauren Lösungen werden Huminstoffe in drei Fraktionen eingeteilt: Fulvosäuren, die sowohl in alkalischen als auch in sauren Lösungen löslich sind, Huminsäuren, die aus alkalischen Extrakten durch starke Säuren gefällt werden können und Humine, die weder durch Laugen noch durch Säuren extrahierbar sind.

V Diskussion

Unter den organischen Bodeninhaltsstoffen spielen diese hochpolymeren Huminstoffe infolge ihrer Menge eine herausragende Rolle.

Sie können in der vorliegenden Arbeit auf fast allen Untersuchungsebenen mit diagenetischen Prozessen in Verbindung gebracht werden:

- Ursache für die braune Verfärbung im histologischen Bild (V: 1.1.1)
- Reduzierung des Knochenabbaus durch Mikroorganismen (V: 1.1.1)
- Veränderung der C%, N%, sowie des C/N-molar-Quotienten und den stabilen Isotopenverhältnissen (V: 1.1.3, V: 2.6)
- Natürliche Konservierung des Kollagens (V:1.4.2)
- PCR-Inhibitoren bei der aDNA-Analyse (V: 1.1.4)

Besondere Bedeutung haben sie als Inhibitoren der PCR-Reaktion (siehe V: 2.2), bzw. als natürlich Konservierungsstoffe (V: 1.4.2).

Umgebungsmilieu- und Liegezeitabhängigkeit der Diagenesetypen

Die Abb.V.4 zeigt die Verteilung der unter V: 1.2.5 aufgestellten Diagenesemerkmaltypen auf die einzelnen in der vorliegenden Arbeit untersuchten Fundplätze.

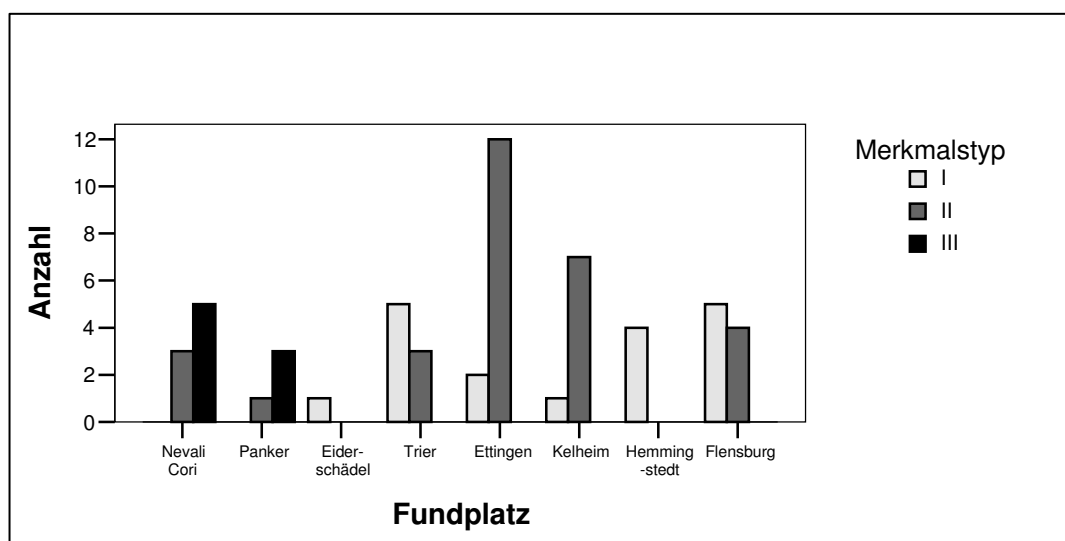


Abb.V.4: Verteilung der Diagenesemerkmaltypen auf die analysierten Fundplätze

Merkmaltyp I ist bei den jüngeren Fundkomplexen (unter 2000 Jahren Liegezeit) stark vertreten. Da er vermutlich aus dem biogenen Abbau von Knochen resultiert, betont diese Verteilung die Abhängigkeit des Knochenerhaltes von mikrobiellen Angriffsmöglichkeiten.

Merkmaltyp II, der relativ unveränderten Knochen darstellt, ist mit einer Ausnahme nur bei Fundkomplexen bis zu 2000 Jahren Liegezeit vertreten.

Während alle archäologischen Fundorte Proben unterschiedlicher Merkmaltypen zeigen, entsprechen die Proben des Hemmingstedter Fundkomplexes ausschließlich dem Merkmaltyp II.

Diese Proben weisen sowohl Huminstoffeinlagerung als auch hohe Eisenkonzentrationen (siehe IV: 1.5.3) auf. Beide Faktoren können den Angriff von Mikroorganismen verhindern (Grupe 2001, Schultz 2001, vgl. V:1.4.2) und sind wahrscheinlich für den guten Erhaltungszustand der Knochenkollagens verantwortlich.

Merkmalstyp III hingegen ist mit einer Ausnahme (s. u.) nur bei den älteren Fundplätzen (über 2000 Jahre Liegezeit) zu beobachten. Hier zeigt sich das Zusammenspiel von Liegezeit und Umgebungsmilieu (natürliche Selektion des Knochens): Knochen, die nicht von Mikroorganismen befallen sind, aber Mineralveränderungen zeigen, werden häufiger in älteren Fundkomplexen gefunden, da ausbleibender Abbau von Mikroorganismen, sowie Umwandlungen des Knochenminerals in eine unlöslichere Form die Voraussetzung für einen langen Knochenhalt und spätere Fossilisierung sind.

Zusammengefasst zeigt sich, dass das Makro- und vor allem Mikromilieu eine große Rolle in den Diagenese Prozessen des Knochens spielt. Es wird ebenfalls deutlich, dass der entscheidende Einfluss auf den Erhalt oder Abbau von Knochenmaterial der mikrobielle Befall ist.

„Apigliano Style“

Auffällig ist der Befund einer einzigen Typ III-Probe in Fundkomplexen mit Liegezeiten unter 2000 Jahren. Diese Probe stammt aus dem mittelalterlichen (ca. 1200 Jahre Liegezeit) Friedhof Kelheim (Kh 1).

Auch Smith et al. (2002) beschreiben die überraschende Beobachtung dieses Diagenesetypen, den sie als „fossilisiert“ bzw. „Apigliano“ Style bezeichnen, in einem mittelalterlichen Gräberfeld.

Erstaunlich an Proben, die diese Merkmalskombination aufweisen, ist vor allem der geringe Kollagengehalt ohne sichtbare Anzeichen mikrobiellen Befalls, da theoretisch eine chemische Degradation von Kollagen nicht in diesen kurzen Zeiträumen erfolgen kann (von Endt & Ortner 1984, Smith et al. 2002). Smith et al. (2002) diskutieren als mögliche Ursachen für diesen schnellen Kollagenverlust Hochtemperaturereignisse, Kalkeinlagerung oder Verwitterungsprozesse.

In Kelheim sind keine möglichen Kalkquellen bekannt, es gibt auch keine Hinweise auf Hochtemperaturereignisse. Diese würden durch messbar erhöhte Razemisierungsgrade auffallen (siehe I: 2.2.2), da die Einwirkzeit eines solchen Ereignisses relativ lang gewesen sein muss: Erst nach längerer Hitzeeinwirkung kann ein fast vollständiger Kollagenverlust erreicht werden, ohne dass Verbrennungsspuren an den Knochen auftauchen. Das Temperaturexperiment zeigt Kollagengehalte von unter 5% nach 42h (GE) bzw. 10 Tagen (SE) Inkubation, dabei ergab sich eine Steigerung der D/L-Asp-Quotienten um 0,04 bzw. 0,09. Dieser dürfte im archäologischen Material sichtbar sein.

Als weitere Möglichkeit für den schnellen Kollagenverlust werden Verwitterungsprozesse mit extremen Nass- und Trockenzyklen des Knochens aufgeführt, welche zu Mikrofissuren und Kristallinitätszunahme führen können, was wiederum zu Kollagenverlusten führt.

Solche extremen Umweltprozesse könnten auch für den Erhaltungsstatus der Kelheimer Probe verantwortlich sein und im Gegensatz zu Hochtemperaturereignissen den veränderten mineralischen Status solcher Proben erklären.

1.3.2 Interne Faktoren

Die erhobenen Merkmale wurden auf einen Zusammenhang mit den Individualdaten überprüft (vgl. IV: 2.3), um festzustellen, ob interne Faktoren den diagenetischen Abbau beeinflussen (vgl. I: 3.2.5).

Von allen histologischen Merkmalen zeigt einzig die Anzahl der Mikrofissuren einen signifikanten Zusammenhang mit Alter und Geschlecht der Proben: Ihre Anzahl ist bei Frauen und älteren Individuen erhöht.

Es ist bekannt, dass die Knochendichte mit dem Alter, vor allem bei Frauen nach der Menopause, abnimmt; wobei Frauen durchschnittlich in allen Altersklassen eine geringere Knochendichte aufweisen (Burger et al. 1994, May et al. 1994, Taaffe et al. 2001).

Die festgestellte Korrelation von Mikrofissuren und Individualdaten lässt sich folglich wahrscheinlich auf die alters- und geschlechtsbedingten Knochendichteunterschiede zurückführen: Die Knochendichte zeigt den Mineralgehalt des Knochens an, je weniger Mineral eingelagert ist, desto poröser ist der Knochen, das Frakturrisiko ist erhöht (siehe auch Crummings & Black 1995). Dies gilt ebenso für diagenetische Veränderungsprozesse. Bei einer erhöhten Brüchigkeit des Knochens bedingt durch geringere Mineraleichte können bei Diageneseprozessen eher Risse in der Knochenstruktur auftreten.

Es ist unwahrscheinlich, dass die Mikrofissuren in Zusammenhang mit diagenetischen Veränderungen der mineralischen Matrix stehen, da auch Proben des Temperaturexperimentes II Mikrofissuren bei unveränderter mineralischer Matrix zeigen. Wahrscheinlicher ist, dass die mineralische Matrix durch den Kollagenverlust geschwächt wird (siehe V: 1.2.3) und es zu Rissen in der Knochenstruktur kommt, da in diesem Fall die Elastizität des Knochens verloren geht. Dafür spricht ebenfalls, dass nur bei Proben mit geringem Kollagengehalt (wie auch bei den Proben des Temperaturexperimentes II) eine erhöhte Anzahl an Mikrofissuren vorkommt (vgl. V: 1.1.1).

Da der Zusammenhang zwischen Mikrofissuren und Geschlecht sowohl in der archäologischen Stichprobe als auch in der zufälligen Stichprobe des Temperaturexperimentes II nachzuweisen ist, ist davon auszugehen, dass es sich hierbei um eine reelle Beobachtung und nicht um ein statistisches Produkt aufgrund der Ungleichheit der Geschlechterverteilung in den Fundkomplexen handelt (siehe IV: 2.3).

Wenn Mikrofissuren, wie von Pfretschner (2000) postuliert, einen entscheidenden Einfluss auf den Fossilisierungsprozess haben (siehe V: 1.1.1), sollten Knochen weiblicher und älterer Individuen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit besitzen, lange Zeit zu überdauern, so dass sich ein Überschuss dieser Individuen im Fundgut zeigen müsste. Im Gegensatz dazu stehen Studien, die eine geringere Erhaltungswahrscheinlichkeit von älteren Individuen zeigen (z.B. Merbs 1997).

Weiterhin korreliert das Geschlecht mit der Ausprägung der gelb/braunen Fluoreszenz. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um einen Scheinzusammenhang, da Proben mit gelb/brauner Fluoreszenz oft Mikrofissuren aufweisen (siehe V: 1.2.5), die wiederum mit dem Geschlecht in Zusammenhang stehen. Gleiches gilt für die Beobachtung, dass Proben weiblicher Individuen öfter gute Kollagenerhaltungsgrade zeigen als männliche, da auch dieser Faktor mit der Anzahl von Mikrofissuren in Zusammenhang steht (V:1.2.5) und wie die gelb/braune Fluoreszenz dem Merkmalstypen III zugeordnet wird. So scheint es, dass mehr weibliche Individuen die Merkmalskombination des diagenetischen Merkmalstypen III zeigen. Da es sich bei der untersuchten Stichprobe hinsichtlich der Geschlechterverteilung nicht um eine Zufallsstichprobe handelt (vergleiche IV: 2.3) ist nicht zu entscheiden, ob hier ein kausaler Zusammenhang besteht oder diese Zusammenhänge aus der nicht zufällig gewählten Geschlechterverteilung in der Stichprobe resultiert.

Gleiche Zweifel sind an der statistischen Signifikanz der Beobachtung, dass Proben weiblicher Individuen häufiger DNA-Inhibitoren aufweisen, angebracht. Theoretisch ließe sich dies jedoch mit der geringen Mineraleichte und der damit einhergehenden größeren Oberfläche von reaktivem Material, bzw. Eindringmöglichkeiten von Fremdmaterial erklären.

1.4 Besondere biostratonomische Umstände

In der vorliegenden Arbeit werden zwei Materialkomplexe untersucht, die in ihrem Ausgangsstatus durch Vorbehandlung von der ursprünglichen Knochenstruktur abweichen und folglich gesondert besprochen werden sollen. Dabei handelt es sich zum einen um modernes kremiertes Material und zum anderen um Proben des *in vitro* degradierten Materials des TE II, welche im Vorfeld mit Formalin behandelt wurden (siehe I: 5.1). Zusammen mit dieser *in vitro*-Fixierung von organischem Material, wird eine ähnliche Form der natürlichen Konservation besprochen (Huminstoffeinwirkung auf Kollagen).

1.4.1 Kremiertes Material

Das kremierte Material stammt von rezenten Leichenverbrennungen, bei denen Temperaturen um 1000°C erreicht werden (siehe III: 3.2). Dabei ist der Knochen zunächst von Weichgewebe umgeben und wird im weiteren Verlauf des Verbrennungsprozesses direkt dem Feuer ausgesetzt. Die so induzierten Temperaturmodifikationen sind größtenteils bekannt (siehe I: 3.1.1), durch Auswertung der vorhergehenden Analysen soll festgestellt werden, welchen Veränderungsstatus das untersuchte Material hat.

Im histologischen Bild ist eine Schwarzfärbung des Querschnittes durch primären Kohlenstoff zu erkennen (siehe Abb. IV.1). Dies zeigt, dass keine vollständige Verbrennung der Knochenstruktur im Knocheninneren stattgefunden hat (siehe IV: 1.1, Shipman et al. 1984, vergleiche Hummel et al. 1988). Der primäre Kohlenstoff entsteht durch Oxidation des Kohlenstoffs aus organischen Verbindungen zu elementarem Kohlenstoff. Dieser Prozess beginnt bei ca. 300°C, oberhalb von 600°C wird der primäre Kohlenstoff weiter zu CO₂ oxidiert, welches aus dem Knochen austritt. Bei ca. 800 °C ist der Austritt von organischem Kohlenstoff aus dem Knochen beendet (Herrmann et al. 1990).

Der Befund von elementarem Kohlenstoff im Knochenquerschnitt bedeutet also, dass zumindest stellenweise nur Temperaturen bis höchstens 600°C erreicht wurden. Bei einer Probe sind im histologischen Bild außerdem endostal Struktureste zu erkennen, die Doppelbrechungsphänomene zeigen. In diesen Regionen liegt dementsprechend organische Substanz vor, was darauf hinweist, dass hier keine Temperaturen über 300°C geherrscht haben.

Eine ähnliches Muster der schwarzen Verfärbung im Knochenquerschnitt mit endostalen Strukturesten beobachten auch Holden et al. (1995). Sie schließen daraus, dass die Einwirkzeit des Feuers auf den Knochen zu kurz gewesen ist, als dass der Knochen hinsichtlich der Temperatur ein Gleichgewicht mit der Umgebung herstellen konnte. Auch Hermann et al. (1990) schreiben, dass primäre Kohlenstoffverfärbungen darauf hinweisen, dass die Temperatur grundsätzlich geeignet war, Knochen vollständig verbrennen zu lassen, die Expositionsdauer aber nicht hinreichend lang gewesen ist. Dies scheint bei den untersuchten kremierten Knochenproben ebenso der Fall zu sein. Das Weichgewebe, welches die ersten 45min eines Verbrennungsprozesses erhalten bleibt (MC Kinley & Bond 2001), schützt den Knochen und verhindert, dass auf diesen in dieser Phase zu hohe Temperaturen einwirken: Wasser (ca. 63% des menschlichen Körpers) wird ab einer Temperatur von 100°C zu Wasserdampf. Dieser Prozess fängt die Verbrennungsenergie ab. Der Knochen kann dementsprechend erst nach vollständiger Verbrennung des Weichgewebes veränderungsrelevante Temperaturen erreichen. Die verbleibende Zeit (ca. ein bis zwei Stunden) reicht offensichtlich nicht, um eine vollständige Verbrennung des gesamten Materials zu erreichen. Die Stärke der Weichteilbedeckung ist für den unterschiedlichen Verbrennungsgrad verschiedener Knochen verantwortlich (MC Kinley & Bond 2001).

Holden et al. (1995) fanden in den schwarzen Bereichen kremierten Knochens mit elektronenmikroskopischer Aufnahmen unveränderte Kollagenfibrillen. In der vorliegenden Untersuchung ist es hingegen nicht gelungen, Kollagen zu extrahieren.

Allerdings ist aufgrund der mikrostrukturellen Befunde und der Tatsache, dass andere Studien (z.B. Cattaneo et al. 1994, DeNiro et al. 1985) Protein in kremierten Material nachweisen können davon auszugehen, dass Kollagen prinzipiell im Material vorhanden ist. Über den qualitativen Status des Moleküls kann keine Aussage getroffen werden.

DNA kann aus den kremierten Proben extrahiert werden, sowohl Agarosegelelektrophorese, wie auch Duplex-PCR und Multiplex-PCR zeigen positive Signale. Der Abgleich der Typisierungsergebnisse des kremierten Materials mit denen der jeweiligen Mundschleimhautproben (vor der Verbrennung entnommen) zeigt, dass es nicht gelungen ist, die originäre DNA zu amplifizieren, sondern Fremd-DNA typisiert wurde (siehe auch v. Wurmb-Schwark et al. 2005) Hierauf weist ebenfalls der Vergleich des Fragmentierungsmusters der kremierten Proben mit den archäologischen und *in vitro* degradierten Knochenproben hin: Während bei den nicht kremierten Proben eine Abnahme der Amplifizierhäufigkeit mit der Länge des STR-Fragments beobachtet wurde, kann dies beim kremierten Material nicht festgestellt werden.

Die Kontamination der Proben erfolgte wahrscheinlich im Krematorium, da im Labor eine Behandlung der Proben unter Minimierung des Kontaminationsrisikos erfolgt (siehe III: 11) und

die gefundenen DNA-Profile keinem der Mitarbeiter des Labors zugeordnet werden konnten. Im Krematorium zeigen sich mehrere Kontaminationsmöglichkeiten: Mitarbeiter des Krematoriums entfernen manuell die neben den Knochenresten vorhandenen anorganischen Bestandteile des Sarges oder Körpers. Da hierbei ohne Handschuhe gearbeitet wird, ist eine Kontamination des Materials durch den Hautkontakt möglich. Leider konnte diese These nicht durch eine Überprüfung der DNA-Profile der entsprechenden Mitarbeiter validiert werden, da diese eine Typisierung ihrer DNA ablehnten. Es besteht außerdem die Möglichkeit der Kontamination der Proben mit den Überresten vorhergehender Verbrennungen (Kreuzkontamination), da weder Auffangbecken noch Knochenmühle (für die Herstellung der Asche (siehe II: 2)) nach jedem Arbeitsschritt gereinigt werden.

Dass eine Amplifikation der authentischen DNA nicht möglich war, bedeutet nicht zwingend, dass keine amplifizierbaren DNA-Moleküle mehr vorhanden sind, sondern dass das Angebot von Fremd-DNA überwiegt und diese durch die PCR-Reaktion bevorzugt vervielfältigt wurde.

Ochnikov et al. (1997, aus Großkopf 2004) können mtDNA bei experimentell verbrannten Knochen bis zu einer Temperatur von 450°C nachweisen. Dass diese Temperatur an einigen Stellen des Knochens bei rezenten Kremierungen nicht erreicht wird, zeigen die Ergebnisse zur Mikrostruktur des Knochens. Dementsprechend ist nicht auszuschließen, dass DNA-Moleküle bei rezentem kremiertem Material noch vorhanden sind.

Das Masseverhältnis von Ca zu P (Ca/P molar) liegt (mit einer Ausnahme) unter dem Wert von rezenten Knochen, der Calciumanteil nimmt folglich in Relation zum Phosphat-Anteil ab. Grupe & Hummel (1991) beobachten bei experimentell verbrannten Knochen eine anteilige Zunahme des Ca wie auch des P, wobei der P-Anteil im Vergleich zum Ca wesentlich stärker zunahm. Dies ließ sich in jener Studie schon bei Temperaturen unter 300°C beobachten und könnte auch bei dem vorliegenden Material die Verschiebung des Ca/P-molar-Quotienten erklären.

Eine Umstrukturierung des Mineralgefüges beginnt erst ab ca. 800°C (vgl. I: 3.1.1), dementsprechend kommt diese als Erklärung für die beobachtete Ca/P-Änderung nicht in Frage.

Die Elementkonzentrationen von Mg, K, Fe, Zn, Si, Sr, Al, S und Na sind im Vergleich zu den Referenzwerten erhöht. In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben zum Verhalten der Elemente beim Verbrennungsvorgang. So zeigen Grupe & Hummel (1991) zunehmende Konzentrationen bei Sr, während Zn und Mg während des Verbrennungsvorganges sehr diskontinuierliche Verläufe zeigen. Im Gegensatz dazu findet Runia (1987, aus Großkopf 2004) signifikant geringere Konzentrationen im verbrannten als im unverbrannten Knochen, während Subirá & Malgosa (1993) signifikant höhere Werte für Mg finden

Das Verhalten der Elemente unter thermischem Einfluss ist bislang nicht ausreichend eruiert, um die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Konzentrationszunahmen zu erklären. Es wird vermutet, dass die Erhöhung einiger Elemente wie z.B. Eisen durch eine Reaktion des Knochenminerals (z.B. Adsorption) mit den bei der Verbrennung des Sarges oxidierten Elementen, erklärt werden kann. Der anteilige Anstieg der Elemente ist weiterhin sicherlich zum Teil durch den verringerten organischen Anteil erklärbar, welcher eine Zunahme des anorganischen Anteils nach sich zieht.

Das kremierte Knochenmaterial zeigt eine violette Fluoreszenz, die einheitlich stark ausgeprägt ist. Der Fluoreszenz von Knochenmaterial liegt ein komplexes Wechselspiel zwischen Fremdatomen (Aktivatoren und Quencher) und strukturellen Störungen im Aufbau des Kristallgitters in Kombination mit eigenfluoreszierenden Kollagenanteilen zugrunde (siehe V: 1.1.2). Dementsprechend ist eine Ursachenbestimmung für diese spezielle, nur bei kremiertem Material beobachtbare Fluoreszenzausprägung ohne weitere Informationen über die detaillierten Verbrennungsvorgänge des Knochens vor allem hinsichtlich der Elementkonzentrationen nicht möglich. Es kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei dieser Fluoreszenzfarbe um die Farbgebung des Hydroxylapatits handelt, da dieses orange fluoresziert (siehe V: 1.1.2). Weiterhin ist davon auszugehen, dass der Anteil der Fluoreszenz des Kollagens reduziert ist (s. o.) sowie die Festkörperreaktion des Hydroxylapatits nicht für die violette Fluoreszenz verantwortlich ist, da die Temperaturen für diesen Vorgang nicht erreicht wurden (s. o.).

Experimentelle Verbrennungen von Knochen bei verschiedenen Temperaturen unter gleichzeitiger Feststellung des Mineralstatus könnten zur Klärung der Ursache der violetten Fluoreszenz bei kremiertem Material beitragen.

Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass aufgrund der unvollständigen Verbrennung des modernen kremierten Materials zumindest theoretisch Reste organischen Materials wie Kollagen und anderen Biomolekülen vorhanden sind.

Von diesem Material können nur in begrenztem Umfang Schlussfolgerungen für kremiertes archäologisches Material abgeleitet werden.

Archäologischer Leichenbrand hat einen sehr variablen Verbrennungsgrad. In den meisten Fällen handelt es sich um vollständig verbrannten Knochen, der andere Eigenschaften aufweist, als die hier für das kremierte Material beschriebenen. In Ausnahmefällen zeigen sich Knochen mit primären Kohlenstoffverfärbungen (Herrmann et al. 1990), für die das oben Ausgeführte zutreffen dürfte. Es ist allerdings zu bedenken, dass diese Knochen diagenetische Prozesse durchlaufen haben. Über den diagenetischen Abbau von Leichenbrand ist wenig bekannt, so dürften z.B. Mikroorganismen aufgrund des verminderten organischen Angebots eine weniger große Rolle spielen. Bei vollständig verbrannten Knochen zeigen die entstandenen Tricalciumphosphate eine geringere Löslichkeit als die Calciumphosphate des nativen Knochens (Herrmann et al. 1990), so dass auch diagenetische Abbauprozesse des Minerals deutlich anders ablaufen dürften als bei unverbranntem Knochen. In dieser Hinsicht besteht vor allem im Hinblick auf das steigende Interesse der Archäometrie (siehe I: 3.1.1) an kremiertem Material Forschungsbedarf (vgl. V: 2.3).

1.4.2 Formalinbehandeltes Material und Huminstoffkonservierung

Die formalinbehandelten Proben des Temperaturexperimentes II zeigen in den untersuchten Merkmalen ein von den *in vitro* degradierten Proben des Temperaturexperimentes I abweichendes Verhalten, wofür die Konservierung des organischen Materials durch Formalinfixierung verantwortlich ist. Formalinbehandlung führt zu einer starken Vernetzung aller organischen Gewebekomponenten (Ausbildung von Cross-links, Lehmann & Kreipe 2001).

Das Formalin bewirkt dementsprechend eine Vernetzung der Kollagenmoleküle, was zu einer geringeren Löslichkeit des Proteins führt (Fox et al. 1985). Weiterhin ist vorstellbar, dass es durch

Ausbildung von Cross-links zu einer festeren Verbindung auch mit anderen organischen Bestandteilen kommt. Außerdem kann von einer Verfestigung der Kollagen-Mineralbeziehung ausgegangen werden: Wie unter I: 1.3 beschrieben, sind die Apatitkristalle auch in bzw. zwischen den Kollagenfibrillen zu finden. Werden diese nun stärker vernetzt, sind auch die anorganischen Bestandteile stärker eingebunden.

Dies macht eine Extraktion von erhaltenem Kollagen problematisch, was sich in der vorliegenden Untersuchung bei den Proben des Temperaturexperimentes II bemerkbar machte (vgl. auch Schmidt-Schultz & Schultz 2004): Sie zeigen im Vergleich zum Temperaturexperiment I schon vor der Inkubation sehr geringe extrahierbare Gewichtsanteile des Kollagens nach GE, während der Kollagengehalt nach SE auffallend hoch ist, so dass die Differenz im Kollagengehalt nach diesen beiden Extraktionsmethoden wesentlich größer ausfällt.

In den formalinbehandelten Proben ist nur wenig unfragmentiertes und somit gelatinisierbares Kollagen vorhanden, dies zeigt sich in der geringen Ausbeute nach Gelatineextraktion. Mittels Säureextraktion können auch kleinere Kollagenfragmente und NCPs extrahiert werden, weiterhin sorgt die lange Säurebehandlung für eine Hydrolyse des Minerals, womit wiederum Kollagen freigesetzt wird. Folglich ist der Anteil nach Säureextraktion bei formalinfixiertem Gewebe wesentlich höher. Es zeigt sich keine Abnahme des Kollagenanteils, weder nach Säure-, noch nach Gelatineextraktion der Proben des Temperaturexperimentes II mit der Inkubationszeit. Daher ist ebenso wenig eine Veränderung des Anteils der anorganischen Matrix zu beobachten. Aufgrund der Fixierung des Kollagens scheint nur eine geringe chemische Degradation während des Temperaturexperimentes stattzufinden.

Die D/L-Asp-Werte der Proben nehmen mit zunehmender Inkubationszeit zu, im Vergleich zu den Proben des Temperaturexperiment I ist diese Zunahme allerdings wesentlich geringer: Die Proben des Temperaturexperimentes II weisen in den verschiedenen Inkubationszeiten bis zu dreimal so hohe Werte auf. Dies zeigt eine langsamer verlaufende chemische Kollagendegradation, von der die Razemisierungsrate abhängig ist (siehe V: 1.1.3).

Dieser Befund, kombiniert mit der geringen Ausbeute nach Gelatineextraktion und der hohen Ausbeute nach Säureextraktion, lässt darauf schließen, dass das Kollagen im Knochenmaterial durch die Vernetzung einen besseren Erhaltungszustand aufweist. Durch die Extraktion werden diese Verbindungen (z.B. auch zwischen Kollagen und NCPs oder Mineral) zerstört, es bilden sich mehr Fragmente als ursprünglich vorhanden. Es ist fast unmöglich, intaktes Kollagen aus formalinbehandelten Knochen zu extrahieren, wobei der Erhaltungszustand des Kollagens im Knochen selbst besser sein dürfte (vergleiche auch Boskey et al. 1982, aber Shan-Rong et al. 1991).

Es konnte keine DNA aus Proben des Temperaturexperimentes II extrahiert werden, ebenso wenig ließen sich Inhibitoren feststellen. Formaldehyd bzw. Formalin führt zur Bildung von DNA-Protein-Cross-links, wobei der Proteinanteil im rezenten Gewebe hauptsächlich von Histonen gestellt wird (O'Connor & Fox 1989), während in den degradierten Knochen auch andere Proteine in Frage kommen. Als Konsequenz der Ausbildung dieser Cross-links sind die Nukleinsäuren ebenso wie das Kollagen (s. o.), wenn sie isoliert werden können, hochfragmentiert (z.B. Lehmann & Kreipe 2000).

Das histologische Bild bleibt im Verlauf des TE II strukturell unverändert erhalten, bakterieller Befall und exogenes Material zeigt sich erwartungsgemäß bei keiner Probe. Strukturell ebenfalls gut erhalten, aber in anderen Merkmalen von rezenterem Material sowie weniger lang inkubierten Proben abweichend, sind die beiden Proben mit der längsten Inkubationszeit (TE II 23, TE II 25). Sie zeigen eine reduzierte Doppelbrechung im polarisiertem Licht und braune Verfärbungen im Hellfeld (vgl. Abb. IV.13). Worauf diese dunkelbraunen Verfärbungen zurückzuführen sind, kann nicht eindeutig geklärt werden. Das gleichzeitige Auftreten der reduzierten Doppelbrechung weist darauf hin, dass sie mit dem Verlust der Mineral-Kollagen-Verbindungen in Zusammenhang stehen. Denkbar ist eine Braunfärbung des organischen Anteils durch die Bildung von braunen Melanoiden. Diese können *in vitro* durch Verbindungen von Proteinen und Polysacchariden unter Hitzeinwirkung entstehen (Maillard-Reaktion, vgl. auch Collins et al. 1992).

Auffällig ist, dass bei allen Proben des Temperaturexperimentes II Mikrofissuren auftreten. Dies hängt wahrscheinlich mit der Formalinfixierung zusammen, da ein Zusammenhang mit der chemischen Hydrolyse des Kollagens ausgeschlossen werden kann (s. o.). Eine Folge der Ausbildung von Cross-links ist, dass die Kollagenfibrillen enger gepackt werden (Boskey et al. 1982), dies könnte zu Spannungen in der Kollagen-Mineral-Beziehung führen, so dass es gehäuft zu Mikrofissuren kommt.

Die beobachteten Einschlüsse in den Havers'schen Kanälen sind nicht auf exogenes Material zurückzuführen, sondern es handelt sich um endogene Reste z. B. von Blutgefäßen, die auch nach einer Inkubationszeit von 25 Tagen aufgrund der Formalinfixierung noch gut zu erkennen sind.

Hinsichtlich der Fluoreszenzeigenschaften unterscheiden sich die Proben des Temperaturexperimentes II von den Proben des Temperaturexperimentes I. Während bei letzteren eine Abnahme des Blauindex zugunsten einer lilafarbenen Farbausprägung zu verzeichnen ist, tritt dies bei den Proben des Temperaturexperimentes II nicht auf. Auch bei den Proben mit reduzierter Doppelbrechung ist keine Veränderung der Fluoreszenzeigenschaft zu beobachten. Die beobachtete punktuelle lilafarbene Fluoreszenz der Proben ist auf organische Reste des Knochens (s. o.: Füllung der Havers'schen Kanäle) zurückzuführen. Weiterhin kann eine Aufhellung der Fluoreszenz beobachtet werden, die keinen Zusammenhang mit der Inkubationszeit zeigt und deren Ursache unbekannt ist.

Die mineralische Komposition des Knochens, bleibt hinsichtlich des Ca/P-Quotienten bei den formalinfixierten Proben auch nach Inkubation unverändert (vergleiche auch Boskey et al. 1982). Die, gemessen an den Vergleichswerten des rezenten Materials niedrigen Mg- und Na-Konzentrationen zeigen allerdings, dass es zu Austritten dieser Ionen gekommen ist (vgl. IV: 1.1.5).

Es können erhöhte Si und Al-Werte festgestellt werden, die aber verglichen mit dem archäologischen Material gering ausfallen und durch Verunreinigung des Inkubationswassers, der Formalinlösung oder bei der Aufbereitung in das Knochenmaterial gelangt sein könnte.

Wie im Abschnitt I: 1.3.1 beschrieben, ist das archäologische Knochenmaterial während seiner Liegezeit im Boden Huminstoffen ausgesetzt, die hinsichtlich ihrer Vernetzungseigenschaften der Wirkung von Formalin ähneln. Diese Stoffe werden häufig für ausnehmend gute Erhaltungsgrade insbesondere von Kollagen von Knochenmaterial verantwortlich gemacht (z.B. Denys 2002, Nicholson 1998).

Ihre Wirkung auf die organischen Bestandteile im Knochen ist, vor allem auch aufgrund der vielen unterschiedlichen Substanzen, die sich unter dem Begriff Huminstoffe (siehe V: 1.3.1). verbergen, nicht vollständig geklärt. Es wird allerdings angenommen, dass sie mit den Kollagenmolekülen Cross-links eingehen, die das Molekül zum einen vor chemischer Diagenese bewahren und zum anderen Kollagenase-Aktivität und somit mikrobiellen Angriff hemmen (vgl. Nicholson 1998, vgl. V: 1.1.1). Diese Cross-links werden nicht nur zu Huminstoffen ausgebildet, sondern auch zwischen Kollagenfibrillen, so dass sich ein ähnliches Bild wie bei der Formalinfixierung ergibt (van Klinken & Hedges 1995).

Proben bei denen histologisch Huminstoffe zu erkennen sind, weisen im Vergleich zu anderen Proben ihres Fundplatzes relativ hohe Kollagengehalte auf. Im Gegensatz zu formalinbehandelten Proben zeigt sich ein hoher Kollagengehalt sowohl nach Säure- als auch Gelatineextraktion. Dieser Unterschied zwischen formalin- und natürlich konservierten Proben ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass es bei der Cross-link-Ausbildung unter Einbeziehung von Huminstoffen nicht um kovalente Bindungen handelt (wie nach Formalinbehandlung), sondern um Wasserstoffbrückenbindungen, welche bei der Gelatinisierung im Extraktionsverfahren gelöst werden. Folglich kann intaktes Kollagen extrahiert werden (vgl. van Klinken & Hedges 1995).

Neben der Aufnahme von Huminstoffen kann es zu einer Autohumifikation im Knochen kommen, in der sich mittels Maillard-Reaktion Melanoide bilden (Collins 1992, s. o.), wobei die resultierenden Produkte und Vernetzungen ähnlich sind und ebenfalls konservierende Wirkung zeigen.

Huminstoffe haben neben ihren konservierenden auch PCR-Enzym-inhibierende Eigenschaften, die im Zusammenhang mit der spurekundlichen Analyse unter V: 2.1.1 besprochen werden.

1.5 Resultierendes Bild taphonomischer Prozesse

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen in Übereinstimmung mit anderen Studien (vgl. I: 3.3) zwei diagenetische Hauptwege: Den chemischen und den biogenen Abbauprozess, wobei der chemische häufig mit Mineralisierungsprozessen verbunden ist.

Diese Abbauege führen gesteuert von Umweltfaktoren und Liegezeit zu drei unterschiedlichen diagenetischen Erhaltungsgraden des Knochens (Diagenesetypen).

Wie unter Abschnitt V: 1.2.4 beschrieben, basieren die diagenetischen Merkmalstypen auf der Beziehung der Merkmale der Knochenstruktur zu den histologischen Merkmalstypen. Folglich entsprechen die diagenetischen Abläufe, welche zur Ausbildung der verschiedenen histologischen Merkmalstypen führen, denjenigen Prozessen, welche die diagenetischen Merkmalstypen formen (siehe Abb.V.1).

Abbildung V.5 integriert den organischen und mineralischen Diagenesestatus in die für die Histologie beschriebenen Abbaumechanismen und beschreibt die hierzu führenden Prozesse. Dabei soll es sich um ein grobes Schema des diagenetischen Abbaus handeln. Auch innerhalb der Diagenesetypen findet sich eine weite Spannweite der Merkmalswerte, die vorwiegend auf mikroklimatische Einflüsse zurückgeführt wird (siehe V: 1.3.1.); zusätzlich kann der Ausgangsstatus des Knochens den diagenetischen Prozess beeinflussen (siehe V: 1.3.1, I: 3.2.1). Diese Variabilität wird in diesem mehrere Prozesse umfassenden Modell nicht berücksichtigt.

Der zeitlich jüngste diagenetische Erhaltungsgrad ist der Diagenesetyp I. Die enge Verbindung von Mineral und Kollagenmatrix verhindert größtenteils autolytische Prozesse, so dass diese beiden Knochenstrukturen relativ intakt vorliegen. Stärkere Auswirkungen hat die Autolyse auf die DNA-Moleküle, die den zelleigenen Exo- und Endonukleasen weitgehend schutzlos ausgesetzt ist. Folglich findet man in Knochen, die dem diagenetischen Merkmalstyp I entsprechen, überwiegend fragmentierte DNA-Moleküle. Die genaue Lokalisation der Moleküle und der Zeitpunkt des Bindens an die mineralische Matrix ist jedoch ungeklärt (vgl. V: 1.2.3).

Wie unter Abschnitt V: 1.4.2 aufgeführt, haben natürliche konservierende Stoffe, wie z.B. Huminsäuren große Bedeutung für den Erhalt dieses Merkmalstypen.

Ein Hinweis auf die natürliche Konservierung der Stoffe bieten die bräunlichen Verfärbungen im histologischen Bild (siehe V: 1.1.1). Neben dem verlangsamten chemischen Abbau zeigen diese Proben eine Resistenz gegen mikrobiellen Befall. Eine besondere Ausprägung des diagenetischen Merkmalstyps I sind die Proben des Hemmingstedter Fundkomplex, die ähnlich wie zwei Proben des Temperaturexperimentes I auffällige Aminosäureprofile zeigen (vgl. V: 1.3.1).

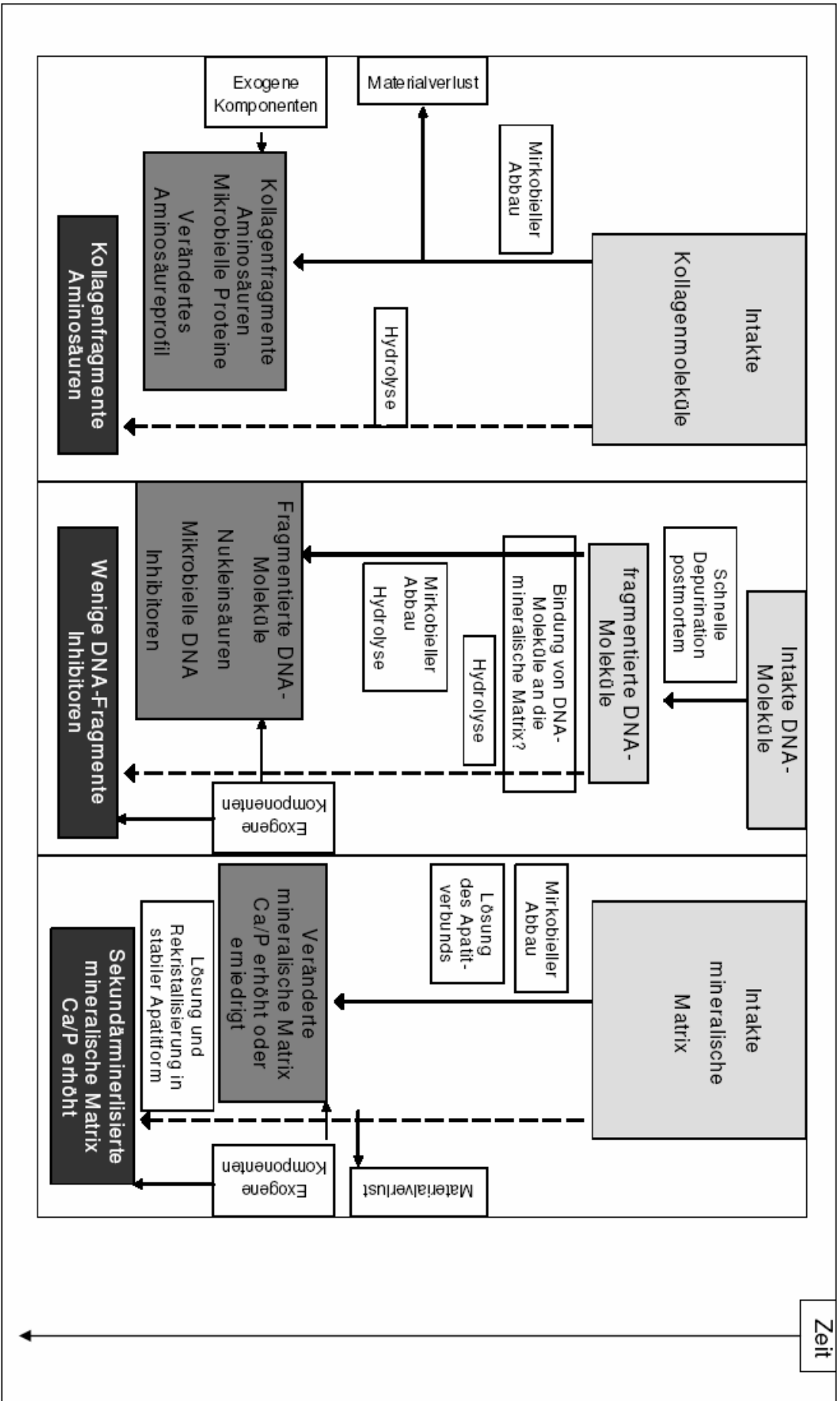


Abb. V.5: Modell zum diagenetischen Abbau der Biomoleküle und der mineralischen Matrix im Knochen. Hellgraue Felder entsprechend dem Diagenesetyp I, mittelgraue dem Diagenesetyp II, dunkelgraue dem Diagenesetyp III, gestrichelte Linien zeigen den chemischen Diageneseweg, durchgezogene Linien den biogenen Diageneseweg an

Der Diagenesetyp I wird überwiegend in Fundkomplexen mit einer Liegezeit bis zu 2000 Jahren gefunden (siehe V: 1.3.1). Mit zunehmender Liegezeit wird der Erhalt dieses Diagenesetyps immer unwahrscheinlicher. Unterbleibt mikrobieller Abbau, findet eine chemische Degradation statt, die von Umgebungstemperatur und Wasseranwesenheit abhängig ist (siehe V: 1.3.1). Diese kann umweltabhängig zur vollständigen Auflösung des Knochens oder zur Ausbildung des Diagenesetyps III führen. Dementsprechend finden sich in Fundkomplexen die über 2000 Jahre alt sind, nur Knochen der Diagenesetypen I und II. Ein bakterieller Abbau führt ebenfalls zur Auflösung des Knochens.

