

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

**A CSONTKÉMIAI VIZSGÁLATOK
JELENTŐSÉGE ÉS ALKALMAZÁSA A
TÖRTÉNETI ÉS IGAZSÁGÜGYI
ANTROPOLÓGIÁBAN**

Doktori (PhD) értekezés

Márk László
egyetemi tanársegéd
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

Pécs
2006.

Lengyel Imre professzor úr emlékének...

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	5
2. Célkitűzések	7
3. Tudományos előzmények	8
4. A csontszövet kémiai összetétele, biokémiája	11
4.1. Szerves összetevők	11
4.2. A csontszövet szervetlen komponensei	14
5. Az antropológiai leletek: a beágyazódástól napjainkig	16
5.1. Képződési folyamatok	18
6.1. Az alkalmazott eljárások összehasonlítása	20
7. A nemek meghatározása emberi maradványok kémiai vizsgálatával	21
7.1. A csontszövet citrát-koncentrációjának meghatározása	21
7.1.1. Anyag és módszer	22
7.1.2. Eredmények	22
7.2. Nemi hormonok meghatározása	25
7.2.1. Anyag és módszer	26
7.2.2. Eredmények	27
8. Egykori népcsoportok táplálkozástudományi vizsgálata	34
8.1. A táplálkozás és a csontszövet nyomelem tartalmának kapcsolata	34
8.2. Anyag és módszer	35
8.3. A vizsgálatok eredményei	35
9. A későszarmata népesség temetkezési szokásainak vizsgálata	40
9.1. A vizsgált leletek	40
9.2. Csontleletek kémiai vizsgálata	41
9.3. A minták kiválasztása és előkészítése	42
9.4. A kémiai elemzések eredményei	42
9.4.1. Csontminták termikus vizsgálata	42
9.4.2. Antropológiai leletek analitikai elemzése	45
9.4.3. A röntgendiffrakciós (XRD) vizsgálatok eredményei	49

<u>9.5. A csontkémiai vizsgálatok eredményeinek értékelése</u>	50
<u>10. Mycobacterium fertőzés detektálása analitikai módszerekkel</u>	53
<u>10.1. A vizsgált anyag</u>	55
<u>10.2. A vizsgálat menete</u>	57
<u>10.3. A vizsgálatok eredményei</u>	58
<u>11. Az új tudományos eredmények összefoglalása</u>	62
<u>12. Összefoglalás</u>	64
<u>13. Summary</u>	67
<u>14. Köszönetnyilvánítás</u>	70
<u>15. Felhasznált irodalom</u>	71

*„A komoly csontkamrában nézegettem
a zsúfoltan sorjázott koponyákat
s a megöszült időbe révedeztem.”*

Johann Wolfgang Goethe
Schiller koponyája (részlet)
(Vas István fordítása)

1. BEVEZETÉS

A biológiai antropológia közel másfél évszázada foglalkozik az emberiség fejlődéstörténetével, hajdanvolt és jelenkori népeiségek vizsgálatával. Az elmúlt évek során a tudományág által alkalmazott kutatási módszerek — a segédtudományok fejlődésével karöltve — nagy változáson mentek keresztül, így a történeti, recens és igazságügyi embertan is rutinszerűen alkalmazza a legújabb biológiai, kémiai és fizikai vizsgálati technikákat. Azon túl, hogy ezek a modern természettudományos vizsgálati eljárások kiválóan kiegészítik a morfológiai jellegek által szolgáltatott információkat, hozzájárulnak a klasszikus antropológia által nem vizsgálható, töredékes, rossz állapotú maradványok tudományos feldolgozásához.

Az igazságügyi és történeti antropológia, az archeológia, a paleozoológia és a régészeti geológia már nemcsak a múlt és jelen kincseinek, maradványainak felfedezését és „begyűjtését” tűzi ki céljául, hanem azok aprólékos tudományos elemzését, értékelését is. Ha az a célunk, hogy pontosan megismerjük az egykori eseményeket, akkor a lejátszódott természeti és kulturális folyamatokat már nem tekinthetjük csupán egy „globális puzzle” apró, önálló elemeinek, hanem azokat tényleges kapcsolatrendszerükben, összefüggéseik mátrixában kell vizsgálnunk. Így kutatási elképzeléseim kialakításakor a leglényegesebb szempont az általános, különböző tudományterületeken átívelő alkalmazhatóság volt.

Dolgozatom felépítése során törekedtem a célszerűségre, a tömörségre és a tárgyilagosságra. Kutatási céljaim ismertetését követően egy rövid történeti áttekintést kívánok nyújtani a fontosabb irodalmi párhuzamok említése segítségével. Majd

ismertetem a humán csontszövet kémiai összetételének, biokémiájának valamint az emberi maradványok „életútjának” rövid összefoglalását. Ezt követően az elvégzett kísérleti munkát és a témához kapcsolódó tudományos fejlesztéseket adom közre, majd — összefoglalva a kutatási eredményeket — felvázolom jövőbeni elképzeléseimet. A disszertációt a felhasznált közlemények jegyzéke zárja.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkám során régészeti és igazságügyi vonatkozású emberi maradványok analitikai kémiai vizsgálatát végeztem el. A történeti leletek a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Karának Embertani Tanszékéről, míg az igazságügyi és egyéb recens minták a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Igazságügyi Orvostani Intézetéből származnak.

Ahol szükséges és lehetséges volt, ott a csontkémiai vizsgálatok eredményeit a maradványok környezetéből származó talajminták analitikai elemzésével egészítettem ki.

Kutatási céljaim:

1. Olyan analitikai kémiai módszerek kifejlesztése és rutinszerű alkalmazása, amelyek a rendkívül töredékes történeti és igazságügyi anyagra egyaránt alkalmazható nem-meghatározást tesznek lehetővé.
2. A táplálkozási szokások és a csontszövet kémiai összetétele közötti összefüggések pontosabb feltárása. A Kárpát-medence történeti népességének táplálkozástudományi vizsgálata, különös tekintettel a neolitikáció időszakára és a Kr.u. IX. és XI. század közötti periódusra.
3. Az egykori temetkezési szokások pontosabb megismerése természettudományos módszerek segítségével.
4. Olyan analitikai módszerek kifejlesztése, amelyek alkalmasak történeti népességeket érintő betegségek (pl. tuberculosis) kimutatására.

3. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK

Bartolomeo da Varignana már a XIII. században (1299-ben) boncolást illetve kémiai vizsgálatokat alkalmazott a különböző halálos mérgezések kimutatása céljából.

Az első olyan, magas színvonalú tudományos eredmények, amelyek pontos csontkémiai elemzéseket közölnek 1928-ban a *The Journal of Biological Chemistry* hasábjain láttak napvilágot. A szerzők a recens csontszövet karbonát, kalcium és foszfor tartalmának mennyiségi elemzését tűzik ki célul és így az embertani szempontból — a későbbiekben ismertető táplálkozástudományi vizsgálatok miatt — rendkívül informatív Ca/P arányt is meghatározzák (Kramer *et al.* 1928; Shear *et al.* 1928). Ezen úttörő munka után hosszú ideig csak néhány közlemény foglalkozott humán maradványok kémiai összetételével, ez talán annak a sajnálatos ténynek köszönhető, hogy ebben az időszakban az emberi maradványok nem kaptak kellő figyelmet a nemzetközi régészeti kutatás részéről. Ez a szemléletmód a radiokarbon kormeghatározási módszer, és így az „újrégészet” megszületésével változott meg. Az új datálási eljárás által keltett forradalmi változások kétszer is végigsöpörtek a tudományos közéleten, hatásukra a kutatók ráeszméltek arra, hogy a múlt megismerése csak összetett, minden részletre kiterjedő elemzéssel valósítható meg.

Egy-egy teljesen feltárt temető embertani maradványainak kémiai analitikai, hisztológiai és szerológiai vizsgálatát — a nemzetközi antropológiai kutatás történetében elsőként — Nemeskéri és Lengyel végezte el a népességtöredék biológiai rekonstrukciója¹ céljából (Lengyel *et al.* 1963; Nemeskéri *et al.* 1963). Lengyel átfogó jellegű vizsgálatait az Embertani Tár külső munkatársaként 1959-ben kezdte meg. A vizsgálatok két párhuzamos vonalon folytak: egyfelől recens bonctermi csontanyagon, másfelől öt, teljes feltárású sorozaton történtek. Célkitűzéseik szerint elvégezték a maradványok kémiai módszerekkel történő nem és életkor meghatározását, vércsoport és patológiai elemzését. A genetikai elemzések céljára szolgáló vércsoport vizsgálatokat Boyd és Candela abszorpciós eljárásának (Boyd 1933, 1950, 1954; Candela 1936, 1939, 1942), valamint Coons és munkatársai által közölt fluoreszcens antitest módszerének

¹ „Csontvázletek biológiai rekonstrukciója alatt mindazon jellegzetességek megállapítását, jelenségeket, valamint normál- és kórfolyamatok, változások mennyiségi és minőségi felderítését értjük, amelyek emberi mivolttal, a születés és halál közötti időtartammal, az exogén és endogén tényezőkkel és a legáltalánosabban vett életfeltételekkel (etnikai, történeti, gazdasági, társadalmi) állanak kapcsolatban.” (Nemeskéri *et al.* 1963)

(Coons *et al.* 1941) Lengyel Imre által módosított verziójával (Lengyel 1972, 1975, Lengyel *et al.* 1964) végezték el a szerzők.

Dávid Péter elsőként közölt derivatográfias elemzéseket a fosszilis csontszövet korának és összetételének megállapítása céljából (Dávid 1969). Hasonló termikus vizsgálatokat — Lengyel méréseire támaszkodva — Kiszely is bemutatott a régészeti csontleletek abszolút korának meghatározása céljából (Kiszely 1973). Kósa és munkatársai igazságügyi és recens csontminták derivatográfias vizsgálatát elvégezve bizonyították, hogy a termikus analízis ilyen időintervallumon belül nem szolgáltat megbízható eredményeket a földben fekvési időt illetően (Kósa 1983, Kósa *et al.* 1982, Lengyel 1980).

Lengyelék munkásságának köszönhetően a hazai csontkémiai kutatás megelőzte a nemzetközi eredményeket, azonban a gyors, dinamikus fejlődést megtörte Lengyel Imre tragikus halála. A megrázó eseményt követve hazánkban csupán néhány olyan munka jelent meg, amely csontanalitikai mérési eredményről számolna be (Pais *et al.* 1990, 1991, 1996; Smrčka 2005; Smrčka *et al.* 2000).