Folglich ist ein zentraler, für den Knochenhalt entscheidender Punkt, welcher der beiden Abbaumechanismen stattfindet. Es nicht geklärt, warum einige Knochen von Mikroorganismen befallen werden und andere nicht. Die bimodale Verteilung des histologischen Erhaltungsgrades im archäologischen Fundgut zeigt, dass wenn einmal mit dem mikrobiellem Abbau begonnen wurde, dieser schnell den gesamten Knochen durchdringt (siehe V: 1.1.1).

Da Mikroorganismen selbst in extremen Umweltbedingungen existieren können (Grupe 2001) ist es unwahrscheinlich, dass allein die Abwesenheit von Mikroorganismen für das Ausbleiben von mikrobiellem Befall eines Knochens verantwortlich ist. Sicherlich reduzieren bestimmte Umweltbedingungen wie sehr niedrige Temperaturen oder extrem trockene Umweltbedingungen (Grupe 2001) die Anzahl der Mikroorganismen und damit die Wahrscheinlichkeit eines Befalls. Allerdings werden nicht befallene und befallene Knochen an einem Fundplatz, sogar innerhalb eines Individuums gefunden, so dass klimatische Faktoren nicht allein ausschlaggebend sein können. Eine verbreitete Ansicht ist (vgl. I: 3.2.2, V: 1.2.3), dass die mineralische Matrix das Kollagen vor einem Abbau durch die Kollagenasen der Bakterien schützt und dementsprechend Umweltfaktoren, die den Erhaltungszustand der mineralischen Matrix beeinflussen über den Abbauweg des Knochens entscheiden. Dieser Theorie widerspricht, dass auch Bakterien Säure produzieren können und dementsprechend nicht auf die Zerstörung der mineralischen Matrix durch Umweltfaktoren angewiesen sind (vgl. V: 1.2.3).

Weiterhin können biostratonomische Prozesse (z. B. vorheriges Kochen, (siehe I: 3.1.2) und die Todesart (Truemann & Martill 2001) eine Rolle spielen. Natürliche Konservierungsstoffe wie Huminstoffe oder Metalleinlagerung können die Kollagen-Mineralverbindungen festigen und so einen biogenen Abbau verhindern (siehe V: 1.5.1, V: 1.4.2).

Bei überwiegend mikrobiellem Abbau des Diagenesetyp I formt sich der Diagenesetyp II, Übergänge zwischen diesen Diagenesetypen werden, aufgrund des schnellen mikrobiellen Abbaus kaum beobachtet.

Der mikrobielle Abbau des Knochens wirkt sich vor allem auf die Kollagenmoleküle aus, die als Nahrungsquelle der Bakterien dienen. Es kommt zu einer Fragmentierung des Moleküls (Bildung von Kollagenfragmenten sowie Aminosäuren). Unter geeigneten Bedingungen (z.B. bei hoher Grundwasseraktivität (siehe V:1.1.3)) können Kollagenfragmente aus dem Knochen austreten, was den Kollagengehalt vermindert. Ebenso können exogene Komponenten, hauptsächlich mikrobielles Protein, in den Knochen gelangen. Aus diesen Prozessen resultiert der Diagenesetyp II, welchen stark fragmentiertes Kollagen kennzeichnet, das durch selektiven Abbau von Aminosäuren und Austritt von Fragmenten ein verändertes Aminosäureprofil zeigt.

Die histologisch feststellbaren Anzeichen bakteriellen Befalls (tunneling) zeigen, dass die mineralische Fraktion ebenfalls von Mikroorganismen angegriffen wird und eine Lösung des Knochenminerals auf ihre Aktivität zurückzuführen werden kann (vgl. Gutierrez 2001, Piepenbrink 1989). Bell et al. (1991) zeigen, dass sich Veränderungen der Kristallstruktur des Apatits um die von Mikroorganismen verursachten Bohrkanäle nachweisen lassen. Durch die Anlösung der mineralischen Matrix kann es bei entsprechender Wasseraktivität zu Verlust von anorganischem Material kommen.

Das Ca/P-Verhältnis weicht beim Diagenesetyp II sowohl nach unten als auch nach oben von rezenten Werten ab (vgl. V: 1.2.4), was darauf hindeutet, dass verschiedene, die Ca/P-Raten unterschiedlich beeinflussende Prozesse, involviert sind. Dazu gehört auch die Adsorption bzw. Substitution von Fremdionen, sowie die Füllung der Bohrkanäle mit anorganischem Material (vgl. Bell et al. 1991).

Die Folgen mikrobiellen Befalls auf die DNA des Knochens sind weitgehend ungeklärt. Da allerdings davon auszugehen ist, dass zumindest einige DNA-Moleküle eine Bindung zur mineralischen Matrix eingehen (vgl. V: 1.2.3), welche ebenfalls zu diesem Zeitpunkt Strukturveränderungen unterworfen ist (s. o.), ist wahrscheinlich, dass der mikrobielle Abbau die Fragmentierung der DNA-Moleküle verstärkt. Die Mikroorganismen selbst stellen hinsichtlich der Amplifizierbarkeit von DNA einen Störfaktor dar, da zuviel mikrobielle DNA in Extrakten die Amplifikation der Ziel-DNA verhindert. In der vorliegenden Untersuchung konnte kein Zusammenhang zwischen DNA-Amplifizierbarkeit und mikrobiellem Befall hergestellt werden.

Das Resultat des mikrobiellen Abbaus ist der totale Verfall des Knochens (vgl. V: 1.1.1). Da mikrobieller Abbau, einmal begonnen, sehr schnell voranschreitet, ist es also unwahrscheinlich den Diagenesetyp II in Knochen anzutreffen die aufgrund von Fossilisierung tausende von Jahren überdauert haben. Dies wird von Trueman & Martill (2001) bestätigt, die nur geringe Anzeichen mikrobiellen Befalls in fossilisierten Knochen finden und ebenfalls das Ausbleiben von mikrobiellem Befall als Schlüsselfaktor für den Knochenerhalt postulieren.

Der Diagenesetyp III ist das Ergebnis rein chemischer Abbaumechanismen und Sekundärmineralisierungsprozessen. Das Temperaturexperiment I stellt hinsichtlich der Biomoleküle eine Analogie zu diesem Weg dar. Durch fortgesetzte Hydrolyse der Kollagenmoleküle kommt es zur Bildung von Kollagenfragmenten und Aminosäuren, welche aus dem Knochen austreten können. Die Kollagenqualität (Aminosäureprofil) bleibt weitgehend erhalten, kann aber bei extremer Degradation des Moleküls im Ausnahmefall verändert vorliegen (vergleiche Temperaturexperiment I, V: 1.1.3).

Aufgrund der fortgesetzten Hydrolyse der DNA-Moleküle liegen diese stark fragmentiert und in Bindung an die mineralische Matrix vor (siehe V: 1.1.4). Nur in Ausnahmefällen gelingt eine Amplifikation, welche durch Inhibitoren erschwert wird (vgl. V: 1.3.1). Die mineralische Matrix ist aufgrund von Rekristallisierungsprozessen sekundärmineralisiert, was sich durch die erhöhten Ca/P-Quotienten ausdrückt (siehe V: 1.1.5, V: 1.2.4).

Dieser Diagenestyp findet sich vorwiegend nach langer Liegezeit des Materials (über 2000 Jahre, siehe V: 1.3.1). In Einzelfällen können auch Proben jüngerer Fundplätze die Merkmalskombination des Diagenesetyps III zeigen. Die Gegebenheiten, unter welchen die

chemischen Umlagerungs/Abbauprozesse eine derartige Beschleunigung erfahren, werden diskutiert (siehe V: 1.3.1). Das histologische Bild des diagenetischen Merkmalstypen III ist häufig durch Mikrofissuren gekennzeichnet, die wahrscheinlich aus der chemischen Diagenese des Kollagens und der damit verbundenen gestörten Kollagen-Mineralbeziehung entstehen (siehe V: 1.1.1); einmal entstanden fördern diese Mikrofissuren wahrscheinlich Sekundärmineralisierungsprozesse (vgl. V: 1.1.1).

Dieses Schema zu diagenetischen Prozessen unterscheidet sich in einigen Punkten von Modellen anderer Autoren:

- o Collins et al. (2002) unterscheiden neben dem biogenen Abbau den chemischen Abbau von organischer und mineralischer Phase (vgl. I:3). Im vorliegenden Modell werden nur zwei Diagenesemechanismen unterschieden, da ein starker Zusammenhang zwischen chemischer Diagenese der mineralischen Matrix und den Biomolekülen besteht (siehe I: 1.3; V: 1.2.3).
- o Es wird, anders als bei Collins et al. (2002) und Nielsen-Marsh et al. (2000), nicht davon ausgegangen, dass mikrobieller Befall nur nach Auflösung der mineralischen Matrix stattfindet, sondern es wird vermutet, dass auch der mikrobielle Angriff (siehe V:1.2.3) zur Auflösung des Minerals beitragen kann.
- o Dem biogenen Abbau wird im Unterschied zu Hedges et al. (1995, 2002) und Pfeiffer & Varney (2002), in Übereinstimmung mit Grupe (im Druck) sowie Trueman & Martill (2001) eine Schlüsselrolle im Abbau des Kollagens und dem Knochenerhalt zugeschrieben.
- o Im Gegensatz zu Bada et al. (1999), sowie Rollo et al. (2002) wird der Asparaginsäure-razemisierungsgrad nicht als aussagekräftig hinsichtlich des diagenetischen Status betrachtet da er eine zu große Variabilität innerhalb der postulierten Diagenesetypen zeigen (vgl. IV: 1.3.4, V: 1.1.1). Es kann allerdings festgestellt werden, dass ausschließlich Proben des Diagenesetypen III Werte über 0,07 zeigen.

Aus den Ausführungen dieses Kapitels erkennt man ferner, dass viele Fragen hinsichtlich entscheidender diagenetischer Prozesse sind noch offen sind (vgl. V: 3).

1.6 Diageneseindikatoren

Wie in Abschnitt I: 3.3 beschrieben, werden Diageneseindikatoren verwendet, um Aufschluss über den Erhaltungsstatus des Knochens auf mehreren Ebenen zu erhalten.

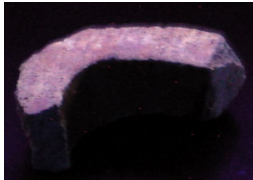
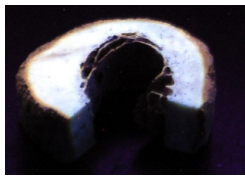

Da die untersuchten biomolekularen Merkmale den engsten Bezug zu dem histologischen Erhaltungsgrad und der Ausprägung der Doppelbrechung zeigen, sind diese als Indikatoren prädestiniert (vgl. V: 1.2.5).

Die histologische Untersuchung eignet sich folglich nicht nur zur Feststellung des mikrobiellen Befalls (vgl. I:3.3), in Kombination mit dem Merkmal Doppelbrechung können vielmehr histologische Erhaltungstypen aufgestellt werden (siehe IV: 1.1.8). Diese wiederum können Aufschluss über den Status der Biomoleküle geben, da diese in enger Beziehung mit den postulierten Diagenesetypen stehen (siehe V: 1.2.5).

Die Tabelle V.3 zeigt z.B., dass bei der Feststellung eines guten histologischen Erhaltungsgrades (OHI von 3 oder 4) in Kombination mit nichtreduzierter Doppelbrechung von einer hohen Wahrscheinlichkeit der DNA-Amplifizierbarkeit ausgegangen werden kann.

Es ist ebenfalls ein Zusammenhang der Fluoreszenzausprägung des Knochenquerschnittes mit der histologischen Struktur und so auch den Diagenesetypen gegeben (siehe V: 1.2.5). Folglich kann aus der Feststellung der Fluoreszenz eine Aussage zum Erhaltungszustand des Knochens gemacht werden. Wie unter I: 2.1 postuliert, eignet sich also die Fluoreszenzausprägung des Knochens als Diageneseindikator. Die Tabelle V.6 zeigt die Ausprägung der Fluoreszenz bei den verschiedenen Diagenese-Merkmalstypen mit jeweils einem Beispiel.

Tab. V:6: Zuordnung der Ausprägung der Fluoreszenz des Knochenquerschnitts zu den Diagenesemerkmaltypen mit jeweils einem Beispiel aus dem Untersuchungsgut

Diagenese-Merkmalstyp:	I	II	III
Fluoreszenz	lilafarbene Fluoreszenz, mit schwacher bis mittelstark ausgeprägter hellblauer Fluoreszenz, oft kleine Areale braun/gelber Fluoreszenz	stark ausgeprägte blaue Fluoreszenz, in Ausnahmefällen Reduktion der Fluoreszenz, nur kleine Anteile lilafarbener und gelbbrauner Fluoreszenz	nur sehr kleine Flächen hellblauer Fluoreszenz, großflächige gelb-braune Fluoreszenz, z. T. mit lilafarbenen Anteilen
Dominierende UV-Fluoreszenzfärbung	lila	blau (hellblau bis dunkelblau)	gelb/braun
Beispiel (von links nach rechts: T6, T4, NC 16)			

V Diskussion

Im Vergleich zur histologischen Analyse ist diese Methode wesentlich einfacher (vgl. III:1.2) und kostengünstiger. Aufgrund des ungeklärten Mechanismus der Fluoreszenzbildung, der zum Teil schwierigen Farbzuzuordnung und der Gefahr der Löschung der Fluoreszenz durch Quenchereinwanderung (siehe V: 1.1.2) allerdings weniger präzise.

Um eine höhere Aussagekraft zu erzielen und vor allem die Erfolgsaussichten der in dieser Untersuchung erarbeiteten Methode zu präzisieren ist eine Überprüfung der postulierten Diageneseindikatoren anhand einer neuen Stichprobe notwendig.

2 Diagenese und Spurenkunde

Spurenkundliche Verfahren an Knochenmaterial sind abhängig vom seinem Erhaltungszustand (siehe I: 4). Dementsprechend haben die unter V: 1 besprochenen Prozessen direkten Einfluss auf die Methodik und den Aussagewert solcher Untersuchungen (V: 2.1 bis 2.3). Diagenetische Prozesse können weiterhin selbst Ziel spurenkundlicher Analysen werden (z.B. Aminosäurerazemisierungsdatering siehe I: 2.2.2), so soll die Feststellung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades als Anzeiger für Erhitzungsereignisse diskutiert werden (V: 2.4). Ebenfalls wird die Eignung der untersuchten Merkmale als Screeningmöglichkeiten (V: 2.5) bzw. Kollagenqualitätskriterien (V: 2.6) geprüft.

2.1 Gewinnung von Biomolekülen

Vorraussetzung für spurenkundliche Analysen ist die Gewinnung von Biomolekülen aus Knochen. Dies wird häufig durch die diagenetische Veränderung des Materials erschwert. So kann bei diesem degradierten Material nicht auf Standardextraktionsprotokolle zurückgegriffen werden, sondern es muss eine Anpassung der Extraktionsverfahren an die vorliegenden Veränderungen stattfinden.

2.1.1 DNA

Die in der vorliegenden Untersuchung angewandten Verfahren können aufgrund der Ergebnisse zur DNA-Amplifizierbarkeit und Reinheit auf ihre Wirksamkeit beurteilt werden

Signale der Agarosegelelektrophorese: Überprüfung der Eignung als Vortest

Die Betrachtung des DNA-Extraktes in der Agarosegelelektrophorese dient als Vortest für die anschließende Amplifizierung (siehe I: 5.1). Die Eignung dieses Verfahrens wird durch die statistisch signifikante Assoziation zwischen der Signalgebung auf dem Agarosegel und der Amplifizierbarkeit einer Probe bestätigt. So konnte bei 64% der Proben mit Signal in der Agarosegelelektrophorese eine Amplifizierung erreicht werden, während 88% der Proben, die ohne Signal in der Agarosegelelektrophorese blieben, keine Amplifikate zeigen.

Der Fall, dass keine DNA-Amplifikation trotz Signal in der Agarosegelelektrophores gelingt kann zwei Ursachen haben: Entweder verhindern Inhibitoren die Amplifikation oder bei der festgestellten DNA handelt es sich nichthumane mikrobielle DNA (siehe I: 3.2.3).

Weiterhin konnte die Nutzbarkeit der Methode für die Feststellung von Inhibitoren bestätigt werden. So zeigten 88% der Proben mit positivem Inhibitorenachweis blaugüne Fluoreszenz in der Agarosegelelektrophorese, während Proben ohne Inhibitoren diese in keinem Fall zeigten (vgl. IV: 1.4.5.). In keinem archäologischen Knochen konnte hochmolekulare DNA festgestellt

werden, was den starken Fragmentierungsstatus der DNA-Moleküle anzeigt. Die stattdessen beobachtete „Schmier“ resultiert aus Fragmenten verschiedener Größe.

Extraktionsverfahren und Inhibitorenentfernung

In der vorliegenden Arbeit wurden Inhibitoren bei über der Hälfte der Proben des archäologischen Materials nachgewiesen. Es ist davon auszugehen, dass es sich hierbei hauptsächlich um Huminstoffe handelt. (vgl. I: 2.3.1). Damit sind diese neben unzureichendem DNA-Erhalt ein Hauptgrund für die Nichttypisierbarkeit von aDNA-Proben.

Dieser Befund zeigt, dass die genutzte Extraktionsmethode keine effiziente Methode darstellt um Inhibitoren zu entfernen. Das in dieser Arbeit verwendete Verfahren beruht auf der Bindung der DNA an eine Silicamatrix (vgl. III: 11.2), was in einer besseren Aufreinigung des Extraktes im Vergleich zu anderen Verfahren resultieren soll (siehe I: 2.3.1).

Aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit der Huminstoff-Fractionen kann davon ausgegangen werden, dass die DNA-Extrakte hauptsächlich mit Humin- und Fulvosäuren (gelöste Huminstoffe, siehe V: 1.3.1) kontaminiert sind. Die eingesetzte DNA-Extraktionsmethode soll im Idealfall zu einer Abtrennung der gelösten Huminstoffe unter qualitativem und quantitativem DNA-Erhalt führen.

Problematisch hierbei sind die vergleichbaren Eigenschaften von DNA und Huminstoffen im Hinblick auf das hohe Molekulargewicht, die überwiegend negative Nettoladung, das Löslichkeitsverhalten in wässrigen Lösungen und die mögliche Interaktion mit kationischen Substanzen. Tabelle V.7 gibt die resultierenden Nachteile üblicher DNA-Reinigungsmethoden an.

Tab. V.7: Prinzipien der gängigen DNA-Reinigungsmethoden und ihre Auswirkung auf Huminstoffe

Reinigungsmethode	Prinzip der Methode (nach Schrimpf 2002)	Auswirkung auf Huminstoffe (verändert nach Zipper 2004)
Phenolextraktion	Spaltung von Proteinen durch Proteinase K, anschließend Trennung des DNA/Protein-Gemisches, wobei sich die Proteine in der Interphase anlagern und teilweise in die organische Phase übergehen.	Huminstoffe zeigen nur eine geringe Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln und verbleiben dementsprechend mit der DNA in der wässrigen Phase
Alkoholpräzipitation	DNA bildet in Gegenwart monovalenter Kationen (z.B. Na ⁺) in alkoholischer Lösung einen Niederschlag, der abzentrifugiert werden kann	Gelöste Huminstoffe fallen ebenfalls in alkoholischer Lösung aus
Silikamaterialien	DNA bindet an Silikaoberflächen in Gegenwart hoher Konzentrationen chaotroper Salze	Gelöste Huminstoffe lagern sich ebenfalls unter chaotropen Hochsalzbedingungen an die Silikaoberfläche an

Wie man der Tabelle V.7 entnehmen kann, ermöglicht keine der Methoden, auch nicht die Silika-Extraktion, ein vollständiges Entfernen von Huminstoffen. Durch die Kombination der Methoden Phenol- und Silikaextraktion scheinen allerdings bessere Ergebnisse erzielt zu werden, wobei besonders die Methode von Yang et al. (1998) empfohlen wird (Bouwmann & Brown 2002, MacHugh et al. 2000)

DNA-Extrakte unterscheiden sich je nach Fundplatz der analysierten Knochen und sogar je nach Probe in den enthaltenen Huminstoffe, der DNA-Quantität und Qualität, sowie in dem Vorhandensein von weiteren inhibierende Substanzen (vgl. I: 2.3.1). Aufgrund der hieraus resultierenden Heterogenität von DNA-Extrakten ist nicht davon auszugehen, dass eine Reinigungs- bzw. Extraktionsmethode die erfolgreich bei einem bestimmten Probe angewendet wurde, bei DNA-Extraktion anderer Proben die gleichen Ergebnisse liefert. Dies mag die andauernde Diskussion über die prinzipiell „beste“ Extraktionsmethode (z.B. Hummel 2003) auf dem Gebiet der aDNA-Forschung erklären und gleichzeitig ad absurdum führen.

Folglich kann es ebenfalls kein Standardverfahren für die Beseitigung von PCR-Inhibitoren im DNA-Extrakt geben. Eine weitere Aufreinigung z.B. mittels Ionenaustauschchromatographie (Goodyear et al. 1994) oder Gelfiltration (Hummel 2003) ist nur bei starker Inhibierung sinnvoll, da weitere Aufreinigerungsverfahren auch immer einen Verlust an DNA-Quantität bedeutet. Eine Verminderung der Inhibierung ohne nochmalige Aufreinigung kann durch Verdünnung des DNA-Extraktes oder Erhöhung der Polymerasekonzentration erreicht werden (Alkane et al. 1994, Newton & Graham 1997).

Bei Vergleich der DNA-Extrakte der verschiedenen Fundplätze auf Inhibitoren fällt auf, das einzig bei den Proben des Ettinger Fundplatzes keine Inhibitoren nachgewiesen werden konnten. Hier wurde im Gegensatz zu den übrigen Fundplätzen Zahnmaterial verwendet. Zähne besitzen eine höhere Mineraleichte und liegen geschützt im Kiefer, so dass mögliche Inhibitoren schlechter als bei Knochenmaterial eindringen können. Aus den gleichen Gründen gelten Zähne als resistenter gegenüber Kontaminationen der inneren Struktur (Gilbert et al. 2005).

Zähne weisen weniger zelluläre Anteile und damit einen geringen DNA-Anteil als Knochen auf. Die geringe Kontaminationsgefahr von Zähnen mit rezenter DNA und Inhibitoren führt aber dazu, dass Zähne häufig ergiebiger DNA-Quellen als Knochen sind und somit für eine Analyse, wenn vorhanden, vorgezogen werden sollten.

2.1.2 Kollagen

Bei der Extraktion von Kollagen wurden zwei unterschiedliche Verfahren eingesetzt (GE, SE siehe III: 4), die unterschiedliche quantitative Ausbeuten zeigen: Die Säureextraktion zeigt durchgehend höhere Erträgen während die Gelatineextraktion durch die Gelatinisierung von Kollagenmolekülen und anschließender Filterung zu reineren Extrakten führt, wobei allerdings ein quantitativer Verlust in Kauf genommen wird (vgl. auch Ambrose 1990, Katzenberg 2000, Tuross et al. 1988). Hinzu kommt ein Ertragsverlust durch die Verwendung von NaOH, welches Lipide und Huminstoffe entfernen soll (Liden et al. 1995). Die Säureextraktion hingegen beruht auf der Trennung der Phasen durch die Säureunlöslichkeit von Kollagen und der Säurelöslichkeit der mineralischen Phase, ohne weitere Aufreinigung. Bei diesem Verfahren werden neben intaktem Kollagen auch Kollagenabbauprodukte, NCPs, mikrobielle Proteine und Nichtproteine extrahiert, so dass das Extrakt einen geringen Reinheitsgrad zeigt (DeNiro & Weiner 1988, Collins et al. 1999, Ambrose & Krigbaum 2003), aber in größeren Mengen vorliegt.

Die Differenz des Ertrages aus GE und SE des archäologischen Materials variiert fundplatzabhängig. Da sich diese Differenz aus Kollagenabbauprodukten, NCPs und Nichtproteinen wie Huminstoffen zusammensetzt ist diese Beobachtung mit den unterschiedlichen Makromilieus und von diesem beeinflussten Degradationsprozess der Fundplätze erklärbar. Bei Proben des Temperaturexperimentes I ist diese Differenz aufgrund der gleichen Umweltbedingung relativ konstant.

Von den GE und SE-Kollagenextrakten wurden bei den Proben des Temperaturexperimentes I vergleichend jeweils Aminosäureprofile erstellt.

Aus oben genannten Gründen kann bei den Proben des Temperaturexperimentes I mittels SE Kollagen aus Proben extrahiert werden, bei denen dies mittels GE nicht möglich war (TE I 20, TE I 29, TE I 32). Die Aminosäureprofile dieser Proben weichen durchgehend von rezentem Kollagen ab (siehe IV: 1.3.3). Für Analysen von Kollagen, die auf ein unverändertes Aminosäuremuster angewiesen sind, wie die stabile Isotopenanalyse ist dementsprechend eine Gelatineextraktion zu empfehlen, da sie eine gewisse Vorauswahl in Hinsicht auf die Reinheit des Kollagens bietet.

Ihre quantitative Ausbeute könnte durch das Vermeiden des Knochenmahls im Protokoll erhöht werden, da dieses größere Schäden verursacht als z.B. das Auflösen der Knochensubstanz durch Säure (Collins & Galley 1998).

2.2 Nutzbarkeit von kremiertem Material in der Spurenkunde

Das in der vorliegenden Untersuchung analysierte rezente kremierte Material ist nur unvollständig verbrannt. Es ist anzunehmen, dass Biomoleküle erhalten sind (vgl. V: 1.4.1). Demzufolge sollte es auch möglich sein, spurenkundliche Analysen an diesem Material durchzuführen.

Dass eine Kollagenextraktion in dieser Arbeit, wahrscheinlich aufgrund methodischer Schwierigkeiten, nicht möglich war, zeigt, dass für die Analyse von kremiertem Material spezielle Extraktionsprotokolle entwickelt werden müssen.

Im forensischen Bereich besteht ein Interesse (z.B. postmortale Vaterschaftsuntersuchung oder Identitätssicherung) an der Analyse von DNA aus rezentem kremiertem Material. In der vorliegenden Arbeit ist es nicht gelungen, authentische DNA aus rezentem Leichenbrand zu extrahieren. Die histologischen Ergebnisse (vgl. auch von Wurmb-Schwark et al. 2005) und Arbeiten anderer Autoren (vgl. V: 1.41) zeigen allerdings, dass theoretisch die Möglichkeit des DNA-Erhalts in rezentem kremiertem Material besteht.

In der vorliegenden Arbeit analysierte Proben waren hochgradig mit rezenter DNA kontaminiert, die höchstwahrscheinlich von Mitarbeitern des Krematoriums stammt (vgl. V: 1.4.1). In dem hier verwendeten experimentellen Ansatz war es möglich, diese als Fremd-DNA zu identifizieren. Bei DNA-Analysen zur Klärung forensischer Fragestellungen unter realen Bedingungen ist davon auszugehen, dass diese Kontaminierung durch die im Krematorium erfolgten Arbeitsschritte ebenfalls stattfindet. In diesem Fall wäre allerdings keine Möglichkeit gegeben diese zu erkennen, so dass die Gefahr falsch positiver Resultate besteht.

Da das Untersuchungsgut nach Kremation im pulverisierten Zustand vorliegt ist eine Vorbehandlung zur Kontaminationsvermeidung wie bei archäologischem Material durch Abschleifen der Oberfläche oder UV-Bestrahlung nicht ausreichend möglich.

Von einem Einsatz der DNA-Analyse an rezentem kremiertem Material zur Klärung forensischer Fragestellungen ist demnach abzuraten.

Eine spurenkundliche Analyse der mineralischen Matrix des Knochenmaterials ist bisher nur bei der ^{14}C -Datierung erfolgreich (z.B. Aerts et al. 2001), während die Analyse der Elementkonzentration als problematisch gilt (z.B. Grupe & Hummel 1991, siehe I: 3.1.1).

Die Analysen der stabilen Isotopenwerte in der vorliegenden Arbeit zeigen abwegig niedrige Ergebnisse: Der geringste festgestellte $\delta^{13}\text{C}$ -Wert bei unkremierten Knochen beträgt -16‰ , während kremiertes Material Werte um die -25‰ zeigt (siehe IV: 1.6). Dementsprechend zeigt das Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope Abweichung von $3 - 7\text{‰}$ von dem erwarteten Wert (ca. -9‰ , siehe IV: 1.6).

Dies Ergebnisse zeigen, dass es bei den stabilen Isotopenverhältnissen des Kohlenstoffs und des Stickstoffs aufgrund ungeklärter Isotopenfraktionierungsprozesse zu einer Abreicherung des schweren bzw. Anreicherung des leichten Elements während des Verbrennungsprozesses gekommen ist. Authentische Ergebnisse, die die Möglichkeit der Rekonstruktion der Lebensbedingungen des Individuums erlauben sind dementsprechend aus kremiertem Material nicht zu erlangen

Archäologischer Leichenbrand unterliegt wegen seinem geringen Anteils organischen Materials und der festeren Struktur ihrer mineralischen Matrix weniger diagenetischen Abbauprozessen, da sie so vor dem Angriff von Mikroorganismen geschützt sind. Dies und die Tatsache, dass Leichenbrand für einige geschichtliche Zeiträume (vgl. I: 3.1.1) das einzige humane Untersuchungsgut darstellen macht es als Quelle für spurenkundliche Untersuchungen interessant.

Oben diskutierte Ergebnisse zur Analyse rezenten Materials zeigen, dass bei unvollständig verbranntem Material die Möglichkeit der Gewinnung von Biomolekülen und dementsprechend deren Analyse besteht. Dies dürfte auch für unvollständig verbranntes archäologisches Material gelten. Hinsichtlich der Isotopenwerte aus Kollagen von kremiertem Material kann in der vorliegenden Arbeit keine Aussage getroffen werden. Es sei allerdings auf die Ergebnisse von DeNiro et al. (1985) und Privat et al. (2002) verwiesen. De Niro et al. (1985) zeigen, dass die Kremierung von Knochen eine Verschiebung der Isotopenwerte im Kollagen um bis zu 5‰ verursachen kann, wobei die Verschiebung von Einwirkzeit und Temperatur abhängt. Privat et al. (2002) stellen bei der Analyse von Kollagen aus Leichenbrand fest, dass alle kremierten Proben C/N-Verhältnisse von 2,5 zeigen und stark abweichende Isotopenwerte, so dass von einer Veränderung des Isotopenverhältnisses ausgegangen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wird ebenfalls die Gefahr von Kontaminationen bei der DNA-Analyse deutlich. Der DNA-Gehalt dürfte bei archäologischem Material aufgrund chemischer Degradationsvorgänge (vgl. V: 1.1.4) weiter verringert sein, so dass das Risiko der Produktion falscher Ergebnisse weiter erhöht ist. Folglich sind positive Resultate auch von nicht vollständig verbrannten archäologischen Knochen kritisch auf mögliche Kontaminationsquellen zu betrachten.

Die gefundene Verschiebung der stabilen Isotopenverhältnisse wurde auch von Aerts et al. (2001) an vollständig verbranntem Material beschrieben. Dementsprechend ist eine stabile Isotopenanalyse archäologischen Materials zum jetzigen Zeitpunkt und ohne Aufklärung der stattfindenden Isotopenfraktionierung nicht möglich.

Die rezenten Leichenbrände zeigten durchgehend eine violette Fluoreszenz, deren zugrunde liegende molekulare Ursache nicht geklärt ist (siehe V: 1.1.2). Warren et al. (1999) beschreiben, dass rezenter Leichenbrand aus verschiedenen Urnen mit Hilfe von ultraviolettem Licht unterschieden werden kann, da Leichenbrand desselben Alters auf gleiche Weise fluoresziert. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Proben wurden innerhalb eines Zeitraumes von 2 Monaten verbrannt und weisen eine nicht unterscheidbare Fluoreszenz auf. Eine Unterscheidung von Leichenbrand dieser kurzen Zeitspanne aufgrund seiner Fluoreszenz ist folglich nicht möglich. Ob dies bei Leichenbränden möglich ist, die in größeren zeitlichen Abständen verbrannt wurden bzw. unterschiedliche Liegezeiten aufweisen kann nicht beurteilt werden, ist allerdings aufgrund der Milieuabhängigkeit der Fluoreszenz unwahrscheinlich. Bevor eine Aussage zur der Anwendung von UV-Fluoreszenz zur Unterscheidung von Leichenbrand verschiedener Urnen getroffen werden kann, sind grundlegende experimentelle und empirische Studien notwendig, weiterhin ist der Mechanismus der Fluoreszenzentstehung zu klären (vgl. auch Großkopf 2004).

2.4 Asparaginsäurerazemisierungsgrad als Anzeiger für Erhitzungsereignisse

Der Asparaginsäurerazemisierungsgrad wurde als Möglichkeit zur Feststellung von Erhitzungsereignissen (vgl. I: 3.1.2) überprüft.

Bei Erhitzen von Knochen in Wasser bei einer Temperatur von 90°C kann mit einer Zunahme des D/L-Asp-Quotienten von 0,0008 pro Stunde in der ersten Phase des Erhitzungsvorganges (parabolische Zunahme) gerechnet werden (vgl. Temperaturexperiment I). Dies kann nicht uneingeschränkt als Analogie für im Zuge der Nahrungsaufbereitung erhitztes Knochenmaterial gelten, da in diesem Fall von einer Weichgewebeummantelung auszugehen ist, die die Temperatur heruntersetzt (siehe I: 3.1; I: 3.1.1) und der eingesetzte Erhitzungsvorgang (Braten vs. Kochen, erreichte Temperatur) nicht bekannt ist.

Die Ergebnisse des *in vitro* degradierten Materials zeigen allerdings, dass ein Erhitzungsereignis an der Erhöhung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades festgestellt werden kann und gibt außerdem einen Hinweis auf die Größenordnung eines möglichen Unterschiedes zwischen gekochtem und ungekochtem Material. So ist bei einer Kochzeit von zwei bis drei Stunden eine Erhöhung des Asparaginsäurerazemisierungswertes von über 0,01 unwahrscheinlich (vgl. auch Hitzeexperiment bei Dobberstein 2005).

Das Material des Fundkomplex Nevalı Çori lässt keinen Unterschied des Asparaginsäurerazemisierungsgrades zwischen Tier- und Menschenknochen erkennen.

Als einziger der geprüften Parameter (Tierspezies, Knochentyp, Fundschicht) beeinflusst die Fundschichtlage des Knochens seinen Razemisierungsgrad (siehe IV: 3.1). Es ergibt sich auch unter Einbeziehung dieses Faktors kein statistischer Unterschied im ARG zwischen Tier- und Menschenknochen.

Die Fundschichten differieren in Liegezeit (vgl. III: 1.3) und makroklimatischen Faktoren (z.B. Bodenbeschaffenheit). Diese Parameter beeinflussen folglich maßgeblich den Grad der Aminosäurerazemisierung (vgl. auch I: 2.2.2).

Dass auch nach Einbeziehung der, durch die Fundschicht verursachten Variationen, kein Unterschied zwischen Tier- und Menschenknochen festzustellen ist, kann auf die Beeinflussung des Asparaginsäurerazemisierungsgrades durch weitere externe und interne Faktoren zurückgeführt werden (s. u.).

Auch zwischen den Tier- und Menschenknochen des Fundkomplexes Kelheim können keine Unterschiede im ARG festgestellt werden, obwohl diese Proben einer Fundschicht und einer Tierspezies (Rinder) entstammen.

Die Analyse dieser beiden Fundplätze zeigt, dass nicht näher rekonstruierbare umweltbedingte Einflussfaktoren (siehe V: 1.1.3) den durch Erhitzungsereignisse verursachten geringen (s. o.) Unterschied zwischen gekochtem und ungekochtem Material (Mensch/Tierknochen) übertreffen, so dass dieser bei einer Analyse nicht mehr feststellbar ist. Neuere Untersuchungen (Dobberstein 2005) haben ergeben, dass interne Faktoren wie Tierspezies und Individualalter die Kinetik der Aminosäurerazemisierungsreaktion beeinflusst, so dass davon ausgegangen werden kann, dass auch diese Faktoren einen möglichen Unterschied durch ein Erhitzungsereignissen überdecken.

Dabei dürfte vor allem das Individualalter eine Rolle spielen, da auch beim Fundkomplex Kelheim bei Untersuchung einer Tierspezies keine Unterschiede gefunden wurden konnten.

Eine weitere grundlegende Problematik der Aminosäureanalyse besteht darin, dass es im Rahmen der Kollagendegradation zu einem nichtrekonstruierbaren Verlust von (vermutlich hochrazemisierten) Kollagenbruchstücken, an die Umwelt kommt (siehe Collins et al. 2001, Dobberstein 2005 sowie I: 1.1.3).

Insgesamt zeigt sich ein willkürliches, aufgrund der Vielzahl der möglichen Einflussfaktoren nichtrekonstruierbares Bild des Razemisierungsgrades von archäologischem Knochenmaterial.

Die Komplexität der diagenetischen Vorgänge verhindert die Diagnose von relativ kurzen (ein bis drei Std.) Erhitzungsereignissen niedriger Temperatur (nicht über 100°C), wie sie bei der Nahrungsvorbereitung eingesetzt werden, mittels Asparaginsäurerazemisierung. Die Analyse des Razemisierungsgrades von Asparaginsäure ist dementsprechend kein geeignetes Mittel zur Feststellung von Erhitzungsereignissen im Knochenmaterial.

Nur in Ausnahmefällen wie z.B. bei einem andauernden Erhitzen des Materials über mehrere Stunden und folglich einem stark erhöhten Razemisierungsgrad sowie bekannten konstanten Umweltbedingungen kann eine Unterscheidung von gekochtem und nicht gekochtem Material möglich sein (vgl. Temperaturexperiment I, Bada et al. 1989). Allerdings besteht auch in diesem Fall die Gefahr des nichtrekonstruierbarem Verlustes von Kollagenbruchstücken, was zu erniedrigten Razemisierungswerten und folglich falschen Ergebnissen führen kann (s. o.).

2.5 Screeningmethoden

Wie unter I: 4.1 beschrieben, ist es das Ziel von Screeningmethoden, aus weniger zeit- und kostenintensiven Analysen von anderen Knochenebenen bzw. Molekülen Rückschlüsse auf den Analyseerfolg des Zielmoleküls zu ziehen. Durch die Feststellung von statistischen und ursächlichen Zusammenhängen zwischen den Knochenmerkmalen (vgl. V: 1.2, IV: 2) wurde eine Grundlage für die Identifizierung möglicher Screeningfaktoren für den Kollagen-, sowie DNA-Gehalt geschaffen.

Dieses Vorgehen wird als fundamental für die Erarbeitung von Screeningmethoden erachtet. Eine Diskussion von Studien, in denen ein Zusammenhang ohne statistische Überprüfung angenommen wird, um Screeningmethoden zu postulieren (z.B. Poinar et al. 1996) erübrigt sich dementsprechend.

2.5.1 Screening auf Kollagenquantität und -qualität

Das Screening auf die Kollagenquantität eines Knochens soll einen Hinweis auf die Erfolgsaussichten einer Kollagenextraktion geben. In der vorliegenden Arbeit konnte allerdings bei allen untersuchten archäologischen Knochenproben Kollagen extrahieren werden, so dass eine Vergleichbarkeit von Proben mit nicht extrahierbarem Kollagen nicht möglich war. Die Merkmale wurden daher auf ihre Trennfunktion zwischen geringer und hoher Kollagenquantität mit der willkürlichen Grenze eines Kollagengehaltes von 5Gew% untersucht.

Einen kausalen Zusammenhang mit der Kollagenquantität (vgl. V: 1.1.2, V: 1.2.1) zeigen die Merkmale Doppelbrechung, Ausprägung der hellblauen Fluoreszenz und Anwesenheit von lilafarbener Fluoreszenz.

Es konnte gezeigt werden, dass Proben mit reduzierter bzw. vollständiger Doppelbrechung überwiegend hohe Kollagengehalte von über 5Gew%, während Proben mit fehlender Doppelbrechung niedrige Kollagengewichtsprozente zeigen. Durch die Feststellung der Ausprägung der Doppelbrechung können so ca. 84% der Proben richtig beurteilt werden.

Mittels Feststellung der Ausprägung der blauen Fluoreszenz (anhand des Blauindex) kann nur in 70% der Fälle eine Trennung zwischen Proben über und unter 5Gew% Kollagenanteil erreicht werden. Unter Hinzuziehung der Betrachtung anderer Farbgebung kann die Aussagekraft dieses Merkmals hinsichtlich des Kollagengehaltes allerdings stark erhöht werden (siehe IV: 3.2.1). So ist bei der Anwesenheit von lilafarbener Fluoreszenz bei einem Index der blauen Fluoreszenz unter 3 in der Mehrzahl der Fälle von einem geringen Kollagengehalt auszugehen.

Unter dem Gesichtspunkt der Kollagenquantität ist die Beurteilung der Proben mittels histologischer Feststellung der Doppelbrechung zu empfehlen.

Allerdings ist auch mit dem zeit- und kostengünstigeren Verfahren der Betrachtung der UV-Fluoreszenz eine Abschätzung des Kollagengehaltes möglich, die eine mindestens 70% Trefferquote zulässt.

Die Kollagenqualität einer Probe kann im Gegensatz zu der Kollagenquantität erst nach aufwendiger Untersuchung (z.B. Erstellung eines Aminosäureprofils, siehe III: 6) festgestellt werden. Folglich wäre es günstig, eine Vorauswahl der Proben durch Überprüfung eines auf die Kollagenqualität hinweisenden Merkmals zu treffen, insbesondere wenn eine stabile Isotopenanalyse durchgeführt werden soll, die auf eine gute Kollagenqualität angewiesen ist.

Die engste Korrelation mit der Kollagenqualität zeigt das Merkmal Asparaginsäurerazemisierung (vgl. IV: 1.3.5). Die Diskriminanzanalyse zeigt, dass 83% der Proben mittels der Bestimmung des D/L-Quotienten in die Kategorien „guter“ und „schlechter“ Kollagengehalt eingeordnet werden konnten (siehe IV: 3.2.1). Es können folgende Aussagen über die Kollagenqualität vom Asparaginsäurerazemisierungsgrad abgeleitet werden:

- o D/L-Asp Quotienten zwischen 0,0 und 0,036: Kollagenqualität der Proben ist gut
- o D/L-Asp Quotienten zwischen 0,036 und 0,046: Keine Aussage über die Kollagenqualität der Proben möglich
- o D/L-Asp-Quotient über 0,046: schlechte Kollagenqualität

Die Analyse des Razemisierungsgrades ist sowohl apparativ, als auch zeitlich relativ aufwendig (siehe III: 5). Da das Kollagen für diese Analyse schon extrahiert vorliegen muss ist es evt. sinnvoller sofort eine Überprüfung der Kollagenqualität mittels Kollagenqualitätskriterien ohne vorheriges Screening mittels ARG durchzuführen (siehe V: 2.6).

Einen ersten Hinweis auf die Kollagenqualität kann ebenfalls das unpräzisere, aber weniger aufwendige Überprüfen der Mikrostruktur bzw. der UV-Fluoreszenz geben, da so ermittelbare Diagenesetypen ebenfalls eine Aussage über die Kollagenqualität zulassen (siehe V: 1.2.5).

2.5.2 Screening auf DNA-Amplifizierbarkeit

Wie unter Punkt I: 4.1 ausgeführt, spielen Screening-Untersuchungen insbesondere im molekulargenetischen Analysebereich eine Rolle. Es wurde in der vorliegenden Arbeit Screeningmöglichkeiten hinsichtlich DNA-Amplifizierbarkeit des Knochens geprüft.

In der vorliegenden Untersuchung zeigt sich, wie von anderen Autoren beschrieben (siehe I: 4.1), eine Korrelation zwischen mikrostrukturellem Erhalt und DNA-Amplifizierbarkeit (vgl. auch V: 1.2.1). Das Ergebnis der Diskriminanzanalyse zeigt allerdings, dass die Wahrscheinlichkeit einer Unterscheidung zwischen amplifizierbaren und nicht amplifizierbaren Proben aufgrund des histologischen Erhaltungsgrades (OHI) der Proben nur 61% beträgt, also nur unwesentlich höher ist als bei einer zufälligen Zuordnung (50% Trefferwahrscheinlichkeit).

Daher ist ein Screening auf DNA-Amplifizierbarkeit mittels OHI und histologischem Erhaltungsgrad nicht effektiv.

Der D/L-Asp-Quotient zeigt, wie von Poinar et al. (1996) vermutet, einen Zusammenhang mit der DNA-Amplifizierbarkeit. Auch mit diesem Merkmal können nur 68% der Proben richtig als amplifizierbar bzw. nicht amplifizierbar klassifiziert werden.

In Übereinstimmung mit Poinar et al. (1996) kann festgestellt werden, dass die Amplifizierung einer Probe bei einem Asp-Quotienten über 0,07 unwahrscheinlich ist. Allerdings ist der umgekehrte Schluss, dass Proben unter diesem Wert amplifizierbar sind nicht zulässig (vgl. dazu Punkt V: 1.2.2).

Da der D/L-Quotient nur eine geringe Aussagekraft hinsichtlich der DNA-Amplifizierbarkeit aufweist und dieses Verfahren relativ zeit- und kostenintensiv (siehe III: 6) ist, kann die Feststellung des D/L-Quotienten nicht als probate Screeningmethode für die DNA-Amplifizierbarkeit gesehen werden.

Das einzige in dieser Untersuchung analysierte Merkmal, das mit einiger Sicherheit eine Aussage über den DNA-Erhalt zulässt, ist der Ca/P-Quotient der mineralischen Matrix. Proben mit Werten unter oder im rezenten Bereich des Ca/P-Quotienten (bis 2,3) sind eher amplifizierbar, während Proben mit Werten über 2,3 nicht amplifizierbar sind. Mit diesem Verfahren können ca. 86% der Fälle richtig eingeordnet werden.

Obwohl auch dieses Verfahren relativ aufwendig ist (z.B. im Vergleich zu histologischen Methoden, siehe V: 10), ist es aufgrund der starken Aussagekraft als Screeningmöglichkeit auf DNA-Amplifizierbarkeit zu empfehlen, auch weil im Gegensatz zum D/L-Asp-Quotienten ein kausaler Zusammenhang der Merkmale angenommen werden kann (siehe V: 1.2).

2.6 Kollagenqualitätskriterien

Die Analyse der stabilen Isotope als besonders aussagekräftige spurenkundliche Methode (vgl. I: 2.2) ist auf qualitativ unverändertes Kollagen angewiesen. Diagenetische Veränderungen des Kollagens können zu veränderten Isotopenwerten und infolgedessen falschen Ergebnissen führen. Um Fehlschlüsse zu vermeiden werden Kollagenqualitätskriterien angewendet (vgl. I: 4.2), die einen Hinweis auf den Kollagenstatus geben sollen. In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl die diagenetische Veränderungen des stabilen Isotopenverhältnisses untersucht (V: 2.6.1), wie auch die Aussagekraft von häufig verwendeten Kollagenqualitätskriterien (V: 2.6.2).

2.6.1 Diagenetische Modifikation von stabilen C- und N- Isotopenwerten

Experimentell ermittelte diagenetische Modifikation

Durch die experimentelle Degradation des Knochenmaterials mit abiotischer Hydrolyse des Kollagens treten Veränderungen der stabilen Isotopenverhältnisse auf (vgl. IV: 1.6).

Während hierbei die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte eine Tendenz zu negativeren Werten zeigen (Abnahme bis um 3,5‰), nehmen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei fortschreitendem Degradationsprozess eindeutig zu (um mehr als 3‰). Dabei ist die Veränderung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte geringer als jene der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte.

Auffällig ist, dass die Richtung dieser Veränderungen in den Isotopenverhältnissen gegenläufig zu jener ist, welche durch experimentelle, mikrobielle Degradation rezenten Knochenkollagens hervorgerufen wurde. Dort kam es zu einer Erniedrigung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, und zu einer erheblichen Erhöhung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (Balzer et al. 1997).

Die in dieser Studie durchgeführte abiotische experimentelle Degradation des Kollagens führt zu Veränderungen der Isotopen in einer Größenordnung, welche im Falle von Nahrungs- oder Habitatrekonstruktionen zu falschen Interpretationen Anlass geben würden. Eine Erniedrigung von $\delta^{15}\text{N}$ um 2‰ entspricht annähernd der Größenordnung einer Trophiestufe (Ambrose 1993), eine Erhöhung von $\delta^{13}\text{C}$ von Organismen aus einem C_3 -Pflanzenbiom um 3‰ würde einen anteiligen Konsum von C_4 -Pflanzen oder marinen Ressourcen nahe legen.

Eine Verschiebung der Isotopenverhältnisse tritt in dem Temperaturexperiment erst nach einem Kollagenverlust der Probe von über 99% des Ausgangswertes auf. Im Gegensatz zum biogenen Abbau durch Mikroorganismen, welche selektiv bestimmte Aminosäuren bevorzugen, dürfte hier die Kinetik der Spaltung von Peptidbindungen als Erklärung des Phänomens wahrscheinlich sein. Chemische Bindungen zwischen schwereren Isotopen sind im Allgemeinen stärker und stabiler als zwischen leichteren Isotopen, werden aber auch weniger leicht eingegangen. Bei der Hydrolyse des Kollagens sind also eher Bindungen betroffen, an denen kein schwereres ^{13}C beteiligt ist, so dass sich dieses Isotop mit der Zeit im Substrat anreichern kann. Eine Verunreinigung der Proben mit z.B. bakteriellem Material, das ebenfalls positivere Werte aufweisen würde (Grupe 2001), kann aufgrund des Versuchsdesigns ausgeschlossen werden. Diagenetische Prozesse können folglich auch ohne mikrobielle Beteiligung zu signifikant veränderten Isotopenwerten des Knochenkollagens führen.

Diagenetische Modifikation im archäologischen Knochenmaterial

Das biologische Isotopensignal in rezenten Wirbeltierknochen ist bereits von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst wie z.B. Ernährungsgewohnheiten, Klima, Höhenlage, Niederschlagsmenge etc. (siehe I: 2.2.1) Hinzu kommen nach der Bestattung diagenetische Prozesse wie hydrolytischer Abbau des Kollagens (siehe V: 2.6.1.), mikrobieller Kollagenabbau (Balzer et al. 1997, Grupe 2001), oder Verunreinigungen durch exogene kohlenstoff- und stickstoffhaltige Substanzen.

Bei dem archäologischen Knochenmaterial zeigt sich eine Korrelation sowohl der $\delta^{13}\text{C}$ - als auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte mit dem quantitativen Kollagengehalt der Proben. Diese Korrelation ist jeweils positiv, das heißt Proben mit niedrigeren Kollagengewichtsprozenten besitzen öfter auch erniedrigte $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte.

Es ist denkbar, dass ein direkter Zusammenhang zwischen Kollagenerhalt und diagenetisch bedingter Verschiebung der stabilen Isotopenverhältnisse besteht, der durch diese Korrelation angezeigt wird. Es ist allerdings ebenfalls nicht auszuschließen, dass es sich um einen Scheinzusammenhang handelt, also die $\delta^{13}\text{C}$ - und die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte ebenso wie der quantitative Kollagengehalt von der Liegezeit abhängen. So ist vorstellbar, dass die $\delta^{13}\text{C}$ - und die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, aufgrund der Ernährungssituation der damaligen Bevölkerung, in Knochenmaterial von älteren Fundkomplexen niedriger sind, während der Kollagengehalt mit der Liegezeit aufgrund diagenetischer Veränderung abnimmt. Gegen diesen Scheinzusammenhang spricht, dass auch innerhalb eines Fundkomplexes (Nevalı Çori, vgl. IV: 3.3.2) eine Korrelation zwischen stabilen Isotopenverhältnissen und Kollagengehalt auftritt. Dementsprechend ist ein direkter Zusammenhang wahrscheinlich, der auf diagenetische Beeinflussung der ermittelten Isotopenwerte hinweist.

2.6.2 Überprüfung der Kollagenqualitätskriterien

Unter Punkt I: 4.2 wurden in der Literatur häufig zu findende Kollagenqualitätskriterien vorgestellt.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und vorangegangener Studien (vgl. Balzer et al. 1997, DeNiro & Weiner 1988, Turban Just & Schramm 1998, Tuross 2002) sowie theoretischen Überlegungen (s. u.) kann geschlossen werden, dass das Aminosäureprofil ein geeigneter Indikator für die Kollagenqualität und damit unveränderte Isotopenverhältnisse ist

Die Ergebnisse des Temperaturexperimentes I zeigen, dass alle Proben mit von rezenten Knochen abweichenden Aminosäureprofilen ebenfalls veränderte Isotopenverhältnisse aufzeigen (Ausnahme Typ H), während umgekehrt unveränderte Aminosäureprofile unveränderte Isotopenverhältnisse zur Folge haben. Dieses Ergebnis widerspricht van Klinkens (1999) These der selektiven Hydrolyse des Kollagens (vgl. I: 4.2).

Die stabilen Isotopenwerte hängen von unveränderten Aminosäureprofilen ab, da die einzelnen Aminosäuren unterschiedliche Isotopenverhältnisse zeigen. Bei einem selektiven Abbau würde es zur Veränderung dieser Werte führen (vgl. Grupe et al. 2001). Damit ist eine theoretisch-ursächliche Grundlage des Zusammenhanges gegeben. Weiterhin können ebenfalls mikrobielle Kontaminationen anhand der Detektion von ausschließlich mikrobiellen Aminosäuren erkannt werden.

Mögliche Kollagenqualitätskriterien können anhand dreier Prüfsteine auf ihren Aussagewert über die Kollagenqualität und somit die Validität der stabilen Isotopenverhältnisse überprüft werden:

1. Beziehung zu den stabilen Isotopenwerten im Temperaturexperiment (siehe IV: 3.3.1): Hier werden chemische Veränderungen experimentell simuliert wobei der Zusammenhang der Kollagenqualitätskriterien zu Veränderungen der Isotopenwerte festgestellt werden kann. Da keine biogenen Abbauprozesse und Kontaminationen im Temperaturexperiment simuliert werden ist der Aussagewert für archäologisches Material begrenzt.
2. Abgleich der Kriterien mit dem Aminosäureprofil des Knochens (siehe IV: 1.3.5): Bei einer Veränderung des Profils kann von einer Veränderung der stabilen Isotopenverhältnisse ausgegangen werden. Ausgenommen hiervon ist die Veränderung vom Typ H, der trotz leichter Veränderungen im Aminosäureprofil valide Isotopenwerte liefert (vgl. I: 1.1.3).
3. Korrelation der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des archäologischen Materials mit dem Kollagengehalt (siehe IV: 3.3.2): Ist trotz Anwendung des Qualitätskriteriums eine Korrelation festzustellen, sind Proben mit diagenetisch veränderten Werten in der Stichprobe anzunehmen. Eine fehlende Korrelation lässt den Umkehrschluss auf valide Isotopenwerte nicht zu, da sie statt auf fehlendem Zusammenhang auch auf zu geringer Stichprobengröße beruhen kann.

Kollagengehalt

Nach Ambrose (1993) spricht ein Kollagengehalt von unter 1Gew% für veränderte Isotopenwerte, während van Klinken 0,5Gew% als Grenzwert angibt.

Im Temperaturexperiment I zeigen Proben mit prozentualen Kollagengehalten unter 0,2Gew% veränderte Isotopenwerte.

Es kann kein Zusammenhang zwischen den Aminosäureprofilen der archäologischen Knochen und dem Kollagengehalt festgestellt werden. So zeigt die Mehrzahl der archäologischen Knochenproben mit Kollagengehalten unter 1 Gew% ein unverändertes Aminosäureprofil. Im Trend lässt sich feststellen, dass Proben mit geringen Kollagen-Gew% weniger oft gute Kollagenprofile zeigen. Es konnte allerdings ebenfalls der umgekehrte Fall beobachtet werden, in dem Proben mit hohen Kollagengewichtsprozenten ebenfalls ein verändertes Aminosäureprofil aufweisen.

Auch bei Ausschluss aller Proben mit Werten unter 1Gew% Kollagen ist eine Korrelation zwischen Kollagengehalt und stabilen Isotopenwerten zu beobachten, so dass davon ausgegangen werden kann, dass diagenetisch veränderte Werte in der Stichprobe verbleiben.

Der Kollagengehalt ist folglich kein Kriterium für die Kollagenqualität oder Validität der Isotopenverhältnisse. Allerdings ist anzunehmen, dass bei Werten von unter 0,5Gew% (vgl. van Klinken 1999) eine geringere Wahrscheinlichkeit des Kollagenerhaltes besteht.

C% und N%

Van Klinken (1999) gibt als Werte für rezentes Kollagen einen prozentualen Gewichtsanteil am Kollagenextrakt für C von 35% an sowie für N von 11 – 16%, während Ambrose (1993) Werte von 43% für C und 16% für N angibt. Die Diskrepanz der Studien könnte sich aus der Ermittlung des Wertes ergeben: Während Ambrose (1993) einen theoretisch anhand der Aminosäurekomposition ermittelten Wert zeigt (siehe I: 1.1.1), wurde der von van Klinken (1999) angegebene empirisch ermittelt. Nach Ambrose (1993) sollten die Werte bei unverändertem Kollagen über 3% für C und über 1 % von N liegen.

Das Temperaturexperiment I zeigt prozentuale Ausgangsanteile von ca. 45% C und 15% N. Zeitgleich mit einer Verschiebung der Isotopenverhältnissen kommt es im Temperaturexperiment zu einer starken Abnahme des C%-Anteils und einer weniger starken Abnahme des N%-Anteils (vgl. V: 1.1.3). Ab einem prozentualen Gewichtsanteil von C von 11%, sowie von N von 6% kommt es zu Veränderungen der stabilen Isotopenverhältnisse. Mittels des *in vitro* degradierten Materials kann folglich gezeigt werden, dass auch Proben mit höheren Werten als den von Ambrose (1993) angegebenen, veränderte Isotopenverhältnisse aufweisen.

Durch den Abgleich dieser Werte mit dem Aminosäureprofil können keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen C% und N% und der Kollagenqualität gemacht werden. Aufgrund der Datenlage lassen sich allerdings folgende Aussagen treffen:

- o Proben mit einem C%-Wert unter 15% zeigen ausschließlich veränderte Aminosäureprofile, während Proben mit prozentualen C-Anteil über 40% ausschließlich gutes Kollagen zeigen
- o Proben mit einem N%-Wert über 10% zeigen durchgehend guten Kollagenerhalt, während Proben unter 5% durchgehend schlechten Kollagenerhalt aufweisen.

Die in der vorliegenden Untersuchung gefundenen Werte weichen stark von denen von Ambrose (1993) postulierten ab (für die Ursache dieser Diskrepanz siehe I: 1.1.1): Werte über 3% C, sowie über 1% N weisen nicht auf unverändertes Kollagen hin. Sowohl bei dem Temperaturexperiment, als auch im archäologischen Knochenmaterial zeigen Proben mit wesentlich höheren Werten veränderte Aminosäureprofile.

Diese Werte mögen sich je nach Degradationsprozess und untersuchter Stichprobe unterscheiden, aber die nur chemisch degradierten Proben des Temperaturexperimentes I (s. o.) zeigen, dass die von Ambrose gesetzte Grenze zu niedrig ist. So ist auch bei Ausschluss von Proben mit prozentualen C-Anteilen unter 3% und mit prozentualen N-Anteilen unter N% diagenetisch bedingte Korrelation zwischen Kollagengehalt und Isotopenwerten im archäologischen Material nicht zu beseitigen.

Molares C/N-Verhältnis

Das molare C/N-Verhältnis ist das am häufigsten verwendete Kollagenqualitätskriterium und wird in vielen Studien als einziges Kriterium zur Prüfung der Validität der Daten eingesetzt (z. B. McGovern-Wilson & Quinn 1996, O'Connell & Hedges 1999, Prowse et al. 2005, Richards et al. 2005). Die Verwendung dieses Kriteriums basiert auf einer Studie von von De Niro (1985), in der ein empirisch ermitteltes Verhältnis des C/N-molar-Quotienten von 2,9 bis 3,6 für unverändertes

Kollagen angegeben wird. Van Klinken (1999) gibt eine geringere Spannweite von 3,1 – 3,5 des C/N-molar Quotienten an um Kontaminationen im Kollagenextrakt auszuschließen.

In dem experimentell degradierten Material sind die stabilen Isotopenverhältnisse bei C/N-Verhältnissen von 3,23 bis 4,17 unverändert. Für $\delta^{15}\text{N}$ -Werte gilt dies sogar bis zu einem C/N-Verhältnis von 12. Für chemisch degradiertes Kollagen sind die von DeNiro (1985) und van Klinken (1999) angegebenen Spannweiten für das molare C/N-Verhältnis von unverändertem Kollagen somit kein brauchbarer Indikator für die Validität der Isotopenwerte.

Es kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem C/N-Quotienten und der Kollagenqualität des archäologischen Materials hergestellt werden: Proben mit gutem Kollagenerhalt (unverändertes Aminosäureprofil) zeigen C/N-Quotienten außerhalb des von DeNiro postulierten Bereiches, Proben mit definitiv veränderten Aminosäureprofilen besitzen C/N-Quotienten, die in diesem Bereich liegen. Diese Proben zeigen wahrscheinlich ein diagenetisch verändertes Isotopensignal, bei Anwendung des Kriteriums C/N-molar würde dies unerkannt bleiben.

Die archäologischen Proben mit erhöhten C/N-molar-Werten und unveränderten Aminosäureprofilen könnten eine in der Aminosäureanalyse nicht erkannte Kontamination des Materials anzeigen (z.B. durch Huminstoffe). Da allerdings auch das in-vitro-degradierte Material erhöhte C/N-molar-Quotienten bei unverändertem Aminosäureprofil zeigt und hier Kontaminationen ausgeschlossen werden können, ist es auch möglich, dass der von De Niro gesetzte Rahmen einer Erweiterung bedarf.

Bei den archäologischen Proben war auch nach Ausschluss von Proben mit erhöhten C/N-Verhältnissen (Werte nach Ambrose 1993) eine Korrelation zwischen Kollagengehalt und stabilen Isotopenwerten erkennbar. Durch die Anwendung des Kriterium C:N molar kann folglich diagenetisch beeinflusstes Material nicht vollständig aussortiert werden.

Bereits DeNiro (1985), DeNiro & Weiner (1988) sowie Nicholson (1998) haben darauf hingewiesen, dass nicht alle postmortalen Veränderungen von Isotopenverhältnissen im Kollagen durch Veränderungen der C/N-Verhältnisse angezeigt werden. Weiterhin ist theoretisch ebenfalls ein C/N-Verhältnis im rezenten Bereich bei verändertem Aminosäureprofil denkbar (siehe V: 1.1.1). Bei stark abgebauten archäologischen Knochen mit nur noch geringem Kollagengehalt kann es sogar vorkommen, dass nahezu „ideale“ C/N-Verhältnisse im Substrat gemessen werden, welches aufgrund seiner Zusammensetzung jedoch noch nicht einmal mehr als „kollagenähnlich“ angesprochen werden kann (Lösch et al., im Druck, siehe Abb. IV.53).

Somit ist auch die Betrachtung der C/N-Verhältnisse kein Qualitätskriterium, das für die Validität von Isotopendaten aus Kollagen garantieren kann.

2.6.3 Abschließende Beurteilung und Empfehlung

Keiner der besprochenen Indikatoren Kollagengehalt, C% und N%, sowie C/N-molar kann alleine eine Validisierung der stabilen Isotopendaten aus Kollagen ermöglichen.

Auch bei einer Kombination der Indikatoren Kollagengehalt, C% und N%, sowie C/N-molar ist nicht davon auszugehen, dass alle diagenetisch veränderten Proben erkannt werden. Bei Anwendung aller drei Faktoren findet sich immer noch eine Korrelation zwischen Kollagengehalt und Isotopenwerten in der archäologischen Stichprobe, die auf eine diagenetische Beeinflussung der Werte hinweist.

Der Kollagengehalt ist völlig ungeeignet um einen Anhaltspunkt auf die Kollagenqualität zu geben.

In der vorliegenden Untersuchung zeigt sich, dass veränderte Aminosäureprofile bei anteiligen Gewichtsprozenten von C und N weit über den von Ambrose 1993 empfohlenen Werten auftreten. Durch die empirische Auswertung der Daten ergibt sich folgende Empfehlung für den Umgang mit C% und N% in Bezug auf die Validisierung von stabilen Isotopenverhältnissen:

- o Liegen die Werte unter 15% für C oder unter 5% für N kann von veränderten stabilen Isotopenverhältnissen ausgegangen werden
- o Bei Werten über 40% C und 10% N kann von unveränderten Werten ausgegangen werden.

Bei Werten zwischen diesen Angaben kann keine Aussage über die Kollagenqualität gemacht werden.

Auch bei einem molaren C/N-Verhältnis von 2,9 bis 3,6 kann es zu Verschiebungen der stabilen Isotopenverhältnissen gekommen sein. Weiterhin können auch Proben mit Werten über 3,6 (bis 4,1 im Hitzeexperiment) authentische Isotopenverhältnisse aufweisen.

Sinnvoller als die alleinige Verwendung des C/N-Verhältnis als Qualitätskriterium ist die Erstellung eines Aminosäureprofils, da diagenetisch veränderte Isotopenverhältnisse sich mehrheitlich auf veränderte Aminosäurekompositionen begründen. Allerdings können auch mittels diesem Kontaminationen nicht vollständig ausgeschlossen werden. So erscheint ein Hinzuziehen der Werte C/N-molar und C%, sowie N% ebenfalls ratsam um mittels einer Kombinationslösung die Wahrscheinlichkeit zu verringern, dass falsche biologische Signale unerkant bleiben.

2.7 Validität der stabilen Isotopenverhältnisse des Carbonats

Im Gegensatz zur Kollagenqualität existiert für die Qualität des Minerals, im speziellen des Carbonats, kein Indikator. Wie in Abschnitt I: 3.2.4 erläutert, kann auch der mineralische Anteil des Knochens eine Reihe von diagenetischen Änderungen erfahren. Hinsichtlich des untersuchten Carbonats besteht die größte Gefahr einer diagenetischen Veränderung der Ausgangskomposition in der Substitution von Fremd-Carbonat in das Kristallgitter. Durch diese Inkooperation kann es zu einer Verschiebung der stabilen Isotopenverhältnisse von C und O des Carbonatanteils des Knochens kommen (z.B. Ambrose 1993). An der Oberfläche adsorbiertes Carbonat stellt ein weniger großes Problem dar, da es durch das verwendete Extraktionsverfahren (aufgrund seiner höheren Säurelöslichkeit) entfernt werden kann (vgl. III: 7, Nielsen-Marsh & Hedges 2000b).

Experimentell ermittelte Variationen der stabilen Isotopenverhältnisse

Im experimentell degradierten Material zeigt sich keine Änderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, aber eine Abweichung der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte. Zwei $\delta^{18}\text{O}$ -Werte zeigen eine Erniedrigung der Werte um ca. 4‰, die nicht mit der Inkubationszeit in Zusammenhang gebracht werden kann.

Der konstante Wert des C-Isotopenverhältnis entspricht den Erwartungen. Substitutionen von sekundärem Carbonat in das Kristallgitter sind nur bei vorherigen Abbauvorgängen des Minerals mit anschließender Rekristallisierung möglich (vgl. I: 3.2.4, Krueger 1991). Ein Abbau des Minerals kann bei den Proben des Temperaturexperimentes ausgeschlossen werden (steigender Apatitanteil der Proben, vgl. IV: 1.5.1). Die starken Abweichungen der stabilen Isotopenverhältnisse von O sind daher schwer zu klären. Unwahrscheinlich ist, dass es sich hierbei um die Folge diagenetischer Veränderung des Minerals handelt, denkbar wäre ein Fehler bei der Aufarbeitung oder Messung des Materials.

Koch et al. (1997) diskutieren die Möglichkeiten, wie durch Aufarbeitung und Extraktion die Sauerstoffisotopenverhältnisse verändert werden können. Von den Autoren werden mögliche Fehlerquellen genannt, von denen nur folgende in Frage kommt, da sich die beiden anderen auf verschiedene individuelle Eigenschaften von Kochen beziehen, die hier nicht gegeben waren:

Durch Rekristallisationsvorgänge während der Säurebehandlung des Extraktionsprotokolls kann es zu Veränderung des Minerals kommen, da Säurebehandlung zu Brushitbildung führen kann (vgl. auch Sillen & Sealy 1995, Balter et al. 2002). Auf diesem Weg können Sauerstoffmoleküle aus den umgebenden Lösungen in das Kristallgitter gelangen. Allerdings ist dies aufgrund der geringen Konzentration und Einwirkzeit der Säure in dem verwendeten Extraktionsprotokoll unwahrscheinlich (siehe III: 7).

Eine andere Möglichkeit ist die Kontamination der Proben mit dem negativeren Luftsauerstoff, bzw. der nicht vollständig entfernten Wassermoleküle. Versuche von Dummler (2004) haben jedoch gezeigt, dass der Trocknungsschritt, der den Sauerstoff aus den aufgearbeiteten Proben entfernen soll (siehe III: 7), bzw. ein Öffnen der Probengefäße (Proben werden dem atmosphärischem Sauerstoff ausgesetzt) keinen Einfluss auf die stabile Isotopenwerte des Sauerstoffs hat.

Evt. Messfehler bei der Analyse der stabilen Isotopenverhältnisse schließt das hierfür verantwortliche Institut ebenfalls aus (Dr. U. Struck, persönliche Mitteilungen, siehe III: 9).

Es sind weitere Analysen notwendig, um die Abweichungen der stabilen Isotopenverhältnisse des Sauerstoffs erklären zu können. Ansatzpunkt sollten hier verschiedene Stationen des Aufarbeitungs- bzw. Extraktionsprotokolls sein, um eine mögliche Beeinflussung der stabilen Isotopenverhältnisse auszuschließen.

Diagenetische Modifikation im archäologischen Knochenmaterial

Im archäologischen Material bietet sich ein anderes Bild. Während bei den $\delta^{18}\text{O}$ -Werten keine diagenetische Beeinflussung des Materials durch Zusammenhänge mit anderen Merkmalen festzustellen ist, zeigen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte signifikante Korrelationen mit einer Reihe von Merkmalen, die mit dem mineralischen Erhaltungszustand zusammenhängen (vgl. IV: 3.3).

Vor allem zeigen sich Zusammenhänge mit histologischen Merkmalen, so ist die engste Korrelation mit dem Index zum bakteriellen Befall zu finden: Je stärker der bakterielle Befall ist, desto mehr schwereres C-Isotop findet sich. Die Korrelationen mit dem histologischen Erhaltungsgrad, der Doppelbrechung und dem Blauindex ergeben sich aufgrund der jeweiligen Zusammenhänge mit dem bakteriellen Befall aus diesem Befund (vgl. IV: 1.1.8, sowie IV: 2.2).

Weiterhin zeigt sich eine schwächere positive Korrelation zwischen dem prozentualen mineralischen Gewichtsanteil und den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten: Je geringer der prozentuale mineralische Gewichtsanteil ist, desto niedriger sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und desto weniger schweres Isotop ist vorhanden. Diese Zusammenhänge weisen auf eine diagenetische Beeinflussung der gefundenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im archäologischen Material hin.

Nimmt man einen biogenen Abbau der mineralischen Matrix an (siehe V: 1.1.5) könnte dieser für die Veränderung der stabilen C-Isotopenverhältnisse verantwortlich sein (vgl. V: 1.2.3). Bei einem diagenetischen Merkmalstyp B (siehe V: 1.5) müsste man dementsprechend auf stabile Isotopenanalysen verzichten. Die Auswirkung biogenen Abbaus auf die Isotopenwerte der mineralischen Matrix bedarf weiterer Aufklärung durch experimentelle Studien, analog denen von Balzer et al. 1997 für den Kollagenabbau unter in-vitro-Inkubation von Knochen mit Mikroorganismen durchgeführten.

Hinweise auf den Erhaltungszustand der Isotopenverhältnisse im Carbonat können die Gewichtsanteile des Carbonats (Ambrose 1993), das Verhältnis von Kollagen zum Carbonat (Lee-Thorp & Sponheimer 2003) und weitere Diageneseindikatoren (z.B. auch Feststellung des Ca/P-Quotienten) geben.

Bei keinem dieser Merkmale kann man davon ausgehen, dass es einen sicheren Hinweis auf den Status des Carbonats liefert. Eine Vermeidung von diagenetisch veränderten Ergebnissen erreicht man, indem man nur Proben des diagenetischen Merkmalstyps A einbezieht, bei dem keine diagenetischen Veränderungen des Minerals anzunehmen sind (siehe IV: 1.5.1). Bei Proben des diagenetischen Merkmalstypen III, die Sekundärmineralisierungsprozesse durchlaufen haben, besteht die Gefahr der Substitution von externem Carbonat. Sie sind demnach ebenfalls ebenso wie die diagenetischen Merkmalstypen II auszuschließen.

Bei einer strikten Auswahl nach Diagenesetypen besteht die Gefahr auch ein Großteil von Proben auszuschließen, die trotz bakteriellem Befalls und Sekundärmineralisierung authentische Isotopenverhältnisse aufweisen. Bei jeder einzelnen Fragestellung muss abgewogen werden, inwieweit eventuell diagenetisch veränderte Werte akzeptiert werden können bzw. ausgemustert werden müssen.

Eine alternative Möglichkeit präsentierten Schoeninger et. al. 2003, die bei Carbonaten aus Zahnschmelz variable Erhaltungszustand der O und C -Isotopenverhältnisse nachgewiesen haben. Durch Begutachtung der Proben mittels Cathodolumineszenzmikroskopie konnten Gebiete mit starker und weniger starker mineralischer Veränderung ausgemacht werden. Durch dieses Verfahren war es möglich, Gebiete im Zahn auszuwählen, welche keine diagenetischen Veränderungen zeigten um so valide Isotopendaten zu erhalten.

3 Schlussfolgerungen, offene Fragen und Ausblick

Ungeklärte Diageneseprozesse

In der vorliegenden Untersuchung wurde deutlich, dass wichtige Punkten in den Diageneseabläufe von Biomolekülen ungeklärt sind. Um ein besseres Verständnis von Diageneseprozessen zu erzielen, müssten vor allem folgende Themenkomplexe beleuchtet werden:

Es ist ungeklärt, warum einige Knochen von Mikroorganismen befallen werden, und andere nicht. Dieser Punkt ist einer der wichtigsten Faktoren zum Verständnis von diagenetischen Abbauprozessen (siehe V: 1.5.1). Es bedarf weiterer experimenteller Arbeiten, vor allem in Hinsicht der Kollagen-Mineral-Beziehung und der Abbaubarkeit von Mineral durch Mikroorganismen, um diese Frage abschließend zu klären.

Wie unter V: 1.2.3 diskutiert, ist die Beziehung von Mineral und DNA ebenfalls ungeklärt. Die Frage der genauen Lokalisation und Bindung der DNA ist nicht nur zum Verständnis diagenetischer Prozessen entscheidend, sondern auch hinsichtlich der Wiedergewinnung von DNA-Molekülen von außerordentlicher Bedeutung. Sollten z.B., wie von Geigl (2002) und Geigl et al. (2004) vermutet, die DNA-Moleküle in unlöslicher Form geologische Zeiträume überdauern, hätte dies entscheidende Folgen für das Extraktions- und Analyseprozedere der aDNA-Forschung.

Überprüfung der Fluoreszenz

Die Bestimmung der Ausprägung der UV-Fluoreszenz von Knochenmaterial konnte in der vorliegenden Untersuchung als geeigneter Indikator für den Erhaltungsstatus des Knochens ermittelt werden, der sich vor allem durch seine einfache und kostengünstige Durchführung auszeichnet.

Es zeigte sich ebenfalls, dass sowohl der Blauindex, wie auch die lila Farbausprägungen einen Rückschluss auf den Kollagenerhalt im Knochenmaterial zulassen. Es wird vermutet, dass eine Kombination der beiden Merkmale die Aussagekraft der Methode steigern würde. Aufgabe folgender Untersuchungen ist die Erstellung eines Bewertungssystems aus diesem kombinierten Merkmal, sowie die Überprüfung an einer neuen Stichprobe.

Vor allem hinsichtlich der Entstehung der UV-Fluoreszenz ist noch Grundlagenforschung zu leisten (vgl. V: 1.1.2). Anhand der Verteilung der Fluoreszenz im Fundgut, sowie dem Fluoreszenzverhalten der Proben im Temperaturexperiment wurden hypothetische Erklärungen für die unterschiedlichen Farbausprägungen aufgestellt. Für die Überprüfung dieser Hypothesen

wäre es zum Erreichen einer objektiveren Bewertung nötig, mittels präziseren Messinstrumenten wie z.B. Spektographen zu arbeiten und diese mit den visuellen Eindrücken abzugleichen.

Kremiertes Material

In unvollständig verbranntem rezentem und auch archäologischem Knochenmaterial können Biomolekülen erhalten sein.

Folglich kann kremiertes Material bei unvollständiger Verbrennung spurenkundlichen Analysen zugänglich sein. Allerdings sind methodische Optimierungen, Studien zum Verhalten der stabilen Isotope im Kollagen beim Verbrennungsvorgang, und bei archäologischem Material zu den Parametern seines diagenetischen Abbaus, erforderlich.

Die Analyse von stabilen Isotopenverhältnissen von Carbonat ist aufgrund ungeklärter Fraktionierungsprozesse während des Verbrennungsvorganges zurzeit nicht ausführbar.

Weitere Studien, die diese Fraktionierungsprozesse aufklären, könnten dies allerdings ermöglichen. Denkbar wäre z.B. die experimentelle Verbrennung von Knochenmaterial eines Individuums bei unterschiedlichen Temperaturen; dies kann Aufklärung über mögliche Fraktionierungsprozesse sowohl im Kollagen als auch im Carbonat bringen und es besteht ebenfalls die Möglichkeit, die Konstanz dieser Fraktionierungsfaktoren festzustellen, um evt. Rückrechnungen auf die authentischen Daten zu gestatten.

Spurenanalytik und Diagenesetypen

Durch die Analyse der Zusammenhänge der diagenetischen Merkmale konnte ein Modell zum diagenetischen Abbau von Knochen erstellt werden, das drei diagenetische Merkmalstypen umfasst. Die Tab.V.8 fasst die Merkmale der Diagenesetypen, sowie ihre Aussagemöglichkeiten zur spurenkundlichen Analyse zusammen.

Die Tabelle zeigt, dass durch die Feststellung der Diagenesetypen mittels histologischen Methoden oder UV-Fluoreszenzbetrachtung Informationen über den Erhaltungszustand von Zielmolekülen spurenkundlicher Analysen gewonnen werden können.

Durch ihre Bestimmung können die Chancen für anschließende spurenkundliche Analysen abgeschätzt werden und dementsprechend eine Vorauswahl von Proben getroffen werden.

Weiterhin können Anhaltspunkte für die zu verwendende Aufarbeitungsmethode abgeleitet werden. So enthalten z.B. Proben des Typ III wahrscheinlich mehr DNA-Inhibitoren als Proben des Typen I, so dass es ratsam wäre, spezielle Extraktionsverfahren und Reinigungsschritte einzusetzen (vgl. V: 2.1).

Eine Feststellung der Diagenesetypen vor spurenkundlichen Analysen ist in jedem Fall zu empfehlen.

V Diskussion

Tab. V.8: Festgestellte Diagenesetypen sowie Indikatoren, die zur ihrer Feststellung führen. Weiterhin zeigt die Tabelle die Hinweise, die ein diagenetischer Merkmalstyp hinsichtlich spurenkundlicher Analytik geben kann.

	Diagenesetyp I	Diagenesetyp II	Diagenesetyp III
Indikatoren			
	histologischer	histologischer	histologischer
Histologische Merkmale	Erhaltungsgrad gut (OHI von 4 oder 5), Doppelbrechung vorhanden	Erhaltungsgrad schlecht (OHI von 0 oder 1), keine oder reduzierte Doppelbrechung	Erhaltungsgrad gut (OHI von 4 oder 5), keine oder reduziert Doppelbrechung
Dominierende Färbung der UV-Fluoreszenz	hellblau, in Ausnahme fällen reduziert (dunkelblau)	lila	gelb/braun
Hinweise für spurenkundliche Analytik			
Kollagen	Quantität eher hoch Qualität eher gut	Quantität eher gering (bis 8 Gew%) Qualität eher gering	Quantität eher Gering (bis zu 9 Gew%) Qualität eher gut
Stabile Isotopenanalysen an Kollagen	beste Vorraussetzungen, allerdings datenverfälschende Kontamination möglich (v. a. Huminstoffe)	problematisch, oft falsche Isotopenwerte, datenverfälschende Kontaminationen wahrscheinlich	bei erfolgreicher Kollagenextraktion selten falsche Isotopenwerte, datenverfälschende Kontamination unwahrscheinlich
Wahrscheinlichkeit für DNA-Amplifizierbarkeit	hoch	Amplifizierbarkeit nicht vorhersagbar	eher nicht amplifizierbar
Folgen für DNA Extraktion	wahrscheinlich kaum Inhibitoren, Protokoll mit hoher quantitativer Ausbeute verwenden	Inhibitoren und mikrobielle DNA wahrscheinlich, Protokoll mit Reinigungsschritten verwenden. Aufgrund der mikrobiellen DNA Extrakt-Einsatz in PCR evt. verdünnen	Inhibitoren wahrscheinlich, Protokoll mit Reinigungsschritten notwendig
Mineralische Matrix	unverändert	diagenetische Veränderung möglich	diagenetische Veränderung wahrscheinlich
Stabile Isotopenanalysen an Carbonat	wahrscheinlich keine Substitution von Carbonat, somit valide Ergebnisse	unsicher, ob Substitutionsreaktionen stattgefunden haben, Ergebnisse evt. diagenetisch verändert	unsicher, ob Substitutionsreaktionen stattgefunden haben, Ergebnisse evt. diagenetisch verändert

Screening und Qualitätsvalidisierung

Die Ermittlung der Diagenesetypen kann nur eine Aussage über den generellen Erhaltungszustand des Knochens machen.

Hinsichtlich der DNA-Amplifizierbarkeit ist die Aussagekraft des Diagenesetypen begrenzt (vgl. Tab.V.8), so dass es sinnvoll wäre, weitere gezielt auf dieses Molekül prüfende sog. Screeningmethoden einzusetzen. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn die Stichprobe nur einen Diagenesetypen beinhaltet und eine genauere Vorauswahl hinsichtlich des Zielmoleküls stattfinden soll.

Während histologische und biomolekulare Merkmale keine oder nur eine geringe Aussagekraft hinsichtlich der DNA-Amplifizierbarkeit zulassen, konnte in dieser Arbeit festgestellt werden, dass ein enger Zusammenhang mit dem Erhalt der mineralischen Matrix besteht.

Durch die Feststellung des Ca/P-Quotienten kann die genaueste Aussage über die DNA-Amplifizierbarkeit getroffen werden, so dass vom jetzigen Wissenstand nur ein Screening mittels diesem empfohlen werden kann.

Da die DNA einen kausalen Zusammenhang mit der mineralischen Matrix zeigt kommen auch andere Merkmale der mineralischen Matrix wie z.B. der Kristallinitätsindex als viel versprechende Screeningmöglichkeiten in Betracht.

Eine Überprüfung verschiedener mineralischer Merkmale und ihres Zusammenhanges mit dem DNA-Erhalt in weiteren Studien könnte zur Entwicklung genauerer Screeningverfahren beitragen.

Die Validisierung der stabilen Isotopendaten, die von Kollagenqualität wie auch Kontaminationen abhängt, kann durch Kollagenqualitätsindikatoren erfolgen.

Allerdings kann auch unter Einbeziehung aller üblichen Kriterien (C%, N%, C/N molar, Kollagengehalt) nicht davon ausgegangen werden, dass alle diagenetisch veränderten Werte ausgeschlossen werden.

Der Kollagengehalt erwies sich als ungeeigneter Anhaltspunkt für die Validität der Isotopendaten, so dass auf seine Feststellung verzichtet werden kann. Weiterhin zeigt sich, dass im Gegensatz zu früheren Angaben (Ambrose 1993) schon Werte von C% unter 40% und N% unter 10 % auf veränderte Isotopendaten hinweisen, während ein C/N-molar-Verhältnis bis zu 4,1 authentische Isotopenverhältnisse aufweisen kann.

Die Wahrscheinlichkeit dass diagenetisch veränderte Daten in eine Interpretation miteinbezogen werden ist am geringsten, wenn das Aminosäureprofil der Proben zusätzlich zu obigen Faktoren geprüft wird.

Problematisch ist die Validität der stabilen Isotopenverhältnisse im Carbonat, da kein Indikator existiert, der Substitutionsreaktionen von Carbonat anzeigen kann, so dass die Daten immer im Einzelfall auf ihre Plausibilität geprüft werden müssen. Hinweise können die aufgestellten Diagenesetypen geben. Bei einer Auswahl nach diesem Kriterium würde allerdings auch einen Großteil von Proben mit validen Werten ausgeschlossen werden.

Alternative: Zahnmaterial

Neben dem Knochenmaterial spielt das Zahnmaterial eine zunehmende Rolle in der spurenkundlichen Analytik, vor allem in den Bereichen aDNA und stabile Isotopenanalyse mineralischer Matrix (z.B. MacHugh et al. 2000, Mays 2000). Dies basiert auf der Annahme, dass Zahnüberreste im Gegensatz zu Knochen ein relativ geschlossenes System bilden, da sie einen höheren mineralischen Anteil besitzen und mit schützendem Kiefer umgeben sind.