Nemzetközileg a modern csontkémiai elemzések tényleges elterjedését a hetvenes évekre tehetjük, amikor több doktori disszertáció és tudományos közlemény is született a témával kapcsolatban (Brown 1973; Gilbert 1975; Lampert *et al.* 1979; Szpunar 1977). Az ezt követő két évtizedben — a felgyorsult analitikai fejlődést követve — az antropológia is egyre nagyobb érzékenységgű és precizitású, kisebb mintaigényű kémiai vizsgálatok birtokába jutott, így napjainkig jelentősre duzzadt a téma szakirodalma (Ambrose *et al.* 2003; Betts *et al.* 1981, Dalconi *et al.* 2003; Molin *et al.* 1998; Reiche *et al.* 2002). Jelenleg a csontkémiai kutatások jelentős része táplálkozástudományi, genetikai és kormeghatározási problémákkal foglalkozik, míg viszonylag kevés figyelem irányul a nem és az életkor megállapítása valamint a leletek beágyazódása, fosszilizációja felé (Burger *et al.* 2000; Denys 2002, Herrmann *et al.* 1994). A legjelentősebb tudományos eredményekkel az angliai, az amerikai, az ausztrál, a kanadai és a német laboratóriumok munkatársai büszkélkedhetnek. Alapvető fontosságú Sylvia Abonyi, Stanley H. Ambrose, Astrid Balzer, Hervé Bocherens, Gisela Grupe, Robert E. M. Hedges, M. Anne Katzenberg, Gert J. van Klinken, Nikolaas J. van der Merwe, Mike P. Richards, Mary K. Sandford, Shelley R. Saunders, Margaret J. Schoeninger, Robert Tykot analitikai vizsgálatokra épülő táplálkozástudományi munkássága.

Hasonló analitikai eredményeket közöl, néhány a közelmúltban megjelent rendkívül jó összefoglalást nyújtó alaplí, ezek közül kiemelném a: *Bioarchaeology. Interpreting Behavior from the Human Skeleton* (Cambridge University Press, 1997, szerk.: C.S. Larsen) valamint a *Skeletal Biology of the Past: Research Methods* (Wiley-Liss, 1992, szerk.: S.S. Saunders és M.A. Katzenberg), továbbá a Kluwer Academic/Plenum Publishers gondozásában 2000-ben megjelent *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis* (szerk.: S.H. Ambrose és M.A. Katzenberg) című munkákat.

Napjainkban egyre jelentősebb a szerepe a bioaktív molekulák detektálásának az ún. biomarkerek kimutatásának (Deyl *et al.* 2003; Kaup *et al.* 2000; Nielsen-Marsh *et al.* 2005; Smittenberg *et al.* 2002). Patológias folyamatok kimutatása céljából Angela Gernaey és munkatársai végeztek kémiai vizsgálatokat. A kilencvenes évek végén közölték a *Mycobacterium tuberculosis* sejtmembránjában megtalálható — így biomarkerként alkalmazható — mycolsavak paleoantropológiai leletekből történő kivonásának menetét és analitikai vizsgálatát (Gernaey *et al.* 1998; Gernaey *et al.* 2001). Ezen kívül számos közlemény született különböző kórokozók genetikai anyagának kimutatásával kapcsolatban, azonban jelentős eredményekről csupán a *Mycobacterium*ok esetében számolnak be (Crubézy 2005; Copper *et al.* 2000; Donoghue *et al.* 1998, 2004; Fletcher *et al.* 2003; Haas 2000).

4. A CSONTSZÖVET KÉMIAI ÖSSZETÉTELE, BIOKÉMIAJA

A csontszövetet csakúgy, mint egyéb szöveteinket szervetlen és szerves anyagok alkotják. Az elemi összetevőket tekintve a szervezetünkben előforduló 80 elem közül több mint 28 járul hozzá csontjaink felépítéséhez E komponensek aránya a szervezet különböző szerkezeti felépítésű csontjaiban a cortikális és a spongiosa állomány arányától függően változó. További szignifikáns eltérés mutatható ki az azonos anatómiai helyről származó csontok diaphysiséből és epiphysiséből származó minták között. Tapasztalataink szerint a szervetlen összetevők koncentrációja az ízesülési felszíneknél a legnagyobb, ezt a megfigyelésünket néhány, a szakirodalomban közölt adat is megerősíti (Brätter *et al.* 1988; Smrčka 2005). Ezen kívül a mennyiségi viszonyokat élettani (pl. öregedés, táplálkozási szokások) és kórtani (pl. anyagcsere- és hiánybetegségek, hormonzavarok) folyamatok is befolyásolják.

A csontszövet alapállománya egy szerves anyagokból (főként kollagénből) felépülő mátrixból és az abba beépült ásványi anyagokból áll, amelyet többnyire kalcium-, karbonát- és foszfátionok alkotnak karbonátos hidroxipapatit formájában.

Normális körülmények között a csontszövet fel- és leépülése egyensúlyban van, átmenetileg azonban ez az egyensúly el is tolódhat. A csontfelszín differenciálatlan sejteji (oszteonok) oszteoklaszttá aktiválódhatnak, ami csontlebontással jár. Ha ez utóbbiak aktiválása gátlódik (pl. ösztrogének hatására), akkor csontfelépítést szolgáló oszteoblaszttok alakulnak ki.

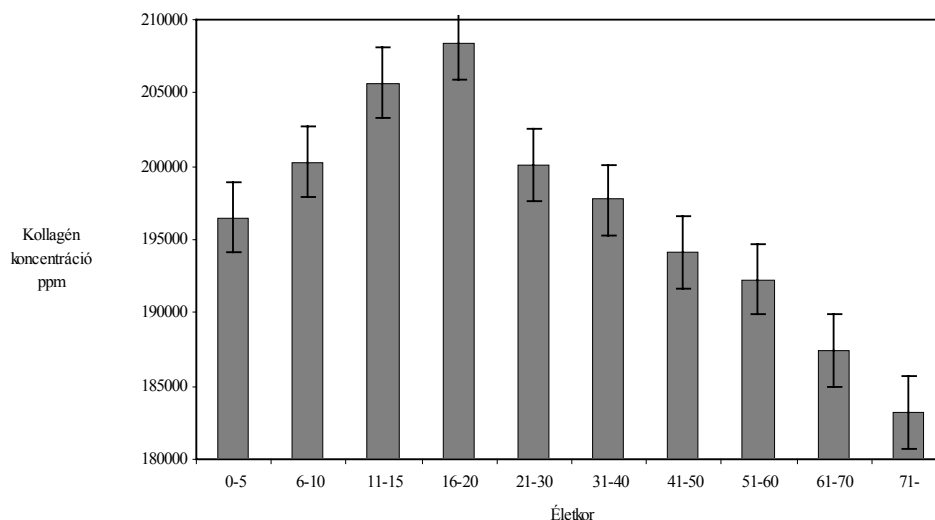
4.1. Szerves összetevők

A csontszövet mintegy 12–35 m/m%-át² alkotja szerves molekula.

Kollagén: Az extracelluláris mátrixot felépítő, tropokollagén alegységekből felépülő óriásmolekula. Mennyisége a csontszövetben 10–30 m/m%-a (Lengyel 1972; Smrčka 2005), valamint az összes szerves anyag tömegének 90–98%-a. A kollagén felépítésében jelentős mennyiségben alanin, glicin (39%) és prolin (25%), valamint 4-hidroxi-prolin, 5-hidroxi-lizin és rövid oldalláncrezidumok vesznek részt. A többi szkleroproteinnel szemben viszonylag kevés benne a leucin, fenilalanin és a tirozin. A fehérjerészen kívül a kollagén szénhidrátot, továbbá glükózaminból és galaktózaminból felépülő mukopoliszacharidot is tartalmaz. A kollagén oldalláncainak végcsoportjaiban

² A százalékos koncentrációk a recens bonctermei minták mérési adatait tükrözik.

elhelyezkedő savas és bázikus aminosavak szabad karboxil, amino és guanin csoportjai révén kifejezetten poláris molekula. Izelektromos pontja: pH 9,4. A kollagén prekursoranyaga a nála jobb vízoldhatósággal jellemezhető prokollagén. A csontok porcosan vagy kötőszövetesen előképzett embrionális telepeiben a prokollagén és a kollagén aránya az előbbi, míg az érett csontszövetben az utóbbi javára tolódik el. A kollagének nemcsak a mechanikai behatásokkal szemben mutatnak rendkívüli stabilitást, hanem kémiai is ellenállóak. Vízen, savakban és lúgokban oldhatatlan, és natív formában a proteolitikus emésztésnek is ellenáll. A kollagén degradációjának azonban nagy jelentősége van bizonyos fiziológiai és patológiai folyamatokban (pl. gázugraena, reumatoid arthritis) (Machovich 2002).



1. ábra: A csontok kollagén koncentrációjának változása az életkor függvényében

„*Rezisztens*” *proteinek*: A csontszövet 0,5–3,0 m/m%-a. A rezisztens protein megjelölés gyűjtőfogalom, amely mindazon fehérjetermészetű anyagokat jelöli, amelyek hőkezeléssel szemben ellenállóbbak a kollagénnél. Aminosav összetételük jelentősen eltér a két kötőszöveti rost (kollagén és az elasztikus rost) összetételétől. A kollagénnel szemben nem tartalmaz hidroxiprolint valamint glicin és prolintartalma is alacsonyabb, az elasztinnal szemben az alanin és valin tartalma alacsonyabb, míg mindkettőnél gazdagabb tirozinban.³

³ A csontszövet rezisztens proteintartalma valószínűleg az osteocyták sejtfejszkeinek falát alkotó Neumann-féle hüvely állományából származik. Ennek anyaga ugyanis főzéssel szemben ellenállóbb, mint a csontszövet egyéb szerves komponensei.

Protein-poliszacharid komplex: A csontszövet 0,02–0,40 m/m%-a. Heterogén összetételű csoport, amely nagy molekulájú globuláris fehérjékből, savanyú mukopoliszacharidokból és poliszacharid egységekből épül fel.

A protein komponensének aminosav összetételéből (a kollagénnel szemben) hiányzik a hidroxiprolin, kevesebb benne az alanin, glicin és a prolin, de gazdagabb leucinban és tirozinban. Savanyú mukoszacharid komponense 1,2 m/m%-os ecetsavban való oldhatósága alapján két összetevőre különíthető el: (i) az oldható rész olyan kondroitinszulfát A és C, amelynek hexózamin komponense galaktózamin; (ii) az oldhatatlan frakció galaktózt és acetil-kondrozamint tartalmaz. Poliszacharid komponense olyan trióz, tetróz és pentóz egységekből áll, amelyek L-fukopiranozil, D-galaktopiranozil, N-acetil-D-galaktózamino-piranozil és N-acetil-D-glükózamino-piranozil molekulákból épülnek fel.