Allerdings unterliegt auch Zahnmaterial, insbesondere enthaltene Biomoleküle, diagenetischen Veränderungen (Gilbert et al. 2005, Stutz 2002), deren Ausmaß und Folgen im Vergleich zu Knochenmaterial weniger untersucht sind, so dass auch in diesem Bereich weiterer Forschungsbedarf besteht. Insbesondere gilt es zu prüfen, ob die bei Knochenmaterial festgestellten diagenetischen Abbauewege und Diagenesetypen ebenso auf Zahnmaterial zutreffen und ob ebenfalls eine Feststellung des Erhaltungsstatus mit histologischen Methoden oder UV-Fluoreszenz gelingt.

VI

Zusammenfassung

Die postmortale Alterung von Knochen (Diagenese) besteht aus einer sehr komplexen Serie von Prozessen, welche auf allen Ebenen seiner Organisation (makromorphologisch, mikro- und ultrastrukturell, molekular) erfolgt und entscheidend von Umweltfaktoren geprägt wird.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Diagenesestatus von 127 archäologischem Knochen mit unterschiedlichen Liegezeiten (ca. 11500 bis 400 Jahren), auf mehreren Ebenen (Mikrostruktur, Biomoleküle, mineralische Matrix) festgestellt und diskutiert. Durch die Untersuchung von experimentell gealtertem Knochenmaterial konnten zusätzlich rein chemische Diageneseprozesse auf den untersuchten Ebenen nachvollzogen werden (n=28). Weiterhin wurde eine kleine Stichprobe von zehn modernen kremierten Knochen analysiert.

Es ließen sich drei verschiedene Typen des diagenetischen Knochenstatus aufstellen (Diagenesetypen). Die histologische Knochenebene wurde als die Ebene erkannt, welche die meisten Informationen über den Erhaltungsstatus der anderen Merkmale liefern kann. Mit ihr hängt die Ausprägung der Fluoreszenz von Knochenquerschnitten bei Betrachtung unter UV-Licht zusammen. Folglich können diese beiden Merkmale als Indikatoren für den Diagenesetyp einer Knochenprobe dienen.

Aus den Erkenntnissen zu diagenetischen Abbauprozessen, ihren Beziehungen zueinander und den aufgestellten Diagenesetypen wurde unter Einbeziehung der Literatur ein vereinfachtes Diagenesemodell entwickelt, indem der bakterielle Befall eine Schlüsselrolle spielt.

IV Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung hat ebenfalls gezeigt, dass unsere Kenntnisse über den Diageneseprozess im Knochenmaterial lückenhaft und wichtige Fragen, wie z.B. die Biomolekül-Mineral-Beziehung noch ungeklärt sind.

Die Erfolgsaussichten der in der biologischen Spurenkunde angewandten Methoden hängen wesentlich von dem Ausmaß der postmortalen Knochenalterung ab. So ist es für die Analyse von größter Bedeutung, die Auswirkung der verschiedenen Einflussfaktoren auf die unterschiedlichen Ebenen der Knochenalterung zu erkennen und zu verstehen, um das biologische Signal von Dekompositionsartefakten trennen zu können.

Durch die Erkenntnisse zu diagenetischen Abbauprozessen und Erhaltungszuständen des Knochens konnten in der vorliegenden Untersuchung die Möglichkeiten und Grenzen verschiedener spurenkundlicher Analysemethoden überprüft werden.

Die Analyse von rezentem kremiertem Material zeigt, dass bei unvollständiger Verbrennung des Knochens Analysen von Biomolekülen möglich sind. Die Ergebnisse von DNA-Analyse an kremiertem Material aus neuzeitlichen Krematorien sind kritisch zu betrachten. Ein Erhalt originärer DNA-Moleküle ist zwar wahrscheinlich, dieses Signal wird aber von rezenter DNA, aufgrund der großen Anzahl von Kontaminationsmöglichkeiten in der Arbeitsweise heutiger Krematorien, überdeckt. Eine Analyse der stabilen Isotopenverhältnisse ist zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich, da ungeklärte Fraktionierungsprozesse während des Verbrennungsvorganges zu Abreicherung des schweren Elements führen.

Asparaginsäurerazemisierung ist ein diagenetischer Prozess, der unter anderem von der Temperatur stark beeinflusst wird. Diese Tatsache und vorherige Studien gaben den Anlass den Asparaginsäurerazemisierungsgrad (ARG) als Möglichkeit zur Feststellung von Erhitzungsvorgängen an Knochenmaterial zu überprüfen. Die Untersuchung zeigt allerdings, dass nicht näher rekonstruierbare Umwelteinflüsse den geringen Unterschied im ARG zwischen erhitztem und nicht erhitztem Material überdecken, so dass eine Differentialdiagnose nicht möglich ist.

Durch Analyse der Zusammenhänge verschiedener Merkmale konnten Screeningmethoden für Kollagen- und DNA-Gehalt überprüft und empfohlen werden.

Hinsichtlich des Kollagengehaltes zeigte sich die histologische Ausprägung von Doppelbrechungseffekten (bei Betrachtung im polarisiertem Licht) als beste Möglichkeit auf den Kollagengehalt zu schließen, während der Ca/P-Quotient der mineralischen Matrix die größte Aussagemöglichkeit über die DNA-Amplifizierbarkeit bietet.

Weiterhin wurden Kriterien für die Validisierung stabiler Isotopendaten aus Kollagen überprüft: Die Analysen zeigten, dass weder Kollagengehalt, noch C% und N% oder molare C/N-Verhältnis ausreichen, um diagenetisch veränderte Isotopenverhältnisse auszuschließen. Die Veränderung von Isotopenverhältnissen beruht mehrheitlich auf einer Veränderung der Aminosäurekomposition des Kollagens. Die Erstellung eines Aminosäureprofils ist daher unerlässlich für die Prüfung der Validität der Ergebnisse stabiler Isotopenanalysen.

IV

Literaturverzeichnis

- Abelson, P.H.; Hoering, T.C. (1961): Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 47: 623-632
- Aerts, A.T.; Brindely, A.L.; Lanting, J.N.; Pflicht, J. (2001): Radiocarbon dates on cremated bone from Sanaigmhor Warren, Islay. *Antiquity* 75: 485-486
- Alkane, A.; Matsubara, K.; Nakamura, H.; Takahashi, S.; Kumura, K. (1994): Identification of the hemmed compound copurified with desoxyribonucleic acid (DNA) from bloodstains, a major inhibitor of polymerase chain reaction (PCR) amplification. *Journal of Forensic Science* 39: 362-372
- Alonso, A.; Ancelinovic, S.; Martin, P.; Sutlovic, D.; Erceg, I.; Huffine, E.; DeSimon, L.F.; Definis-Gojanovic, C.A.M.; Fernández-Rodríguez, G.P.; Drimic, I.; Rezić, B.; Kuret, S.; Sancho, M.; Dragan, P. (2001): DNA typing from skeletal remains: Evaluation of multiplex and megaplex STR systems on DNA isolated from bone and teeth Samples. *Croatian Medicin Journal* 42: 260-266
- Ambrose, S.H. (1990): Preparation and characterization of bone and tooth collagen for isotopic analysis. *Journal of Archaeological Science* 17: 431-451
- Ambrose, S.H. (1991): Effects of diet, climate and physiology on nitrogen isotope abundances in terrestrial foodwebs. *Journal of Archaeological Science* 18: 293-317
- Ambrose, S.H. (1993): Isotopic analysis of palaeodiets: Methodical and interpretive considerations. In Sandford, M.K. (Hrsg): *Investigation of Ancient Human Tissue: Chemical Analysis in Anthropology*. Gordon & Breach, New York: 59-130
- Ambrose, S.H.; Buikstra, J.; Krueger, H.W. (2003): Status and gender differences in diet at Mound 72, Cohokia, revealed by isotopic analysis of bone. *Journal of Anthropological Archaeology* 22: 217-226
- Ambrose, S.H.; Butler, B.M.; Hanson, D.B.; Hunter-Anderson, R.L.; Krueger, H.W. (1997): Stable isotope analysis of human diet in the Marianas archipelago, western Pacific. *American Journal of Physical Anthropology* 140: 343-361

VII Literaturverzeichnis

- Ambrose, S.H.; Krigbaum, J. (2003): Bone chemistry and bioarchaeology. *Journal of Anthropological Archaeology* 22: 193-199
- Ambrose, S.H.; Norr, L. (1993): Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein on bone collagen and carbonat. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg): *Prehistoric Human Bone, Archaeology at the Molecular Level*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 1-37
- Anderson, S.; Bankier, B.G.; Barrell, B.G.; de Bruijn, M.H.L.; Coulson, A.R.; Drouin, J.; Eperon, I.C.; Nierlich, D.P.; Roe, B.A.; Sanger, F.; Schreier, P.H.; Smith, A. J.H.; Staden, R.; Young, I.G. (1991): Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-465
- Andrews, P. (1995): Experiments in taphonomy. *Journal of Archaeological Science* 22: 147-153
- Applied Biosystems (2001): AmpFISTR Identifiler, PCR Amplification Kit. User's Manual
- Armstrong, W.G.; Halstead, L.B.; Reed, F.B.; Wood, L. (1983): Fossil proteins in vertebrate calcified tissues. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B*: 301-343
- Arroyo-Pardo, E.; Ocana, M.A.; Arroyo, J.J.; Pérez-Pérez, A.; Turbon, D.; Trancho, G.; Rodríguez-Albarrán; Casa, J.D.; Robledo, B.; Bandrés, F. (2002): HPLC und UV-spectrophotometry examination of ancient DNA and PCR inhibitors in old human remains. *Ancient Biomolecules* 4: 33-41
- Asam, T.; Bösl, C.; Grupe, G.; Lösch, S.; Manhart, H.; Mekota, A-M.; Peters, J. (2004): Palaeoecosystem reconstruction and the Neolithic Transition in temperate climates. In: Grupe, G.; Peters, J. (Hrsg): *Conservation policy and current research. Documenta Archaeobiologiae* 2: 97-137
- Backhaus, K.; Erichson, B.; Plinke, W.; Weiber, R. (2006): *Multivariate Analysemethoden. Eine anwendungsorientierte Einführung*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Bada, J. L. (1985): Amino acid racemization dating of fossil bones. *Annual Review of Earth Planet Science* 13: 241-268
- Bada, J.L. (1987): Paleoanthropological application of amino acid racemization dating of fossil bone and teeth. *Anthropologischer Anzeiger* 45: 1-8
- Bada, J.L. (1991): Amino acid cosmogeochemistry. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B* 333: 349-358
- Bada, J.L.; Herrmann, B.; Payan, I.L.; Man, E.H.. (1989): Amino acid racemization in bone and the boiling of the german emperor Lothar I. *Applied Geochemistry* 4: 325-327
- Bada, J.L.; Schroeder, R.A. (1975): Amino acid racemization reactions and their geochemical implications. *Die Naturwissenschaften* 62: 71-79
- Bada, J.L.; Schroeder, R.A.; Carter, G.F. (1974): New evidence for the antiquity of man in North America deduced from aspartic acid racemization. *Science* 184: 791-793
- Bada, J.L.; Shou, M.Y. (1980): Kinetic and mechanism of amino acid racemization in aqueous solution in bones. In Hare, P.E.; Hoering, T.C.; King, K.J. (Hrsg): *Biogeochemistry of Amino Acids*. Wiley and Sons, New York: 235-255
- Bada, J.L.; Wang, S.W.; Hamilton, H. (1999): Preservation of key biomolecules in the fossil record: Current knowledge and future challenges. *Philosophical Transaction of the Royal Society London B* 354: 77-87
- Bada, J.L.; Wang, X.S.; Poinar, H.N.; Pääbo, S.; Poinar, G.O. (1994): Amino acid racemization in amber-entombed insects – implications for DNA preservations. *Geochemica et Cosmochemica acta* 58: 3131-3135
- Bailey, A.J.; Paul, R.G.; Knott, L. (1998): Mechanism of maturation and ageing of collagen. *Mechanisms of Ageing and Development* 106: 1-56
- Balasse, M.; Bocherens, H.; Mariotti, A. (1999): Intra-bone variability of collagen and apatite isotopic composition used as evidence of a change of diet. *Journal of Archaeological Science* 26: 593-598

- Balasse, M.; Tresset, A. (2002): Early weaning of Neolithic domestic cattle (Bercy, France) revealed by intra-tooth variation in nitrogen isotope ratios. *Journal of Archaeological Science* 29: 853-859.
- Balter, V.; Saliège, J.F.; Bocherens, H.; Person, A. (2002): Evidence of physico-chemical and isotopic modification in archaeological bones during controlled acid etching. *Archaeometry* 44: 329-336
- Balzer, A.; Gleixner, G.; Grupe, G.; Schmidt, H.-L.; Schramm, S.; Turban-Just, S. (1997): In vitro decomposition of bone collagen by soil bacteria: The implication for stable isotope analysis in archaeometry. *Archaeometry* 39: 415-429
- Banerjee, M.; Brown, T.A. (2004): Non-random DNA damage resulting from heat treatment: Implications for sequence analysis of ancient DNA. *Journal of Archaeological Science* 31: 59-63
- Bär, W.; Brinkmann, B.; Budowle, B.; Carracedo, A.; Gill, P.; Holland, M.; Lincoln, P.J.; Mayr, W.; Morling, N.; Olaisen, B.; Schneider, P.M.; Tulle, G.; Wilson, M. (2000): DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Guidelines for mtDNA typing. *International Journal of Legal Medicine* 113: 193-196
- Bär, W.; Brinkmann, B.; Budowle, B.; Carracedo, A.; Gill, P.; Lincoln, P.; Mayr, W.; Olaisen, B. (1997): DNA recommendations, further report of the DNA commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *International Journal of Legal Medicine* 110: 175-176
- Bär, W.; Kratzer, A.; Mächler, M.; Schmid, W. (1988): Postmortem stability of DNA. *Forensic Science International* 39: 59-70
- Beck, L.A. (1985): Biovariate analysis of trace elements in bone. *Journal of Human Evolution* 14: 493-502
- Becker, R.O.; Spadaro, J.A.; Berg, E.W. (1968): Trace elements of human bone. *Journal of Bone and Joint Surgery*: 326-334
- Bell, L.S.; Boyde, A.; Jones, J. (1991): Diagenetic alterations to teeth in situ illustrated by backscattered electron image. *Scanning* 13: 173-183
- Bell, L.S.; Skinner, M.F.; Jones, S.J (1996): The speed of post mortem change to the human skeleton and its taphonomic significance. *Forensic Science International* 82: 129-140
- Berg, S. (1962): Zur Todeszeitbestimmung bei Skelettfunden. *Beiträge zur gerichtlichen Medizin* 22: 18-30
- Berg, S. (1975): Leichenzersetzung und Leichenzerstörung. In Müller, B. (Hrsg): *Gerichtliche Medizin*, Band 1. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 62-98
- Berg, S.; Protsch von Zieten, R. (1998): Liegezeitbestimmung von Skelettmaterial. In Leopold, D. (Hrsg): *Identifikation unbekannter Toter, interdisziplinäre Methodik, forensische Osteologie*. Schmidt-Römhild, Lübeck: 107-124
- Berg, S.; Specht, W. (1958): Untersuchung zur Bestimmung der Liegezeit von Skelettteilen. *Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin* 47: 209-241
- Beile-Bohn, M.; Gerber, C.; Morsch, M.; Schmidt, K. (1998): Neolithische Forschung in Obermesopotamien. Gürcütepe und Göbekli Tepe. *Istanbul Mitteilungen* 48: 5-78
- Berna, F.; Matthew, A.; Weiner, S. (2004): Solubility's of bone mineral from archaeological sites: the recrystallization window. *Journal of Archaeological Science* 31: 867-882
- Bernd, E. (1980): Archäologisches zur früh- und hochmittelalterlichen Geschichte Kelheims - Ein Vorbericht. In Spindler, K (Hrsg): *Vorzeit zwischen Main und Donau. Neue archäologische Forschungen und Funde aus Franken und Altbayern*. Erlanger Forschungen, A26. Erlangen: 273-298
- Biotype 2004: Gebrausanleitung zum Mentye® Triplex AFS^{QS} PCR Amplification Kit
- Blasse, G.; Grabmaier, B.C.: *Luminescent materials*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
- Bocherens, H.; Fogel, M.L.; Tuross, N.; Zeder, M. (1995): Trophic structure and climatic information from isotopic signatures in Pleistocene cave fauna of southern England. *Journal of Archaeological Science* 22: 327-340

VII Literaturverzeichnis

- Bocherens, H.; Mashkour, M.; Drucker, D.G.; Moussa, I.; Billiou, D. (2006): Stable isotope evidence for palaeodiets in southern Turkmenistan during Historical period and Iron Age. *Journal of Archaeological Science* 33: 253-264
- Bocherens, H.; Tresset, A.; Wiedemann, F.; Giligny, F.; Lafage, F.; Lanchon, Y.; Mariotti, A. (1997): Diagenetic evolution of mammal bone in two french neolithic sites. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168: 555-564
- Bohnert, M.; Rost, T.; Pollar, S. (1998): The degree of destruction of human bodies in relation to the duration of the fire. *Forensic Science International* 95: 11-21
- Boquete., Boronat, A.; Ramos-Cormenzana, A. (1973): Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon. *Nature* 246: 527-529
- Borić, D.; Grupe, G.; Peters, J.; Mikić, Z. (2004): Is the mesolithic-neolithic subsistence dichotomy real? New stable isotope evidence from the Danube Gorges. *European Journal of Archaeology* 7: 221-148
- Bortz, J.; Lienert, G.A.; Boehnke, K. (1990): *Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Boskey, A.L. (1996): Matrix proteins and mineralization: An overview. *Connective Tissue Research* 35: 357-363
- Boskey, A.L. (1998): Biomineralization: Conflicts, challenges and opportunities. *Journal of Cellular Biochemistry Supplements* 30/31: 83-91
- Boskey, A.L. (1999): Mineralization, structure and function of bone. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 153-162
- Boskey, A.L., Cohen, M.L.; Bullough, P.G. (1982): Hard tissue biochemistry: A comparison of fresh-frozen and formalin-fixed tissue samples. *Calcific Tissue International* 34: 328-331
- Bouwman, A.S.; Brown, T.A. (2002): Comparison between silica-based methods for the extraction of DNA from human bones from 18th to mid-19th century London. *Ancient Biomolecules* 4: 173-178
- Boyce, B.F. (1993): Pathology of metabolic bone and joint diseases. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 171-183
- Brandt, E.; Wiechmann, I.; Grupe, G. (2002): How reliable are immunological tools for the detection of ancient proteins in fossil bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 12: 307-316
- Brinkmann, B.; Wiegand, P. (1997): DNA-Technologie in der Medizinischen Kriminalistik. In: Berg S.; Brinkmann B. (Hrsg): *Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*, Band 21. Schmidt Römhild, Lübeck
- Brooks, S.; Brooks, R.H. (1997): The taphonomic effects of flood waters on bone. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy, the Post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 553-558
- Brown, K (2000): Ancient DNA application in human osteoarchaeology: achievements, problems and potential. In Cox, M.; Mays, S. (Hrsg): *Human Osteology in Archaeology and Forensic science*. Greenwich Medical Media Ltd., London: 455-473
- Brown, R.H. (1985): Amino acid dating. *Origins* 12: 8-25
- Brown, K.A (2001): Ancient DNA. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 301-311
- Brown, A.B.; Blakely, R.L. (1985): Biocultural adaption as reflected in trace element distribution. *Journal of Human Evolution* 14: 461-468

- Burger, H.; van Daele, P.L.A.; Algra, D.; van den Ouweland, F.A.; Grobbee, D.E.; Hofman, A.; van Kuijk, C.; Birkenhäger, J.C.; Pols, H.A.P (1994): The association between age and bone mineral density in men and women aged 55 years and over: The Rotterdam study. *Bone Mineralisation* 25: 1-13
- Burger, J.; Hummel, S.; Herrmann, B. (1997): Nachweis von DNA-Einzelkopiesequenzen aus prähistorischen Zähnen. Liegemilieu als Faktor für den Erhalt von DNA. *Anthropologischer Anzeiger* 55: 193-198
- Burger, J. Hummel, S.; Herrmann, B.; Henke, W. (1999): DNA preservation: A microsatellite-DNA study on ancient skeletal remains. *Electrophoresis* 20: 1722-1728
- Camacho, N.P.; Rinnerthaler, S.; Paschalis, E.P.; Mendelsohn, R.; Boskey, A.L.; Fratzl, P. (1999): Complementary information on bone ultrastructure from scanning small angle x-ray scattering and fourier-transform infrared microspectroscopy. *Bone* 25 (3): 287-293
- Canoira, L.; García-Martínez, M.-J.; Ortíz, J.E.; de Torres, T. (2003): Kinetics of amino acid racemization (epimerization) in the dentine of fossil and modern bear teeth. *International Journal of Chemical Kinetics* 35: 579-597
- Carlson, A.K. (1996): Lead isotope analysis of human bone for addressing cultural affinity: A case study from Rocky Mountain House, Alberta. *Journal of Archaeological Science* 23: 557-567
- Carracedo, A. (2005): *Forensic Typing Protocols*. Humana Press Inc., U.S.
- Cattaneo, C.; Craig, O.E.; James, N.T.; Sokol, R.J. (1997): Comparison of three DNA extraction methods on bone and blood stains up to 43 years old and amplification of three different gene sequences. *Journal of Forensic Science* 42: 1126-1135
- Cattaneo, C.; DiMatrino, S.; Scali, S.; Craig, O.E.; Grandi, M.; Sokol, R.J. (1999): Determining the human origin of fragments of burnt bones: A comparative study of histological, immunological and DNA techniques. *Forensic Science International* 84: 181-191
- Cattaneo, C.; Gelsthorpe, K.; Sokol, R.J.; Phillips, P. (1994): Immunological detection of albumin in ancient human cremation using ELISA and monoclonal antibodies. *Journal of Archaeological Science* 21: 565-571
- Cattaneo, C.; Smilie, D.M.; Gelsthorpe, K.; Piccinini, A.; Gelsthorpe, A.R.; Sokol, R.J. (1995): A simple method for extracting DNA from old skeletal material. *Forensic Science International* 74: 167-174
- Child, A.M. (1995a): Microbial taphonomy of archaeological bone. *Studies in Conservation* 40: 19-30
- Child, A.M. (1995b): Towards an understanding of the microbial decomposition of archaeological bone in the burial environment. *Journal of Archaeological Science* 22: 165-174
- Child, A.M.; Gillard, R.D.; Pollard, A.M. (1993): Microbially-induced promotion of amino-acid racemization in bone: Isolation of the microorganism in bone and the detection of their enzymes. *Journal of Archaeological Science* 20: 159-168
- Cipollaro, M.; Bernardo, G. (2004): DNA from equine remains buried by the 79 A.D. *Rendiconti Lincei Scienze Fisiche e Naturali* 9: 151-157
- Cipollaro, M.; Bernardo, G. D.; Galano, G.; Galderisi, U.; Guariono, F.M.; Angelini, F.; Cascino, A. (1998): Ancient DNA in human bone remains from Pompeii archaeological site. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 247: 901-904
- Colledge, S.; Conolly, J.; Shennan, S. (2004): Archaeobotanical evidence for the spread of farming in the eastern Mediterranean. *Current Anthropology* 45: 35-58
- Collins, M.J.; Galley, P. (1998): Toward an optimal method of archaeological collagen extraction: The influence of pH and grinding. *Ancient Biomolecules* 2: 209-223
- Collins, M. J.; Gernaey, A.M.; Nielsen-Marsh, C.M.; Vermeer, C.; Westbroek, P. (2000): Slow rate of degradation of osteocalcin: Green light for fossil bone protein?. *Geology* 28: 1139-1142

VII Literaturverzeichnis

- Collins, M.J., Nielsen-Marsh, C.M.; Hiller, J.; Smith, C.I.; Roberts, J.P. (2002): The survival of organic matter in bone: A review. *Archaeometry* 44: 383-394
- Collins, M.J.; Riley, M.S.; Child, A.M.; Turner-Walker, G. (1995): A basic mathematical simulation of the chemical degradation of ancient collagen. *Journal of Archaeological Science* 22: 175-183
- Collins, M.J.; Waite, E.R.; van Duin, A.C.T. (1999): Predicting protein decomposition: The case of aspartic acid racemization kinetic. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B* 354: 51-64
- Collins, M.J.; Westbroek, P.; Muyzer, G.; De Leeuw, J.W. (1992): Experimental evidence for condensation reactions between sugars and proteins in carbonate skeletons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56: 1539-1544
- Colson, I.B.; Bailey, J.F. (1997): The preservation of ancient DNA and bone diagenesis. *Ancient Biomolecules* 1: 1-9
- Cone, R.W.; Fairfax, M.R. (1993): Protocol for ultraviolet irradiation of surfaces to reduce PCR contamination. *PCR Methods and Applications* 3: 15-17
- Cooper, A. (1995): Ancient DNA sequences retrieval unsuspected phylogenetic relationships within New Zealand wrens (*Acanthisittidae*). *Experientia* 50: 558-563
- Cooper, A. (2000): Ancient DNA: Do it right or do it not at all. *Science* 289: 1139-1141
- Cooper, A.; Lalueza-Fox, C.; Anderson, S.; Rambaut, A.; Austin, J.; Ward, R. (2001): Complete mitochondrial sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature* 409: 704-709
- Corach, D.; Sala, A.; Penacino, G.; Iannucci, N.; Bernardi, P.; Doretti, M.; Fondebrider, L.; Ginarte, A.; Inchaurregui, A.; Somigliana, C.; Turner, S.; Hagelberg, E. (1997): Additional approaches to DNA typing of skeletal remains: the search for "missing" persons killed during the last dictatorship in Argentina. *Electrophoresis* 18: 1608- 1612
- Crummings, S.R.; Black, D (1995): Bone mass measurement and risk of fracture in Caucasian women: Review of finding from prospective studies. *American Journal of Medicine* 98: 24-28
- Csapó, J.; Csapó-Kiss, Z.; Némethy, S.; Folestad, S.; Tivesten, A.; Martin, T.G. (1994): Age determination based on amino acid racemization: A new possibility. *Amino acids* 7: 317-325
- Czermak, A. (2003): Anthropologische Analyse der Skelettfunde aus der Separatgrablege von Etting, Landkreis Ingolstadt. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- Czermak, A.; Ledderose, A. (2004): Getrennt und Gemeinsam – Zur gesellschaftlichen Gliederung eines frühmittelalterlichen Separatfriedhofs. Erste Ergebnisse einer archäologisch-anthropologischen Synthese. In Grupe, G.; Peters, J. (Hrsg): Conservation policy and current research. *Documenta Archaeobiologiae* 2: 71-95
- de Albuquerque Leinenbach, G.; Mályusz, V.; Schröder, I. (2000): Anthropologische Befunde zur Schlacht bei Hemmingstedt (mit anhängendem Glossar). *Archäologische Nachrichten Schleswig-Holstein* 11: 58-83
- Dempster, D.W. (1999): New concepts in bone remodelling. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 261-273
- DeNiro, M.J. (1985): Postmortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios in relation to paleodietary reconstruction. *Nature* 317: 806-809
- DeNiro, M.J.; Epstein, S. (1978): Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica acta* 42: 495-506
- DeNiro, M.J.; Schoeninger, M.J.; Hastorf, C.A. (1985): Effect of heating on the stable carbon and nitrogen isotope ratios of bone collagen. *Journal of Archaeological Science* 12: 1-7
- DeNiro, M.J.; Weiner, S. (1988): Chemical, enzymatic and spectroscopic characterization of „collagen“ and other organic fractions from prehistoric bones. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52: 2197-2206
- Denys, C. (2002): Taphonomy and experimentation. *Archaeometry* 44: 469-484

- Denys, C., Andrews, P.; Dauphin, Y.; Williams, T.; Fernández-Jalvo, Y. (1997): Towards a site classification: Comparison of stratigraphic taphonomic and diagenetic patterns and process. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168: 751-757
- Denys, C.; Williams, C.T.; Dauphin, Y.; Andrews, P.; Fernández-Jalvo, Y. (1996): Diagenetical changes in pleistocene small mammal bones from Olduvai Bed I. *Palaeogeography, Paleoclimatology, Palaeoecology* 126: 121-134
- de Ricqlès, A.J. (1993): Some remarks on palaeohistology from a comparative evolutionary point of view. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of ancient human bone: Methods and diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 31-71
- Deutscher Städtetag (1997): *Statistisches Jahrbuch Deutscher Gemeinden* 84. Jahrgang. Köln
- D'Haese, P.C.; Couttenye, M.M.; Lamberts, L.V.; Elseviers, M.M.; Goodman, W.G.; Schrooten, I.; Cabrera, W.; de Broe, M.E. (1999): Aluminium, Iron, Lead, Cadmium, Copper, Zinc, Chromium, Magnesium, Strontium and Calcium content in bone of end-stage renal failure patients. *Clinical Chemistry* 45: 1548-1556
- Di Bernardo, G., Del Gaudio, S.; Cammarota, M.; Galderisi, U.; Cacino, A., Cipollaro, M. (2002): Enzymatic repair of selected cross-linked homoduplex molecules enhances nuclear gene rescue from Pompeii and Herculaneum remains. *Nucleic Acids Research* 30: 16
- Dittmann, K.; Grupe, G. (2000): Biochemical and paleopathological investigations on weaning and infant mortality in the Early Middle Ages. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 345-355
- Dixon, R.; Roberts, C.A. (2001): Modern and ancient scourges: The application of ancient DNA to the analysis of tuberculosis and leprosy from archaeologically derived human remains. *Ancient Biomolecules* 3: 181-193
- Dobberstein, R. C. (2005): *Ist eine Revision der Aminosäuredatierung möglich?*. Dissertation, Christian-Albrechts-Universität, Kiel
- Drancourt, M.; Aboudharam, G.; Signoli, M.; Dutour, O.; Raoult, D. (1998): Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicaemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 12637-12640
- Drancourt, M.; Roullet, D. (2004): Molecular detection of *Yersinia pestis* in dental pulp. *Microbiology* 150: 263-263
- Drucker, D.; Bocherens, H. (2004): Carbon and Nitrogen stable isotopes as tracers of change in diet breadth during middle and upper Palaeolithic in Europe. *International Journal of Osteoarchaeology* 14: 162-177
- Dudar, J.C.; Wayne, J.S.; Saunders, S.R. (2003): Determination of a kinship system using ancient DNA, mortuary practice, and historic records in an upper Canadian pioneer cemetery. *International Journal of Osteoarchaeology* 13: 232-246
- Dummler, S. (2004): *Wirbeltiernahrungsnetze zur Zeit der Neolithischen Transition in Anatolien*. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Dupras, T.L.; Schwarcz, H.P. (2001): Strangers in a strange land: Stable isotope evidence for human migration in the Dakhleh Oasis, Egypt. *Journal of Archaeological Science* 28: 1199-1208
- Dürrwächter, C.; Craig, O.E.; Collins, M.J.; Burger, J.; Alt, K.W. (2005): Beyond the grave: variability in Neolithic diets in southern Germany?. *Journal of Archaeological Science* 33: 39-48
- Edward, J.B.; Benfer, R.A. (1993): The effects of diagenesis on the paloma skeletal material. In Sandford, M.K. (Hrsg): *Investigation of Ancient Tissues: Chemical Analyses in Anthropology*. Gordon & Breach, New York: 183-267
- Eglinton, G.; Logan, G.A. (1991): Molecular preservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B* 333: 315-328
- El Mansouri, M.; El Fouikar, A.; Saint-Martin, B. (1996): Correlation between ^{14}C ages and aspartic acid racemization at the upper Palaeolithic site of the Abri Pataud (Dordogne, France). *Journal of Archaeological Science* 23: 803-809

VII Literaturverzeichnis

- Elster, H.; Gil-AV, E.; Weiner, S. (1991): Amino acid racemization of fossil bone. *Journal of Archaeological Science* 18: 605-617
- Embery, G.; Milner, A.C.; Waddington, R.J.; Hall, R.C.; Langley, M.S.; Milan, A.M. (2003): Identification of proteinaceous material in the bone of the dinosaur *Iguanodon*. *Connective Tissue Research* 44 (Suppl.1): 41-43
- Evans, J.; Stoodley, N.; Chenery, C. (2006): A strontium and oxygen isotope assessment of a possible fourth century immigrant population in a Hampshire cemetery, southern England. *Journal of Archaeological Science* 33: 265-272
- Evershed, R.P.; Dudd, S.N.; Lockheart, M.J.; Jim, S. (2000): Lipids in archaeology. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim-Brisbane, Singapor: 331-349
- Eyman, C.E. (1964): Ultraviolet fluorescence as a means of skeletal identification. *American Antiquity* 31: 109-112
- Fearman, M.; Filon, D.; Kahila, G., Greenblatt, C.L.; Smith, P.; Oppenheim, A. (1995): Sex identification of archaeological human remains based on amplification of the X and Y amelogenin alleles. *Gene* 167: 327-332
- Fearman, M.; Jankauskas, R.; Gorski, A.; Bercovier, H.; Greenblatt, C.L. (1997a): Prevalence of human tuberculosis in a medieval population of Lithuania studied by ancient DNA analysis. *Ancient Biomolecules* 1: 205-214
- Fearman, M., Kahila, G.; Smith, P.; Greenblatt, C., Stager, L.; Oppenheim, A. (1997b): DNA analysis reveals the sex of infanticide victims. *Nature* 385: 212-213
- Fearman, M.; Nebel, A.; Filon, D.; Thomas, M.G.; Bradman, N.; Ragsdale, B.D.; Schultz, M.; Oppenheim, A.. (2000): From a dry bone to a genetic portrait: A case study of sickle cell anaemia. *American Journal of Human Genetics* 111: 153-163
- Fernández-Jalvo, Y.; Sánchez-Chillón, B.; Anrews, P.; Fernández-López, S.; Alcalá Martínez, L. (2002): Morphological taphonomic transformation on fossil bones in continental environments and repercussions on their chemical composition. *Archaeometry* 44: 353-361
- Filon, D.; Fearman, M.; Smith, P.; Oppenheim, A. (1995): Sequence analysis reveals a β -thalassaemia mutation in the DNA of skeletal remains from the archaeological site of Akhizv, Israel. *Nature Genetics* 9: 365-368
- Fitzgerald, C.M.; Rose, J.C. (2000): Reading between the lines: dental development and subadult age assessment using the microstructural growth markers of teeth. In Katzenberg, M.S.; Saunders, S.R. (Hrsg): *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. John Wiley & Sons, Inc, New York, Chichester, Weinheim: 163-185
- Fletcher, H.A.; Donoghue, H.D.; Taylor, G.M.; van der Zanden, A.G.M.; Spigelmann, M. (2003): Molecular analysis of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from a family of 18th century Hungarians. *Microbiology* 149: 143-151
- Fox, C.H. (1985): Formaldehyd Fixation. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 33: 845-853
- Fox, C.L. (1996): Analysis of ancient mitochondrial DNA from extinct Aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Ancient Biomolecules* 1: 43-54
- Galloway, A.; Willey, P.; Snyder, L. (1997): Human bone mineral densities and survival of bone elements: A contemporary sample. In Haglund, W.D, Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy, the post-mortem fate of human remains*. Boca Raton, Boston, London: 295-317
- Garland, A.N. (1987): A histological study of archaeological bone decomposition. In Boddington, A. (Hrsg): *Death, decay and reconstruction: Approaches to archaeology and forensic science*. Manchester University Press, Manchester: 109-126
- Garland, A.N. (1989): Microscopical Analysis of fossil bone. *Applied Geochemistry* 4: 215-229
- Garland, A.N. (1993): An introduction to the histology of exhumed mineralized tissue. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 1-16

- Garrelt, C.; Wiechmann, I. (2003): Detection of *Yersinia pestis* DNA in early and late medieval Bavarian burials. In: Grupe, G.; Peters, J. (Hrsg): *Decyphering Ancient Bones, the Research Potential of Bioarchaeological Collections*. *Documenta Archaeobiologiae* 1: 193-213.
- Garvie-Lok, S.J.; Varney, T.L.; Katzenberg, M.A. (2004): Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: The effects of treatment time and acid concentration. *Journal of Archaeological Science* 31: 763-776
- Gaukler, P. (2006): *Mobilität und Mortalität im Frühmittelalter: Anthropologische Analyse zweier merowinderzeitlicher Separatgrablagen*. Diplomarbeit, Ludwigs-Maximilians-Universität, München
- Gawlik, D.; Behne, D.; Brätter, W.; Gatschke, W.; Gessner, H. (1982): The suitability of the iliac crest biopsy in the element analysis of bone and marrow. *Journal of Clinical Chemistry and clinical biochemistry* 20: 499-507
- Gebhardt, K.E. (2003): Anthropologische Untersuchung der Skelettfunde, in Witte, F. (Hrsg): *Archäologie in Flensburg, Ausgrabungen am Franziskanerkloster*. Gesellschaft für Flensburger Stadtgeschichte E.V., Schriftenreihe Band 57, Flensburg/Haderslev. S. 76-103
- Geigl, E.M. (2002): On the circumstances surrounding the preservation and analysis of very old DNA. *Archaeometry* 44: 337-342
- Geigl, E.M.; Bauemer, U., Koller, J. (2004): New approaches to study the preservation of biopolymers in fossil bones. *Environment Chemical Letters* 2: 45-48
- Gernay, A.M. (2001): Survival and interpretation of archaeological proteins. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim, Brisbane: 323-329
- Gernter, J.M (1999): Normal and abnormal skeletal growth. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 649-657
- Gerstenberger, J.; Hummel, S.; Schultes, T.; Häck, B.; Herrmann, B. (1999): Reconstruction of a historical genealogy by means of STR analysis and Y-haplotyping of ancient DNA. *European Journal of Human Genetics* 7: 469-477
- Gilbert, M.T.P.; Hansen, A.J., Willerslev, E.; Rudbeck, L.; Barnes, I.; Lynnerup, N.; Cooper, A. (2003a): Characterization of genetic miscoding lesions caused by post-mortem damage. *American Journal of Human Genetic* 72: 48-61
- Gilbert, M.T.P., Willerslev, E.; Hansan, A.J.; Barnes, I.; Rudbeck, L.; Lynnerup, N.; Cooper, A. (2003b): Distribution patterns of post-mortem damage in human mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetic* 72: 32-47
- Gilbert, M.T.P.; Rudbeck, L.; Willerslev, E.; Hansen, A.J.; Smith, C.I.; Penkman, K.E.H.; Prangenberg, K.; Nielsen-Marsh, C.M.; Jans, M.E.; Arthur, P.; Lynnerup, N.; Turner-Walker, G.; Biddle, M.; Kjølbye-Biddle, B., Collins, M.J. (2005): Biochemical and physical correlates of DNA contamination in archaeological human bones and teeth excavated at Matera, Italia. *Journal of Archaeological Science* 32: 785-793
- Gill, P.; Brenner, C.; Brinkmann, B.; Budowle, B.; Carracedo, A.; Jobling, M.A.; de Knijff, P.; Kayser, M.; Krawczak, M.; Mayr, W.R.; Morling, N.; Olaisen, B.; Pascali, V.; Prinz, M.; Roewer, L.; Schneider, P.M.; Sajantila, A.; Tyler-Smith, C. (2001): DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *International Journal of Legal Medicine* 114: 305-309
- Gill, P. Ivanov, P.L.; Kimpton, C.; Piercy, R.; Benson, N.; Tully, G.; Evett, I.; Hagelberg, E.; Sullivan, K. (1994): Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nature Genetics* 6: 130-135
- Gill-King, H. (1997): Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In Haglund, W.D, Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy; The post-mortem fate of human remains*. Boca Raton, Boston, London: 93-108
- Gineyts, E.; Cloos, P.A.C.; Borel, O.; Grimaud, L.; Delmas, P.D.; Garnero, P. (2000): Racemization and isomerization of type I collagen C-telopeptides in human bone and soft tissues: Assessment of tissue turnover. *Biochemical Journal* 345: 481-485

VII Literaturverzeichnis

- Giraud Guille, M.M.; Mosser, G.; Helary, C.; Eglin, D. (2005): Bone matrix like assemblies of collagen: From liquid crystals to gels and biomimetic materials. *Micron* 36: 602-608
- Glimcher, M.J. (1990): The possible role of collagen fibrils and collagen-phosphoprotein complexes in the calcification of bone in vitro and in vivo. *Biomaterials* 11: 7-10
- González-Reimers, E.; de-la-Rosa, M. (1992): Ancient skeletal remains of the Canary Islands: Bone histology and chemical analysis. *Anthropologischer Anzeiger* 50: 201-215
- Goodfriend, G.A. (1991): Patterns of racemization and epimerization of amino-acids in land snail shells over the course of Holocene. *Geochemical and Cosmochemical Acta*: 292-302
- Goodyear, P.D.; MacLaughlin-Black, S.; Maon, I.J. (1994): A reliable method for the removal of co-purifying PCR-Inhibitors from ancient DNA. *BioTechniques* 16: 232-235
- Götherström, A.; Collins, M.J.; Angerbjörn, A.; Lidén, K. (2002): Bone preservation and DNA amplifikation. *Archaeometry* 44: 395-404
- Grimes, S.T.; Matthey, D.P.; Hooker, J.J.; Collinson, M.E. (2003): Paleogene paleoclimate reconstruction using oxygen isotopes from land and freshwater organisms: The use of multiple paleoproxies. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67: 4033-4047
- Gröcke, D.R. (1997): Stable-isotope studies on the collagenic and hydroxylapatite components of fossils: Palaeoecological implications. *Lethaia* 30: 65-77
- Großkopf, B. (2004): Leichenbrand. Biologisches und kulturhistorisches Quellenmaterial zur Rekonstruktion vor- und frühgeschichtlicher Populationen und ihrer Funeralpraktiken. Dissertation, Universität Leibzig
- Grundberg, C.M.; Nsuhimoto, S.K. (1999): Vitamin K-depent proteins of bone and cartilage. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 43-57
- Grupe, G. (1988): Impact of the choice of bone samples on trace element data in excavated human skeletons. *Journal of Archaeological Science* 15: 123-129
- Grupe, G. (1992): Analytisch-chemische Methoden in der prähistorischen Anthropologie: Spurenelemente und stabile Isotope. In Knußmann, R. (Hrg): *Anthropologie. Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen, Band II: Allgemeine Anthropologie*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag: 66 - 73
- Grupe, G. (1995): Preservation of collagen in bone from dry, sandy soil. *Journal of Archaeological Science* 22: 193-199
- Grupe, G. (2001): *Archaeological Microbiology*. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester-New York, Weinheim-Brisbane-Singapore-Toronto: 351-363
- Grupe, G. (im Druck): Taphonomic and diagenetic processes. In: Henke, W.; Rothe, H.; Tattersall, I. (Hrsg.): *Handbook of Palaeoanthropology. Volume 1: Principles, Methods, and Approaches*. Springer Verlag
- Grupe, G.; Balzer, B.; Turban-Just, S. (2000): Modelling protein diagenesis in ancient bone: towards a validation of stable isotope data. In Ambrose, S.H.; Katzenberg, M.A. (Hrsg.): *Biogeochemical Approaches to Palaeodietary Analysis*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, Boston, Dordrecht: 173-187
- Grupe, G.; Christiansen, K.; Schröder, I.; Wittwer-Backofen, U. (2005): *Anthropologie, ein einführendes Lehrbuch*. Mit 95 Abbildungen und 49 Tabellen. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Grupe, G.; Dreses-Werringloer, U.; Parsche, F. (1993): Initial stage of bone decomposition: Causes and consequences. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg): *Prehistoric human bone: Archaeology at the molecular level*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 257-273
- Grupe, G.; Hummel, S. (1991): Trace element studies on experimentally cremated bone I. Alteration of the chemical composition at high temperatures. *Journal of Archaeological Science* 18: 177-186

- Grupe, G., Mikić, Peters, J.; Mannhart, H. (2003): Vertebrate food webs and subsistence strategies of Meso- and Neolithic populations of central Europe. In: Grupe, G.; Peters, J. (Hrsg): Decyphering ancient bones. The research potential of bioarchaeological collections. *Documenta Archaeobiologiae* 1: 193-213.
- Grupe, G.; Turban-Just, S (1998): Amino acid composition of degraded matrix collagen from archaeological human bone. *Anthropologischer Anzeiger* 56: 213-226
- Guarino, F.M.; Angelini, F.; Odierna, G.; Bianco, M.R.; Di Bernardo, G.; Forte, Al.; Cascino, A.; Cipollaro, M. (2000): Detection of DNA in ancient bones using histochemical methods. *Biotechnic and Histochemistry* 75: 110-117
- Guarino, F.M.; Angelini, F.; Vollono, C.; Orefice, C. (2006): Bone preservation in human remains from the Terme del Sarno at Pompeii using light microscopy and scanning electron microscopy. *Journal of Archaeological Science* 33: 513-520
- Gurley, L.R.; Valdez, J.G.; Spall, W.D.; Smith, B.F.; Gillette, D.D. (1991): Proteins in the fossil bone of the dinosaur *Seismosaurus*. *Journal of Protein Chemistry* 10: 75-90
- Gusmão, I.; Butler, J.M.; Carracedo, A.; Gill, P.; Kayser, M.; Mayr, W.R.; Morling, N.; Prinz, M.; Roewer, L.; Tyler-Smith, C.; Schneider, P.M. (2005): DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): An update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *International Journal of Legal Medicine* 118: 414-421
- Gutierrez, M.A. (2001): Bone diagenesis and taphonomic history of the Paso Otero I bone bed, Pampas of Argentina. *Journal of Archaeological Science* 28: 1277-1290
- Haack, K.; Hummel, S.; Herrmann, B. (2000): Ancient DNA fragments longer than 300 bp. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 51-56
- Haak, W.; Forster, P.; Bramanti, B.; Matsumura, S.; Brandt, G.; Tänzer, M.; Villems, R.; Renfrew, c.; Gronenborn, D. Alt, K.W.; Burger, J. (2005): Ancient DANN from the first European farmers in the 1500-years-old Neolithic sites. *Science* 310: 1016-1018
- Hackett, C.J. (1981): Microscopical focal destruction (tunnels) in exhumed human bones. *Medicine, Science and the Law* 21: 243-265
- Hagelberg, E.; Clegg, J.B. (1993): Genetic Polymorphisms in prehistoric pacific islanders determined by amplification of ancient bone DNA. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 252: 163-170
- Hagelberg, E.; Gray, I.C.; Jeffrey, A.J. (1991): Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature* 352: 427-429
- Hagelberg, E.; Sykes, B.; Hedges, R. (1989): Ancient bone amplified. *Nature* 343: 485
- Hagelberg, E.; Quevedo, S.; Turbon, D.; Clegg, J.B. (1994): DNA from ancient Easter Islanders. *Nature* 369: 25-26
- Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (1997): Method and theory of forensic taphonomy research. In Haglund, W.D, Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy, The Post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 13-26
- Hancock, R.G.V.; Grynepas, M.D.; Akesson, K.; Obrandt, K.B.; Turnquist, J.; Kessler, M.J. (1993): Baselines and variability's of major and trace elements in bone. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg): *Prehistoric Human Bone. Archaeology at the Molecular Level*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 189-201
- Handt, O.; Höss, M.; Krings, M.; Pääbo, S. (1994): Ancient DNA: Methodological challenges. *Experientia* 50: 524-529
- Handt, O.; Krings, M.; Ward, R.H.; Pääbo, S. (1996): The retrieval of ancient human DNA Sequences. *American Journal of Human Genetics* 59: 368-376
- Hänni, C.; Begue, A.; Laudet, V.; Stéhelin, D.; Brousseau, T.; Amouyel, P.; Duday, H. (1995b): Molecular typing of Neolithic human bones. *Journal of Archaeological Science* 22: 649-658

VII Literaturverzeichnis

- Hänni, C.; Brousseau, T.; Laudet, V.; Stehelin, D. (1995a): Isopropanol precipitation removes PCR-Inhibitors from ancient bone extracts. *Nucleic Acids Research* 23: 881-882
- Harbeck, M. (2002): Morphologische und molekularbiologische Aspekte der Knochenalterung: Untersuchungen zur Liegezeitbestimmung. Diplomarbeit, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
- Harbeck, M.; Dobberstein, R.; Ritz-Timme, S.; Schröder, I.; Grupe, G. (2006): Degradation von Biomolekülen in Knochen: Auswirkung auf die biologische Spurenkunde am Beispiel stabiler Isotopenverhältnisse im Kollagen. *Anthropologischer Anzeiger* 64 (3): 273-282
- Harbeck, M.; Ritz-Timme, S.; Schröder, I.; Oehmichen, M.; von Wurmb-Schwark, N. (2004): Degradation von Biomolekülen: Eine vergleichende Studie zur Diagenese von DNA und Proteinen in humanem Knochengewebe. *Anthropologischer Anzeiger* 62 (4): 387-396
- Hare, P.E.; Fogel, M.L.; Stafford, T.W.S.; Mitchell, A.D.; Hoering, T.C. (1991): The isotopic composition of carbon and nitrogen in individual amino acid isolated from modern and fossil proteins. *Journal of Archaeological Science* 18: 277-292
- Harrison, R.G.; Katzenberg, M.A. (2003): Paleodiet studies using stable carbon isotopes from bone apatite and collagen: Examples from southern Ontario and San Nicolas Island, California. *Journal of Anthropological Archaeology* 22: 227-244
- Harsányi, L. (1993): Differential diagnosis of human and animal bone. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 79-94
- Haynes, S.; Searle, J.B.; Bretman, A.; Dobney, K.M. (2002): Bone preservation and ancient DNA: The application of screening methods for predicting DNA survival. *Journal of Archaeological Science* 29: 585-592
- Heaton, T.H.E.; Vogel, J.C.; la Chevallerie, J.C.; Collet, G. (1986): Climatic influence on the isotopic composition of bone nitrogen. *Nature* 322: 822-823
- Hedges, R.E.M. (2001): Overview – Dating in archaeology: Past, present and future. In Brothwell, D.R.; Pollard, A.M. (Hrsg): *Handbook of Archaeological Science*. John Wiley & Sons, West Sussex: 3-8
- Hedges, R.E.M. (2002): Bone diagenesis: An overview of processes. *Archaeometry* 44: 319-328
- Hedges, R.E.M. (2003): One Bone collagen-apatite-carbonate isotopic relationships. *International Journal of Osteoarchaeology* 13: 66-79
- Hedges, R.E.M.; Millard, A.R. (1995): Bones and groundwater: Towards the modelling of diagenetic processes. *Journal of Archaeological Science* 22: 155-164
- Hedges, R.E.M.; Millard, A.R.; Pike, A.W.G. (1995): Measurement and relationships of alteration of bone from three archaeological sites. *Journal of Archaeological Science* 22: 201-209
- Herrmann, B. (1977): On histological investigation of cremated human remains. *Journal of Human Evolution* 6: 101-103
- Herrmann, B. (1993): Light microscopy of excavated human bone. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 17-26
- Herrmann, B.; Grupe, G.; Hummel, S.; Piepenbrink, H.; Schutkowski, H. (1990): *Prähistorische Anthropologie, Leitfaden der Feld- und Labormethoden*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Hirsch, K. (2001a): Das Megalithgrab Panker, Kreis Plön, LA 33, Archäologische Funde und Befunde. Diplomarbeit, Christian-Albrechts-Universität, Kiel.
- Hirsch, K. (2001b): Das Megalithgrab von Matzwitz, Kreis Plön – Spiegel des Lebens und Fenster zum Jenseits?. *Archäologische Informationen* 24: 239-246
- Hoika, J. (1990): Megalith graves in the funnel beaker culture of Schleswig-Holstein. *Przeglad Archaeology* 37: 53-119

- Holden, J.L.; Phakey, P.P.; Clement, J.G. (1995): Scanning electron microscope observation of incinerated human femoral bone: A case study. *Forensic Science International* 74: 17-28
- Holland, D.T.; Anderson, B.E.; Mann, R.W. (1997): Human variables in the post-mortem alteration of human bone: examples from U.S. war casualties. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy, the Post-mortem Fate of Human Remains*. CRC Press, Boca Raton, Boston, London: 263-274
- Holmes, K.M.; Robson Brown, K.A.; Oates, W.P.; Collins, M.J. (2005): Assessing the distribution of African Palaeolithic sites: A predictive model of collagen degradation. *Journal of Archaeological Science* 32: 157-166
- Höss, M. (2000): Ancient DNA, Neanderthal population genetics. *Nature* 404: 453-454
- Höss, M.; Jaruga, P.; Zastawny, T.H.; Dizdaroglu, M.; Pääbo, S. (1996): DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nucleic Acids Research* 24: 1304-1307
- Höss, M.; Pääbo, S. (1993): DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research* 21: 3913-3914
- Hummel, S. (2003): *Ancient DNA Typing. Methods, Strategies and Applications*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York.
- Hummel, S.; Bramanti, B.; Finke, T.; Herrmann, B. (2000a): Evaluation of morphological sex determinations by molecular analysis. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 9-13
- Hummel, S.; Bramanti, B.; Schultes, T.; Kahle, M.; Haffner, S.; Herrmann, B. (2000b): Megaplex DNA typing can provide a strong indication of the authenticity of ancient DNA amplifications by clearly recognizing any possible type of modern contamination. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 15-21
- Hummel, S.; Schultes, T.; Bramanti, B.; Herrmann, B. (1999): Ancient DNA profiling by megaplex amplifications. *Electrophoresis* 20: 1717-1721
- Hummel, S.; Schultes, T. (2000): From skeletons to fingerprints – STR typing of ancient DNA. *Ancient Biomolecules* 3: 103-116
- Hummel, S.; Schutkowski, H.; Herrmann, B. (1988): Advances in cremation research. *Actes des 3èmes Journées Anthropologiques Nontes et Monographies Techniques N°24, Éditions du CNRS, Paris*: 177-194
- Hummel, S.; Schutkowski, H. (1993): Approaches to the histological age determination of cremated human remains. In Grupe, G.; Garland, A.N. (Hrsg): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 111-123
- Hunger, H.; Leopold, D. (1978): *Identifikation*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York
- Huxley, A.K. (2005): Gestation age discrepancies due to acquisition artefact in the forensic fetal osteology collection at the National Museum of Natural History, Smithsonian Institution; USA. *American Journal of Forensic Medicine & Pathology* 26: 216-220
- Iacumin, P.; Bocherens, H.; Mariotti, A.; Longinelli, A. (1996): An isotopic palaeoenvironmental study of the human skeletal remains from the Nile Valley. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126: 15-30
- Invitek (2001): *Produktinformation zum InViSorb Forensic Kit I*
- Jackes, M.; Sherburne, R.; Lubell, D.; Barker, C.; Wayman, M. (2001): Destruction of microstructure in archaeological bone: A case study from Portugal. *International Journal of Osteoarchaeology* 11: 415-432
- Jans, M.M.E.; Kars, H.; Nielsen-Marsh, C.M.; Smith, C.I.; Nord, A.G.; Arthur, P.; Earl, N. (2002): In situ preservation of archaeological bone: A histological study within a multidisciplinary approach. *Archaeometry* 44: 343-352
- Jans, M.M.E.; Nielsen-Marsh, C.M.; Smith, C.I.; Collins, M.J.; Kars, H. (2004): Characterisation of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 31: 87-95

VII Literaturverzeichnis

- Jay, M.; Richards, M.P. (2006): Diet in the Iron Age cemetery population at Wetwang Slack East Yorkshire, UK: carbon and nitrogen stable isotope evidence. *Journal of Archaeological Science* 33: 653-662
- Jeffreys, A.J. (1993): DNA typing: Approaches and applications. *Journal of Forensic Science Society* 33: 204-211
- Jeffreys, A.J.; Allen, M.J.; Hagelberg, E.; Sonnberg, A. (1992): Identification of the skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis. *Forensic Science International* 56: 65-76
- Jobling, M.A.; Tyler-Smith, C. (1995): Fathers and sons – the Y-chromosome and human evolution. *Trends in Genetic* 11: 449-456
- Johanson, D.; Edgar, B. (2000): Lucy und ihre Kinder, mit Photographien von David Brill. Spektrum Adademischer Verlag. Berlin: 93
- Johnson, B.J.; Miller, G.H. (1997): Archaeological applications of amino acid racemization. *Archaeometry* 39: 265-287
- Jones, M. (2003): Ancient DNA in pre-Columbian archaeology: A review. *Journal of Archaeological Science* 30: 629-635
- Kaestle, F.A.; Horsburgh, K.A. (2002): Ancient DNA in Anthropology: Methods, applications, and ethics. *Yearbook of Physical Anthropology* 45: 92-130
- Kagerer, P.; Grupe, G. (2001): Age-at-death diagnosis and determination of life-history parameters by incremental lines in human dental cementum as an identification aid. *Forensic Science International* 118: 75-82
- Katz, B.J.; Harrison, C.G.A.; Man, E.H. (1979): The effects of the geothermal gradient on amino acid racemization. *Earth and Planetary Science Letters* 44: 279-286.
- Katzenberg, M.A. (2000): Stable isotopes analysis: A tool for studying past diet, demography, and life history. In Katzenberg, M.S.; Saunders, S.R. (Hrsg): *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. John Wiley & Sons, Inc. New York, Chichester, Weinheim: 305-326
- Kawasaki, T.; Takahashi, S.; Ikeda, K. (1985): Hydrolyapatite high-performance liquid chromatography: Column performance for proteins. *European Journal of Biochemistry* 152: 361-371
- Keeling, C.D. (1973): Industrial production of carbon dioxide from fossil fuels and limestone. *TellusXXV*: 174-198
- Kemp, B.M.; Smith, D.G. (2005): Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth. *Forensic Science International* 154: 53-61
- Kleinig, H., Sitte, P. (1999): *Zellbiologie*, 4. neuüberarbeitete Auflage, ein Lehrbuch. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, Jena, New York
- Kleter, G.A.; Damen, J.J.; Everts, V. Niehof, J.; ten Cate, J.M. (1994): The influence of organic matrix of bovine root dentin in vitro. *Journal of Dental Research* 73: 1523-1529
- Klont, B.; Damen, J.J.; ten Carte, J.M. (1991): Degradation of bovine incisor root collagen in an in vitro caries model. *Archives of Oral Biologiy* 36: 299-304
- Knight, B.; Lauder, I. (1969): Methods of dating skeletal remains. *Human Biology* 41: 322-341
- Koch, P.L. (1998): Isotopic reconstruction of past continental environments. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 26: 573-613
- Koch, P.L.; Tuross, N.; Fogel, L.M. (1997): The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatit. *Journal of Archaeological Science* 24: 417-429
- Kochen, K. (1952): *Klima-Atlas von Bayern*. Klima-Abt. des Zentralamtes des deutschen Wetterdienstes, Bad Kissingen
- Kolmann, C.J.; Tuross, N. (2000): Ancient DNA analysis of human population. *American Journal of Physical Anthropology* 111: 5-23

- Krings, M.; Capelli, C.; Tschentscher, F.; Geisert, H.; Meyer, S.; von Haeseler, A.; Grossschmidt, K.; Possnert, G.; Paunovic, M.; Pääbo, S. (2000): A view of neandertal genetic diversity. *Nature Genetics* 26: 144-146
- Krings, M.; Stone, A.; Schmitz, R.W.; Krainitzki, H.; Stoneking, M.; Pääbo, S. (1997): Neandertal DNA sequences and the origin of modern human. *Cell* 90: 19-30
- Krueger, H.W. (1991): Exchange of carbon with biological apatite. *Journal of Archaeological Science* 18: 355-361
- Kronick, P.L.; Cooke, P. (1996): Thermal stabilisation of collagen fibres by calcification. *Connective Tissue Research* 33: 275-282
- Kumar, S.S.; Nasidze, I.; Walimbe, S.R.; Stoneking, M. (2000): Brief communication: Discouraging prospects for ancient DNA from India. *American Journal of Physical Anthropology* 113: 12-133
- Landis, W.J. (1996): Mineral characterization in calcifying tissues: Atomic, molecular and macromolecular perspectives. *Connective Tissue Research* 34: 239-246
- Lanting, J.N.; Brindley, A.L. (1998): Dating cremated bone: The dawn of a new era. *Journal of Irish Archaeology* 9: 1-7
- Lanting, J.N.; Brindley, A.L. (2000): A exciting new development: Calcined bones can be ¹⁴C-dated. *The European Archaeologist* 13: 7-9
- Lambert, J.B.; Simpson, S.V.S.; Szpunar, C.B.; Buikstra, J.E. (1985): Bone diagenesis and dietary analysis. *Journal of Human Evolution* 14: 477-482
- Lambert, J.B.; Szpunar, C.B.; Buikstra, J.E. (1979): Chemical Analysis of excavated human bone from middle and late woodland site. *Archaeometry* 21: 115-129
- Lammers, W. (1953): *Die Schlacht bei Hemmingstedt*. Westholsteinische Verlagsanstalt Boyens & Co, Heide
- Lassen, C.; Hummel, S.; Herrmann, B. (1994): Comparison of DNA extraction and amplification from bone and mummified soft tissue. *International Journal of Legal Medicine* 107: 152-155
- Lassen, C.; Hummel, S.; Herrmann, B. (2000): Molecular sex identification of stillborn and neonate individuals („Traufkinder“) from the burial site Aegerten. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 1-8
- Lee-Thorp, J.A.; Sealy, J.C.; Morris, A.G. (1993): Isotopic evidence for diets of prehistoric farmers in South Africa. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg): *Prehistoric Human Bone, Archaeology at the Molecular Level*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York: 99-119
- Lee-Thorp, J.A.; Sealy, J.C.; van der Merwe, N.J. (1989): Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite, and their relationship to diet. *Journal of Archaeological Science* 16: 585-599
- Lee-Thorp, J.A.; Sponheimer, M. (2003): Three case studies used to reassess the reliability of fossil bone and enamel isotope signals for paleodietary studies. *Journal of Anthropological Archaeology* 22: 208-216
- Lee-Thorp, J.A.; van der Merwe, N.J. (1991): Aspects of the chemistry of modern and fossil biological apatites. *Journal of Archaeological Science* 18: 343-354
- LeGeros, R.Z. (1981): Apatites in biological systems. *Progress in Crystal Growth and Characterization* 4: 1-45
- Lehmann, U.; Kreipe, H. (2001): Real-Time PCR Analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. *Methods* 25: 409-418
- Liang, Y.; Richter, F.M.; Watson, E.B. (1996): Diffusion in silicate melts: II Multicomponent diffusion in CaO-Al₂O₃-SiO₂ at 15000° and 1GPa. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60: 5021-5035
- Liden, K.; Takahashi, C.; Nelson, D.E. (1995): The effects of lipids in stable carbon analysis and the effects of NaOH Treatment on the composition of extracted bone collagen. *Journal of Archaeological Science* 22: 321-326

VII Literaturverzeichnis

- Lilie, M.C.; Richards, M.P. (2000): Stable isotope analysis and dental evidence of diet at the Mesolithic-Neolithic transition in Ukraine. *Journal of Archaeological Science* 27: 965-972
- Lindahl, T. (1993): Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709-715
- Lindahl, T.; Poinar, G.O. (1993): Recovery of antediluvian DNA. *Nature* 365: 700
- Linderholm, J.; Lundberg, E. (1994): Chemical Characterization of various archaeological soil samples using main and trace elements determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Archaeological Science* 21: 303-314
- Liu, J.; Johnson, R.M.; Traweek, S.T. (1993): Rearrangement of the BCL—2 gene in follicular lymphoma, detection by PCR in both fresh and fixed tissue samples. *Diagnosis of Molecular Pathology* 2: 241-247
- Loeb, L.A.; Preston, B.D. (1986): Mutagenesis by apurinci/apurimidnic sites. *Annual Review of Genetics* 20: 201-230
- Long, J.R.; Dindot, J.L.; Zebroski, H.; Kihne, S.; Clark, R.H.; Campbell, A.A.; Stayton, P.S.; Drobry, G.P. (1998): A peptide that inhibits hydroxylapatite growth is in an extended conformation on the crystal surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 95: 12083-12087
- Lorenz, R.J. (1996): *Grundbegriffe der Biometrie*. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck
- Lösch, S. (2003): Nahrungsnetze im frühneolithischen Nevalı-Çori – Rekonstruktion mittels stabiler C-, N- und O-Isotope in archäologischen Skelettfunden. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- Lösch, S.; Grupe, G. and Peters, J. (im Druck): Stable isotopes and dietary adaptations in humans and animals at Pre-Pottery Neolithic Nevalı Çori, SE-Anatolia. *American Journal of Physical Anthropology* 131: 181-193
- Lubinski, P.M. (1996): Fish head, fish heads: An experiment on differential bone preservation in a salmonid fish. *Journal of Archaeological Science* 23: 175-181
- Luz, B.; Kolodny, Y. (1989): Oxygen isotope variation in bone phosphate. *Applied Geochemistry* 4: 317-323
- Luzzana, U.; Mentasti, T.; Opstvedt, J.; Nygard, E.; Moretti, V.M.; Valfré, F. (1999): Racemization kinetics of aspartic acid in fish material under different conditions of moisture, pH and Oxygen pressure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 2879-2885
- Lygo, J.E.; Johnson, P.E.; Holdaway, D.J.; Woodroffe, S.; Whitaker, J.F.; Clayton, T.M.; Klimpton, C.P.; Gill, P. (1994): The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework. *International Journal of Legal Medicine* 107: 77-89
- Lyman, R.L. (1994): *Vertebrate Taphonomy*. Cambridge Manuals in Archaeology, Cambridge University Press, Cambridge
- MacHugh, D.E.; Ceiridwen, J.E.; Bailey, J.F.; Bancroft, D.R.; Bradley, D.G. (2000): The extraction and analysis of ancient DNA from bone and teeth: A survey of current methodologies. *Ancient Biomolecules* 3: 81-102
- Marfunin, A.S. (1979): *Spectroscopy, luminescence and radiation centers in minerals*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Marshall, E. (1990): Racemization dating: Great expectations. *Science* 247: 799
- Martin, R.B.; Burr, D.B.; Sharkey, N.A. (1998): *Skeletal tissue mechanics*. Springer-Verlag, New York
- Masters, P. (1987): Preferential preservation of noncollagenous protein during bone diagenesis: Implications for chronometric and stable isotopic measurement. *Geochimica et Cosmochimica Acta*.51: 3209-3214
- Matsu'ura, S.; Ueta, N. (1980): Fraction depend variation of aspartic acid racemization age of fossil bone. *Nature* 286: 883-885
- May, H.; Murphy, S.; Kay-Tee, K. (1994): Age associated bone loss in men and women and its relationship to weight. *Age and Ageing* 23: 235-240

- Mayne Correia, P.M. (1997): Fire modification of bone: A review of the literature. In Haglund, W.D; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy. The Post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 13-26
- Mays, S. (2000): New directions in the analysis of stable isotopes in excavated bones and teeth. In Cox, M.; Mays, S. (Hrsg.): *Human Osteology in archaeology and forensic science*. Greenwich Medical Media Ltd., London: 425-438
- McCoy, W.D (1987): The precision of amino acid geochronology and paleothermometry. *Quaternary Science Review* 6: 43-54
- McGovern-Wilson, R.; Quinn, C. (1996): Stable Isotope analysis of ten individuals from Afetna, Saipan, Northern Mariana Island. *Journal of Archaeological Science* 23: 59-65
- McKinley, J.I. (1994): Bone fragment size in British cremation burials and its implications for pyre technology and ritual. *Journal of Archaeological Science* 21: 339-342
- McKinley, J.I. (2000): The analysis of cremated bone. In Cox, M.; Mays, S. (Hrsg) *Human Osteology in Archaeology and Forensic Science*. Greenwich Medical media Ltd, London: 403-421
- McKinley, J.I.; Bond, J.M. (2001): Cremated bone. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 281-283
- Medina, J.J. (1998): *Die Uhr des Lebens; wie und warum wir altern*. Birkhäuser-Verlag, Basel
- Meier, T.; Eibl, F. (Hrsg., in Vorbereitung): *Leben an Donau und Lech. Die mittelalterlichen Siedlungen von Kelheim-Kanal I und Igling bei Landsberg*
- Meissner, C.; von Wurmb, N. (1998): Sensitive detection of the 4977 bp Deletion in human mitochondrial DNA of young individuals. *BioTechniq* 25: 652-665
- Merbs, C.F. (1997): Eskimo skeleton taphonomy with identification of possible polar bear victims. In Haglund, W.D, Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy. The Post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 249-262
- Merriwether, D.A.; Rothammer, F.; Ferrel, R.E. (1994): Genetic variation in the new world: Ancient teeth, bone and tissue as sources of DNA. *Experientia* 50: 592-601
- Michel, V.; Idefonese, Ph.; Morin, G. (1996): Assessment of archaeological bone and dentine preservation from Lazaret Cave (Middle Pleistocene) in France. *Palaeogeography, Paleoclimatology, Palaeoecology* 126: 109-119
- Micozzi, M.S. (1997): Frozen environment and soft tissue preservation. In Haglund, W.D, Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy. The post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 171-180
- Miles, C.A.; Ghelashvili, M. (1999): Polymer-in-a-box mechanism for the thermal stabilization of collagen molecules in fibers. *Biophysical Journal* 76: 3243-32452
- Miles, C.A.; Sionkowska, A.; Hulin, S.L.; Sims, T.J.; Avery, N.C.; Bailey, A.J. (2000): Identification of an intermediate state in the helix-coil-degradation of collagen by ultraviolet light. *Journal of Biological Chemistry* 275 (42): 33014-33020
- Millard A. (2001): The deterioration of bone. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 637-645
- Millard, A.R.; Hedges, R.E.M. (1995): The role of the environment in uranium uptake by buried bone. *Journal of Archaeological Science* 22: 239-250
- Miller, G.H.; Beaumont, P.D.; Deacon, H.J.; Brooks, A. S.; Hare, P.E.; Jull, A.J.T. (1999): Earliest modern humans in southern Africa dated by isoleucine epimerization in ostrich eggshell. *Quaternary Science Reviews* 18: 1537-1548

VII Literaturverzeichnis

- Montgomery, J.; Evans, J.A.; Powlesland, D.; Roberts, C.A. (2005): Continuity or colonization in Anglo-Saxon England? Isotope evidence for mobility, subsistence practice, and status at west Heslerton. *American Journal of Physical Anthropology* 126: 123-138
- Montiel, R.; Malgosa, A.; Eulália, S. (1997): Overcoming PCR-inhibitors in ancient DNA extracts from teeth. *Ancient Biomolecules* 1: 221-226
- Müller, J.H. (2001): PCR – Polymerase-Kettenreaktion. Spektrum Akademischer Verlag. Heidelberg, Berlin
- Munson, P.J. (2000): Age correlated differential destruction of bones and its effect on archaeological mortality profiles of domestic sheep and goats. *Journal of Archaeological Science* 27: 391-407
- Nelson, B.K., DeNiro, M.J.; Schoeninger, M.J.; DePaolo, D.J. (1986): Effects of diagenesis on strontium, carbon, nitrogen and oxygen concentration and isotopic composition of bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 50: 1941-1949
- Newesely, H. (1989): Fossil bone apatit. *Applied Geochemistry* 4: 233-245
- Newesely, H.; Herrmann, B. (1980): Ab- und Umbauvorgänge der biologischen Hartgewebe (Knochen, Zähne) unter langer Liegezeit. *Berliner Beiträge zur Archaeometrie* 5: 1980-1986
- Newton, C.R.; Graham, A. (1997): PCR. Spektrum Akademischer Verlag. Berlin, Heidelberg, New-York
- Nicholson, G.J. (2002): Detection of bone glue treatment as a major source of contamination in ancient DNA analyses. *American Journal of Physical Anthropology* 118: 117-120
- Nicholson, R.A. (1993): A morphological investigation of burnt animal bone and evaluation of its utility in archaeology. *Journal of Archaeological Science* 20: 411-428
- Nicholson, R.A. (1996): Bone degradation, burial medium and species representation: Debunking the myths, an experiment-based approach. *Journal of Archaeological Science* 23: 513-533
- Nicholson, R.A. (1998): Bone degradation in a compost heap. *Journal of Archaeological Science* 25: 393-403
- Nicholson, R.A. (2001): Taphonomic Investigation. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 179-187
- Nielsen-Marsh, C.M. (2002): Biomolecules in fossil remains: Multidisciplinary approach to endurance. *The Biochemist*: 12-14
- Nielsen-Marsh, C.M.; Gernaey, A.; Turner-Walker, G.; Hedges, R.E.M.; Pike, A.; Collins, M.J. (2000): The chemical degradation of bone. In Cox, M.; Mays, S. (2000): *Human Osteology in Archaeology and Forensic Science*, Greenwich Medical Media Ltd, London: 439-454
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (1997): Dissolution experiments on modern and diagenetically altered bone and the effect on the infrared splitting factor. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168: 485-490
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (1999): Bone porosity and the use of mercury intrusion porosimetry in bone diagenesis studies. *Archaeometry* 41
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (2000a): Patterns of diagenesis in bone I: The effects of site environments. *Journal of Archaeological Science* 27: 1139-1159
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (2000b): Patterns of diagenesis in bone II: Effects of acetic acid treatment and the removal of diagenetic CO. *Journal of Archaeological Science* 27: 1151-1159
- Ochinnikov, I.V.; Götherström, A. Romanova, G.P.; Kharitonov, V.M.; Lidén, K.; Goodwin, W. (2000): Molecular analysis of Neandertal DNA from the northern Caucasus. *Nature* 404: 490-493
- O'Connel, T.C.; Hedges, R.E.M. (1999): Isotopic comparison of hair and bone: Archaeological analysis. *Journal of Archaeological Science* 26: 661-665

- O'Connor, P.M.; Fox, W.B. (1989): Isolation and characterization of proteins crosslinks to DNA by the antitumor agent methylene dimethansulfate and its hydrolytic product formaldehyde. *Journal of Biological Chemistry* 264: 6391-6397
- Oemichen, M.; Gehl, H.-B.; Meissner, C.; Petersen, D.; Höche, W.; Gerling, I.; König, H.G. (2003): Forensic pathological aspects of post-mortem imaging of gunshot injury to the head: Documentation and biometric data. *Acta Neuropathologica* 105: 570-580
- Ogram, A.V.; Mathot, M.L.; Harsh, J.B.; Boyle, J.; Pettigrew, C.A. (1994): Effects of DNA-polymers length on its adsorption to soils. *Applied and Environmental Microbiology* 60 (2): 393-396
- Ohtani, S. (1995): Estimation of age from dentin utilizing the racemization of aspartic acid: Influence of pH. *Forensic Science International* 75: 181-187
- Ohtani, S. (1998): Rate of Aspartic Acid Racemization in Bone. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 19: 284-287
- Ohtani, S. Ito, R. Yamamoto, T. (2003): Differences in the D/L aspartic ratios in dentine among different of teeth from the same individual and estimated age. *International Journal of Legal Medicine* 117: 149-152
- Ohtani, S.; Matsushima, Y.; Kobayashi, Y.; Kishi, K. (1998): Evaluation of aspartic acid racemization ratio in the human femur for age estimation. *Journal of Forensic Science* 43: 949-953
- Ohtani, S.; Yamamoto, T.; Sugimoto, H.; Sashima, M.; Satoh, M. (2000): Age-related changes in the D-aspartic acid content of the teeth of the senescence-accelerated mouse. *Archives of Oral Biology* 45: 13-18
- Ohtani, S.; Yoshihiro, Y.; Yamamoto, T.; Arany, S.; Gonmori, K.; Yoshioka, N. (2004): Comparison of age estimated from degree of racemization of aspartic acid, glutamic acid and alanin in the Femur. *Journal of Forensic Science* 49: 441-445
- Ortner, D.J.; von Endt, D.W.; Robinson, M.S. (1972): The effect of temperature on protein decay in bone: Its significance in nitrogen dating of archaeological specimens. *American Antiquity* 37: 514-519
- O'Rourke, D.H.; Hayes, G.M.; Carlyle, S.W. (2000): Ancient DNA Studies in physical Anthropology. *Annual Review of Anthropology* 29: 217-42
- Owsley, D.W., Compton, B.E. (1997): Preservation in late 19th century iron coffin burials. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy. The Post-mortem Fate of Human Remains*. CRC Press, Boca Raton, Boston, London: 511-526
- Pääbo, S. (1989): Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 86: 1939-1943
- Pääbo, S.; Poinar, H.; Serre, D.; Jaenick-Després, V.; Hebler, J.; Rohland, N.; Kuch, M.; Krause, J.; Vigilant, L.; Hofreiter, M. (2004): Genetic analysis from ancient DNA. *Annual Review of Genetic* 38: 645-679
- Pääbo, S.; Wilson, A.C. (1991): Miocene DNA sequences – a dream come true?. *Current Biology* 1: 45-46
- Paget, E.; Monrozier, L.J.; Simonet, P. (1992): Adsorption of DNA on clay minerals: Protection against DNase I and influence on gene transfer. *FEMS Microbiology Letters* 97: 31-40
- Pancorbo, M.M.; Castro, A.; Alonso, S.; Fernández-Fernández, I.; Bar, Barbero, c.; Garcia-Orad, A.; Izaguirre, N.; Iriando, M.; de la Rúa, M. (1995): Genetic typing with HUMTHO1, HUMVWA31A; HUMFES/FPS short tandem repeat loci. D1S80 variable number tandem repeat locus and HI ADQ of recent and from XII-XII centuries spongy bone. *Electrophoresis* 16: 1612-1613
- Parson, T.J., Weedn, V.W. (1997): Preservation and recovery of DNA in post-mortem specims and trace samples. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy. The Post-mortem Fate of Human Remains*. CRC Press, Boca Raton, Boston, London: 109-138
- Pate, F.D. (1994): Bone chemistry and paleodiet. *Journal of Archaeological Method and Theory* 1: 161-209

VII Literaturverzeichnis

- Pate, F.D.; Hutton, J.T.; Norrish, K. (1989): Ionic exchange between soil solution and bone: Toward a predictive model. *Applied Geochemistry* 4: 203-316
- Person, A.; Bocherens, H.; Saliège, J.F.; Paris, F.; Zeitoun V.; Gérard, M. (1995): Early diagenetic evolution of bone phosphat: An x-ray diffractometry analysis. *Journal of Archaeological Science* 22: 211-221
- Person, A.; Bocherens, H.; Mariotti, A.; Renard, M. (1996): Diagenetic evolution and experimental heating of bone phosphate. *Paleogeography, Paleoclimatology, Palaeoecology* 126: 135-149
- Pfeiffer, H.; Mörnstad, H.; Teivens, A. (1995): Estimation of chronologic age using the acid racemization method on human cortical bone. *International Journal of Legal Medicine* 108: 24-26
- Pfeiffer, S. (2000): Palaeohistology: Health and disease. In Katzenberg, M.A.; Saunders, S.R. (Hrsg): *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. Wiley-Liss, Inc, New York, Chichester, Weinheim: 278-302
- Pfeiffer, S.; Varney, T.L. (2000): Quantifying histological and chemical preservation in archaeological bone. In Ambrose, S.H.; Katzenberg, M.A. (Hrsg): *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis*. Kluwer Academic/Plenum Publishers: 141-158
- Pfretzschner, H.U. (2000): Microcracks and fossilization of Haversian bone. *Neues Jahrbuch für Geologische Paläontologie, Abhandlungen* 216: 413-432
- Piepenbrink, H. (1984): Beispiele biogener Dekompositionerscheinungen an Knochen unter längerer Liegezeit. *Anthropologischer Anzeiger* 42: 241-251
- Piepenbrink, H. (1989): Examples of chemical changes during fossilisation. *Applied Geochemistry* 4: 273-280
- Plate, U.; Arnold, S.; Stramann, U.; Wiesmann, H.P.; Höhling, H.J. (1998): General principle of ordered apatitic crystal formation in enamel and collagen rich hard tissues. *Connective tissue research* 38: 149-157
- Poinar, H.N.; Hofreiter, M.; Spaulding, W.G.; Martin, P.S.; Stankiewicz, I. (1998): Molecular coproscopy: Dung and diet of the extinct ground sloth *Neothrotheriops shastensis*. *Science* 381: 402-406
- Poinar, H.N.; Höss, M.; Bada, J.L.; Pääbo, S. (1996): Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. *Science* 272: 864-866
- Poinar, H.N.; Stankiewicz, B.A. (1999): Protein preservation and DNA retrieval from ancient tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 96: 8426-8431
- Polet, C.; Katzenberg, M.A. (2003): Reconstruction of the diet in a medieval monastic community from the coast of Belgium. *Journal of Archaeological Science* 30: 525-533.
- Pollard, A.M.; Wilson, L. (2001): Global biogeochemical cycles and isotope systematics – how the world works. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 191-201
- Price TD, Knipper C, Grupe G, Smercka V (2004): Strontium isotopes and prehistoric human migration: The Bell Beaker period in Central Europe. *European Journal of Archaeology* 7: 9-40.
- Price, T.D.; Schoeninger, M.J.; Armelagos, G.J. (1985): Bone chemistry and past behavior: An Overview. *Journal of Human Evolution* 14: 419-447
- Privat, K.L.; O'Connell, T.C.; Richards, M.P. (2002): Stable isotope analysis of human and faunal remains from the anglo-saxon cemetery at Berinsfield, Oxfordshire: Dietary and social implications. *Journal of Archaeological Science* 29: 779-790
- Prowse, T.L.; Schwarcz, H.P.; Saunders, S.R.; Macchiarelli, R.; Bondioli, L. (2005): Isotopic evidence for age-related variation in diet from Isola Sacra, Italy. *American Journal of Physical Anthropology* 128: 2-13
- Pusch, C.M.; Broghammer, M.; Scholz, M. (2000): Cremation practices and survival of ancient DNA: Burnt bone analysis via RAPD-mediated PCR. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 237-251.