A protein-poliszacharid komplex a csontszövet alapállományának cementanyagában található. Nagyfokú hasonlóságot mutat a porc szövet alapállományát felépítő nagy molekulájú komplex vegyületekkel, valamint a vérsavó szerológiailag aktív fehérje és cukorvegyületeivel.

Lipidek: A foszfolipidek és a szteránvázis vegyületek csak nyomokban, egyéb lipidfélések egyáltalán nem lelhetők fel a csontszövetben. A szteroidok közül nagy jelentősége van a kémiai dimorfizmust meghatározó nemi hormonoknak (ösztrom, ösztradiol, ösztriol, pregnoszteron, tesztoszteron, androszteron) valamint a koleszterolnak.

Citromsav: Szervezetünk citráttartalmának mintegy 70%-át a csontszövet tárolja. Koncentrációja a vizsgált csontok szerkezeti felépítésétől, továbbá az egyén életkorától és nemétől függően változik, általában 1 m/m% körüli értéken mozog. A citrát fontos szerepet játszik a véralvadásban, a szervezet sav-bázis egyensúlyának fenntartásában. Az anyagcsere-folyamatok következtében képződött citrát a szövetközi folyadékba, illetve a vérplazmába kerül, ahol a kalciumionokkal koncentrációik arányától függően oldhatatlan kalcium-citrát csapadékot képez, vagy pedig bizonyos fokig megőrizve vízdékonyságát koprecipitálódik. Ennek eredményeként a Ca^{2+} -k plazmatikus koncentrációjának csökkentése révén akadályozhatja a kalcium-foszfát kiválását a plazmából, illetve csökkentheti a csontszövet sóinak oldódását (Goreczky *et al.* 1983; Lengyel 1972).

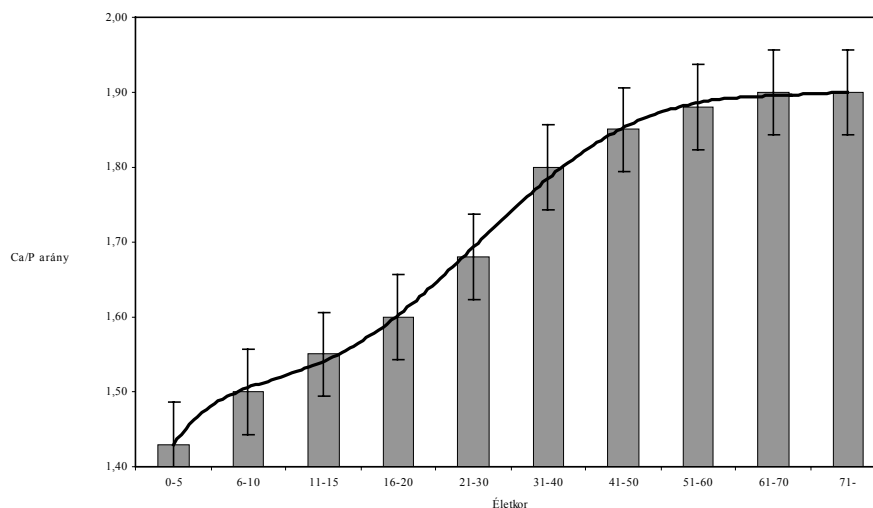
4.2. A csontszövet szeretlen komponensei

A csontokban található víz összes mennyisége a csontszövet súlyának 6–20%-a. Ez a mennyiség három különböző formában található a csont anyagában: (i) kötetlen víz formájában áramlik az intercellurális résekben; (ii) hidratációs víz formájában a csontszövet nagy molekulájú szerves komponenseihez kötve; illetve (iii) abszorbeált vagy inkorporált formában a csontszövet alapállományát impregnáló mikrokristályos-strukturákkal szoros kapcsolatban (Lengyel 1972).

A csontszövet anorganikus komponenseinek 70–80 m/m%-a olyan apatitszerű ($\text{Ca}_{10}\text{PO}_4(\text{OH})_2$) kristályos rendszerre szerveződött, melynek térbeli viszonya a kollagén rostokhoz és az alapállományhoz pontosan meghatározható. A kristálystrukturák alapegységei $9,4 \times 9,4 \times 6,9$ Å nagyságú, hexagonális lemezek, amelyek egyik hosszanti szimmetria-tengelyükkel a kollagénrostokon, azok hosszanti lefutásával párhuzamosan helyezkednek el. A teljes kristálystruktúra méretei 250×35 Å, vastagsága 25–50 Å.

A csontszövet elemösszetétele:

Kalcium: A csontszövet 11–25 m/m%-a. Aránya a csontok kérgi állományában magasabb, mint a szivacsosban. Abszolút mennyiségét az egyén életkora és bizonyos kóros folyamatok befolyásolják. Csontjainkban szerves és szeretlen vegyületei formájában — amelynek 99%-a kalcium-foszfát — és kationként találhatjuk meg.



2. ábra: A Ca/P koncentráció arányának változása az életkor függvényében

Foszfor: A csontszövet 8–16 m/m%-a. Mennyisége függ a csontszövet kalcium koncentrációjától, így a Ca/P arány nagyjából állandónak tekinthető. Értéke recens mintákra: cca. 1,667 (Lengyel 1972). Az összetételt befolyásolhatják egyes kóros folyamatok és az egyén életkora. Szerves és szervetlen vegyületei, valamint orto-, meta- és pirofoszfát anionok alakjában fordul elő a csontokban.

Anorganikus szén: A csontszövet a szerves komponensein kívül kalcium-karbonát, kalcium-hidrogén-karbonát és a már említett karbonátos hidroxipapatit formájában jelentős mennyiségben találunk szenet. Az említett vegyületek koncentrációja hozzávetőlegesen 1,5–5,0 m/m%, ez a mennyiség azonban az alapállomány anorganikus komponenseinek mennyiségi viszonyaitól, valamint élettani és kórtani folyamatoktól függően változhat.

Nátrium: A lágyszövetes, szárított csontban 1 m/m% mennyiségben található. Az oldhatatlan kalcium-oxalát komplex mellett rakódik le a csontban, ahol a Na kicserélődésének üteme csak fele a lágyszövetekben tapasztalténak. Főleg az apatitszerű kristályok vízburkai között levő rétegben helyezkedik el.

Magnézium: A csontszövet 0,02–0,04 m/m%-a. Mennyiségét nagymértékben befolyásolja a táplálék magnéziumtartalma. A csontosodási folyamatban fontos szerepet játszó alkalikus foszfatáz enzim egyik aktivátora (Lengyel 1972).

Szilícium: A csontszövet anyagában nem endogén elem. Az elemzett csontminták mégis nagy mennyiségben tartalmazhatnak szilíciumot, amely a talaj szennyezőhatásának tudható be. A minták szilíciumtartalma azonban megnehezítheti az analitikai elemzés előkészítési és mérési eljárásait, tehát a mintákból a talajszennyeződés eltávolítása fontos lehet.

A felsorolt, csontszövetet alkotó szervetlen komponenseken kívül jelentős koncentrációban lehet jelen Fe, K, Sr, Zn, Ba, Mn, Cu, Rb valamint az exogén eredetűek közül megemlíteném az U-t, Th-ot és a Ra-ot.

5. AZ ANTROPOLÓGIAI LELETEK: A BEÁGYAZÓDÁSTÓL NAPJAINKIG

Az emberi maradványok állapotát számos pre- és posztmortális körülmény határozza meg. A halál előtt főleg az életmód által befolyásolt tényezők gyakorolnak hatást a szövetek összetételére, míg utána kezdődik az antropológiai leletek dekompozíciója⁴, korróziója.

Életünk során szöveteink, így csontjaink kémiai felépítését számos körülmény határozza meg. Jelentős hatása van táplálkozási szokásainknak, életkörülményeinknek illetve betegségeinknek egyaránt így nem meglepő, hogy csontjaink kiváló indikátorként konzerválják életünk ezen információit.

A holttestben a lebomlási folyamatok rendkívül hamar, már az első négy perc folyamán megindulnak, majd folytatódnak a beágyazódáson át a laboratóriumi vizsgálatig (Evans 1963, Denys 2002).

A hatvanas években Lengyel és Nemeskéri ötfázisú dekompozíciós felosztást javasolt. Besorolásukat a csontok szövettani és kémiai paramétereinek meghatározására építették, és a módszer alkalmasnak ígérkezett a leletek kormeghatározására is (Lengyel *et al.* 1964a). Azonban a radiokarbon technika rohamos fejlődésével ez a dekompozíciós szemlélet — előnyei ellenére — elvesztette gyakorlati jelentőségét. A lebomlási folyamatok illetve a leletekre ható környezeti és emberi tényezők összetettsége révén a komplexebb látásmód került előtérbe. Ennek megfelelően a dekompozíció folyamata a következő három fő fázisra különíthető el:

1. a halál beálltától az eltemetésig vagy eltemetődésig;
2. a talajban lejátszódó folyamatok, a beágyazó közeg és a beágyazódó anyag között fellépő biológiai, kémiai és fizikai kölcsönhatások időszaka;
3. a sír feltárásától a csontszövet vizsgálatáig tartó időintervallum.

Tehát a felosztás a korábbihoz képest egyszerűsödött ugyan, ez azonban nem jelent tényleges visszalépést, mivel így a folyamatok jobban követhetően, egységes rendszerükben tanulmányozhatóak.

⁴ Dekompozíción mindazon biológiai, kémiai és fizikai folyamatokat értjük, amelyek hozzájárulnak a holttest lágyrészeinek és csontszövetének lebomlásához, átalakulásához illetve mummifikálódásához.

Az elsőként említett posztmortális periódus feltehetően igen rövid időszakot ölel fel akkor, ha a halott eltemetése tudatos folyamat része, illetve ha a beágyazódás a halál után gyorsan megtörtént (pl. környezeti katasztrófa következtében). Ettől eltérő esetben a lágyrészek teljes elrothadása után a felszínen maradt csontok huzamosabb ideig ki vannak téve az élő és élettelen környezeti hatásoknak. Ezek a tényezők igen agresszívan hatnak a friss, magas szervesanyag-tartalmú csontokra, így hatásuk a későbbi kémiai összetételt is erősen befolyásolja (Nokes *et al.* 1997; Reiche *et al.* 1999). Az őslénytani, zoológiai anyagok többségében, illetve néhány igazságügyi és régészeti leletnél számolnunk kell ezzel a körülménnyel.

Láthatjuk, hogy a leletek vizsgálatakor tapasztalható anomáliákból következtethetünk a transzformáció milyenségére, valamint a környezeti tényezőkre. Így a feltáráskor megfigyelt jelenségeket az elemzések eredményeivel kiegészítve megismerhetővé válik a beágyazódás folyamata, illetve az egykori környezetet alakító tényezők sora. Ebben az első fázisban kell számolnunk a legnagyobb mértékű biológiai behatással is, így ebben a szakaszban jelentős dekompozíciós behatást jelentenek az ízeltlábúak, gombák és baktériumok.

A második fázis általában a leghosszabb és számunkra legfontosabb posztmortális időszak. A csontszövet fizikai, kémiai és biológiai kölcsönhatások következtében bizonyos alkotóit leadja, más komponensei pedig lebomlanak vagy átalakulnak, és helyükre csontidegen komponensek (pl. U, Th, Si) épülnek be. Ezek az anyag transzportok az idő függvényében lassú tendenciát mutatva tartanak mindaddig, míg a csont és az azt körülvevő talaj között fizikai-kémiai egyensúly nem áll be. Természetesen az egyensúlyi állapot nem egyszerre következik be a különböző komponenseket illetően. Ennek megfelelően a csont- és talajminta mennyiségi és minőségi kémiai analízisének eredményeként egy olyan karakterisztikus elemösszetételt ismerhetünk meg, amely jellemző az adott antropológiai minta eltemettségének időtartamára (Lengyel 1972). E második szakasz első néhány hónapját meghatározó környezeti tényezők nagy befolyással vannak a természetes mumifikáció szempontjából. Abban az esetben, ha a tetem rothadásához szükséges előfeltételek valamelyike hiányzik, akkor a holttest lebomlása lassan vagy egyáltalán nem megy végbe. E kedvező feltételek mellett a természetes mumifikáció két-három hónap alatt bekövetkezik. A maradványok konzerválódása számos tényező hatására következhet be, ilyenek lehetnek az alacsony, illetve magas hőmérséklet, a nedves vagy száraz környezet. Mérsékelt éghajlatunk nem kedvez a magas szervesanyag-tartalmú leletek

konzerválódásának. Mégis találhatunk hazánkban néhány olyan lelőhelyet, amelyen kedvezőek voltak a körülmények a mummifikációhoz (pl. Vác-Fehérek temploma, Pápa-Bencés kolostor).

A feltárás után a leletek átlépnek az életútjukat lezáró utolsó periódusba. A napvilágra kerülő csontok az új környezet hatására ismételen elszenvednek bizonyos biológiai, kémiai és fizikai változásokat. A fizikailag kötött víz mennyisége a légköri páratartalomnak megfelelően változik. A feltárást követő időszakban bekövetkező változásokat azonban könnyen kontrollálhatjuk, ha a mintavételt és a minták tárolásának körülményeit standardizáljuk. A csontmintákat száraz, jól szellőző és állandó hőmérsékletű szobában, lehetőleg jól zárható műanyag zacskóban tároljuk. Ha a maradványok szervesanyag-tartalma magasabb, akkor célszerű a mintákat 0–5°C hőmérsékleten tárolni.

5.1. Képződési folyamatok

A leletek összetételét és minőségét nagyban meghatározzák a transzformációs folyamatok is, amelyek a dekompozícióval párhuzamosan fejtik ki hatásukat. Ezért az utóbbi években a kutatókat egyre inkább érdekelni kezdte az, hogy a képződés folyamatainak egész sora hogyan gyakorolt hatást a leletek beágyazódásának módjára. Michael Schiffer amerikai régész világított rá arra, hogy igen hasznos megkülönböztetni a kulturális képződési folyamatokat (K-transzformáció) a természetes képződési folyamatoktól (T-transzformáció). Amíg a K-transzformációkban közrejátszik az ember szándékos vagy véletlenszerű tevékenysége, addig a T-transzformációs folyamatoknál ez a jelenség elhanyagolható, és így a természeti események szabják meg a beágyazódás körülményeit (Renfrew *et al.* 1999; Schiffer 1976). A meghatározó képződési folyamat típusának megítélése gyakran nem könnyű, azonban pontos megfigyelésekkel, természettudományos technikák alkalmazásával felderíthető. A minták fennmaradását számos tényező befolyásolja: először az, hogy a múlt és a jelenkor embere mit tett vele (K-transzformáció); másodsorban az olyan természetes tényezők hatása, mint például a talaj és az éghajlat (T-transzformáció); végül, de nem utolsó sorban az a képességünk, mellyel a legtökéletesebb módon feltárhatjuk és elemezhetjük az egykori jelenségeket, megkeresve azok magyarázatát. Ez utóbbi hatás negatív vonzata elhanyagolható akkor, ha a feltárást pontos, modern rétegtani módszerekkel folytatjuk, illetve ha az ásatási dokumentációt a lehető legnagyobb pontossággal készítjük el. A K-transzformáció hatása az egyes lelőhelyeken, leleteken pontosan nyomon követhető, így ennek

megismerése is lehetővé válik. Éppen ezen leletcsoportok elemzése volt a hagyományos régészet elsődleges célja, így az emberi tevékenységek által meghatározott változások felismerése, kiszűrése és elemzése is viszonylag pontosan megvalósítható. A természetes képződési folyamatok okozta változások meghatározása azonban csak komplex vizsgálatokkal lehetséges. A leletek elemzésekor figyelembe kell venni a viszonylag állandó és pontosan ismert környezeti paramétereket, melyek segítségével meghatározhatóak lesznek az ismeretlen értékek is. A környezetet meghatározó természeti tényezők alapvető fontosságúak a leletek megmaradása szempontjából, így a minták állagából, minőségéből illetve kémiai összetételéből gyakran következtetéseket vonhatunk le az egykori környezetet befolyásoló jelenségekre.

6. ANALITIKAI MÓDSZEREK

A módszerek kiválasztásánál a meghatározások összetettsége volt az irányadó elv, így alkalammal nyílt az analitikai módszerek igen színes palettáját megismerni és antropológiai leleteken alkalmazni. Ennek megfelelően atomabszorpciós spektroszkópiát (AAS), nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát (HPLC), neutronaktivációs analízist (NAA), protonindukált röntgenemissziós eljárást (PIXE) röntgen diffrakciós analízist (XRD), termikus analízist (TG, DTG) és tömegspektroszkópiát (MS) alkalmaztam a minták kémiai analizéséhez (Gross 2004; McKenzie *et al.* 1988; Pollard *et al.* 1996).

Terjedelmi megfontolások miatt az analitikai eljárások elméleti hátterét dolgozatomban nem ismertetem, azonban a módszereken történt fejlesztések, illetve a minták előkészítésének körülményeit az adott mérések pontos paramétereit az adott fejezetek tartalmazzák.

Elsőként alkalmaztam tömegspektrometriás eljárásokat a hazai csontanalitikai kutatás történetében. A HPLC-t csontleletek aminosav racemizációs kormeghatározására számos nemzetközi és egy hazai laboratórium is alkalmazza (Csapó *et al.* 1998), azonban teljesen új kutatási terület a kromatográfiás módszerrel általam kifejlesztett nem-meghatározási eljárás.

6.1. Az alkalmazott eljárások összehasonlítása

Régészeti és igazságügyi minták elemzése esetében a kis mintamennyiség és a leletek fontossága miatt általában a látható sérülést nem okozó, roncsolásmentes analitikai technikák alkalmazása terjedt el. További érv, a szilárd anyagok közvetlen vizsgálatára használható eljárások (pl. LA-ICP, PIXE, XRF, NAA) mellett, hogy a biológiai minták feltárása során rendkívül sok probléma adódhat a minták oldhatóságával, az extrakció reprodukálhatóságával stb. kapcsolatban.

A tömegspektrometriás módszerek kiemelkedő fontossággal bírnak napjaink analitikai vizsgálataiban. Általuk nem csupán pontos tömeginformációt kaphatunk az egyes vegyületekről, alkalmasak mennyiségi elemzések kivitelezésére és szerkezetvizsgálatra is. Ezt kiegészítve az általam alkalmazott mátrix segített lézerdeszorpciós ionizáció előnye a rendkívül egyszerű mintaelőkészítés és a high-throughput követelményeket is kielégítő kapacitás.

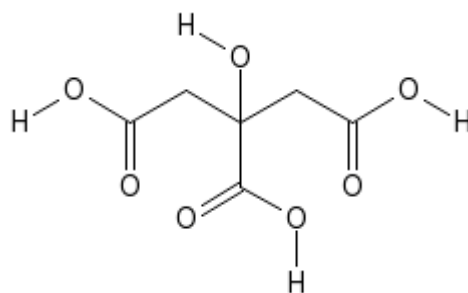
7. A NEMEK MEGHATÁROZÁSA EMBERI MARADVÁNYOK KÉMIAI VIZSGÁLATÁVAL

A klasszikus embertan az elhunytak nemének meghatározására a maradványok morfológiai és metrikus vizsgálatát alkalmazza. Ezek a jól kidolgozott technikák azonban nem használhatóak töredékes, rossz állapotú leletek esetében, így az igazságügyi és történeti antropológusok számára mindmáig óriási gondot okoz a leletek nemi hovatartozásának pontos megállapítása. A nemi dimorfizmus azonban nem csupán a morfológiai jellemzőkön mutatkozik meg, hanem megnyilvánul a csontok kémiai összetételében is. Tapasztalataink szerint ez a „kémiai dimorfizmus” több ezer év távlatában is nyomon követhető, így lehetőséget kaphatunk csonttöredékek antropológiai vizsgálatára.

Dolgozatomban két molekuláris nem-meghatározási technikát ismertetek. Az első a Lengyel Imre professzor úr által is ismertetett citrát-koncentráció meghatározás modern, műszeres analitikai változata. Ezt követően bemutatom az általam kifejlesztett nemi hormonok (ösztragének és androgének) meghatározása alapján történő nem-meghatározási módszert.

7.1. A csontszövet citrát-koncentrációjának meghatározása

A citrát (3. ábra) elsősorban a vizelettel ürül. Ürítésének mennyiségi viszonyait többek között a szervezet hormonális tényezői határozzák meg. Az ösztrogének jelentősen növelik, míg az androgének csökkentik a vizelettel távozó citrát mennyiségét.