- Quattropiani, L.; Charelt, L.; de Lumley, N., Menu, M. (1999): Early Palaeolithic bone diagenesis in the Arago cave at Tautavel, France 63: 801-812
- Radosevich, S.C. (1993): The six deadly sins of trace element analysis: a case of wishful thinking in science. In Sandford, M.K. (Hrsg): *Investigation of Ancient Human Tissue: Chemical Analyses in Anthropology*. Gordon & Breach, New York: 269-332
- Rafalska, J.; Engel, M.H.; Lanier, W.P. (1991): Retardation of racemization rates of amino acid incorporated into melanoids. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 55: 3669-3675
- Rankin, D.R.; Narveson, S.D.; Birkby, W.H.; Lai, J. (1996): Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis on DNA from human compact bone. *Journal of Forensic Science* 41: 40-46
- Reiche, I.; Favre-Quattropiani, L.; Calligaro, T.; Salomon, J.; Bocherens, H.; Charlet, L.; Menu, M. (1999): Trace element composition of archaeological bones and post-mortem alteration in the burial environment. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 150: 656-662
- Reiche, I., Favre-Quattropiani, L.; Vignaud, C.; Bocherens, H.; Charlet, L.; Menu, M. (2003): A multi-analytical study of bone diagenesis: The Neolithic site of Bercy (Paris, France). *Measurement Science and Technology* 14: 1608-1619
- Reiche, I.; Vignaud, C.; Menu, M. (2002): The crystallinity of ancient bone and dentine: New insights by transmission electron microscopy. *Archaeometry* 44: 447-459
- Reimann, W.; Prokop, O. Geserick, G. (1990): *Vademecum, Gerichtsmedizin für Mediziner, Kriminalisten und Juristen; Thanatologie, Traumatologie, forensische Serogenetik, Spurenkunde, Toxikologie und Rechtsfragen*. Verlag Gesundheit GmbH, Berlin
- Rey, C.; Miguel, J.L.; Facchini, L.; Legrand, A.P.; Glimcher, M.J. (1995): Hydroxyl groups in bone mineral. *Bone* 16: 583-586
- Rey, C.; Kim, H.-M.; Gerstenfeld, L.; Glimcher, M.J. (1996): Characterization of the apatite crystals of bone and their maturation in osteoblast cell culture: Comparison with native bone crystals. *Connective tissue research* 35: 343-349
- Richards, M.B.; Sykes, B.C.; Hedges, R.E.M. (1995): Authenticating DNA extracted from ancient skeletal remains. *Journal of Archaeological Science* 22: 291-299
- Richards, M.P.; Fuller, B.T.; Molleson, T.I. (2005): Stable isotope palaeodietary study of humans and fauna from the multiperiod (Iron Age, Viking and Late Medieval) site of Newark Bay, Orkney. *Journal of Archaeological Science* 33: 122-131
- Richards, M.P.; Pearson, J.A.; Molleson, T.I.; Russel, N.; Martin, L. (2003): Stable isotope evidence of diet at Neolithic Catalhöyük, Turkey. *Journal of Archaeological Science* 30: 67-76
- Riede, U.N.; Jonas, I.; Kirn, B.; Usener, U.H.; Kreuzt, W.; Schlickewey, W. (1992): Collagen stabilization induced by natural humic substances. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery* 111: 259-264
- Ritz-Timme, S. (1999): Lebensaltersbestimmung aufgrund des Racemisierungsgrades von Asparaginsäure, Grundlagen, Methodik, Möglichkeiten, Grenzen, Anwendungsbereiche. In Berg, S.; Brinkmann, B. (Hrsg): *Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*. Schmidt-Römhild, Lübeck
- Ritz-Timme, S.; Collins, M. (2002): Racemization of aspartic acid in human proteins. *Ageing Research Reviews* 1: 43-59
- Ritz-Timme, S.; Rochholz, G.; Stammert, R.; Ritz, H.-J. (2002): Biochemische Altersschätzung. Zur Frage genetischer und soziokultureller (ethnischer) Einflüsse auf die Racemisierung von Asparaginsäure in Dentin. *Rechtsmedizin* 12: 203-206
- Rizzoli, R.; Bonjour, J.P. (1999): Physiology of Calcium and Phosphate Homeostasis. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of bone and cartilage metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 247-258

VII Literaturverzeichnis

- Roberts, S.J.; Smith, C.I.; Millard, A.; Collins, M.J. (2002): The taphonomy of cooked bone: Characterizing boiling and its physico-chemical effects. *Archaeometry* 44: 485-494
- Robins, J.; Jones, M.; Matisoo-Smith, E. (2001): Amino acid racemization dating in New Zealand: An overview. *Auckländische Abhandlungen*, Auckland University, New Zealand
- Robins, S.P. (1999): Fibrillogenesis and maturation of Collagens. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 31-57
- Robling, A.G.; Stout, S.D. (2000): Histomorphometry of human cortical bone: Applications to age estimation. In Katzenberg, M.S.; Saunders, S.R. (Hrsg): *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. John Wiley & Sons, Inc: New York, Chichester, Weinheim: 187-2013
- Rollo, F., Massimo, Ubaldi, Marota, I.; Luciani, S.; Ermini, L. (2002): DNA diagenesis: Effect of environment and time on human bone. *Ancient Biomeolecules* 4: 1-7
- Romanowski, G.; Lorenz, M.G.; Wackernagel, W. (1991): Adsorption of plasmid DNA to mineral surfaces and protection against DNaseI. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1057-1061
- Rosen, C.J. (1999): Age-related Osteoporosis and skeletal markers of bone turnover. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 479-489
- Rösing, F.W.; Graw, M.; Marre, B.; Ritz-Timme, S.; Rothschild, M.A.; Rötzscher, K.; Schemling, A.; Schröder, I.; Geserick, G. (2005): Arbeitsgemeinschaft für Forensische Altersdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. Empfehlung für die forensische Geschlechts- und Altersdiagnose am Skelett. *Rechtsmedizin* 15: 32-38
- Rosmus, J.; Vanickova, O.; Mark, J.; Deyl, Z. (1968): Studies on the structure of Collagen V; the site of binding of trivalent iron on collagen. *Experientia* 23: 898
- Rudolf, M.; Müller, J. (2004): *Multivariate Verfahren. Eine praxisorientierte Einführung mit Anwendungsbeispielen in SPSS*. Hogrefe-Verlag. Göttingen, Bern, Toronto
- Saiki, R.K.; Scharf, S.J.; Faloona, F.; Mullis, K.B.; Horn, G.T.; Ehrlich, H.A.; Arnheim, N. (1985): Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction analysis for diagnosis of sickle-cell anaemia. *Science* 230: 1350-1354
- Saliège, J.F.; Person, A.; Paris, F. (1995): Preservation of ¹³C/¹²C original ratios and ¹⁴C dating of the mineral fraction of human bones from Sahara tombs, Niger. *Journal of Archaeological Science* 22: 301-312
- Sandford, M.K. (1993): Understanding the biogenic-diagenetic continuum: Interpreting elemental concentration of archaeological bone. In Sandford, M.K. (Hrsg.): *Investigation of Ancient Human Tissue: Chemical Analysis in Anthropology*. Gordon & Breach, New-York: 3-57
- Sandford, M.K.; Weaver, D.S. (2000): Trace element research in anthropology: New perspectives and challenges. In Katzenberg, M.A.; Saunders, S.R. (Hrsg): *Biological Anthropology of the Human skeleton*. Wiley-Liss Inc. New York, Chichester, Weinheim: 329-350
- Scheffer, F.; Schachtschabel, P. (2002): *Lehrbuch der Bodenkunde*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Scheuer, L. (2002): Application of osteology to forensic medicine. *Clinical Anatomy* 15: 297-312
- Schmerer, W.M.; Hummel, S.; Herrmann, B. (1997): Reproduzierbarkeit von aDNA-typing. *Anthropologischer Anzeiger* 55: 199-206
- Schmerer, W.M.; Hummel, S.; Herrmann, B. (2000): STR-genotyping of archaeological human bone: Experimental design to improve reproducibility by optimisation of DNA extraction. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 29-35
- Schmidt, K. (2000): „Zuerst kam der Tempel, dann die Stadt“. Vorläufiger Bericht zu den Grabungen am Gebökli Tepe und am Gürcütepe 1995-1999. *Istanbuler Mitteilung* 50: 5-40

- Schmidt-Schultz, T.H.; Schultz, M. (2004): Bone protects proteins over thousands of years: Extraction, analysis, and interpretation of extracellular matrix proteins in archaeological skeletal remains. *American Journal of Physical Anthropology* 123: 30-39
- Schnitzer, M. (1982): Organic matter characterization. In Page, A.L.; Miller, R.H., Keeney, D.R. (Hrsg): *Methods of soil analysis*. American Society of Agronomy, Inc; Madison
- Schoeninger, M.J.; Hallin, K.; Reeser, H.; Valley, J.W.; Fournelle, J. (2003): Isotopic alteration of mammalian tooth enamel. *International Journal of Osteoarchaeology* 13: 11-19
- Schoeninger, M.J.; Moore, K.M.; Murray, M.L.; Kingston, J.D. (1989): Detection of bone preservation in archaeological and fossil samples. *Applied Geochemistry* 4: 281-292
- Scholz, M.; Giddings, I.; Pusch, M. (1998): A polymerase chain reaction inhibitor of ancient hard and soft tissue DNA extracts is determined as Human Collagen Typ I. *Analytical Biochemistry* 259: 283-286
- Schrimpf, G. (2002): *Gentechnische Methoden. Eine Sammlung von Arbeitsanleitungen für das molekularbiologische Labor*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin
- Schröder, I.; Dietrich, M.; Koch, J.; Weidner, M. (1998): Anthropologische Untersuchung von 27 spätrömischen Skeletten aus einem Gräberfeld in der Medardstraße in Trier. *Trierer Zeitschrift* 61: 343-364
- Schultes, T.; Hummel, S.; Herrmann, B. (1997a): Zuordnung isolierter Skelettelemente mittels aDNA-typing. *Anthropologischer Anzeiger* 55: 207-216
- Schultes, T.; Hummel, S.; Herrmann, B. (1997b): Recognizing and overcoming inconsistencies in microsatellite typing of ancient DNA samples. *Ancient Biomolecules* 1: 227-234
- Schultes, T.; Hummel, S.; Herrmann, B. (2000): Ancient DNA-typing approaches for the determination of kinship in a disturbed collective burial site. *Anthropologischer Anzeiger* 58: 37-44
- Schultz, M. (1997a): Microscopic investigation of excavated skeletal remains: A contribution to palaeopathologie and forensic medicine. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy, the Post-mortem Fate of Human Remains*. Boca Raton, Boston, London: 201-222
- Schultz, M. (1997b): Microscopic structure of bone. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy, the Post-mortem Fate of Human remains*. Boca Raton, Boston, London: 187-199
- Schultz, M. (2001): Paleohistopathology of bone: A new approach to the study of ancient diseases. *Yearbook of Physical Anthropology* 44: 106-147
- Schutzkowski, H.; Herrmann, B.; Wiedemann, F.; Bocherens, H.; Grupe, G. (1999): Diet, Status and Decomposition at Weingarten: trace element and isotope analysis on early medieval skeletal material. *Journal of Archaeological Science* 26: 675-685
- Schweissing, M.M.; Grupe, G. (2003): Stable strontium isotopes in human teeth and bone: A key to migration events of the late roman period in Bavaria. *Journal of Archaeological Science* 30: 1373-1383.
- Sealy, J. (2001): Body tissue chemistry and palaeodiet. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 258-277
- Serre, D.; Langaney, A.; Chech, M.; Teschler-Nicola, M.; Paunovic, M.; Mennecier, P.; Hofreiter, M.; Possnert, G.; Pääbo, S. (2004): No evidence of Neanderthal mtDNA contribution to early modern human. *Cell* 2: 313-317
- Shan-Rong, S.H.I.; Key, M.E.; Kalra, K.L. (1991): Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhanced method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 39: 741-748
- Shedlock, A.M.; Haygood, M.G.; Pietsch, T.W.; Bentzen, P. (1997): Enhanced DNA extraction and PCR amplification of mitochondrial genes from formalin-fixed museum specimens. *Biotechniques* 22: 398-400
- Shipman, P. Foster, G.; Schoeninger, M.J. (1984): Burnt bones and teeth: An experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *Journal of Archaeological Science* 11: 307-325

VII Literaturverzeichnis

- Sillen, A.; Morris, A. (1996): Diagenesis of bone from Border Cave: Implications for the age of the Border Cave hominids. *Journal of Human Evolution* 31: 499-506
- Sillen, A.; Parkington, J. (1996): Diagenesis of bones from Eland's Bay Cave. *Journal of Archaeological Science* 23: 535-542
- Sillen, A.; Sealy, J.C. (1995): Diagenesis of strontium in fossil bone: a reconsideration of Nelson et al (1986). *Journal of Archaeological Science* 22: 313-320
- Smith, C.I.; Chamberlain, A.T.; Riley, M.S.; Cooper, A.; Stringer, C.B.; Collins, M.J. (2001): Neanderthal DNA: Not just old, but old and cold? *Nature* 10: 771-772
- Smith, C.I.; Chamberlain, A.T.; Riley, M.S.; Stringer, C.; Collins, M.J. (2003): The thermal history of human fossils and the likelihood of successful DNA amplification. *Journal of Human Evolution* 45: 203-217
- Smith, C.I.; Craig, O.E.; Prigodich, R.V.; Nielsen-Mars, C.M.; Jans, M.M.; Vermeer, C.; Collins, M.J. (2005): Diagenesis and survival of osteocalcin in archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 32: 105-113
- Smith, C.I.; Nielsen-Marsh, C.M.; Jans, M.M.E.; Arthur, P.; Nord, A.G.; Collins, M.J. (2002): The strange case of Apigliano: Early "fossilization" of medieval bone in southern Italy. *Archaeometry* 44: 405-415
- Smith, G.G.; Williams, K.M.; Wonnacott, D.M. (1978): Factors affecting the rate of racemization of amino acids and their significance to geochronology. *The Journal of Organic Chemistry* 43: 1-5
- Spemann, D. (1998): Untersuchungen zur Lichtemission von Fettkörpern beim Beschuss mit hochenergetischen Ionen und deren Anwendung zur bildgebenden Analytik von archäologischen Fundstücken. Diplomarbeit, Universität Leibzig
- Sponheimer, M.; Lee-Thorp, J.A. (1999): Oxygen isotopes in enamel carbonate and their ecological significance. *Journal of Archaeological Science* 26: 723-728
- Steffen, G. (2000): Farbe und Lumineszenz von Mineralien. Eine Einführung in die kristallchemischen und kristallphysikalischen Ursachen. Enke im Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Steinlechner, M.; Berger, B.; Niederstätter, H.; Parson, W. (2002): Rare failures in the amelogenin sex test. *International Journal of Legal Medicine* 116: 117-120
- Stevenson, F.J. (1994): Humus chemistry, Genesis, Composition Reactions. 1. Auflage, Wiley & Sons, New York
- Stiner, M.C.; Kuhn, S.L.; Weiner, S.; Bar-Yosef, O. (1995): Differential burning, recrystallization, and fragmentation of archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 22: 223-237
- Stone, A. (2000): Ancient DNA from skeletal remains. In Katzenberg, M.A.; Shelley, R.S. (Hrsg.): *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. Wiley-Liss, New York, Chichester, Weinheim: 351-371
- Stone, A.; Milner, G.R.; Pääbo, S.; Stoneking, M. (1996): Determination of ancient human skeletons using DNA. *American Journal of Physical Anthropology* 99: 231-238
- Strott (in Vorbereitung): Paläodemographie im mittelalterlichen Altbaiern – diachrone Trends. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- Stuart, B.L.; Dugan, K.A.; Allard, M.W.; Kearney (2006): Extraction of nuclear DNA from bone of skeletonized and fluid-preserved museum specimens. *Systematics and Biodiversity* 4: 133-136
- Stutz, A.J. (2002): Polarizing microscopy identification of chemical diagenesis in archaeological cementum. *Journal of Archaeological Science* 29: 1327-1347
- Subira, M.E.; Malgosa, A. (1993): The effect of cremation on the study of trace elements. *International Journal of Osteoarchaeology* 3: 115-118
- Sullivan, K.M.; Manucci, A.; Kimpton, C.P., Gill, P. (1993): A rapid and quantitative DNA sex test: Fluorescence-based PCR analysis of X-Y homologous gene amelogenin. *Biotechniques* 15: 636-641

- Taaffe, D.R.; Cauley, J.A.; Danielson, M.; Nevitt, M.C.; Lang, T.F.; Bauer, D.C.; Harris, T.B. (2001): Race and sex effects on the association between muscle strength, soft tissue, and bone mineral density in healthy elders: The health, aging, and body composition study. *Journal of Bone and Mineral Research* 16: 1343-1352
- Tattersaal, I. (1995): Neandertaler. Der Streit um unsere Ahnen. Birkenhäuser Verlag. Basel, Boston, Berlin
- Tauber, H. (1981): ¹³C evidence for dietary habitats of prehistoric man in Denmark. *Nature* 292: 332
- Taylor, R.E. (2001): Radiocarbon dating. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, LTD, Chichester, New York, Weinheim: 23-34
- Taylor, R.E.; Ennis, P.J.; Slota, P.J.; Payen, J.R.; Payen, L.A. (1989): Non-age-related variations in aspartic acid racemization in bone from a radiocarbon-dated late Holocene archaeological site. *Radiocarbon* 31: 1048-1056
- Taylor, R.E.; Hare, P.E.; White, T.D. (1995): Geochemical criteria for thermal alteration of bone. *Journal of Archaeological Science* 22: 115-119
- Thangaraj, K.; Reddy, A.G., Singh, L. (2002): Is the amelogenin gene reliable for gender identification in forensic casework and prenatal diagnosis?. *International Journal of Legal Medicine* 116: 121-123
- Threagold, J.; Brown, T.A.: Degradation of DNA in artificially charred wheat seeds. *Journal of Archaeological Science* 30: 1067-1076
- Trueman, C.N.; Martill, D.M. (2002): The long-term survival of bone: The role of bioerosion. *Archaeometry* 44: 371-382
- Turban-Just, S., Schramm, S. (1998): Stable carbon and nitrogen ratios of individual amino acids give new insights into bone collagen degradation. *Bulletin de la Société Géologique de France* 169: 109-114.
- Turner-Walker, G; Nielsen-Marsh, C.M.; Syversen, U.; Kars, H.; Collins, M.J. (2002): Sub-micron spongiform porosity is the major structural alteration occurring in archaeological bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 12: 404-414
- Turner-Walker, G.; Parry, T.V. (1995): The tensile strength of archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 22: 185-191
- Tuross, N. (1993): The other molecules in ancient bone: noncollagenous proteins and DNA. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg.): *Prehistoric Human Bone: Archaeology at the Molecular Level*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 176-292
- Tuross, N. (1994): The biochemistry of ancient DNA in bone. *Experientia* 50: 530-535
- Tuross, N. (2002): Alteration in fossil collagen. *Archaeometry* 44: 427-434
- Tuross, N.; Behrensmey, A.K.; Eanes, E.D. (1989): Strontium increases and crystallinity changes in taphonomic and archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 16: 661-671
- Tuross, N.; Behrensmeyer, A.K.; Eanes, E.D.; Fisher, L.W.; Hare, P.E. (1989): Molekular preservation and crystallographic alterations in a weathering sequence of wildebeest bone. *Applied Geochemistry* 4: 261-270
- Tuross, N.; Fogel, M.; Hare, P.E. (1988): Variability in the preservation of the isotopic composition of collagen from fossil bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52: 929-935
- Tütken, T. (2003): Die Bedeutung der Knochenfrühdigenese für die Erhaltungsfähigkeit in vivo erworbener Element- und Isotopenzusammensetzungen in fossilen Knochen. Dissertation, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen
- Tyler-Cross, R.; Schirch, V. (1991): Effects of amino acid sequence, buffer, ionic strength on the rate and mechanism of deamidation of asparagin residues in small peptides. *The Journal of Biological Chemistry* 266: 22459-22556
- Tzaphlidou, M. (2005): The role of collagen in bone structure: An image processing approach. *Micron* 36: 593-601

VII Literaturverzeichnis

- Ubelaker, D.H. (1997): Taphonomic applications in forensic anthropology. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg): *Forensic Taphonomy, the Postmortem Fate of Human remains*. CRC Press, Boca Raton, Boston, London: 77-90
- Uytterschaut, H. (1993): Human bone remodelling and aging. In Grupe, G.; Garland, A.N. (1993): *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 95-109
- van der Merwe, N.J. (1982): Carbon isotopes, photosynthesis, and archaeology. *American Scientist* 70: 596-606
- van der Merwe, N.J.; Medina, E. (1991): The canopy effect; carbon isotope ratios and foodweebs in Amazonia. *Journal of Archaeological Science* 18: 249-259
- van Duin, A.C.T.; Collins, M.J. (1998): The effects of conformational constraints on aspartic acid racemization. *Organic Geochemistry* 29: 1227-1232
- van Klinken, G.J. (1989): Note on the isolation of single amino acids from fossil bone. *Applied Geochemistry* 4: 271
- van Klinken, G.J. (1999): Bone collagen quality indicators for paleodietary and radiocarbon measurement. *Journal of Archaeological Science* 26: 687-695
- van Klinken, G.J.; Hedges, R.E.M. (1995): Experiments on collagen-humic interactions: Speed of humic uptake and effects of diverse chemical treatments. *Journal of Archaeological Science* 22: 263-270
- van Klinken, G.J.; Richards, M.P.; Hedges, R.E.M. (2000): An overview of causes for stable isotopic variations in past European human populations: environmental, ecophysiological and cultural effects. In Ambrose, S.H.; Katzenberg, M.A. (Hrsg): *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New-York, Boston, Dordrecht: 36-39
- Velasco-Vázquez, J.; González-Reimers, E.; Arnay-de-la-Rosa, M.; Barros-López, E.; Martín-Rodríguez, E.; Santolaria-Fernández, F. (1999): Bone histology of prehistoric inhabitants of the Canary Islands: Comparison between El Hierro and Gran Canaria. *American Journal of Physical Anthropology* 110: 201-213
- Verhoff, M.H.; Kreutz, K. (2004): *Forensische Osteologie, Humanspezifität, Liegezeit und Verletzungsspuren*. Rechtsmedizin 14: 417-430
- Voet, D.; Voet, J.G. (1994): *Biochemie*. VCH, New York, Basel, Cambridge, Tokyo
- Völk, H.R.; Bischoff, R.; Geier, B. (1994): Jungpleistozäne Terrassen- und Bodenentwicklung am Euphrat bei Samsat, Südosttürkei. In Albrecht, G.; Müller-Beck, H. (Hrsg): *Das Paläolithikum von Sehremuz bei Samsat am Euphrat, Archäologie und Landschaftsdynamik*. Tübinger Monographien zur Urgeschichte 10: 81-119
- von der Mark (1999): Structure and biosynthesis of collagens. In Seibl, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P. (Hrsg): *Dynamics of Bone and Cartilage metabolism*. Academic Press, San Diego, New York, Boston: 3-18
- von den Driesch, A.; Peters, J. (1999): Vorläufiger Bericht über die archäozoologischen Untersuchungen am Gebökli Tepe und am Gürcütepe bei Urfa, Türkei. *Istanbulur Mitteilungen* 49: 23-39
- von den Driesch, A.; Peters, J. (2001): Früheste Haustierhaltung in der Südosttürkei. In Boehmer, R.M. (Hrsg): *Lux Oriens: Archäologie zwischen Asien und Europa*. Festschrift für Harald Hauptmann zum 65. Geburtstag, Rahden/Westf, Leidorf
- von Endt, D.W.; Ortner, D.J. (1984): Experimental effects of bone size and temperature on bone diagenesis. *Journal of Archaeological Science* 11: 247-253
- von Wurmb-Schwark, N.; Harbeck, M.; Wiesbrock, U.; Schroeder, I.; Ritz-Timme, S.; Oehmichen, M. (2003): Extraction and amplification of nuclear and mitochondrial DNA from ancient and artificially aged bones. *Legal Medicine* 5: 169-172
- von Wurmb-Schwark, N.; Ringleb, A.; Gebühr, M.; Simeoni, E. (2005): Genetic analysis of modern and historical burned human remains. *Anthropologischer Anzeiger* 63: 1-12

- von Wurmb-Schwark, N.; Schwark, T.; Harbeck, M.; Oehmichen, M. (2004): A simple Duplex-PCR to evaluate the DNA quality of anthropological and forensic samples prior short tandem repeat typing. *Legal Medicine* 6: 80-88
- Wagner, M. (2002): Schleswig-Holstein - Klima und Wetter. In Schleswig-Holsteinischer Zeitungsverlag (Hrsg): Schleswig-Holstein Topographie, Band 2. Flensburg
- Wahl, J.; Wittwer-Backofen, U.; Kunter, M. (2001): Zwischen Masse und Klasse; Alemannen. *Archäologisches Landesmuseum Baden-Württemberg*, Theiss: 337-348
- Waite, E.R.; Child, A.M.; Craig, O.E.; Collins, M.J.; Gelsthorpe, K.; Brown, T.A. (1997): A preliminary investigation of DNA stability in bone during artificial diagenesis. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168: 547-554
- Waite, E.R.; Collins, M.J.; Ritz-Timme, S.; Schütz, H-W.; Cattaneo, C.; Borrmann, H.I.M. (1999): A review of the methodological aspects of aspartic acid racemization analysis for use in forensic science. *Forensic Science International* 103: 113-124
- Walsh, W.R.; Ohno, M.; Guzelsu, N. (1994): Bone composite behaviour – effects of mineral organic bonding. *Journal of Materials Science – Materials in Medicine* 5: 72-79
- Warren, M.W.; Falsetti, A.B.; Hamilton, W.F.; Levine, L.J. (1999): Evidence of arteriosclerosis in cremated remains. *American Journal of Forensic Medicine and Pathologie* 20: 277-280
- Warren, M.W.; Maples, M.A.; Maples, R. (1997): The anthropometry of contemporary commercial cremation. *Journal of Forensic Science* 42: 417-423
- Wayne, R.K.; Leonard, J.A.; Cooper, A. (1999): Full of sound and fury: The recent history of ancient DNA. *Annual review of Ecological Systems* 30: 457-477
- Weiner, S.; Traub, W. (1992): Bone structure: from ångstroms to microns. *The FASB Journal* 6: 879-885
- Weiner, S.; Traub, W.; Wagner, H.D. (1999): Lammelar bone: Structure-function relations. *Journal of Structural Biology* 126: 241-255
- Weiner, S.; Wagner, H.D. (1998): The material bone: Structure-mechanical function relations. *Annual Review of Material Science* 28: 271-98.
- Wess, T.H.; Drakopoulos, M.; Snigirev, M.; Wouters, J.; Paris, O.; Fratzl, P.; Collins, M.; Hiller, J.; Nielsen, K. (2001): The use of small-angle X-ray diffraction studies for the analysis of structural features in archaeological samples. *Archaeometry* 43: 117-129
- White, C.D.; Spence, M.W.; Stuart-Williams, H.; Schwarcz, H.P. (1998): Oxygen isotopes and the identification of geographical origins: The valley of Oaxaca versus the valley of Mexico. *Journal of Archaeological Science* 25: 643-655
- White, E.M.; Hannus, L.A. (1983): Chemical weathering of bone in archaeological soils. *American Antiquity* 48: 316-322
- Wiechmann, I.; Grupe, G. (2004): Detection of *Yersinia pestis* in two early medieval skeletal finds from Aschheim (Upper Bavaria, 6th century A.D.). *American Journal of Physical Anthropology* 126: 48-55
- Wiegand, P.; Dornhöver, J.; Brinkmann, B. (1996): DNA-Degradation in formalinfixierten Geweben. *Der Pathologe* 17: 451-454
- Wilkens, M. (1999): DNA-Extraktion aus Knochenproben: Individualisierung und Quantifizierung mittels Polymerasekettenreaktion. Dissertation, Universität Lübeck
- Willerslev, E.; Cooper, A. (2005): Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B* 272: 3-16
- Willerslev, E.; Hansen, A.J.; Brand, T.B.; Rønn, R.; Barnes, I.; Wiuf, C.; Gilichinsky, D.A.; Mitchell, D.; Cooper, A. (2004): Long-term persistence of bacterial DNA. *Current Biology* 14: R9-R10

VII Literaturverzeichnis

- Williams, C.T.; Henderson, P.; Marlow, C.A.; Molleson, T.I.: The environment of deposition indicated by the distribution of rare earth elements in fossil bones from Olduvai Gorge, Tanzania. *Applied Geochemistry* 12: 537-547
- Wilson, K.; Goulding, K.H. (1991): *Methoden der Biochemie*, 3 Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart
- Witte, F. (2003): Rund um die Ausgrabung. In Witte, F (Hrsg): *Archäologie in Flensburg, Ausgrabungen am Franziskanerkloster*. Gesellschaft für Flensburger Stadtgeschichte E.V., Schriftenreihe Band 57, Flensburg/Haderslev: 9-26
- Wright, L.E.; Schwarcz, H.P. (1996): Infrared and isotopic evidence for diagenesis of bone apatite at Dos Pilas, Guatemala: Palaeodietary implications. *Journal of Archaeological Science* 23: 933-944
- Yang, D.Y.; Eng, B.; Wayne, J.S.; Dudar, J.C.; Saunders, S.R. (1998): Technical note: Improved DNA extraction from ancient bone using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology* 105: 539-543
- Yoneda, M.; Suzuki, R.; Shibata, Y.; Morita, M.; Sukegawa, T.; Shigehara, N.; Akazawa, T. (2001): Isotopic evidence of inland-water fishing by a jomon population excavated from Boji site, Nagano, Japan. *Journal of Archaeological Science* 31: 97-107
- Zierdt, H., Hummel, S.; Herrmann, B. (1996): Amplification of human short tandem repeats from medieval teeth and bone samples. *Human Biology* 68: 185-199
- Zink, A.R.; Grabner, W.; Nerlich, A.G. (2005): Molecular identification of human tuberculosis in recent and historic bone tissue samples: The role of molecular techniques for the study of historic tuberculosis. *American Journal of Physical Anthropology* 126: 32-47
- Ziopoulos, P.; Currey, J.D.; Hamer, A.J. (1998): The role of collagen in the declining mechanical properties of aging human cortical bone. *Journal of biomedical materials research* 45: 108-116
- Zipper, H. (2004): *Entwicklung analytisch-molekularbiologischer Verfahren zur Konstruktion einer Plasmid-Genbank aus Boden-DNA in Escherichia coli und deren Durchmusterung nach neuen Enzymen für die technische Anwendung*. Dissertation, Universität Stuttgart

Weitere Quellen:

- Online Datenbank OIPC: http://ecophys.biology.utah.edu/Labfolks/gbowen/pages/OIPC_Main.html
Online Isotopes in Precipitation Calculator (OIPC): Global estimated mean annual δD and $\delta^{18}O$ of precipitation (letzter Zugriff: 30.10.2006)

Abkürzungsverzeichnis

Al	Aluminium	met	Methionin
ala	Alanin	mg	Milligram
ARG	Asparaginsäure- razemisierungsgrad	Mg	Magnesium
arg	Argenin	min	Minute
asp	Asparaginsäure/Asparagin	mM	Millimol
B	Braun (Farbausprägung der UV-Fluoreszenz)	Mn	Mangan
Ba	Barium	ml	Milliliter
B/G	Braun/Gelb (Farbausprägung der UV-Fluoreszenz)	mt DNA	mitochondriale DNA
bp	Basenpaare	MPPNB	Middle Prepottery Neolithic B
C	Kohlenstoff	N	Stickstoff
C%	prozentualer Gewichtsanteil des Kohlenstoffs am Gesamtgewicht des Kollagenextraktes	n	Stichprobenumfang
Ca	Calcium	N%	prozentualer Gewichtsanteil des Stickstoffs am Gesamtgewicht des Kollagenextraktes
Cl	Chlor	Na	Natrium
cm	Zentimeter	nb	nicht bestimmbar
Cu	Kupfer	NCPs	nichtkollagene Proteine
d	Tage	nm	Nanometer
D	Dunkelblau (Farbausprägung der UV-Fluoreszenz)	O	Sauerstoff
D/L-Asp	D-Asparaginsäure/ L-Asparaginsäure	OHI	Oxford histologischer Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure	OH-lys	Hydroxylysin
dNTPs	Desoxyribonucleosid- triphosphate	OH-pro	Hydroxyprolin
e	endostal	p=	Wahrscheinlichkeitsniveau
EPPNB	Early Prepottery Neolithic B	p	periostal
F	Flour	P	Phosphat
Fe	Eisen	PCR	Polymerasekettenreaktion
G	Gelb (Farbausprägung der UV- Fluoreszenz)	pg	Pikogramm
g	Gramm	phe	Phenylalanin
GE	Gelatineextraktion (Kollagen)	pM	Pikomol
Gew%	prozentualer Gewichtsanteil	ppm	part per million
gly	Glycin	PPNA	Prepottery Neolithic A
h	Stunde	PPNB	Prepottery Neolithic B
H	Wasserstoff	pro	Prolin
his	Histidin	RFA	Röntgenfluoreszenzanalyse
ile	Isoleucin	rpm	Umdrehung pro Minute
K	Kalium	S	Schwefel
kb	Kilobasen	SE	Säureextraktion (Kollagen)
L	Lila (Farbausprägung der UV- Fluoreszenz)	Se	Selenium
leu	Leucin	ser	Serin
LPPNB	Late Prepottery Neolithic B	Si	Silicium
lys	Lysin	Sr	Strontium
M	Molar	STR	Short tandem repeat
m	mittlerer	thr	Threonin
		TE	Temperaturerperiment
		Ti	Titan
		tyr	Tyrosin
		U	Uran
		UV	Ultraviolett-
		V	Violett (Farbausprägung der UV-Fluoreszenz)
		val	Valin
		Zn	Zink

Tab. VIII.1: Bewertung der Proben anhand ihrer Mikrostruktur nach den unter III: 2.3 aufgestellten Indices, nb = nicht bestimmbar, p = periostal, m = mitlig, e = endostal, es wurde nur humanes Material analysiert (archäologisches, sowie Proben des Temperaturexperimentes II)

Probe	OHI		Verteilungsmuster des OHI	Doppelbrechungsindex		Mikrofissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Havers'schen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp
	gesamter Querschnitt	Teil		gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	
NC12	p	0	1	0	nb	nb	0	1	0	1	1	3	3	3	A	
	m	0		0			0	1	0	1	0	3	3	3		
	e	0		0			0	1	0	1	1	3	3	3		
NC13	p	1	4	0	nb	nb	0	0	0	0	0	1	3	3	A	
	m	0		0			0	0	0	0	1	3	3	3		
	e	1		0			0	0	0	0	1	3	3	3		
NC14	p	5	1	0	0	0	3	2	3	2	3	0	0	0	C	
	m	5		0			3	2	3	2	3	0	0	0		
	e	5		0			3	2	3	2	3	0	0	0		
NC15	p	5	1	0,5	2	2	3	1	3	1	3	3	0	0	C	
	m	5		0,5			3	1	3	1	3	0	0	0		
	e	5		0,5			3	1	3	1	3	0	0	0		
NC16	p	1	5	0,5	nb	nb	1	0	1	0	1	2	2	2	A	
	m	0		0			0	0	0	0	0	3	3	3		
	e	0		0			0	1	0	1	0	2	2	2		
NC19	p	4		0,5	0	0	2	2	2	2	2	1	1	1	C	
	m	4		0,5			2	2	2	2	2	1	1	1		
	e	0		0		nb	0	1	0	1	0	3	3	3		
NC20	p	4	1	0,5	1	1	2	2	2	2	3	0	0	0	C	
	m	4		0,5			2	2	2	2	3	1	1	1		
	e	4		0,5		2	0	1	2	2	3	1	1	1		
P1	p	0	1	0	nb	nb	0	1	0	1	1	3	3	3	A	
	m	0		0			0	1	0	1	0	3	3	3		
	e	0		0			0	1	0	1	1	3	3	3		

Probe	Teil	OHI	Verteilungsmuster des OHI	Doppelbrechungsindex	Mikrofissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Havers'schen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp						
					gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil							
P2	p m e	4	4	1	0,5	1	3	0	0	0	3	3	0	1	C						
																4	1	3	1	0	1
																4	1	3	0	3	0
P3	p m e	4	4	1	0,5	0	3	0	1	1	3	3	0	1	C						
																4	0	3	0	3	0
																4	0	3	1	3	1
P4	p m e	4	4	1	0,5	0	2	1	1	1	3	3	0	2	C						
																4	1	3	1	1	3
																4	1	3	0	3	0
ES	p m e	5	4	2	1	3	3	0	0	0	3	3	2	2	B						
																5	3	3	0	3	3
																4	3	3	0	3	2
T1	p m e	1	1	2	0	nb	0	0	1	1	1	1	3	3	A						
																1	nb	0	1	1	3
																0	nb	0	1	3	3
T2	p m e	0	0	1	0	nb	0	0	1	1	0	0	3	3	A						
																0	nb	0	1	0	3
																0	nb	0	1	0	3
T3	p m e	5	5	1	1	3	3	1	1	1	3	3	3	3	B						
																5	2	3	1	3	3
																5	3	3	1	3	3
T4	p m e	5	4	7	0,5	0	2	1	0	0	3	3	0	2	B						
																5	2	3	0	3	0
																5	2	3	0	3	3
T5	p m e	1	2	0,5	nb	nb	2	1	1	1	1	1	3	3	D						
																0	nb	3	1	1	3
																0	nb	3	1	1	3
T6	p m e	1	7	0	nb	nb	0	0	1	1	0	0	3	3	A						
																1	nb	0	1	1	3
																1	nb	0	1	1	3

Probe	OHI		Verteilungsmuster des OHI	Doppelbrechungsindex		Mikrofissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Haverschen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp			
	Teil	gesamter Querschnitt		gesamter Querschnitt	Teil	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt				
T7	p	5	1	1	3	3	3	3	1	1	3	3	3	2	3	B			
	m			1					3								3	3	
	e			1					3								3	3	
T8	p	4	2	0	2	nb	nb	0	0	1	0	0	0	3	3	B			
	m			1					2								3	3	
	e			0					nb								0	0	0
T9	p	5	1	1	2	2	2	3	0	1	3	3	3	3	2	B			
	m			1					2								3	2	
	e			1					2								3	1	1
E1	p	0	1	0	nb	nb	nb	0	0	2	2	2	2	3	3	A			
	m			0					nb								0	3	3
	e			0					nb								0	3	3
E2	p	0	1	0	nb	nb	nb	0	0	2	1	1	1	3	3	A			
	m			0					nb								0	3	3
	e			0					nb								0	3	3
E3a	p	5	1	1	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3	B			
	m			1					3								3	3	
	e			1					3								3	3	3
E3b	p	0	1	0	nb	nb	nb	0	0	1	0	0	0	3	3	A			
	m			0					nb								0	3	3
	e			0					nb								0	3	3
E3c	p	0	1	0	nb	nb	nb	0	0	2	0	0	0	3	3	A			
	m			0					nb								0	3	3
	e			0					nb								0	3	3
E7	p	1	2	0	nb	nb	nb	2	3	1	0	0	0	3	3	D			
	m			0,5					nb								1	1	1
	e			0					nb								0	0	0

Probe	Teil	OHI		Verteilungsmuster des OHI		Doppelbrechungsindex		Mikrofrissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Havers'schen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp								
		gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt										
E13	P	0	0	1	0	nb	nb	0	0	2	2	1	0	1	3	3	3	A								
	m		0																0	2	0	1	3			
	e		0																0	2	1	1	3			
E18/1	P	0	0	1	0	nb	nb	0	0	1	1	1	1	1	3	3	3	A								
	m		0																0	1	1	1	3			
	e		0																0	1	1	1	1	3		
E18/2	P	1	1	3	0,5	nb	nb	1	2	1	1	1	1	1	3	3	3	A								
	m		0																0	1	1	1	3			
	e		1																1	0,5	nb	2	1	1	3	
E19	P	4	4	2	1	3	3	3	3	1	1	1	3	3	1	3	1	2	B							
	m		5																	1	1	1	1	3		
	e		4																	1	1	3	1	3	1	3
E22	P	1	1	5	0	nb	nb	0	0	2	2	2	1	1	2	3	2	2	A							
	m		0																	0	2	0	2	1	3	
	e		0																	0	2	1	2	1	2	3
E25	P	1	1	3	0	nb	nb	0	0	1	1	1	1	1	3	3	3	3	A							
	m		0																	0	1	1	1	1	3	
	e		1																	0	1	1	1	1	1	3
E27	P	1	1	3	0,5	nb	nb	0	0	1	1	1	0	1	3	3	3	3	A							
	m		0																	0	1	1	1	1	3	
	e		1																	1	0,5	nb	1	1	1	3
E29	P	1	1	3	0,5	nb	nb	0	0	2	1	1	0	1	3	3	3	2	A							
	m		0																	0	1	1	1	1	3	
	e		1																	1	0,5	nb	2	1	1	3
E31	P	1	1	3	0,5	nb	nb	0	0	0	0	0	1	0	2	3	3	2	A							
	m		0																	0	0,5	nb	0	0	0	3
	e		1																	1	0,5	nb	0	0	0	3

Probe	OHI		Verteilungsmuster des OHI	Doppelrechenungsindex		Mikrofissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Haverschen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp
	Teil	gesamter Querschnitt		gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	
Kh1	p				0,5	2			3	3		3		3		C
	m	5	1	0,5				3	3	3		3		3		
	e	5		0,5				3	3	3		3		3		
Kh9	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	0	0	3		A
	m	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
	e	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
Kh10	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	1	1	3		A
	m	0			0			0	0	2	2	1	1	3		
	e	0			0			0	0	2	2	1	1	3		
Kh12	p	1	2	0,5	0	nb	nb	1	1	1	1	0	0	1		A
	m	2		0,5				1	1	1	1	0	0	3		
	e	1		0				1	1	1	1	0	0	3		
Kh13	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	0	0	2		A
	m	0			0			0	0	2	2	0	0	2		
	e	0			0			0	0	2	2	0	0	2		
Kh15	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	0	0	3		A
	m	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
	e	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
Kh16	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	0	0	3		A
	m	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
	e	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
Kh17	p	0	1	0	0	nb	nb	0	0	2	2	0	0	3		A
	m	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
	e	0			0			0	0	2	2	0	0	3		
H1	p	5	1	1	1	3	3	3	3	0	0	3	3	1		B
	m	5			1			3	3	0	0	3	3	3		
	e	5			1			3	3	0	0	3	3	1		
H2	p	5	1	1	1	2	2	3	3	0	0	3	3	2		B
	m	5			1			3	3	0	0	3	3	3		
	e	5			1			3	3	0	0	3	3	1		

Probe	Teil	OHI	Verteilungsmuster des OHI	Doppelbrechungsindex	Mikrofissuren	Bakterieller Befall	Einschlüsse in Havers'schen Kanälen	diffuses exogenes Material	braune Verfärbung	Merkmalstyp						
											gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil
H3	P m e	5	1	1	3	3	0	2	3	B						
											5	3	3	3	1	2
											5	3	3	3	3	3
H4	P m e	5	1	1	2	3	0	3	2	B						
											5	2	3	3	3	2
											5	2	3	3	3	2
F1	P m e	1	1	0	nb	1	1	1	3	A						
											1	nb	0	1	1	3
											1	nb	0	1	1	3
F2	P m e	1	1	0	nb	1	1	1	3	A						
											1	nb	0	1	1	3
											1	nb	0	1	1	3
F3	P m e	1	1	0	nb	0	1	1	3	A						
											1	nb	0	1	1	3
											1	nb	0	1	1	3
F4	P m e	5	1	1	2	3	1	3	3	B						
											5	2	3	3	3	3
											5	2	3	3	3	3
F5	P m e	1	1	0	nb	0	1	1	3	A						
											1	nb	0	1	1	3
											1	nb	0	1	1	3
F6	P m e	5	1	1	1	3	1	3	3	B						
											5	1	3	3	3	3
											5	1	3	3	3	3
F7	P m e	5	1	1	3	3	0	3	3	B						
											5	3	3	3	3	3
											5	3	3	3	3	3
F9	P m e	5	1	1	1	3	1	3	3	B						
											5	1	3	3	3	3
											5	1	3	3	3	3

VIII Anhang

Probe	OHI		Verteilungsmuster des OHI	Doppelbrechungsindex		Mikrofissuren		Bakterieller Befall		Einschlüsse in Havers'schen Kanälen		diffuses exogenes Material		braune Verfärbung		Merkmalstyp	
	Teil	gesamter Querschnitt		Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt	Teil	gesamter Querschnitt		
F10	p		7		0,5		0	2	2	1	3	3	1	3	2	B	
	m	5			1	2	2	2	3	1	3	3	3	3	3		3
	e	5			1	2	2	2	3	1	3	3	3	3	2		3
TE II 2	p				1	1	1	1	3					3		B	
	m	5		1	2	1	1	3					3	3	3		
	e	5		1	1	2	3	3					3	3	3		
TE II 4	p				1	2	2	3	3					3		B	
	m	5		1	2	2	3	3					3	3	3		
	e	5		1	1	1	3	3					3	3	3		
TE II 7	p				1	1	1	1	3					3		B	
	m	5		1	1	1	1	3					3	3	3		
	e	5		1	1	1	1	3					3	3	3		
TE II 9	p				1	2	2	3	3					3		B	
	m	5		1	2	2	3	3					3	3	3		
	e	5		1	1	2	3	3					3	3	3		
TE II 11	p				1	1	1	1	3					3		B	
	m	5		1	1	2	2	3					3	3	3		
	e	5		1	1	1	2	3					3	3	3		
TE II 16	p				1	2	2	3	3					3		B	
	m	5		1	2	2	3	3					3	3	3		
	e	5		1	1	2	3	3					3	3	3		
TE II 21	p				1	1	1	1	3					3		B	
	m	5		1	1	1	1	3					3	3	3		
	e	5		1	1	1	1	3					3	3	3		
TE II 23	p				0,5	0	0	3	3					0		C	
	m	5		0,5	2	3	3	3					3	0	0		
	e	5		0,5	2	2	3	3					3	0	0		
TE II 25	p				0,5	0	0	3	3					0		C	
	m	5		0,5	2	2	3	3					3	0	0		
	e	5		0,5	2	2	3	3					3	0	0		

Tab. VIII.2: Bewertung der Fluoreszenzausprägung der archäologischen und *in vitro* degradierten humanen Proben, anhand der unter III: 3.2 aufgestellten Merkmale: Blauindex, Farbmuster und Beurteilung anderer Farbausprägung. L = lila, B = braun/gelb, D = dunkelblau (vgl. III: 3)

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzuordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbausprägungen	Farbmuster gesamt
NC12	0	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		L,B	
		endostal	0		L,B	
NC13	0	periostal	0	1	B	4
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
NC14	0	periostal	0	1	B	4
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
NC15	0	periostal	0	1	B	4
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
NC16	0	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		L,B	
		endostal	0		L,B	
NC19	1	periostal	1	5	L,B	1
		mitte	0		L	
		endostal	0		L,B	
NC20	1	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		L,B	
		endostal	0		L,B	
P1	1	periostal	1	1	L,B	1
		mitte	1		L,B	
		endostal	1		L,B	
P2	0	periostal	0	1	B	4
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
P3	1	periostal	0	1	B	4
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
P4	0	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		B	
		endostal	0		B	
ES	1	periostal	0	1	B,D	2
		mitte	0		B,D	
		endostal	0		D	
T1	1	periostal	1	2	B	1
		mitte	2		L,B	
		endostal	0		L	
T2	2	periostal	2	1	L,B	1
		mitte	2		L,B	
		endostal	2		L,B	
T3	5	periostal	5	1		6
		mitte	5			
		endostal	5			
T4	5	periostal	3	7	B	4
		mitte	5			
		endostal	5			

VIII Anhang

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzu- ordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbaus- prägungen	Farbmuster gesamt
T5	3	periostal	2	2	B	1
		mitte	5			
		endostal	0		L	
T6	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
T7	5	periostal	2	7	B,D	2
		mitte	5			
		endostal	5			
T8	3	periostal	0	2	B	1
		mitte	5			
		endostal	0		L,B	
T9	5	periostal	5	1		6
		mitte	5			
		endostal	5			
E1	1	periostal	1	2	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	0		L	
E2	2	periostal	2	2	L	5
		mitte	3		L	
		endostal	0		L	
E3a	5	periostal	5	1		6
		mitte	5			
		endostal	5			
E3b	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
E3c	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
E7	3	periostal	2	2	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	2		L	
E13	3	periostal	4	6	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	2		L	
E18/1	2	periostal	1	2	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	1		L	
E18/2	0	periostal	0	1	B	1
		mitte	0		L	
		endostal	0		L,B	
E19	4	periostal	2	2	D	3
		mitte	5			
		endostal	3		D	
E22	2	periostal	2	6	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	1		L	

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzu- ordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbaus- prägungen	Farbmuster gesamt
E25	3	periostal	4	5	L	5
		mitte	3		L	
		endostal	2		L	
E27	2	periostal	2	1	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	2		L	
E29	2	periostal	2	1	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	2		L	
E31	1	periostal	1	1	L,B	1
		mitte	1		L,B	
		endostal	1		L,B	
Kh1	1	periostal	1	1	B	4
		mitte	1		B	
		endostal	1		B	
Kh9	1	periostal	1	1	B	4
		mitte	1		B	
		endostal	1		B	
Kh10	1	periostal	1	1	B	4
		mitte	1		B	
		endostal	1		B	
Kh12	1	periostal	1	1	B	4
		mitte	1		B	
		endostal	1		B	
Kh13	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
Kh15	0	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		L,B	
		endostal	0		L,B	
Kh16	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
Kh17	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
H1	0	periostal	0	1	D	3
		mitte	0		D	
		endostal	0		D	
H2	1	periostal	0	2	D	3
		mitte	1		D	
		endostal	0		D	
H3	2	periostal	0	2	D	3
		mitte	3		D	
		endostal	0		D	
H4	1	periostal	0	2	D	3
		mitte	2		D	
		endostal	0		D	

VIII Anhang

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzu- ordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbaus- prägungen	Farbmuster gesamt
F1	1	periostal	0	2	L,B	1
		mitte	1		L,B	
		endostal	0		L,B	
F2	0	periostal	0	1	L,B	1
		mitte	0		L,B	
		endostal	0		L,B	
F3	1	periostal	0	2	B	1
		mitte	1		L,G	
		endostal	0		L	
F4	1	periostal	1	1	D	3
		mitte	1		D	
		endostal	1		D	
F5	1	periostal	0	2	L,B	1
		mitte	2		L	
		endostal	0		L,B	
F6	4	periostal	2	2	D	3
		mitte	5			
		endostal	2		D	
F7	5	periostal	2	7	B,D	2
		mitte	5			
		endostal	5			
F9	5	periostal	4	7	B	4
		mitte	5			
		endostal	5			
F10	5	periostal	4	7	B	4
		mitte	5			
		endostal	5			
TE I 0	5	periostal	5	1		6
		mitte	5			
		endostal	5			
TE I 0,5	5	periostal	5	1		6
		mitte	5			
		endostal	5			
TE I 1	5	periostal	4	7	L	5
		mitte	5			
		endostal	5			
TE I 2	4	periostal	4	1	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	4		L	
TE I 2,5	5	periostal	3	7	L	5
		mitte	5			
		endostal	5			
TE I 3	4	periostal	2	7	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	4			
TE I 3,5	4	periostal	2	4	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	5			

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzu- ordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbaus- prägungen	Farbmuster gesamt
TE I 4	3	periostal	2	2	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	3		L	
TE I 5	4	periostal	3	7	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	4		L	
TE I 6	4	periostal	3	4	L	5
		mitte	3		L	
		endostal	4		L	
TE I 7	3	periostal	2	4	L	5
		mitte	3		L	
		endostal	4		L	
TE I 8	4	periostal	2	4	L	5
		mitte	4		L	
		endostal	5		L	
TE I 12	2	periostal	0	2	L	5
		mitte	2		L	
		endostal	1		L	
TE I 16	1	periostal	0	2	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	0		L	
TE I 20	1	periostal	1	1	L	5
		mitte	1		L	
		endostal	1		L	
TE I 26	0	periostal	0	1	L	5
		mitte	0		L	
		endostal	0		L	
TE I 29	0	periostal	0	1	L	5
		mitte	0		L	
		endostal	0		L	
TE I 32	1	periostal	0	2	B,L	1
		mitte	1		L	
		endostal	0		B,L	
TE II 2	5	periostal	5	1		
		mitte	5			
		endostal	5			
TE II 4	4	periostal	5	5	punktuell lila Farbanteile: stark ausgeprägt im endostalen Bereich und weniger stark im mittleren Bereich	
		mitte	4			
		endostal	2			
TE II 7	4	periostal	4	1	gelbliche Farbtonung des gesamten Querschnitts	
		mitte	4			
		endostal	4			
TE II 9	4	periostal	3	7	gelbliche Farbtonung des gesamten Querschnittes mit periostal stärkerer Ausprägung	
		mitte	4			
		endostal	4			
TE II 11	3	periostal	3	1	gelbliche Farbtonung mit lila Anteilen	
		mitte	3			
		endostal	3			

VIII Anhang

Probe	Blauindex gesamter Querschnitt	Bereich	Blauindex im Bereich	Musterzuordnung: Verteilung hellblaue Fluoreszenz	Andere Farbausprägungen	Farbmuster gesamt
TE II 16	2	periostal	3	5	gelbliche Farbtonung mit lila Anteilen, stark im endostalen, weniger stark im mittleren Bereich	
		mitte	2			
		endostal	1			
TE II 18	2	periostal	3	5	gelbliche Farbtonung mit lila Anteile besonders im endostalen Bereich	
		mitte	2			
		endostal	1			
TE II 21	4	periostal	3	7	gelbliche Farbtonung stärker ausgeprägt im periostalen Bereich	
		mitte	4			
		endostal	4			
TE II 23	4	periostal	4	1	leichter gelblicher Schimmer über den gesamten Querschnitt	
		mitte	4			
		endostal	4			
TE II 25	5	periostal	5	1		
		mitte	5			
		endostal	5			
K91	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	
K92	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	
K93	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	
K97	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	
K98	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	
K100	0	periostal	0	1	V	
		mitte	0		V	
		endostal	0		V	

Tab. VIII.3: Anteiliger Kollagengehalt (in Gew%) nach Gelatine- und Säureextraktion der Proben des humanen archäologischen und in *vitro degradierten* Materials, wurden die Daten nicht in der vorliegenden Arbeit erhoben, unter den Feldern Einwaage und Ertrag statt der Daten die Datenquelle angegeben (vgl. III: 8)

Gelatineextraktion				Säureextraktion			
Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Gew% SE- Gew%GE
Gö1	Dummler 2004		0,17	297	0,5	0,93	0,76
Gö2			0,26	301	1	0,33	0,07
Gü1			0,71	305	30,5	10	9,29
Gü2			0	296	30	10,14	10,14
Gü3			0,17	290	2,4	0,83	0,66
Mittelwert			0,26			4,45	4,18
Standardabweichung			0,27			5,14	4,53
NC11	Lösch 2003		1,73	300	11,4	3,8	2,07
NC12			1,07	300	12,3	4,1	3,03
NC13			1	301	10,4	3,46	2,46
NC14			0,06	301	0,2	1,24	1,18
NC15			0,22	300	8,9	2,96	2,74
NC16			1,06	299	12,3	4,1	3,04
NC17			0,41	300	6,3	2,1	1,69
NC18			1,81	298	22,9	7,6	5,79
NC19			0,21	301	9,6	3,2	2,99
NC20			0,52	300	14,7	4,9	4,38
Mittelwert			0,81			3,75	2,94
Standardabweichung			0,63			1,71	1,33
P1	561,43	13,77	2,45	Harbeck 2002 (keine Bestimmung von P1 und P3)			
P2	499,9	22,56	4,51			18,91	14,4
P3	544,56	29,96	5,5				
P4	657,8	52,96	8,05			19,71	11,66
Mittelwert			5,13			19,31	13,03
Standardabweichung			2,33			0,57	1,94
ES	496,05	17,52	3,53	330,1	28,7	8,69	5,16
T1	480,97	7,14	1,48	Harbeck2002		15,54	14,06
T2	488,61	3,42	0,7			4,57	3,87
T3	438,53	28,32	6,46			14,35	7,89
T4	426,9	33,86	7,93			19,22	11,29
T5	566,71	19,78	3,49			8,75	5,26
T6	493,23	1,51	0,31			4,24	3,93
T7	500,25	11,79	2,36			10,75	8,39
T8	515,84	27,73	5,38			14,43	9,05
T9	607,16	23,35	3,84			21,74	17,90
Mittelwert			3,55			12,62	9,07
Standardabweichung			2,63			6,07	4,71

VIII Anhang

Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Gew% SE-Gew%GE
E1	Czermak 2003		1,02	303,3	15,6	5,14	4,12
E2			1,81	307,1	10,2	3,32	1,51
E3a			1,64	306	57,1	18,66	17,02
E3b			2,44	344,7	14,3	4,15	1,71
E3c			3,51	314,1	21,8	6,94	3,43
E7			1,63	308,4	35,7	11,58	9,95
E13			1,51	326,1	14,2	4,35	2,84
E18/1			3,28	323,3	15,8	4,89	1,61
E18/2			2,65	361,1	26	7,2	4,55
E19			1,5	357,7	62	17,33	15,83
E22			1,66	343,8	14	4,07	2,41
E25			1,62	342	11,5	3,36	1,74
E27			1,08	312,6	14,7	4,7	3,62
E29			2,06	316,5	20,8	6,57	4,51
E31			2,2	307,7	19,1	6,2	4,00
Mittelwert			1,97			7,23	5,26
Standartabweichung			0,63			4,84	4,99
Kh1	Strott in Vorbereitung		3,86	300	43,3	14,43	10,57
Kh7			4,62	300	57,6	19,20	14,58
Kh9			0,98	300	21,6	7,20	6,22
Kh10			1,13	300	22,3	7,43	6,30
Kh12			0,46	300	4,8	1,60	1,14
Kh13			1	300	11	3,67	2,67
Kh15			1,19	300	24,5	8,17	6,98
Kh16			0,81	300	11	3,67	2,86
Kh17			1,13	300	13,6	4,53	3,40
Kh19			0	300	24,8	8,27	8,27
Mittelwert			1,52			7,82	6,30
Standartabweichung			1,49			5,36	4,10
H1	500,12	88,41	17,68	Harbeck 2002		22,26	4,58
H2	643,79	95,68	14,86			21,27	6,41
H3	580,59	46,5	8			23,84	15,84
H4	497,7	63,57	12,78			21,49	8,71
Mittelwert			13,33			22,22	8,89
Standartabweichung			4,08			1,16	4,93
F1	545,64	18,08	3,31	Harbeck 2002		5,47	2,16
F2	552,96	10,59	1,92			7,69	5,77
F3	531,75	98,4	7,59			18,5	10,91
F4	576,32	42,06	7,3			21,21	13,91
F5	554,48	4,18	0,75			7,74	6,99
F6	500,54	24,23	4,84			21,74	16,90
F7	419,79	23,33	5,56			20,71	15,15
F9	540,16	40,4	7,5			21,26	13,76
F10	495,76	43,59	8,8			24,24	15,44
Mittelwert			5,29				16,51
Standartabweichung			2,80			7,33	5,11

Tab. VIII.4: Anteiliger Kollagengehalt (in Gew%) nach Gelatine- und Säureextraktion der Proben des tierischen Materials, wurden die Daten nicht in der vorliegenden Arbeit erhoben, ist unter den Feldern Einwaage und Ertrag statt der Daten die Datenquelle angegeben (vgl. III: 8)

Probe	Gelatineextraktion			Säureextraktion			Gew% SE- Gew%GE
	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	
Gö3	Dummler 2004		0,34	300	1	0,33	-0,01
Gö4			0,3	300	0,5	0,17	-0,13
NC1	Lösch 2003		0	300	4,5	1,5	1,5
NC2			0	300	0,7	0,23	0,23
NC3			0	300	3,3	1,1	1,1
NC4			0	300	1,6	0,53	0,53
NC5			0	300	1	0,33	0,33
NC6			0	300	2,7	0,9	0,9
NC7			0	300	0,1	0,03	0,03
NC8			0	300	6,1	2,03	2,03
NC9			0	299	1,1	0,36	0,36
NC10			0	298	3,7	1,24	1,24
NC21			0	301	2,9	0,97	0,97
NC22			0	300	5,2	1,73	1,73
NC23			0	302	0,5	0,17	0,17
NC24			0	300	3,2	1,07	1,07
NC25			0	300	3	1	1
NC26			0	300	3,9	1,3	1,3
NC27			0	301	5,9	1,97	1,97
NC28			0	300	1,1	0,37	0,37
NC29			0	302	4,7	1,57	1,57
NC30			0	300	4,8	1,6	1,6
NC31			0,96	299	8,9	2,97	2,01
NC32			2,64	298	18,8	6,27	3,63
NC33			0,8	297	7,6	2,53	1,73
NC34			2,06	300	15,9	5,3	3,24
NC35			2,41	298	16,9	5,63	3,22
NC36			1,89	300	10,2	3,4	1,51
NC37			1,92	299	23,1	7,7	5,78
NC38			1,15	302	9	3,63	2,48
NC39			2,36	301	10,9	1,2	-1,16
NC40			0,21	300	3,7	0,93	0,72
NC41	0,35	300	2,8	0,93	0,58		
NC42	0,8	300	4,2	1,4	0,6		
NC43	1,8	300	10,3	3,43	1,63		
NC44	1,84	302	23,6	7,87	6,03		
NC45	2,15	295	13,4	5,13	2,98		
NC46	2,52	299	22,8	7,6	5,08		
NC47	1,37	300	11,6	3,87	2,5		
NC48	0,38	300	7,4	2,47	2,09		
NC49	1,27	300	3	1	-0,27		
NC50	0,31	300	6,9	2,3	1,99		
Mittelwert			0,71			2,29	1,58
Standartabweichung			0,80			2,19	1,53

VIII Anhang

Probe	Gelatineextraktion			Säureextraktion			Gew% SE- Gew%GE	
	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%		
Kh2	Strott in Vorbereitung		0,38	300	11,3	3,77	3,39	
Kh3			0,39	300	14,8	4,93	4,54	
Kh5			0,17	300	13,5	4,50	4,33	
Kh8			0,71	300	46,2	15,40	14,69	
Kh11			0	300	13,8	4,60	4,60	
Kh14			0	300	40,8	13,60	13,60	
Kh18			0	300	13,9	4,63	4,63	
Kh20			0,14	300	13,9	4,63	4,49	
U1			0,49	300	15,2	5,07	4,58	
U2			0,69	300	22,1	7,37	6,68	
U3			2,01	300	23	7,67	5,66	
U4			1,24	300	15,1	5,03	3,79	
U5			0,52	300	40,5	13,50	12,98	
Mittelwert				0,52			7,28	6,77
Standartabweichung				0,57			4,10	4,08

Tab. VIII.5: Anteiliger Kollagengehalt (in Gew%) nach Gelatine- und Säureextraktion der Proben des *in vitro* degradierten Materials, wurden die Daten nicht in der vorliegenden Arbeit erhoben, ist unter den Feldern Einwaage und Ertrag statt der Daten die Datenquelle angegeben (vgl. III: 8)

Probe	Gelatineextraktion			Säureextraktion			Gew% SE- Gew%GE
	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	Gew%	
TE I 0,5	248,6	31,65	12,73	503,24	92,73	18,43	5,7
TE I 1	262,14	13,88	5,29				
TE I 2	260,65	18,32	7,03				
TE I 2,5	260,4	20,8	7,99	558,68	88,93	15,81	7,82
TE I 3	255,82	11,82	4,62				
TE I 3,5	260,46	13,2	5,07	544,24	77,15	14,18	9,11
TE I 4	246,2	10,83	4,4	528,5	67,33	12,74	8,34
TE I 5	254,97	12,8	5,02				
TE I 6	253,43	5,31	2,1	516,09	70,68	13,69	11,59
TE I 7	246,43	12,51	5,08				
TE I 8	505,4	14,85	2,94	414,76	19,69	4,75	1,81
TE I 12	324,46	0,36	0,11				
TE I 16	492,82	0,43	0,09	473,35	0,57	0,12	0,03
TE I 20	517,71	0	0	580,87	20,36	3,51	3,51
TE I 26	438,75	0	0				
TE I 29	261,2	0	0	505,4	4,3	0,85	0,85
TE I 32	555,39	0,42	0,08	513,69	29,8	5,8	5,72
TE II 2	495,75	13,31	0,21				
TE II 4	495,17	0	0,00	307,6	78,4	25,49	25,49
TE II 7	504,82	0,012	0,00	331,1	77,9	23,53	23,5276
TE II 9	525,85	0,077	0,02				
TE II 11	513,21	6,65	1,30	305,4	58,9	19,29	17,99
TE II 16	523,5	6,37	1,22				
TE II 18	502,63	4,16	0,83	316,4	66,5	21,02	20,19
TE II 21	493,45	1,32	0,27	317,4	63,6	20,04	19,77
TE II 23	517,57	8,64	1,67	312,5	43,6	13,95	12,28
TE II 25	514,93	5,77	1,12	308,4	66,1	21,43	20,31

Tab. VIII.6: Prozentualer N und C-Gehalt im Kollagenextrakt (nach GE), sowie molarer C/N-Quotient des humanen Knochenmaterials, die jeweilige Datenquelle ist seitlich angegeben, (vgl. III: 9).

Probe	N (%)	C (%)	C/N molar	Quelle
Gö1	10,204	33,904	3,876	Dummler 2004
Gö2	4,107	7,817	2,221	
Mittelwert	7,16	20,86	3,05	
Standardabweichung	4,31	18,45	1,17	
Gü1	8,945	28,838	3,761	
Gü2	13,288	43,254	3,798	
Gü3	3,285	13,389	4,755	
Mittelwert	8,51	28,49	4,10	
Standardabweichung	5,02	14,94	0,56	
NC11	13,66	41,49	3,55	
NC12	12,89	36,2	3,28	
NC13	15,28	42,74	3,26	
NC14	14,72	40,71	3,23	
NC15	keine Messung möglich			
NC16	10,204	42	3,22	
NC17	4,107	35,39	3,14	
NC18	8,945	38,36	3,32	
NC19	13,288	15,52	3,17	
NC20	3,285	27,03	3,85	
Mittelwert	10,71	35,49	3,34	vorliegende Untersuchung
Standardabweichung	4,46	8,93	0,23	
P1	13,66	46,242	3,525	
P2	12,89	52,48	3,856	
P3	15,28	54,675	3,531	
P4	14,72	45,498	3,509	
Mittelwert	14,14	49,72	3,61	
Standardabweichung	1,07	4,55	0,17	
ES	16,624	54,899	3,853	
T1	13,812	40,534	3,424	
T2	15,433	44,131	3,336	
T3	13,846	46,02	3,878	
T4	14,304	43,538	3,551	
T5	14,573	44,038	3,526	
T6	11,492	31,84	3,232	
T7	12,055	39,322	3,806	
T8	14,264	42,489	3,475	
T9	15,026	45,6	3,541	
Mittelwert	13,87	41,95	3,53	
Standardabweichung	1,30	11,41	0,83	

VIII Anhang

Probe	N (%)	C (%)	C/N molar	Quelle
E1	13,46	42,98	3,73	Czermak 2003
E2	13,16	41,28	3,66	
E3a	15,68	49,64	3,69	
E3b	13,12	46,93	4,15	
E3c	14,73	44,10	3,49	
E7	11,71	39,07	3,89	
E13	12,05	36,54	3,54	
E18/1	13,73	40,73	3,46	
E18/2	12,56	38,81	3,61	
E19	15,48	59,20	4,46	
E22	15,74	47,58	3,53	
E25	7,71	28,10	4,25	
E27	14,90	49,07	3,84	
E29	8,36	26,84	3,75	
E31	5,03	16,69	3,87	
Mittelwert	12,49	40,50	3,79	
Standardabweichung	3,06	11,96	0,80	
Kh7	12,44	40,22	3,77	Strott in Vorbereitung
Kh9	9,72	34,5	3,89	
Kh10	10,37	36,13	4,06	
Kh12	9,72	24,77	2,97	
Kh13	10,02	31,84	3,71	
Kh15	9,44	33,91	3,94	
Kh16	10,7	35,06	3,82	
Kh17	13,57	44,66	3,61	
Kh19	keine Messung			
Mittelwert	10,75	35,14	3,72	
Standardabweichung	1,38	5,83	0,31	
H1	16,973	54,645	3,756	vorliegende Untersuchung
H2	14,956	45,279	3,532	
H3	14,765	45,406	3,588	
H4	14,349	43,289	3,52	
Mittelwert	15,26	47,15	3,60	
Standardabweichung	1,17	5,09	1,00	
F1	16,578	49,41	3,477	
F2	13,089	39,998	3,565	
F3	13,568	40,754	3,504	
F4	15,121	44,628	3,443	
F5	11,783	33,57	3,324	
F6	21,937	72,215	3,841	
F7	16,801	49,046	3,405	
F9	15,104	44,522	3,439	
F10	17,427	51,246	3,431	
Mittelwert	14,59	44,42	3,36	
Standardabweichung	4,74	14,64	0,82	

Probe	N (%)	C (%)	C/N molar	Quelle
TE I 0,5	12,78	43	3,79	vorliegende Unter- suchung
TE I 1	14,36	46,76	3,8	
TE I 2	13,52	40,72	4,17	
TE I 2,5	14,19	46,33	3,81	
TE I 3	15,52	47,27	3,55	
TE I 3,5	14,29	46,28	3,78	
TE I 4	15,65	47,25	3,52	
TE I 5	13,07	44,11	3,94	
TE I 6	14,98	44,34	3,45	
TE I 7	14,3	47,36	3,86	
TE I 8	14,55	40,25	3,23	
TE I 12	5,74	6,01	1,22	
TE I 16	2,1	11,48	6,39	
TE I 20	100	100	0	
TE I 26	100	100	0	
TE I 29	100	100	0	
TE I 32	0,68	7,15	12,25	

Tab. VIII.7: Prozentualer N und C-Gehalt im Kollagenextrakt (nach GE), sowie molarer C/N-Quotient des tierischen Knochenmaterials, die jeweilige Datenquelle ist seitlich angegeben(vgl. III: 9)

Probe	N (%)	C (%)	C/N molar	Quelle
Gö3	7,48	17,28	2,7	Dummler 2004
Gö4	3,05	5,73	2,19	
Mittelwert	5,27	11,51	2,45	
Standardabweichung	2,22	8,17	0,26	
NC1	keine Messung			Lösch 2003
NC2				
NC3				
NC4				
NC5				
NC6				
NC7				
NC8				
NC9				
NC10				
NC21				
NC22				
NC23				
NC24				
NC25				
NC26				
NC27				
NC28				
NC29				
NC30				
NC31	12,34	38,48	3,64	
NC32	12,10	39,97	3,85	

VIII Anhang

Probe	N (%)	C (%)	C/N molar	
NC34	14,76	41,42	3,27	Lösch 2003
NC35	12,49	40,33	3,77	
NC36	12,91	40,57	3,67	
NC37	12,54	33,90	3,15	
NC38	13,07	40,28	3,60	
NC39	12,08	37,56	3,63	
NC40	6,27	16,81	3,13	
NC41	3,62	7,16	2,31	
NC42	13,15	38,63	3,43	
NC43	12,89	40,97	3,71	
NC44	10,89	35,02	3,75	
NC45	13,89	37,52	3,15	
NC46	14,65	39,36	3,14	
NC47	13,46	37,24	3,23	
NC48	10,28	29,71	3,37	
NC49	10,83	36,52	3,94	
NC50	12,95	40,30	3,63	
Mittelwert	12,00	35,85	3,44	
Standard-abweichung	2,74	8,91	0,37	
Kh2	13,48	44,268	3,831	Strott in Vorbereitung
Kh3	15,751	47,3	3,504	
Kh5	5,501	51,844	10,996	
Kh8	10,625	37,054	4,069	
Kh11	keine Messung			
Kh14				
Kh18				
Kh20	8,425	22,151	3,067	
Mittelwert	10,7564	40,5234	5,0934	
Standard-abweichung	3,61762207	10,9089353	2,610671371	
U1	39,056	11,474	3,971	Strott in Vorbereitung
U2	35,279	11,947	3,445	
U3	37,775	11,169	3,946	
U4	28,914	9,395	3,590	
U5	37,286	12,766	3,408	
Mittelwert	35,662	11,3502	3,672	
Standard-abweichung	4,00947546	8,17481885	0,56113816	

Tab. V.III.8: Aminosäureprofile des humanen archäologischen Materials, sowie nmol Aminosäure (AS) pro Ansatz und daraus resultierend mol/100mg Knochen (vgl. III: 6)

Probe	OH-Pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	cys	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg	nmolAS/20µl	nmol/100mg Knochen
Gü2	10,1	3,5	3,8	3,5	8	9,3	32	14	0,09	1,7	0,45	0,74	4,13	0,15	1,5	0,6	0,5	0,11	3,9	183,114	381,49
Gü3	10,7	3,2	3,4	3,7	8,1	9,5	32,9	14	0,1	1,5	0,5	0,64	4,2	0,2	0,97	0,35	0,7	0,5	3,5	192,686	87,64
NC12	7,54	1,99	1,02	0,98	3,31	13,48	34,18	22,33	0	2,37	0,18	0,91	2,82	0,1	0,79	0,17	0,43	3,5	3,92	213,08	5357,22
NC16	7,2	2,1	1,24	0,96	3,22	14,02	34,07	22,09	0	2,59	0,18	0,91	2,94	0,11	1,17	0,05	0,26	3,45	3,4	204,95	5222,16
NC17	7,92	0,61	0	0	2,31	19,87	43,99	9,68	0	1,93	0	0,4	1,05	0,16	0	0	0,13	1,17	10,78	49,97	1178,54
NC18	10,7	3,92	2,06	2,03	5,61	16,95	23,78	14,44	17	2,89	0,62	1,24	3,66	0,14	1,74	0,2	0,31	3,5	6,06	176,24	7377,48
P1	10,2	5,7	2,8	3,2	6,4	12,6	32,7	10	0,066	1,332	0,429	1,242	3,546	5,355	0,347	0,262	0,357	0,097	3,424	201,024	841,37
P2	8,8	5,3	2,4	2,3	5,7	13,16	34,569	9,1	0,086	1,421	0,52	1,03	3,537	7,6	0,437	0,36	0	0,235	3,592	135	1538,49
P3	9,3	4,854	0,74	1,952	6,729	13,859	35,741	9,907	0,078	1,646	0,533	1,322	3,62	4,5	0,671	0,586	0	0,305	3,6	86	1207
P4	11	4,5	2,4	3,9	7,4	13	31	13,3	0,07	1,2	0,2	1,7	3,4	0,2	4,4	1,4	0	0,314	0,5	256,914	3554,01
ES	11,8	3,6	2,9	4,5	6	8,3	32,9	20	0,09	1,4	0,67	0,57	4,1	0,078	1,4	0,4	0,628	0,143	2,5	199,038	1464,55
T1	11,7	3,4	3,2	5,8	8,2	13,8	30	13,5	0,09	0,97	0,178	0,963	3,3	0	2,9	0,6	0,25	0,17	0,7	194,7	642,29
T2	11	3,5	1,9	3,7	7,2	13	31,2	12,6	0,059	0,8	0,2	1,3	3,2	0,3	5,9	1,9	0	0,6	1,2	151,067	259,16
T3	9,9	5,9	2,5	5,1	8	12,4	33,2	13	0,063	1,774	0,324	1,549	4,777	0	0,699	0,326	0,652	0,109	2,346	245,597	3374,58
T4	11	4	2,9	4,9	7,2	12,9	28,8	13,2	0,2	1,3	1,2	2,1	5	0	3,5	0,8	0	0,28	0,4	189,806	3941,01
T5	9,9	4,2	2,4	3,7	6,8	12,7	19,3	12,27	0,062	1,041	0,247	1,6	3,2	0,3	5	2,123	0	0,8	4,5	198,066	1728,28
T6	8,7	1,9	1,4	6,2	7,2	14,2	31,2	14	0,24	1,1	0,4	1,6	3,4	0	4	1,5	0	0,3	2,6	96,783	138,46
T7	9,9	5,513	3,327	5,867	7,595	11,208	30,591	11,662	0,082	1,489	0,293	1,688	4,122	0,893	0,609	0,28	0,841	0	4	337,473	1500,69
T8	9,074	5,2	2,866	4,363	7,528	12,739	31,2	14,5	0,064	1,611	0	1,866	4,418	0	0,647	0,631	0,58	0,091	2,7	192,466	2164,52
T9	10	4,3	2,4	4,2	7,3	12,9	30,6	12,9	0,08	1,2	0,175	1,7	3,3	0,25	5	1,83	0	0,5	0,6	211,727	1893,61
E1	7,6	2,7	1,6	1,4	3,9	13	31,5	19,9	0,1	2,3	0	0,8	2,6		1,3	0,4	0,2	3,8	6,9	213,85	529,58
E2	7,9	2,2	1	1,1	3,8	13,6	30,9	18,9	0,1	2,1	0,1	0,7	2,6	0,1	0,8	0,3	0,2	2,7	11,1	198,15	815,44
E3a	8,2	2,2	1,5	0,9	1,9	13,6	32,9	21,1	0,1	1,9	0,3	0,6	2,8	0,1	1,4	0,4	0,3	3,5	6,3	197,3	791,49
E3b	8,4	3,5	1,6	2,2	8,4	11,2	27,2	16,1	0,1	2	0,3	0,8	2,6	0,1	1,4	0,3	0,3	3,9	10	326,05	1998,82
E3c	9,4	3,3	1,6	1,7	5,2	17,7	24,6	15	0,2	2,8	0,6	1,2	3,5		1,6	0,4	0,3	2,3	8,4	148,3	1222,72
E7	8,4	3,7	1,5	2,6	8,8	11,4	30,2	16,8	0,1	1,7	0,1	0,7	2,4	0,1	1,3	0,3	0,3	2,9	6,7	229,1	926,1
E13	11,6	5	2,1	3,5	8	14,7	22,1	12,7	0,1	2,4	0,2	1,1	3,1	0,1	1,6	0,5	0,4	3,4	7,4	155,3	650,64
E18/1	11,1	2,6	2	1	1,9	18,5	25,3	16,5	0,2	2,7	0,1	0,9	3,8	0,1	1,8	0,6	0,2	2,5	8,3	149,3	1287,9
E18/2	7,1	2,5	1,4	1,3	2,6	13	34,2	21	0,1	1,8	0,6	0,8	2,7	0,1	1,2	0,3	0,3	1,9	6,9	175,5	1204,09
E19	7,5	2,5	1,6	1,3	2,9	13,3	32,5	20,1	0,1	2,1	0,5	0,8	2,8	0,1	1,4	0,4	0,2	3,4	6,4	201,05	726,09

VIII Anhang

Probe	OH-Pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	cys	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg	nmolAS/20µl	nmol/100mg Knochen
E22	8,2	2,4	1,4	1,1	2,1	12,9	31,2	19,5	0,1	2	0,3	0,7	2,7	0,1	1,3	0,2	0,2	2	11,5	183	831,61
E27	7,2	2	1,4	0,8	1,9	13,8	32,2	21,1	0,1	2,5	0,1	0,8	2,8	0,2	1,4	0,3	0,2	4,1	7,3	203,4	543,13
E29	11	4,9	1,9	3,3	7,8	14,5	23,3	13	0,2	2,3	0,2	1	3		0,7	0,4	0,5	3,2	7,8	137,15	783,1
E31	7,3	4,2	1,4	2,7	9,4	11	29,4	16,1	0,1	1,8	0,3	0,7	2,3	0,2	1,2	0,2	0,4	2,5	8,7	233,15	1201,37
H1	16,9	7,5	3,5	3,9	7,1	10,104	29,2	10,866	0	0	0,226	1,865	4,921	0,74	0,716	0,303	0,47	0,006	1,821	262,849	7003,79
H2	15,7	7,4	3,3	3,7	6,977	10,3	29,3	10,6	0	0	0,3	1,513	4,369	1,2	2,3	0,345	0,56	0,042	2,062	221,49	6408,08
H4	16	8,4	2,3	3,5	6,7	10,3	29,2	11,5			0,562	1,6	4,4	0,9	0,9	0,361	0,5		2,9	206,7	1269,54
F1	11,1	4,4	1,9	4,2	7,3	13	30,4	11,83	0,049	0,799	0,108	1,9	3,19	0,345	5,8	2,475	0,123	0,436	0,611	160,918	673,51
F2	12,8	3,6	3,2	4,3	7,6	9,3	33,7	14	0,1	1,3	0,3	0,7	4	0,2	1,6	0,4		0,5	3,3	147	7188,52
F3	11	4	3	3,8	8,3	9,3	32	15,7	0,08	1,6	0,3	0,5	4,2	0,2	1,4	0,7	0,5	0,03	3,152	177,14	3933,87
F4	10,3	5,5	2,946	5,769	7,581	11,652	31,233	11,708	0,043	1,184	0,201	1,018	4,181	1,108	0,574	0,101	0,376	0,901	3,6	250,111	424,26
F5	11,2	4	1,8	3,1	7,8	9,8	32,7	16,8	0	1,3	0,27	0,5	4,2	0,3	0,9	0,6	0,7	0,07	3,7	263,385	3117,39
F7	11,5	4,4	2,3	4,4	7,7	12,7	30,9	12,9	0	1	0,3	0,98	3,4	0	6,4	0,3	0	0,07	0,37	238,956	3419,68
F9	10,7	3,5	2,1	4,3	8,3	9,2	34,188	14,84	0,1	1,4	0,5	0,59	4,1	0	1,6			3,9	3	208,493	3630,98
F10	10,7	3,2	2,6	4	8,2	9,4	32,4	15,7	0,127	1,5	0,5	0,5	4,2	0,168	1,4	0,4		0,4	3,5	179,225	5896,99

Tab. V.III.9: Aminosäureprofile des analysierten *in vitro* degradierten Materials, Proben ohne Kennzeichen wurden mittels Gelatineextraktion extrahiert, Proben mit dem Kürzel SE mit Säureextraktion (vgl. III.6).

Probe	OH-Pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	cys	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg	nmolAS	nmol/100mg Knochen
TEI 0,5	11	4,4	2,8	4,3	8,4	9,4	32	13	0,1	1,3	0,965	0,5	4	0,15	1,3	0,3	0	0,5	3,4	199,171	3361,36
TEI 1	19	8	3,1	4,7	6,9	9,6	26,05	12,075	0	0	0,169	1,263	4,109	0,783	0,673	0,441	0,481	0,103	2,375	276,787	3760,66
TEI 2	16,3	6,9	3,5	4,3	7	10,431	29,6	11,2	0	0	0,305	1,125	4,4	0,6	0,713	0,3	0,628	0,04	2,5	236,493	5104,63
TEI 2,5	11,62	6,6	2,3	3,5	7,1	12,675	32,566	9,807	0,054	1,16	0,31	1	3,997	2,745	0,651	0,223	0	0,338	3,448	287,577	2462,89
TEI 3	9,034	3,3	1,5	4,6	8,2	13,5	31,62	13,9	0,07	0,97	0,3	1,2	3,9	0	2,4	1,027	0	0,613	4	204,688	2280,58
TEI 3,5	10,7	3,5	3,2	4	8	9,1	32,416	15,4	0,1	1,6	1,1	0,57	4,2	0,17	1,3	0,5	0	0,7	3,75	198	1966,04
TEI 4	9,8	5,5	3,135	5,013	7,447	12,735	35,144	12,216	0,062	1,329	0,312	1,011	4,066	0	0,813	0,524	0,558	0,279	0	185,928	3359,04
TEI 5	10,75	3,9	2,5	4,1	7,4	12,4	29,2	13,7	0	0,8	0,172	0,98	3,6	0	5,7	0,743	0	0,211	3,7	268,98	1317,7
TEI 6	10,5	6,2	2,8	3	7	12,86	33,135	9,5	0,068	1,6	0,204	1,6	4,5	1,9	0,697	0,292	0	0,415	3,872	272,942	3122,64
TEI 7	11,1	6,8	2,3	3,5	7,1	12,636	32,272	9,99	0,058	1,187	0,363	1,1	3,982	3,099	0,57	0,231	0		3,5	295,256	1405,34
TEI 8	10,3	4,754	2,982	4,882	7,511	12,707	32,433	11,886	0,103	1,595	0	1,327	3,714	0,943	0,396	0,314	0	0,136	7,9	197,055	80,71
TEI 16	13,286	3,5	10	4,2	5,5	11,2	26,5	12,5	0,6	2	2,75	1,948	2,861	0	0	2,8	0	0	3,8	25,9	1028,99
TEI 2	11,15	3,2	2,2	3,1	7,5	14,4	32,4	13,2	0,01	1,5	0	1,6	4,3	0	3,4	0,72	0	0,4	0,9	176,3	301,73
TEI 11	10,8	3,3	2,3	3,1	8	10,9	37,151	14,237	0,127	1,525	0,3	0,6	4,4	0,3	1,8	0,48	0	0,316	3,26	116,429	166,22
TEI 18	10,3		1,9	2,5	7,6	10,9	37	13,6	0,4	2,2	1,1	0,7	4,2	0,5	1,4	1,3	0,4	0,3	3,5	69,488	160,64
TEI 25	8,967	9,5	0	5,3	5,8	8,7	27,9	12,3	0,4	1,5	1,6	7,9	1,9	0,4	1,7	1	0	0	4,947	57,343	9966,27
TEI 1 SE	13,4	6,9	2,9	4,2	6,5	11,9	25,9	10,1	0,16	1,157	2,324	1,8	5,2	1,5	0,7	0	1,5	0,9	3,2	265,023	7159,93
TEI 3,5 SE	8,3	5,4	3,1	4,831	7,247	11,964	32,36	11,477	0,106	1,535	0,678	1,825	4,411	1,229	0,538	0,398	0	0,462	4,159	212,135	4501,37
TEI 4 SE	8,4	5,3	2,863	4,946	6,951	11,558	32,393	10,261	0,062	1,434	0,334	1,392	3,873	0,967	4,759	0,472	0	0,025	5,952	147,692	5252,87
TEI 6 SE	8,5	6,1	2,916	4,6	7,578	12,115	32,4	12,165	0,093	1,632	0,778	1,483	4,903	0,982	0,802	0,486	0	0	5,568	222,461	1906,36
TEI 8 SE	9,656	5,845	3,164	5,56	7,6	11,998	30,842	13,317	0,063	1,51	0,435	1,017	4,389	1,037	0,875	0,58	0,425	0	1,657	167,051	983,8
TEI 20 SE	5	5,6	2,6	3,4	0	7,5	13,45	8,4	0,332	1,8	1,9	2,8	7,3	1,97	20,6	7,661	1,9	1,9	5,7	35,3	60,07
TEI 29 SE	2,987	10,27	7,16	6,9	11,542	7	10,994	7,602	0,337	2,764	1,014	4,7	12,775	3,7	1,971	0,911	0	0	6,431	82,893	198,55
TEI 32 SE	6,7	6,9	3	4,7	9,828	11,36	25,331	9,996	1,913	2,56	4,939	0	0	0	3,481	2,227	0	3,969	0,438	13,896	198,55

VIII Anhang

Tab. VIII.10: D/L-Asp-Quotienten (ARG) des humanen archäologischen und *in vitro* degradierten Knochenmaterials (vgl. III: 5), sind die Daten in einer vorherigen Arbeit erhoben wurden, wird dies unter den Messwerten angegeben.