3. ábra: A citromsav kémiai szerkezete

A menstruációs ciklus hormonális változásainak megfelelően a vizelet citrát koncentrációja is változik. Két-három nappal a menstruációt megelőzően lecsökken, majd néhány nappal utána megemelkedik. Az ovuláció idején átmenetileg csökken, míg az ovulációk között ismét emelkedik a női vizelet citrát szintje. A távozó citrát pótlására

az oszteoklasztok a csontszövet lebontásával citrátot szabadítanak fel. A női szervezet a citrátkoncentráció jelentős változásait úgy kompenzálja, hogy csontjaiban nagyobb mennyiségben raktároz citrátot. A csontok ellenálló kollagénstruktúrájának valamint citrát raktározására szolgáló rossz vízdékonyságú citrátvegyületeknek köszönhetően, a férfi és női csontok citrátkoncentráció különbsége még évszázadok, évezredek után is kimutatható.

7.1.1. Anyag és módszer

A citrát meghatározását fordított fázisú HPLC-vel végeztem el, a molekulák detektálásához diódasoros UV/VIS detektort és tömegspektrométert használtam.

A combnyakból származó csontmintákat 0,2 mm szemcsenagyságúra őröltem, majd az extrakcióhoz 1,0000 g őrleményt analitikai mérlegen bemértem. A citrát csontszövetből történő kivonása 5 cm³ 8 mM koncentrációjú kénsav-oldattal történt (Jayaprakasha G.K. *et al.* 2002), a kioldást 5 perc ultrahangos vízfürdővel segítettém. Az extraktum folyadékkromatográfiás elválasztására C₁₈-as szénhidrogén láncokkal (ODS) módosított 120 Å kiindulási pórusméretű és nem porózus szilikagél töltetet használtam (Kovasil C₁₈ 150×4,6 mm és Kovasil MS C₁₈ 33×4,6 mm) (Szabó *et al.* 2005). Az elválasztás izokratikus elúcióval történt, 8 mM H₂SO₄ eluens használatával. Az áramlási sebesség 1,0 cm³×min⁻¹ volt. A detektálás 210 nm-en történt.

7.1.2. Eredmények

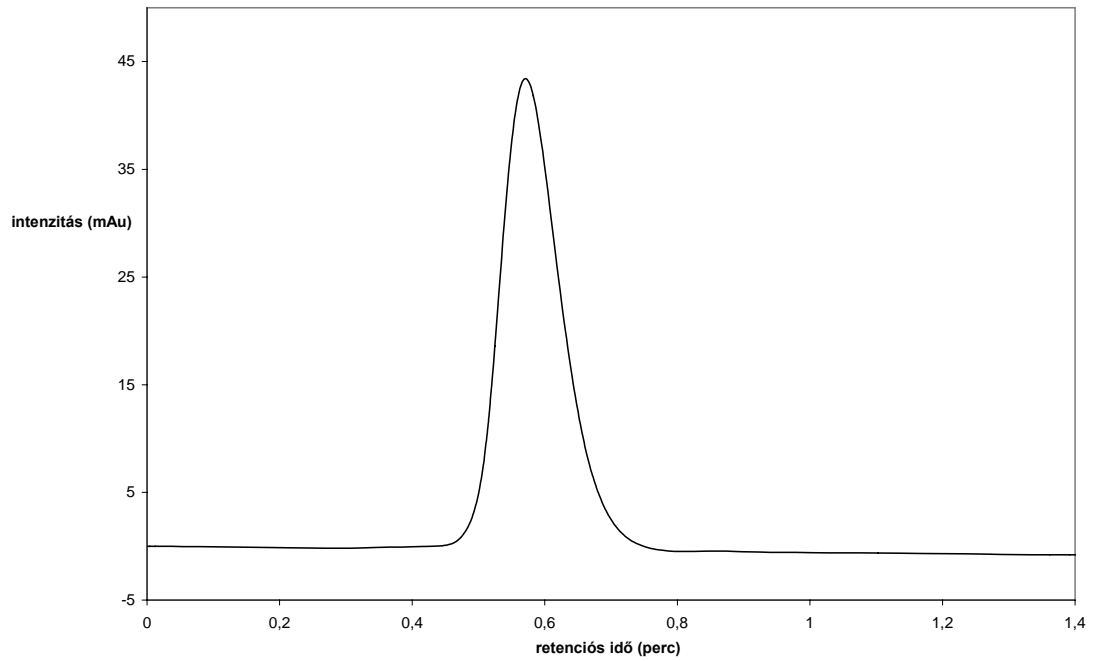
Vizsgálataink eredményeként elsőként sikerült kifejleszteni egy olyan folyadékkromatográfiás módszert, amely alkalmas az archaikus és recens csontminták citrát-tartalmának pontos, gyors, nagy érzékenységgű kimutatására (4–7. ábrák).

A kalibráló standardok és a csontminták elemzése alig több mint fél perc alatt lebonyolítható az eljárás segítségével, így nagy mintaszám feldolgozására alkalmas a módszer. Ez mellett reprodukálhatósága megfelel a modern műszeres analitika követelményeinek. Munkám során igazságügyi, bonctermi valamint a Hódmezővásárhely-Gorzsa⁵, Madaras-Halmok⁶ és Szegvár-Oromdülő⁷ régészeti lelőhelyekről származó csontmintákat dolgoztam fel (n = 454).

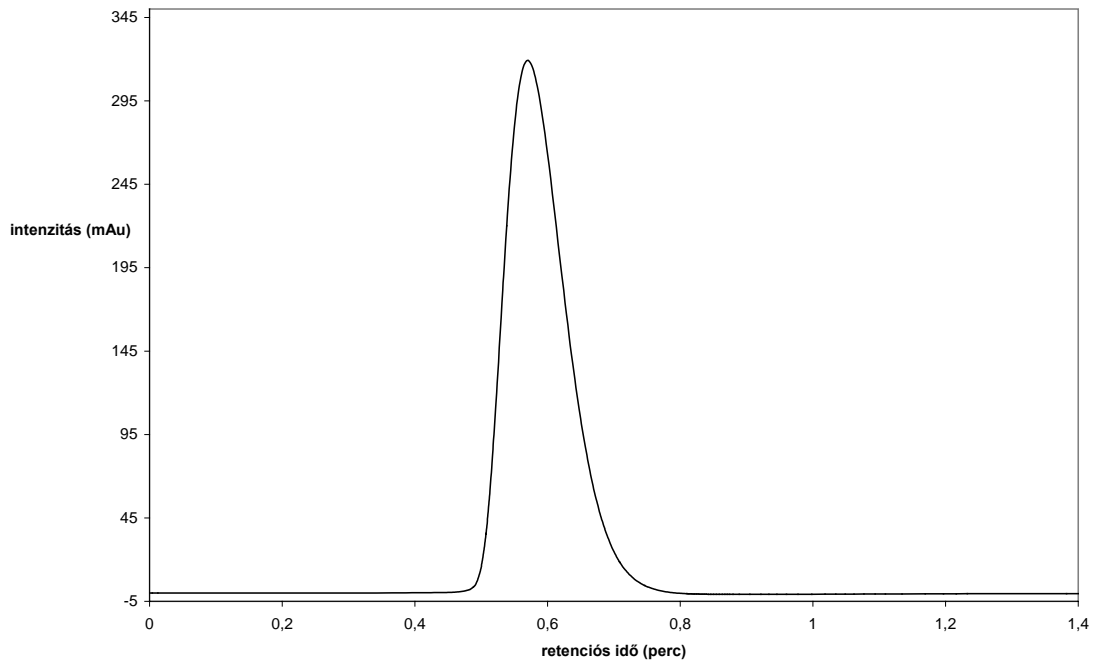
⁵ Dr. Horváth Ferenc feltárása.

⁶ Kőhegyi Mihály feltárása.

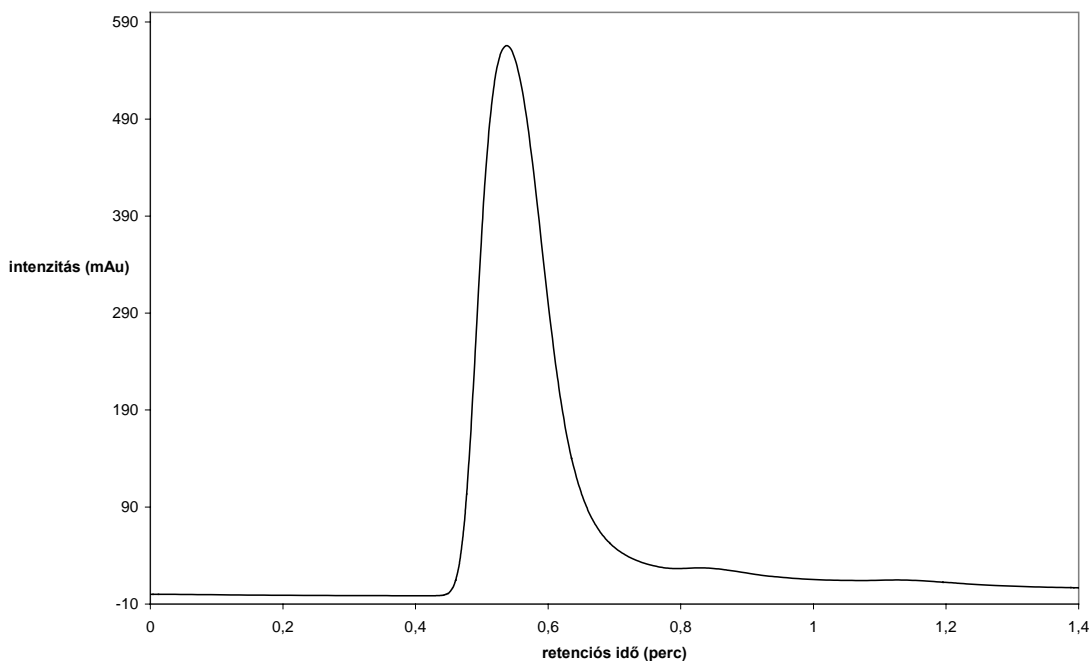
⁷ Dr. Lőrinczy Gábor feltárása.