Probe	1. Messung	2. Messung	3. Messung	Mittelwert	Standardabweichung	Kennwerte je Fundort	
						Mittelwert	Standardabweichung
Gö1	kein Signal erhältlich						
Gö2	0,0797238	0,076524	0,0720773	0,0761			
Gü1	0,0363456	0,029931	0,0305766	0,0323	0,0029	0,0296	0,0029
Gü2	0,0300421	0,02911	0,0312826	0,0301	0,0009		
Gü3	0,0241526	0,025622	0,0296643	0,0265	0,0023		
NC11	0,0541909	0,057285	0,0450729	0,0522	0,0063	0,0634	0,0236
NC12	0,036679	0,03221	0,0392449	0,0360	0,0036		
NC13	0,0507342	0,049219	0,0500554	0,0500	0,0008		
NC14	0,148534	0,106729	0,1014053	0,1113	0,0258		
NC15	0,0622869	0,065651	0,0623964	0,0634	0,0019		
NC16	0,0493245	0,052105	0,0523495	0,0513	0,0017		
NC17	0,0603049	0,059199	0,059442	0,0596	0,0006		
NC18	0,0465133	0,047934	0,0486437	0,0477	0,0011		
NC19	0,0995761	0,098565	0,0991653	0,0991	0,0005		
NC20	0,0599109	0,064309	0,0644391	0,0629	0,0026		
P1	Harbeck 2002			0,0455	0,0003	0,0422	0,0033
P2				0,0377	0,0001		
P3				0,0426	0,0009		
P4				0,0430	0,0088		
ES	0,0391864	0,054467	0,0509506	0,0482	0,0080	0,0482	
T1	Harbeck 2002			0,0411	0,0002	0,0356	0,0036
T2				kein Signal erhältlich			
T3				0,0313	0,0004		
T4				0,0331	0,0008		
T5				0,0318	0,0009		
T6				0,0397	0,0003		
T7				0,037	0,0009		
T8				0,0358	0,0008		
T9				0,0352	0,0000		
E1	0,038647	0,039703	0,0390941	0,0391	0,0005	0,0467	0,0082
E2	0,044652	0,051723	0,0495106	0,0486	0,0036		
E3a	0,0351655	0,0364	0,0442655	0,0386	0,0049		
E3b	0,0524287	0,052935	0,0530015	0,0528	0,0003		
E3c	0,0458286	0,045749	0,0472846	0,0463	0,0009		
E7	0,0362685	0,033773	0,0347045	0,0349	0,0013		
E13	0,045856	0,04313	0,0446312	0,0445	0,0014		
E18/1	0,0504644	0,047695	0,0495631	0,0492	0,0014		
E18/2	0,0412971	0,040134	0,0414422	0,0410	0,0007		
E19	0,0462711	0,05064	0,0495651	0,0488	0,0023		
E22	0,0499409	0,055281	0,0537754	0,0530	0,0028		
E25	0,0519945	0,049677	0,0500905	0,0506	0,0012		
E27	0,0485945	0,042419	0,0477683	0,0463	0,0034		
E29	0,071901	0,064991	0,0688231	0,0686	0,0035		
E31	0,0394881	0,037969	0,0390007	0,0388	0,0008		

Probe	1. Messung	2. Messung	3. Messung	Mittelwert	Standardabweichung	Kennwerte je Fundort	
						Mittelwert	Standardabweichung
Kh1	0,049631	0,043868	0,044023	0,0458	0,0033	0,0438	0,0044
Kh7	0,0328003	0,038468	0,0356453	0,0356	0,0028		
Kh9	0,0396879	0,041695	0,0406951	0,0407	0,0010		
Kh10	0,0482672	0,042357	0,0433562	0,0447	0,0032		
Kh12	0,0479807	0,0507	0,0496325	0,0494	0,0014		
Kh13	0,0476937	0,041629	0,0444321	0,0446	0,0030		
Kh15	0,0429188	0,050434	0,0500237	0,0478	0,0042		
Kh16	0,036831	0,040102	0,0396281	0,0389	0,0018		
Kh17	0,0506333	0,042788	0,0501023	0,0478	0,0044		
Kh19	0,0427877	0,043269	0,0421443	0,0427	0,0006		
H1	Harbeck 2002			0,0275	0,0015	0,0340	0,0159
H2				0,0275	0,0002		
H3				0,0233	0,0019		
H4				0,0577	0,0007		
F1	Harbeck 2002			0,0275	0,0008	0,0307	0,0039
F2				0,0352	0,0005		
F3				0,0285	0,0005		
F4				0,0358	0,0003		
F5				0,028	0,0004		
F6				0,0331	0,0001		
F7				0,0248	0,0001		
F9				0,0341	0,0057		
F10				0,0295	0,0007		
TE I 0,5				Harbeck 2002			
TE I 1	0,041	0,0012					
TE I 2	0,0605	0,0009					
TE I 2,5	0,0737	0,0025					
TE I 3	0,0768	0,0003					
TE I 3,5	0,0846	0,0034					
TE I 4	0,0876	nur 1 Messung					
TE I 5	0,0943	0,0016					
TE I 6	0,0909	nur 1 Messung					
TE I 7	0,0618	0,0720					
TE I 8	0,1183	0,0008					
TE I 12	0,2314	0,0361					
TE I 16	0,3579	0,0315					
TE I 20	0,4591	0,0078					
TE I 26	0,5574	0,0053					
TE I 29	0,57	0,0094					
TE I 32	0,6028	0,0134					
TE II 2						0,1451	0,0607
TE II 4	0,0630839	0,079321	0,073345	0,0719	0,0082		
TE II 7	0,1145556	0,115121	0,1149789	0,1149	0,0003		
TE II 9							
TE II 11	0,1033702	0,105551	0,1116203	0,1068	0,0043		
TE II 16							
TE II 18	0,1471224	0,141662	0,1437761	0,1442	0,0028		
TE II 21	0,1455453	0,145922	0,1461269	0,1459	0,0003		
TE II 23	0,2622288	0,262739	0,262398	0,2625	0,0003		
TE II 25	0,1589391	0,180469	0,1700965	0,1698	0,0108		

VIII Anhang

Tab.VIII.11: D/L-Asp-Quotienten (ARG) des tierischen Knochenmaterials (vgl. III: 5)

Probe	1. Messung	2. Messung	3. Messung	Mittelwert	Standardabweichung	Kennwerte je Fundort	
						Mittelwert	Standardabweichung
Gö3	0,0528411	0,048203	0,0543225	0,0518		0,0518	
Gö4	Kein Signal erhältlich						
NC1	0,0719126	0,070137	0,0682672	0,0710	0,0013	0,0739	0,0394
NC2	0,042545	0,040612	0,042941	0,0416	0,0014		
NC3	0,1830491	0,155449	0,112816	0,1692	0,0195		
NC4	0,1076923	0,115852	0,1158582	0,1118	0,0058		
NC5	0,0331729	0,031472	0,0312805	0,0320	0,0012		
NC6	0,0372048	0,037572	0,0386998	0,0374	0,0003		
NC7	0,1226675	0,115684	0,1332999	0,1192	0,0049		
NC8	0,195625	0,125209	0,15461	0,1604	0,0498		
NC9	0,0909331	0,12109	0,115256	0,1060	0,0213		
NC10	0,1425141	0,14358	0,1273534	0,1430	0,0008		
NC21	0,097463	0,078594	0,0813679	0,0880	0,0133		
NC22	0,0411187	0,039222	0,0384063	0,0396	0,0014		
NC23	Kein Signal erhältlich						
NC24	0,0874448	0,085991	0,0887764	0,0867	0,0010		
NC25	0,0629562	0,067408	0,0642936	0,0652	0,0031		
NC26	0,0458373	0,042673	0,045679	0,0443	0,0022		
NC27	0,0320057	0,040741	0,0311509	0,0364	0,0062		
NC28	0,0290989	0,027191	0,028408	0,0281	0,0013		
NC29	Kein Signal erhältlich						
NC30	Kein Signal erhältlich						
NC31	0,0602176	0,069249	0,0617977	0,0647	0,0064		
NC32	0,0615229	0,057741	0,0590519	0,0596	0,0016		
NC33	0,0458076	0,04648	0,048974	0,0461	0,0005		
NC34	0,0516683	0,052629	0,060345	0,0521	0,0007		
NC35	0,0493025	0,049378	0,0437573	0,0493	0,0001		
NC36	0,048779	0,051693	0,0478639	0,0502	0,0021		
NC37	0,0574999	0,060609	0,0584988	0,0591	0,0022		
NC38	0,0562407	0,057062	0,0616999	0,0567	0,0006		
NC39	0,063746	0,060837	0,0725192	0,0623	0,0021		
NC40	0,0632305	0,061494	0,0678221	0,0624	0,0012		
NC41	0,0591765	0,067242	0,0694936	0,0632	0,0057		
NC42	0,0599113	0,059699	0,0599943	0,0598	0,0002		
NC43	0,0663	0,052862	0,0531763	0,0596	0,0095		
NC44	0,0841878	0,08589	0,088689	0,0850	0,0012		
NC46	0,0667953	0,06784	0,0652035	0,0666	0,0013		
NC47	0,0792509	0,078843	0,0736927	0,0790	0,0003		
NC48	0,0583351	0,059033	0,0604539	0,0587	0,0005		
NC49	0,0579696	0,051799	0,05447	0,0549	0,0044		
NC50	0,1904045	0,191092	0,1905215	0,1907	0,0005		
Kh2	0,0534465	0,05367	0,049633	0,0522	0,0023	0,0515	0,0148
Kh3	0,0531363	0,054497	0,0529336	0,0535	0,0008		
Kh5	0,0459217	0,048882	0,0453226	0,0467	0,0019		
Kh8	0,0833578	0,081152	0,0843318	0,0829	0,0016		
Kh11	0,0420181	0,048985	0,0453229	0,0454	0,0035		
Kh14	0,0296764	0,030496	0,0300155	0,0301	0,0004		
Kh18	0,0472975	0,046115	0,0500032	0,0478	0,0020		
Kh20	0,0544292	0,052169	0,0538644	0,0535	0,0012		
U1	0,055845	0,049567	0,052669	0,0527	0,0031	0,0399	0,0096
U2	0,0292101	0,030139	0,0300297	0,0298	0,0005		
U3	0,0322012	0,034011	0,0336621	0,0333	0,0010		
U4	0,0333156	0,03923	0,037552	0,0367	0,0030		
U5	0,0459217	0,048882	0,0463326	0,0470	0,0016		

Tab.VIII.12: Signale in der Agarosegelelektrophorese der archäologischen humanen Knochenproben, sowie des *in vitro* degradierten Materials (0 = kein Signal bis 3 = starkes Signal), Amplifizierbarkeit der Proben mittels verschiedener Verfahren, sowie Feststellung der Anwesenheit von Inhibitoren (vgl. III:12); leere Spalten zeigen an, dass bei dieser Probe keine Analyse durchgeführt wurde, die Quelle der Daten ist seitlich angegeben

Probe	Agarosegel- elektrophorese		Amplifizierbarkeit mittels			Inhibitoren- test	Quelle
	Signal- stärke	blaugrüne Fluoreszenz	Duplex	Triplex	Identifiler	feststellbar	
Gö1							vorliegende Unter- suchung
Gö2	0	1		nein		ja	
Gü1							
Gü2	0	0		nein			
Gü3							
NC11							
NC12							
NC13	0	1		nein		ja	
NC14							
NC15							
NC16							
NC17	0	0		nein			
NC18	0	0		nein			
NC19	0	0		nein			
NC20							
P1	1	1	nein			ja	Harbeck 2002/vor- liegende Untersuchung
P2	1	1	nein			ja	
P3	3	0	ja		ja		
P4	1	0	nein				
ES	0	3		nein		ja	vorliegende Untersuchung
T1	2	1	nein			ja	Harbeck 2002
T2	2	1	ja			ja	
T3	2	1	nein			ja	
T4	2	0	ja				
T5	2	0	ja			nein	
T6	2	0	ja			nein	
T7	1	1	ja			ja	
T8	1	1	ja			ja	
T9	0	0	ja				
E1	1	0		nein		nein	vorliegende Untersuchung
E2	1	0		ja		nein	
E3a	1	0		ja		nein	
E3b	2	0		ja		nein	
E3c	3	0		nein		nein	
E7	1	0		nein		nein	
E13	1	0		nein		nein	
E18/1	1	0		ja		nein	
E18/2	1	0		ja		nein	
E19	1	0		nein		nein	
E22	1	0		nein		nein	
E25	0	0		nein		nein	
E27	1	0		nein		nein	
E29	1	0		ja		nein	
E31	1	0		nein		nein	

VIII Anhang

Probe	Agarosegel- elektrophorese		Amplifizierbarkeit mittels			Inhibitoren- test	Quelle
	Signal- stärke	blaugrüne Fluoreszenz	Duplex	Triplex	Identifiler	feststellbar	
H1	1	0	ja		ja	nein	Harbeck 2002/vor- liegende Untersuchung
H2	1	0	ja		nein	nein	
H3	1	0	ja		nein	nein	
H4	1	0	ja				
F1	2	2	ja			ja	Harbeck 2002/vor- liegende Untersuchung
F2	3	3	ja			ja	
F3	3	1	ja			ja	
F4	1	1	ja		nein	ja	
F5	3	2	nein			ja	
F6	1	1	ja		ja	ja	
F7	1	0	ja		nein		
F9	1	0	ja				
F10	2	1	ja		ja	ja	
K91	1	0	ja		ja	schwach	
K92	0	0	ja		ja	schwach	
K93	1	0	ja		ja	schwach	
K94	1	0	ja		ja	schwach	
K95	1	0	ja		ja	schwach	
K96	1	0	ja		ja	schwach	
K97	0	0	ja		ja	schwach	
K98	0	0	ja		ja	schwach	
K99	1	0	ja		ja	schwach	
K100	2	0	ja		ja	schwach	
TE I 0,5	3	0	ja		ja	nein	Harbeck 2002
TE I 1	2	0	ja		ja	nein	
TE I 2	2	0	ja		ja	nein	
TE I 2,5	2	0	ja		ja	nein	
TE I 3	1	0	ja		ja	nein	
TE I 3,5	1	0	nein		ja	nein	
TE I 4	1	0	ja		ja		
TE I 5	1	0	nein		nein		
TE I 6	0	0	nein				
TE I 7	0	0	ja				
TE I 8	0	0	nein				
TE I 12	0	0	nein				
TE I 16	0	0	nein				
TE I 20	0	0	nein				
TE I 26	0	0	nein				
TE I 29	0	0	nein				
TE I 32	0	0	nein				
TE II 2	1	0			nein	nein	vorliegende Untersuchung
TE II 4	0	0			nein	nein	
TE II 7	0	0				nein	
TE II 9	0	0				nein	
TE II 11							
TE II 16	1	0			nein	nein	
TE II 18							
TE II 21							
TE II 23							
TE II 25	1	0			ja	nein	

Tab. VIII.13: Ergebnisse der Analyse mittels Duplex-PCR der kremierten Knochenproben:
Mittels eines Index wird die geschätzte Stärke des Signals nach Fragmentlängenanalyse
angegeben (0=kein Signal bis 3=starkes Signal)

Probe	1. Ansatz		2. Ansatz		3. Ansatz	
	b-Globin	mt-DNA	b-Globin	mt-DNA	b-Globin	mt-DNA
K91	2	2	1	2	2	2
K92	1	1	1	1	1	0
K93	1	3	2	3	1	2
K94	0	1	1	1	1	1
K95	0	1	0	0	0	1
K96	1	1	0	1	1	1
K97	2	3	1	2	1	2
K98	1	1	2	1	1	1
K99	1	3	1	2	1	2
K100	1	2	1	1	1	1

Tab. VIII.14: Ergebnisse der Multiplex-Typisierung der Proben mittels Identifier Plus (Applied Biosystems) (vgl. III: 11.4), des archäologischen und in vitro degradientem Materials A = erfolgreich amplifizierbar, U=schwaches Signal, bei dreimaliger Wiederholung ein Ausfall

Probe/STR	Amelog.	D19S433	D3S1358	D8S1179	D5S818	VWA	TH01	D21S11	FGA	D13S317	TPOX	D16S539	D7S820	D18S51	CSF1PO	D2S1338	Anzahl der amplifizierte Genorte
F4																	
F6	X	A	A	A	A	A	A	A		A	A	A	U	U	A	A	15
F7																	
F10		A		A	A		A	A		A					A		7
H1	X		A	A	A												4
H2																	
H3																	
T1	X/Y	A	A	A		U	A	U	U								9
T2																	
T3																	
T4																	
T5	X/Y	U		U													3
T6																	
T7	X	A	A													U	4
T8		A				U									U		3
T9																	
P3	x	U		A		U											4
TE10,5	X/Y	A	A	A	U	A	A	A		A	A	A	A	A	A	A	15
TE11	X/Y	A	A	A	U	A	U	A									8
TE12	X/Y	A	A	A		U											5
TE12,5	X/Y	U	U	U													4
TE13		U	U														2
TE13,5	X/Y																1
TE14	X/Y																1
TE15																	

Tab. VIII.15: Ergebnisse der Multiplex-Typisierung der krenierten Knochenproben, sowie der Blutkontrollproben (Kontrolle) mittels Identifier Plus (Applied Biosystems) (vgl. III:1.4) in Fällen bei denen keine Kontrolle entnommen werden konnte, wird zumindest das bekannte Geschlecht angegeben

Probe	Durchlauf	Amellog.	D19S433	D3S1358	D8S1179	D5S818	VWA	TH01	D21S11	FGA	D13S317	TPOX	D16S539	D7S820	D18S51	CSF1PO	D2S1338
K91	1	x					17		31,2		12	8	12	8/10			
	2		12/13			12	16/17										
Kontrolle		xx	14	15/19	12/13	11/12	16/18	7/9,3	29	21	8/12	8	11/12	8/10	15/18	10	20
	1											8					
K92	1																
	2										11						
Kontrolle		xy	13/15	17	13	11/13	16/18	7/9	29/30,2	21	11/13	8/11	11	10/12	16/18	12	19/20
	1	x	13/16		12/15	12	16/17		29/30,2	21/23	11/12	8	12		16		
K93	2	y	13/16	16/17	12/15	12	17	9,9	29/30,2		8/12		12/13	12/13	12	10/12	
		xy	12/14	14/17	8/13	11/13	16/18	6/9,3	29	20/24	8/12	9/11	11/13	8/9	14/16	10/12	21/24
K94	1			16	10/11	12				20		11		7			
	2	y							29			11					
Kontrolle		xx	13,2/14	16/17	12/15	11/13	16/18	6/9,3	28/31	21/25	11/12	8/9	11/12	10/11	12/17	10/11	23/24
	1		16			11											
K95	1					11											
	2					11											
Kontrolle		xy	12/15	16/17	13/15	12	18	5/6	29	21/25	11	11	12/13	11/14	12/16	10/12	19/20
	1	xy	12/16,2	15/18	9/14	11/13	18	7/9	29/31	11/13	11/12	8	9/10	10	12/15	11/12	17/24
K97	1	x	14/16/18	13/15	11/12	15/17	9,3	7/11	11/12	8/11/12	10/11	11	7/11			17/24	
	2	y	12/13/14	15	14	11	7/8				11	8/11	12			12	17
Kontrolle		xy	15/16	13	12	18	6/7			12			11/12			17/19/20	
	3	xy	14/15	14/16	13	11/13	16/17	8/9,3	8/10	11/13	11/12	12/12	9/11	8/10	16/18	9/12	18/25
K98	1			16/18	13	11		7		11		11	13				
	2	x	12/13/14	15		11		7/8	28/29	11		8/11	12	10/13			17
Geschlecht		y		15							9		13			10	
		männlich															
K99	1	x	14/15,2	15/16	10	11/13	17/19	9,3	28/29	11/13	8/13	11	11	8/11	11	9/11/12	
	2	x	14	15/16	11/14	11		7/9,3	28/29	11	8		11	11			
Geschlecht		xy	13/14	15/16	11/14	11	17/18/20		31	11	11					10/11	23
		weiblich															
K100	1	xy	13/14/15	15/16/17/18	11/13	9/11/12	14/17/18/19	9,3	29/30	20/23	8/10/12	8/9/10	9/11/12	8/10/11	15/17/18	10/11	24
	2	xy	13/16		13/14	11/12	16/17/18/20	6,93			8/11/12/13	8/9	9/12		15		17
Geschlecht		weiblich															
		weiblich															

VIII Anhang

Tab.VIII.16: Prozentualer Gewichtsanteil des anorganischen Materials der humanen archäologischen Knochenproben (vgl. III: 8), leere Felder zeigen, dass in diesem Fall keine Analyse stattfand, stammt die Arbeit aus einer anderen Quelle als der vorliegenden ist dies unter den Feldern Einwaage/Ertrag angegeben.

Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	prozentualer Gewichtsanteil	Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	prozentualer Gewichtsanteil	
Gö1	Dummler 2004		34,23	E1	99,94	65,34	65,38	
Gö2			26,32	E2	100,35	31,08	30,97	
Mittelwert			30,28	E3a	100,21	71,71	71,56	
Standardabweichung			5,59	E3b	100,66	67,86	67,42	
Gü1	Dummler 2004		45,28	E3c	99,17	55,33	55,79	
Gü2			28,1	E7	keine Bestimmung			
Gü3			30,59	E13				
Mittelwert			34,66	E18/1	100,35	69,81	69,57	
Standardabweichung			9,28	E18/2	99,1	40,6	40,97	
NC11	Lösch 2003		78,11	E19	99,36	55,06	55,41	
NC12			74,79	E22	keine Bestimmung			
NC13			73,13	E25				
NC14				E27	100,71	69,76	69,27	
NC15				E29	keine Bestimmung			
NC16				E31				
NC17			72,47	Mittelwert				
NC18				Standardabweichung				
NC19			71,57		Kh1	Strott 2006		
NC20					Kh7			
Mittelwert			74,01	Kh9				
Standardabweichung			2,57	Kh10				
P1	110,59	77,12	69,74	Kh12				
P2	114,05	58,75	51,512	Kh13				
P3	115,97	61,3	52,86	Kh15				
P4	122,73	66,95	54,55	Kh16				
Mittelwert			57,17	Kh17				
Standardabweichung			8,47	Kh19				
ES	102,70	73,50	71,57	H2	108,86	59,99	55,51	
T1	102,43	66,02	64,45	H3	121,45	60,06	49,45	
T2	114,75	69,46	60,53	H4	119	59,15	49,7	
T3	106,91	48,34	45,22	Mittelwert			56,98	
T4	110,2	51,96	47,15	Standardabweichung			11,20	
T5	111,9	59,48	53,15	F1	108,64	74,56	68,6	
T6	133,23	102,66	77,05	F2	105,61	88,92	84,2	
T7	138,02	60,66	43,95	F3	113,34	76	67,05	
T8	121,44	71,53	58,9	F4	103,4	50,26	48,61	
T9	99,32	24,59	24,76	F5	136,64	85,65	62,68	
Mittelwert			52,80	F6	123,46	49,44	40,05	
Standardabweichung			14,89	F7	126,02	61,16	48,53	
				F9	109,95	48,11	43,76	
				F10	115,26	67,82	58,84	
				Mittelwert			58,04	
				Standardabweichung			14,17	

Tab. VIII.17: Prozentualer Gewichtsanteil des anorganischen Materials der *in vitro* degradierten Proben der Temperaturexperimente I und II sowie des kremierten Materials

Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	prozentualer Gewichtsanteil
TE I 0,5	114,48	53,71	61,487
TE I 1	102,63	41,94	43,043
TE I 2	115,84	63,6	73,674
TE I 2,5	99,32	51,38	51,03
TE I 3	100,8	49,13	49,523
TE I 3,5	101,5	48,42	49,146
TE I 4	99,2	50,36	49,957
TE I 5	104,33	52,22	54,481
TE I 6	105,33	51,69	54,445
TE I 7	109,34	62,11	67,91
TE I 8	109,51	65,16	71,357
TE I 12	109,88	58,18	63,928
TE I 16	104,47	66,45	69,42
TE I 20	103,45	72,22	74,712
TE I 26	111,57	66,88	74,618
TE I 29	106,34	65,95	70,131
TE I 32	108,57	88,79	96,399
TE II 2	100,55	44,31	44,07
TE II 4	105,44	49,24	46,70
TE II 7	114,9	60,53	52,68
TE II 9	101,76	13,38	13,15
TE II 11	100,33	46,03	45,88
TE II 16	101,48	25,18	24,81
TE II 18	100,09	50,38	50,33
TE II 21	99,43	48,56	48,84
TE II 23	101,96	53,73	52,70
TE II 25	98,55	30,02	30,46
K91	107,22	55,75	51,96
K92	138,61	92,26	66,56
K93	130	105,62	81,25
K94	123,07	80,35	65,29
K95	159,13	100,33	63,05
K96	149,28	87,78	58,8
K97	136,32	101,96	74,79
K98	157,11	129,56	82,46
K99	139,03	121,59	87,46
K100	103,8	70,85	68,26

VIII Anhang

Tab. VIII.18: Prozentualer Gewichtsanteil des anorganischen Materials der tierischen Knochenproben (vgl. III: 8),
leere Felder zeigen, dass in diesem Fall keine Analyse stattfand, externe Quellen sind unter Einwaage/Ertrag
angegeben

Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	prozentualer Gewichtsanteil	Probe	Einwaage (mg)	Ertrag (mg)	prozentualer Gewichtsanteil		
Gö3	Dummler 2004		61,73	Kh2	Strott 2006		57,71		
Gö4			49,3	Kh3			59,42		
Mittelwert			55,52	Kh5					
Standardabweichung			8,79	Kh8			71,35		
NC1	Löschen 2003 (nur Bestimmung von NC3, NC11, NC34, NC35, NC 37, NC37, NC42, NC43)			Kh11					
NC2				Kh14					
NC3			67,6	Kh18					
NC4				Kh20					
NC5				Mittelwert			62,83		
NC6				Standardabweichung			7,43		
NC7					U1	Strott 2006		63,26	
NC8					U2		65,46		
NC9					U3		62,93		
NC10					U4				
NC21					U5		58,25		
NC22					Mittelwert		62,48		
NC23					Standardabweichung		3,03		
NC24									
NC25									
NC26									
NC27									
NC28									
NC29									
NC30									
NC31									
NC32									
NC33									
NC34					68,5				
NC35					61,91				
NC36					70,33				
NC37					70,74				
NC38									
NC39									
NC40									
NC41									
NC42			72,81						
NC43			63,61						
NC44									
NC45									
NC46									
NC47									
NC48									
NC49									
NC50									
Mittelwert			67,93						
Standardabweichung			3,93						

Tab. VIII.19: Elementkonzentrationen nach RFA-Messung; bei leeren Faldern lag die Konzentration unterhalb der Messgrenze

Probe	Methode	Calcium	Phosphor	Magnesium	Kalium	Chlor	Eisen	Mangan	Zink	Silicium	Fluor	Strontium	Aluminium	Barium	Natrium	Schwefel	Titan	Uran
Gü2	quantitativ	349840	136593	1227	166		431	23	1448			374	106		4006		60	6
Gü3	quantitativ	368714	133058	1508	249		689	201	1916			682	370		3858		60	7
NC14	halbquantitativ	428820	152740	7339	1743				5609			7610	2011		4006	1001		
NC15	halbquantitativ	435967	144012	1990	1660		6373		13087			516	5821		890			
NC 16	halbquantitativ	428820	152740	5246	1245		2497		6544			4566	2964	3224	2893	1962		
NC19	halbquantitativ	450261	144012	1628	1162				7946			1522	1958	7165	2745	2883		
P1	quantitativ	318828	138121	784	83		431	139	841			177	53		3339		60	
P3	quantitativ	328476	142397	784	166		431	178	1169			158	53		3783		60	14
ES	halbquantitativ	450261	144012	724			12057	7745	1262			448	328		2225	2483		
T1	halbquantitativ	393085	183288	2894					4160			364	1482		2300	2323		
T2	halbquantitativ	393085	187652	2352		620			467			295	142,83		2226	1561		
T7	halbquantitativ	407379	183288	2593								372			3190	1202		
T8	halbquantitativ	385938	192016	2593					346			245	389		4525	1202		
E2	halbquantitativ	393085	192016	1146					1496			330	312		1335	481		
E3c	halbquantitativ	428820	161468	2714			4650		5141			330	1852		2967	441		
E7	halbquantitativ	414526	170196	1987			2153		3833		1300	203	1799		2003	721		
E19	halbquantitativ	414526	170196	2834	830				3506			279	1905		4229	1001		
H1	halbquantitativ	393085	174560	1628	1245	1700	23252	3563	514			470	0		3832	2643		
H2	halbquantitativ	393085	183288	1146	1577		12918	1781	514			420	0		4303	2083		
H3	halbquantitativ	393085	183288	1749			5426		888			389	191		6083	4005		
H4	halbquantitativ	400232	183288	1749			3789		1542			507			3858	1282		
F1	halbquantitativ	393085	192016	1025								600			1855	641		
F4	halbquantitativ	393085	196380	1969								160			2967	1121		
F5	halbquantitativ	385938	196380	844		920						313			2003	1001		
F10	halbquantitativ	400232	187652	844		660						260			2671	2003		
K91	halbquantitativ	371644	196380	6030	830	2600	1206		482			144	280		8160	721		
K92	halbquantitativ	371644	174560	9648	3237	910			888				291		35609	2964		
K93	halbquantitativ	335909	178924	7339	9131				894	1168			349		62316	1902		
K98	halbquantitativ	321615	174560	8442	13282	580	947		643	5141		161	1217		74186	841		
TE II 2	halbquantitativ	385938	192016	2231					435			211	529		4896	316		
TE II 16	halbquantitativ	393085	187652	2593					2711			169			4006	441		
TE II 25	halbquantitativ	400232	183288	2593					3615	795			429		5787	641		

VIII Anhang

Tab. VIII.20: Stabile Isotopenverhältnisse aus Kollagen und Carbonat der humanen archäologischen Knochenproben, das Fehlen Messdaten werden durch leer Felder angedeutet

Probe	Kollagen		Carbonat		Quelle
	$\delta^{15}\text{N}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ (‰)	
Gö1	9,98	-19,68	-11,93	-12,81	Dummler 2004
Gö2	Kein Kollagen extrahierbar		-11,72	-13,28	
Gü1	8,68	-18,75	-6,69	-8,66	
Gü2	12,93	-14,65	-7,8	-10,75	
Gü3	Kein Kollagen extrahierbar		6,53	-11,36	
Mittelwert	10,81	-16,70	-2,65	-10,26	
Standard-abweichung	3,01	2,90	7,97	1,42	
NC11	5,57	-19,94	-6,49	-12,56	Lösch 2003
NC12	7,04	-20,66	-7,44	-13,63	
NC13	8,91	-18,87	-7,66	-12,32	
NC14	6,51	-20,80			
NC15	Kein Kollagen extrahierbar				
NC16	6,37	-20,55	-6,68	-13,03	
NC17	5,94	-19,89	-7,43	-12,31	
NC18	5,80	-21,12			
NC19	8,69	-21,74	-6,85	-12,60	
NC20	6,17	-19,89			
Mittelwert	6,78	-20,38	-7,09	-12,74	
Standard-abweichung	1,22	0,84	0,48	0,51	
P1	9,56	-20,05	-5,16	-13,9	vorliegende Untersuchung
P2	9,02	-20,93	-6,4	-15,43	
P3	9,52	-20,06	-7,22	-14,83	
P4	9,54	-20,24	-6,87	-14,55	
Mittelwert	9,41	-20,32	-6,41	-14,68	
Standard-abweichung	0,26	0,42	0,90	0,64	
ES	10,24	-20,97	-14,23	-13,29	
T1	10,02	-19,71	-5,5	-12,67	
T2	10,38	-19,31	-5,86	-12,2	
T3	10,38	-20,26	-4,52	-14,36	
T4	10,27	-18,97	-5,38	-13,17	
T5	9,89	-19,53	-5,84	-14,59	
T6	10,05	-20,22	-13,84	-11,82	
T7	11,07	-19,71	-5,22	-13,67	
T8	9,75	-19,34	-6,6	-13,36	
T9	10,79	-19,27	-5,75	-14,99	
Mittelwert	10,29	-19,59	-6,50	-13,43	
Standard-abweichung	0,43	0,43	2,81	1,09	

Probe	Kollagen		Carbonat		Quelle
	$\delta^{15}\text{N}_{\text{KO}} (\text{‰})$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{KO}} (\text{‰})$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}} (\text{‰})$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}} (\text{‰})$	
E1	10,11	-21,44	-9,21	-14	Czermak 2003/ Gaugler 2006
E2	10,69	-21,66	-10,01	-13,12	
E3a	10,19	-21,30	-9,94	-12,17	
E3b	10,46	-22,50	-8,41	-12,98	
E3c	10,32	-20,28	-10,12	-14,21	
E7	10,07	-22,43			
E13	9,24	-21,43			
E18/1	9,75	-20,31	-8,53	-12,9	
E18/2	8,87	-21,72	-9,3	-13,95	
E19	9,19	-22,41	-10,05		
E22	10,25	-21,08			
E25	9,16	-22,97			
E27	9,77	-21,97	-8,49	-12,73	
E29	9,36	-22,93			
E31	6,98	-25,88			
Mittelwert	9,63	-22,02	-9,34	-13,26	
Standard- abweichung	0,91	1,35	0,72	0,72	
Kh1	5,69	-21,9	-11,66	-13,96	Strott in Vorbereitung
Kh7	9,59	-20,34			
Kh9	10,81	-19,49			
Kh10	9,34	-19,75			
Kh12	13,04	-19,88			
Kh13	10,96	-20,19			
Kh15	10,96	-20,25			
Kh16	10,64	-19,44			
Kh17	10,64	-20,21			
Kh19	Kein Kollagen extrahierbar				
Mittelwert	10,19	-20,16			
Standard- abweichung	1,98	0,73			
H1	13,52	-19,46	-8,11	-10,06	Vorliegende Untersuchung
H2	12,4	-19,54	-9,31	-14,1	
H3	13,22	-19,18	-11,03	-13,94	
H4	12,41	-19,83	-13,31	-13,9	
Mittelwert	12,89	-19,50	-10,44	-13,00	Vorliegende Untersuchung
Standard- abweichung	0,57	0,27	2,26	1,96	
F1	12,62	-19,04	-7,56	-12,89	Vorliegende Untersuchung
F2	11,13	-19,27	-9,37	-12,66	
F3	12,9	-19,41	-5,19	-13,18	
F4	12,99	-18,74	-6,53	-15,22	
F5	13,25	-18,91	-6,86	-12,61	
F6	10,55	-20,43	-7,42	-15,47	
F7	11,77	-19,02	-5,79	-14,61	
F9	12,59	-19,48	-5,06	-15,38	
F10	11,45	-18,86	-5,26	-13,84	
Mittelwert	12,14	-19,24	-6,56	-13,98	Vorliegende Untersuchung
Standard- abweichung	0,94	0,51	1,42	1,20	

VIII Anhang

Tab. VIII.21: Stabile Isotopenverhältnisse aus Kollagen und Carbonat des humanen *in vitro* degradierten bzw. kremierten Knochenmaterials, leere Felder bedeuten, dass in diesem Fall keine Messung vorgenommen wurde

Probe	Kollagen		Carbonat		Quelle
	$\delta^{15}\text{N}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ (‰)	
TE I 0,5	10,03	-20,63	-10,12	-16,34	Vorliegende Untersuchung
TE I 1	10,05	-20,29	-8,98	-16,53	
TE I 2	10,31	-20,25	-9,21	-16,58	
TE I 2,5	9,99	-20,43	-9,62	-16,46	
TE I 3	10,08	-20,41	-9,04	-16,29	
TE I 3,5	10,19	-20,17	-12,68	-16,4	
TE I 4	10,08	-20,23	-10,13	-16,74	
TE I 5	9,5	-20,42	-10,06	-16,63	
TE I 6	10,14	-20,47	-9,23	-16,81	
TE I 7	9,72	-20,36	-10,3	-16,44	
TE I 8	10,57	-20,12	-9,8	-16,46	
TE I 12	6,38	-22,63	-15,02	-16,25	
TE I 16	10,59	-16,71	-10,39	-16,6	
TE I 20	Kein Kollagen extrahierbar		-10,77	-16,4	
TE I 26			-10,77	-16,35	
TE I 29			-10,11	-16,55	
TE I 32	8,59	-17,98	-10,58	-16,37	
K91	Kein Kollagen extrahierbar		-17,4	-23,43	Vorliegende Untersuchung
K92			-16,58	-22,81	
K93			-13,81	-24,87	
K94			-16,91	-25,37	
K95			-15,23	-24,96	
K96			-16,42	-22,87	
K97			-15,51	-25,07	
K98			-17,13	-21,29	
K 99			-12,65	-24,18	
K100			-13,69	-25,4	
Mittelwert			-15,53	-24,03	
Standardabweichung			1,65	1,38	

Tab. VIII.22: Stabile Isotopenverhältnisse aus Kollagens und Carbonat des tierischen *in vitro* degradierten bzw. kremierten Knochenmaterials, leere Felder bedeuten, dass in diesem Fall keine Messung vorgenommen wurde

	Kollagen		Carbonat		Quelle
Probe	$\delta^{15}\text{N}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ (‰)	
G63	10,78	-20,48	-6,96	-11,07	Dummler 2004
G64	Keine Messung vorgenommen		-1,11	-12,77	
NC1	kein Kollagen extrahierbar				Lösch 2003
NC2					
NC3					
NC4					
NC5					
NC6					
NC7					
NC8					
NC9					
NC10					
NC21					
NC22					
NC23					
NC24					
NC25					
NC26					
NC27					
NC28					
NC29					
NC30					
NC31	4,82	-20,18			
NC32	2,97	-21,42			
NC33	6,79	-20,32			
NC34	6,33	-20,67			
NC35	3,92	-19,29			
NC36	7,85	-19,78			
NC37	9,47	-19,04			
NC38	5,40	-20,57			
NC39	7,79	-21,51			
NC40	7,20	-20,42			
NC41	14,21	-22,63			
NC42	8,40	-22,22			
NC43	5,22	-20,30			
NC44	7,99	-20,19			
NC45	7,19	-19,75			
NC46	5,85	-20,45			
NC47	7,28	-20,15			
NC48	7,85	-22,66			
NC49	5,55	-20,72			
NC50	6,76	-20,56			
Mittelwert	6,94	-20,64			
Standardabweichung	2,33	0,99			

VIII Anhang

Probe	Kollagen		Carbonat		Quelle
	$\delta^{15}\text{N}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{KO}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{CA}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$ (‰)	
Kh2	6,07	-22,89	-8,69	-10,86	Strott in Vorbereitung
Kh3	8,25	-20,96	-11,81	-10,71	
Kh5	6,98	-27,71			
Kh8	4,06	-21,02	-10,27	-11,81	
Kh11	Kein Kollagen extrahierbar				
Kh14					
Kh18					
Kh20			8,46	-21,89	
Mittelwert	6,76	-22,89	-10,26	-11,13	
Standard-abweichung	1,80	2,80	1,56	0,60	
U3	4	-22,14	-8,98	-12,86	
U4	6,010	-21,280			
U5	5,570	-21,450	-9,57	-13,31	
Mittelwert	5,19	-21,62	-9,28	-13,09	
Standard-abweichung	1,06	0,46	0,42	0,32	

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 12 der Promotionsordnung von Frau Professor Dr. Gisela Grupe betreut. Ich erkläre hiermit, dass die Dissertation nicht einer anderen Prüfungskommission vorgelegt worden ist und dass ich mich anderweitig einer Doktorprüfung ohne Erfolg nicht unterzogen habe.

Ehrenwörtliche Versicherung

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, dass die vorgelegte Dissertation von mir selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde.

München, den 06.11.2006

Michaela Harbeck

Lebenslauf

Name Michaela Harbeck
Geboren am 27.02.1976 in Neumünster
Staatsangehörigkeit deutsch

Ausbildung

Mai 1996 Abitur am Elly-Heuss-Knapp-Gymnasium, Neumünster

Sep 1996 – Dez 2001 Studium der Biologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel; Hauptfach: Anthropologie, Nebenfächer: Zoologie, Rechtsmedizin, Biochemie

Dez 2001 – Okt 2002 Anfertigung der Diplomarbeit im Institut für Rechtsmedizin (Kiel), mit dem Titel: Morphologische und molekularbiologische Aspekte der Knochenalterung: Untersuchungen zur Liegezeitbestimmung. Betreuung durch PD. Dr. I. Schröder (Fachbereich Anthropologie)

Okt 2002 Diplom der Biologie der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen-Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Dez 2002 – Nov 2004 Beginn des Dissertationsvorhabens im Institut für Rechtsmedizin (Kiel), mit Promotionsstipendium der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel; Betreuung durch PD. Dr. I. Schröder (Fachbereich Anthropologie)

Nov 2003 – Mai 2004 Auslandssemester mit Studium der Archäologie an der Universidad de La Laguna (Spanien)

Nov 2004 Fortführung des Dissertationsprojektes an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, mit Promotionsstipendium der Frauenbeauftragten (bis Nov 2005); Betreuung durch Prof. Dr. G. Grupe (Department Biologie I, Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie)

Seit Nov 2005 Wissenschaftliche Assistentin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, Department Biologie I, Bereich Biodiversitätsforschung/Anthropologie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. Grupe

Publikationen

Beiträge in Fachzeitschriften

Harbeck, M.; Ritz-Timme, S.; Schröder, I.; Oemichen M., von Wurmb-Schwark N. (2004): Degradation von Biomolekülen: Eine vergleichende Studie zur Diagenese von DNA und Proteinen in humanem Knochengewebe. Anthropologischer Anzeiger 62: 387-396

Lebenslauf

Harbeck, M.; Dobberstein, R.; Ritz-Timme, S.; Schröder, I.; Grupe, G. (2006): Degradation von Biomolekülen in Knochen: Auswirkung auf die biologische Spurenkunde am Beispiel stabiler Isotopenverhältnisse im Kollagen. *Anthropologischer Anzeiger* 64: 273-282

Offele, D.; Harbeck, M.; Dobberstein, R.; von Wurmb-Schwark, N.; Ritz-Timme, S. (im Druck): Soft tissue removal by maceration and feeding of *Dermestes* sp.: impact on morphological and biomolecular analyses of dental tissues in forensic medicine. *International Journal of Legal Medicine*

Von Wurmb-Schwark, N.; Harbeck, M.; Wiesbrock, U.; Schroeder, I.; Ritz-Timme, S.; Oehmichen, M. (2003): Extraction and amplification of nuclear and mitochondrial DNA from ancient and artificially aged bones. *Legal Medicine* 5: 169-172

Von Wurmb-Schwark, N.; Schwark, T.; Harbeck, M.; Oehmichen M. (2004): A simple Duplex-PCR to evaluate the DNA quality of anthropological and forensic samples prior short tandem repeat typing. *Legal Medicine* 6: 80-88

Vorträge

Harbeck, M.; Wiesbrock, U. (2002): Knochenalterung und Liegezeitbestimmung. Vortrag, Workshop "Skelettidentifikation", 14.-18. Oktober 2002, Institut für Anthropologie an der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

Harbeck, M.; von Wurmb-Schwark, N.; Ritz-Timme, S.; Dobberstein, R.; Schröder, I.; Oehmichen M. (2003): Degradation von Biomolekülen: Eine vergleichende Studie zur Diagenese von DNA und Proteinen in humanem Knochengewebe. Vortrag, 5. Kongress der Gesellschaft für Anthropologie e.V., 17-20. September 2003, Potsdam

Harbeck, M.; Dobberstein, R.; Ritz-Timme, S.; Doppler, S.; Schröder, I.; Grupe G. (2005): Degradation von Biomolekülen in Knochen: Auswirkung auf die biologische Spurenkunde. Vortrag, 6. Kongress der Gesellschaft für Anthropologie e.V., 12.-16. September 2005, München

Huppertz, J.; Dobberstein, R.; von Wurmb-Schwark, N.; Harbeck, M.; Mönnichs, S.; Ritz-Timme S. (2004): Postmortale molekulare Veränderungen der organischen Dentinmatrix. Vortrag, Frühjahrstagung Rechtsmedizin Nord, 4-5. Juni 2004, Köln

Offele, D.; Dobberstein, N.; von Wurmb-Schwark, N.; Harbeck, M.; Ritz-Timme S. (2004): Beeinflussung molekularer Untersuchungsverfahren an Zähnen durch verschiedene Mazerations- und Skelettierungsverfahren. Vortrag, Frühjahrstagung Rechtsmedizin Nord, 4-5 Juni 2004, Köln

Von Wurmb-Schwark, N.; Harbeck, M.; Simeoni, E., Oehmichen, M. (2003): Genetic investigation of historical and modern burned corpses. Vortrag, International Society for Forensic Genetics, 9-13 September 2003, Bordeaux-Arcachon, Frankreich

Danksagung

Mein Dank gilt allen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben. Insbesondere bin ich folgenden Personen zu Dank verpflichtet:

Frau Prof. Dr. G. Grupe, welche spontan die Betreuung meiner in Kiel begonnenen Arbeit übernahm. Insbesondere danke ich ihr für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe. Ohne ihre Unterstützung und zahlreichen Anregungen und wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Frau Priv.-Doz. Dr. I. Schröder, die mich während meines gesamten Studiums förderte und die erste Phase meines Promotionsvorhabens betreute, für ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft und ihren großen persönlichen Einsatz.

Herrn Prof. Dr. G. Haszprunar für die umgehende Bereitschaft das Zweitgutachten zu übernehmen.

Frau Prof. Dr. S. Ritz-Timme, Herrn Dr. R. Dobberstein und insbesondere Herrn Dr. H.-W. Schütz für ihren fachlichen Beistand bei der Erhebung der Daten zur Aminosäurerazemisierung im Institut für Rechtsmedizin Kiel. Weiterhin danke ich Herrn Dr. G. Doppler und Herrn Andrews, die die Bestimmung der Elementkonzentration mittels RFA im Bayerischen Geologischen Landesamt ermöglichten sowie Herrn Dr. B. Rolf (Institut für Rechtsmedizin München) für die Übernahme der Fragmentanalyse.

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Anthropologie München, vor allem A. Czermark, S. Dummler, P. Gaukler, S. Lösch und N. Strott für die Bereitstellung ihrer Daten. Im Besonderen danke ich Frau Dipl.-Biol. S. Doppler für die produktive Zusammenarbeit.

Herrn Dipl.-Biol. S. Fürst und Herrn K. Seitz, M.A. für die außerordentlichen Beiträge zur sprachlichen Verbesserung dieser Arbeit.

Frau Dipl.-Biol. A. Kayıkçıoğlu (heutige Hilz), der ich sowohl für die arbeitstechnische, wie auch moralische Unterstützung ganz besonders danken möchte und vor allem dafür, dass sie mir eine so großartige Freundin geworden ist.

Allen Freunden für ihre Geduld und ihr Verständnis, besonders meiner lieben Freundin Sandra für die wunderbare Ablenkung.

Meinen Eltern, für ihren Glauben an mich.

Vielen Dank!