4. ábra: Citrát standard oldat UV kromatogramja (Kovasil MS C₁₈, $\lambda = 210$ nm)

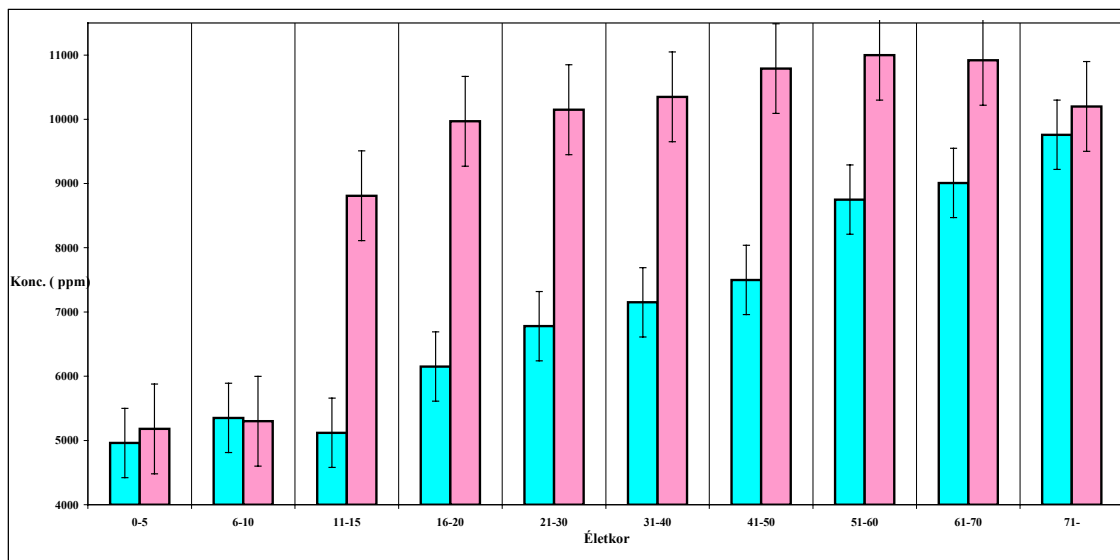


5. ábra: Egy régészeti csontleletről (férfi) származó citrát kivonat UV kromatogramja (Kovasil MS C₁₈, $\lambda = 210$ nm)



6. ábra: Egy régészeti csontleletből (nő) származó citrát kivonat UV kromatogramja
(Kovasil MS C₁₈, $\lambda = 210$ nm)

A mérések eredményeit a 7. ábrán bemutatott diagramm foglalja össze, amelyen a csúcsterületekből számolt koncentrációk átlagai szerepelnek.

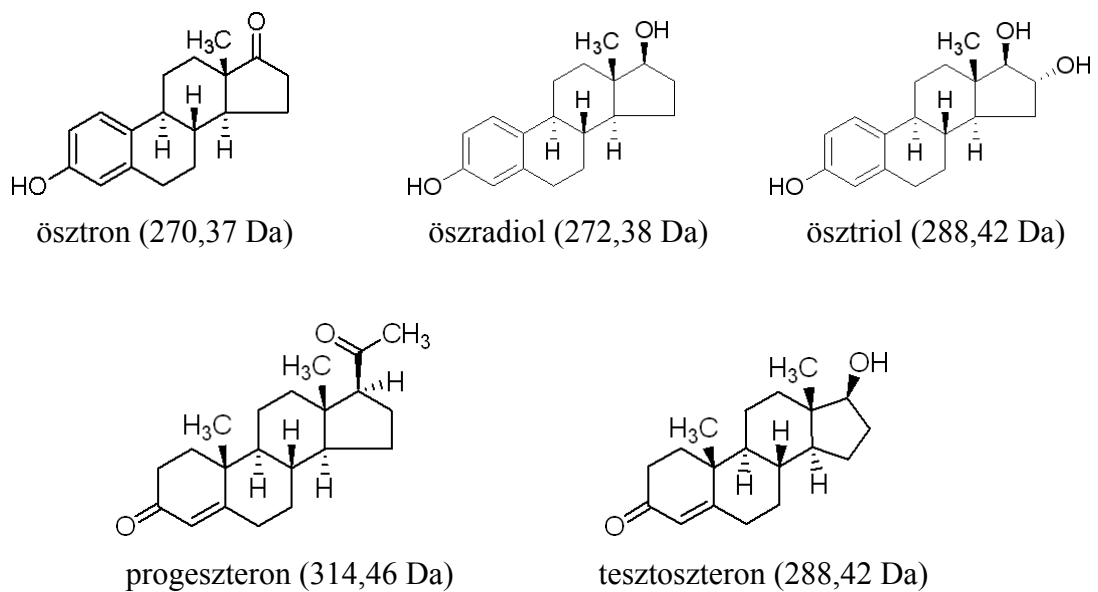


7. ábra: A női (rózsaszín) és a férfi (kék) csontok citrát koncentrációjának alakulása az életkor függvényében.

Eredményeim jól illeszkednek a Lengyel Imre által meghatározott trendre (Lengyel 1972). Azonban a nem pontos meghatározáshoz elengedhetetlen az életkor ugyancsak pontos megállapítása. Az eljárás hiányossága, hogy megbízható eredményeket csak a 11–70 évig terjedő életkor intervallumban szolgáltatathat. A kromatográfias eljárás előnyei a korábbi klasszikus analitikára épülővel szemben, a műszeres eljárásokra jellemző nagyfokú reprodukálhatóság, érzékenység és kis mintaigény mellett az egyszerű mintaelőkészítés. A módszer alkalmas erősen töredékes csontmaradványok nemének meghatározására is, így lehetőséget nyújt az eddig nem vizsgálható leletek antropológiai elemzésére.

7.2. Nemi hormonok meghatározása

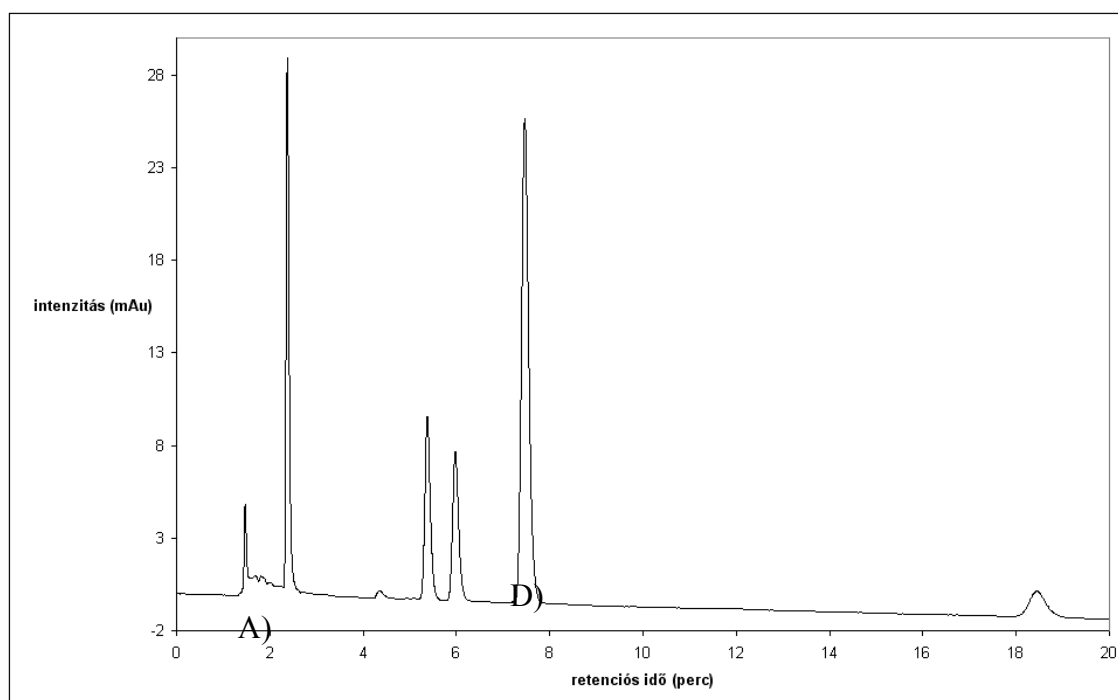
A női és férfi nemi hormonok a szteránvázis vegyületek közé tartoznak, kémiai strukturájukat és molekulatömegeiket a 8. ábra szemlélteti.



8. ábra: A jelentősebb női és férfi nemi hormonok kémiai szerkezete

A női nemi hormonok közül az ösztrogének a petefészek Graaf-tüszőiben, illetve csekély mennyiségben a mellékvesekéregben és a herékben is, a progesztagének a corpus luteumban szintetizálódnak. Az ösztrogének alapvető biológiai szerepe a másodlagos női nemi jellegek kialakítása, míg a progeszteron a terhesség fenntartásában jelentős. Az androgének a férfi nemi hormonok, a herékben és a mellékvesekéregben progeszteronból szintetizálódnak. A másodlagos férfi nemi jellegek kialakításáért felelősek, leghatékonyabb képviselőjük a tesztoszteron.

A szakirodalomban Lin és mtsai illetve Zierdt és mtsai végezték el szteroidok folyadékkromatográfiás vizsgálatát régészeti csontokból (Lin *et al.* 1978, Zierdt *et al.* 2000). Elképzeléseik alapján én is kifejlesztettem egy hatékony folyadékkromatográfiás módszert (9. ábra), azonban a nemi hormonok elemzésére érzékenyebbnek és gyorsabbnak mutatkozott a továbbiakban ismertetett tömegspektrometriás módszer.



9. ábra: Nemi hormonok folyadékkromatográfiás vizsgálata C_{18} oszlopon (eluens: acetonitril – víz 1/1 V/V, UV/VIS det: 220 nm, áramlási seb.: $1,2 \text{ cm}^3 \times \text{min}^{-1}$)

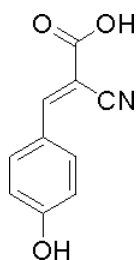
A) ösztriol, B) ösztradiol, C) tesztoszteron, D) ösztron, E) progeszteron

B)

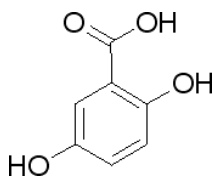
C)

7.2.1. Anyag és módszer

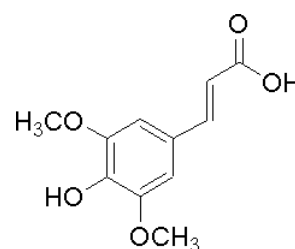
A csontmintákat achát mozsárban 0,2 mm szemcsenagyságra őröltem, majd 0,5000 g csontporthoz $1,00 \text{ cm}^3$ víz – acetonitril (1/1 V/V) eleggyel 10 percig, jéggel hűtött 25–35°C-os ultrahangos fürdőben extraháltam. A kivonatok 1–1 μL -ét Bruker rozsdamentes acél mintatartó tálcára (MTP 384 ground steel plate) cseppentettem. A vizsgálatok során mátrixként α -ciano-4-hidroxi-fahéjsav (CHCA), 2,5-dihidroxi-benzoészav (DHB) és mustársav (SA) telített víz – acetonitril (2/1 V/V) valamint C_{60} fullerén telített toluolos oldatát alkalmaztam. Az említett hormon – mátrix elegyeken kívül szilárd fázisú fullerén – hormon keverékek oldatát (diklórmetán – acetonitril (7/3 V/V)) is vizsgáltam. A C_{60} fullerén – hormon keverékeket szilárd fázisú reakcióval nagy sebességű vibrációs malomban (HSVM) állítottam elő.



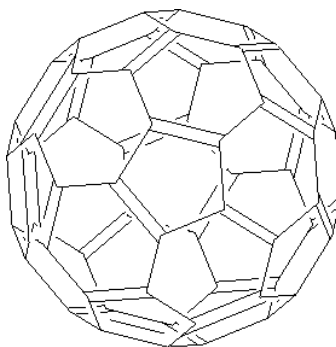
CHCA (189,17 Da)



DHB (154,12 Da)



SA (224,21 Da)



C₆₀ fullerén (720,64 Da)

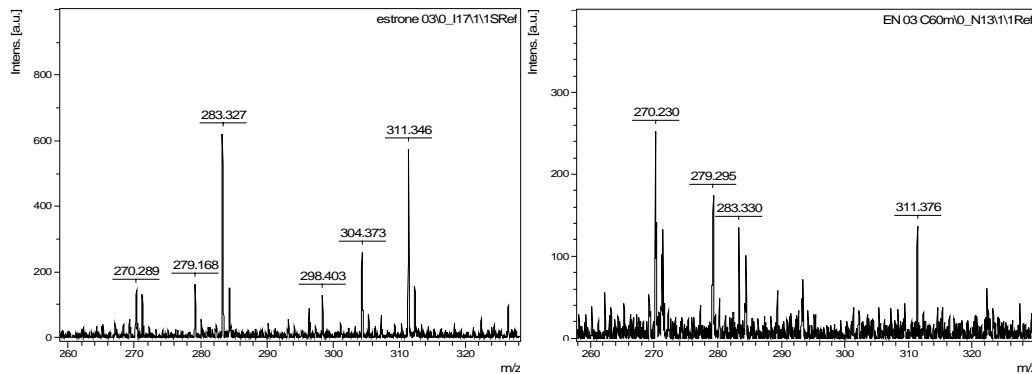
10. ábra: Mátrixként alkalmazott vegyületek kémiai strukturája

A vizsgálatok eredményeinek ismertetésekor terjedelmi okokból csupán a CHCA és a teljesen egyedülálló fullerén mátrix jelenlétében készült tömegspektrumokat mutatom be. A minták beszáradása után az elemzéseket Bruker Autoflex II típusú mátrix segített lézerdeszorpciós ionizációs technikát alkalmazó tandem repülési idő analizátoros (MALDI TOF/TOF) tömegspektrométerrel reflektor detektálási módban végeztem el. Az ionizáláshoz 337 nm-es nitrogén lézert alkalmaztam, a vizsgálatok során 300 lövés tömegspektrumját összesítettem, a lézer frekvenciája 50 Hz volt. A tömegspektrumokat pozitív ionizációs módban 50 és 1200 m/z tartományban regisztráltam a gyorsító feszültség 20 kV, a késleltetési idő 80 ns volt.

7.2.2. Eredmények

Elsőként dolgoztam ki eljárást szteroidok MALDI TOF tömegspektrometriás vizsgálatára, és alkalmaztam az antropológiai kutatásban nemi hormonokat, mint a nem meghatározásra alkalmas biomarkereket. A módszerrel a nemi hormonok detektálási

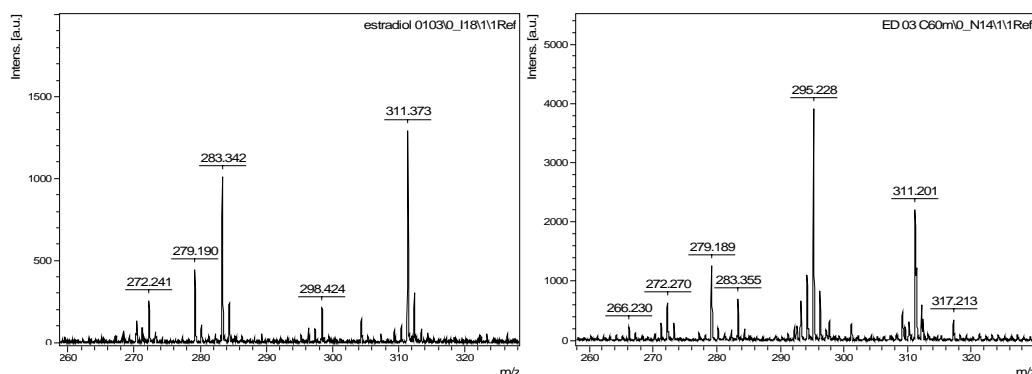
határa femtomol tartományban van. A 11–15. ábrákon a standard hormon oldatok CHCA és a fullerén mátrix segítségével készült tömegspektrumjait mutatom be. Az ösztren esetében mindkét alkalommal azonosítható a 270 Da tömegű $[M]^+$ gyök molekulaion azonban ennek relatív intenzitása a fullerén mátrix használatával növelhető (11. ábra). A 311 Da tömegű ion az acetonitril oldószerrel képzett klaszter $[M+41]^+$ kvázimolekulaionja ugyancsak megfigyelhető.



11. ábra: Az ösztren MALDI TOF tömegspektruma

A) CHCA, B) C₆₀fullerén mátrix alkalmazásával

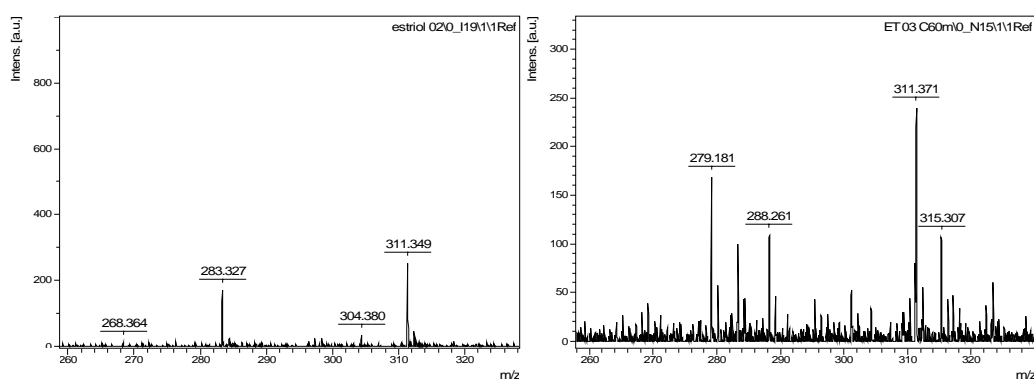
Az ösztradiol esetében mindkét mátrix használatával azonosítható a 272 Da tömegű $[M]^+$ gyök molekulaion, valamint a fullerén mátrixnál jelentős a 295 Da-nál jelentkező a nátriummal képzett $[M+23]^+$ kvázimolekulaion (12. ábra). A 311 Da-nál megjelenő ion az ösztradiol kálium adduktja lehet.



12. ábra: Az ösztradiol MALDI TOF tömegspektruma

A) CHCA, B) C₆₀fullerén mátrix alkalmazásával

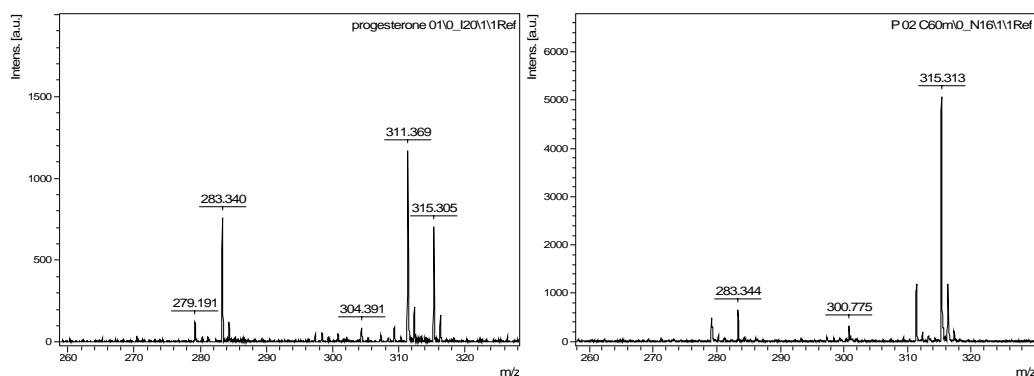
Az ösztriol 288 Da-os gyök molekulaionja a fullén mátrix alkalmazásával jól megfigyelhető azonban a CHCA jelenlétében nem jelentkezik (13. ábra).



13. ábra: Az ösztriol MALDI TOF tömegspektruma

A) CHCA, B) C₆₀fullerén mátrix alkalmazásával

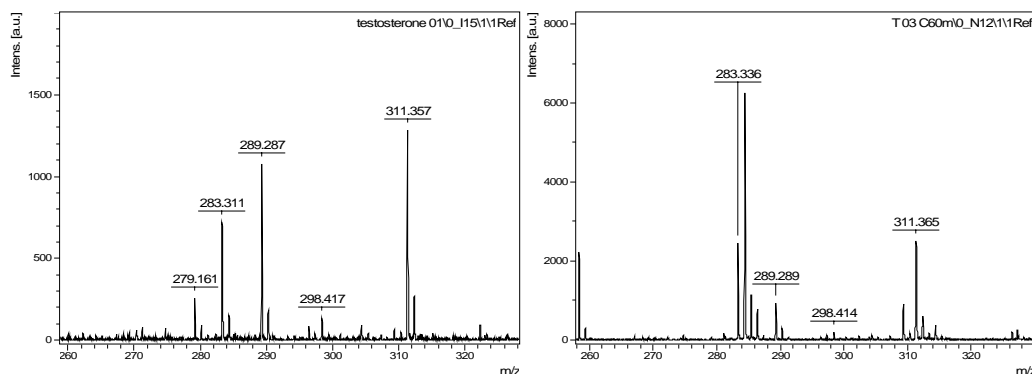
A progeszteron (14. ábra) 315 Da tömegű [M]⁺ gyök molekulaionja jól detektálható mindkét mátrix alkalmazásával. Ebben az esetben is a fullerénes mintánál a progeszteron csúcsának relatív intenzitása nagyobb, így kimutatásának alsó határa kisebb, kimutathatósága jobb.



14. ábra: A progeszteron MALDI TOF tömegspektruma

A) CHCA, B) C₆₀fullerén mátrix alkalmazásával

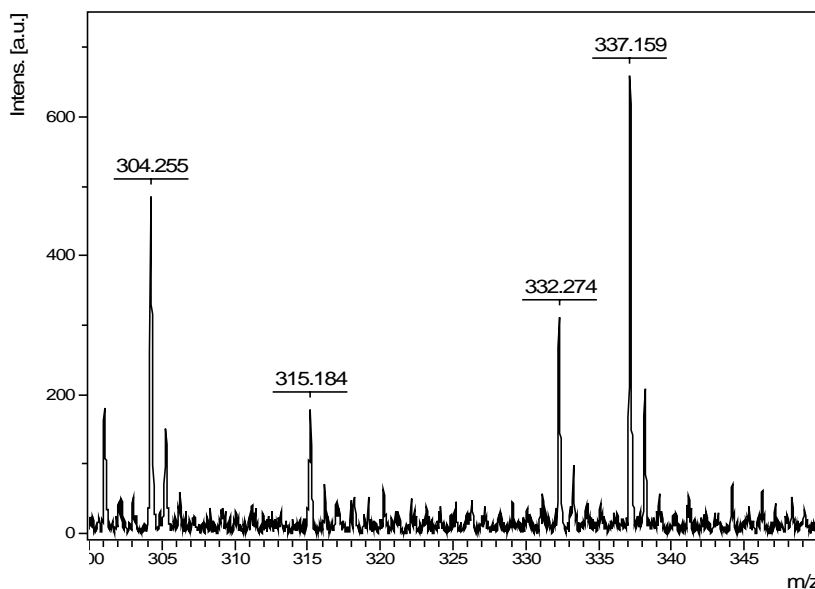
A férfi nemi hormonok legjelentősebb képviselőjének a tesztoszteronnak a tömegspektrometriás elemzését a 15. ábra mutatja be. A 289 Da tömegű [M]⁺ gyök molekulaionja jól detektálható mindkét mátrix esetében. A CHCA mátrix alkalmazásával a 289-es tömegcsúcs arány növelhető, így ennek alkalmazása ebben az esetben célszerűbb.



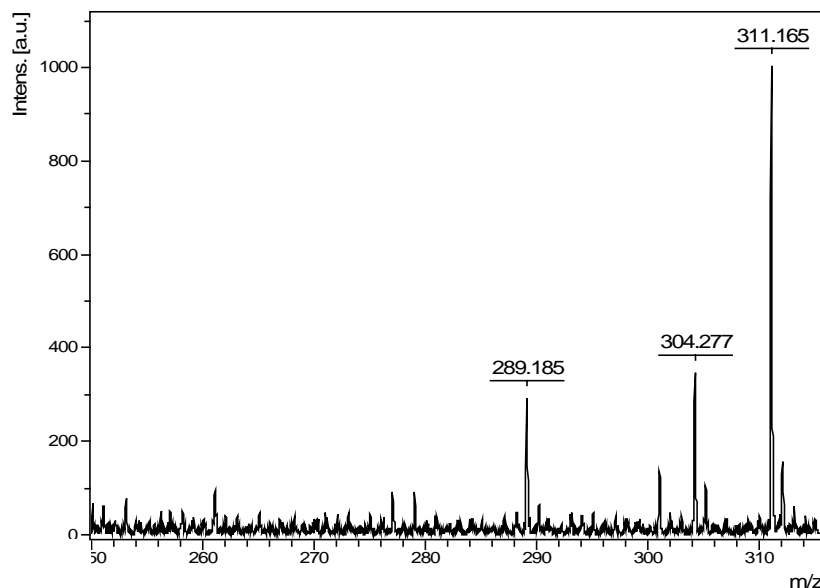
15. ábra: A tesztoszteron MALDI TOF tömegspektruma

A) CHCA, B) C₆₀fulerén mátrix alkalmazásával

A mátrix szerepe az ionizálás segítése, a lézer energiájának elnyelése. Alkalmazásának hátránya azonban az, hogy a minta és a mátrix együtt kristályosodása során nem keletkezik teljesen homogén elegy. Ennek következtében a MALDI tömegspektrometria közvetlenül nem alkalmas a mennyiségi elemzésre. A MALDI TOF tömegspektrometria kvantitatív analitikai alkalmazására számos próbálkozás történik, véleményem szerint a mátrix elhagyása ezt a problémát részben megoldhatja. További lehetőség a felület segítette lézereszorpció (SELDI) vagy belső standard alkalmazása lehet. A mátrix nélkül történt elemzések tömegspektrumait a 16. és 17. ábra mutatja be.



16. ábra: A progeszteron standard mátrix nélküli (LDI) elemzésének eredménye



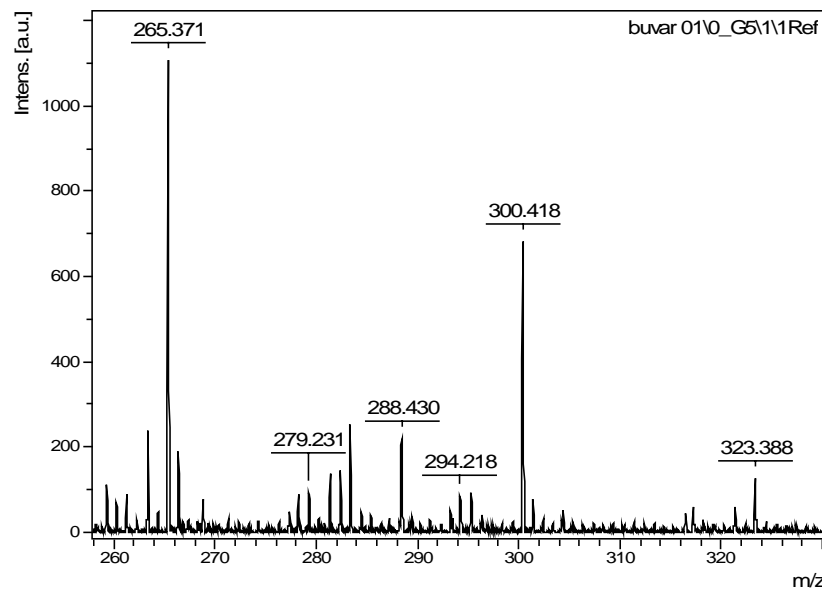
17. ábra: A tesztoszteron standard mátrix nélküli (LDI) elemzésének eredménye

Az LDI technika alkalmazásával viszonylag könnyen biztosítható a minta homogenitása, de csak olyan anyagok esetében alkalmazható, amelyek képesek a 337 nm hullámhosszúság lézer energiájár abszorbeálni. A mennyiségi elemzések lehetőségén túl további előnye, hogy a mátrixból származó ionok, klaszterek nem jelennek meg a tömegspektrumon, így nem befolyásolják a kiértékelést. A rutinelemzések során a leggyakrabban alkalmazott mátrixok kis molekula tömegűek (100–300 Da) zavaró hatásait

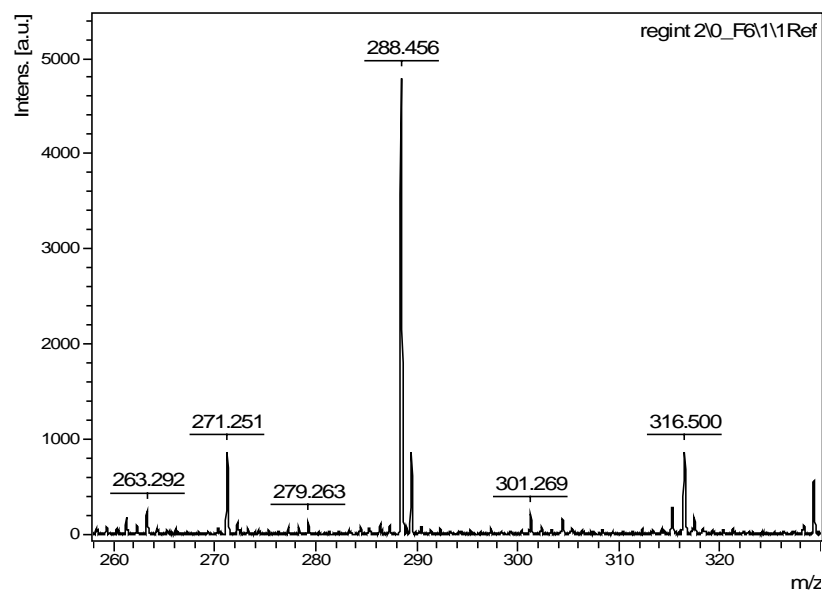
A nemi hormonok tömegspektrometriás meghatározása ún. ujjlenyomat technika, tehát a csont extraktumok és a hormon standardok tömegspektrumait közvetlenül hasonlítjuk egymáshoz. Ennek megfelelően pontos eredményt szolgáltat az életkor meghatározása nélkül is.

A 18. ábrán egy igazságyügyi minta MALDI TOF tömegspektrumát figyelhetjük meg, a vizsgálathoz CHCA mátrixot alkalmaztunk. A Dunából Hartánál előkerült rendkívül rossz megtartású emberi maradvány nemének meghatározását végeztem el. A boncolási jegyzőkönyv szerint a maradvány egy nőtől származik, azonban mind a morfológiai, mind a DNS vizsgálatok alapján a csontváz férfinak mondható. A combnyakból történt mintavétel után a tömegspektrometriás elemzések is férfiként azonosították a maradványokat. A tesztoszteron 289 Da tömegű $[M]^+$ gyök molekulaionja ugyan nem látható, de ez annak az eredménye, hogy a 17-es pozícióban található hidroxil csoport

oxo csoportta oxidálódott, és így a tesztoszteron 288 Da tömegű kvázimolekulaionként detektálható. Az edemények szerint még igen agresszív, a szerves anyagokat erősen károsító közegből is sikeres a hormonális nem-meghatározás. Ennek akkor lehet óriási szerepe, ha a DNS vizsgálatok során a különböző szennyezések miatt (pl. huminsavak) nem lehet értékelhető eredményt szolgáltatni.



18. ábra: Egy igazságügyi csontminta (férfi) hormonális vizsgálatának tömegspektruma



19. ábra: Egy töredékes női csontváz hormonális tömegspektrumja

A 19. ábrán látható egy igen töredékes csontmaradványból készült extraktum tömegspektruma. Ebben az esetben a teljes minta mennyisége csupán 3–4 gramnyi csonttörmelék volt, amelyből 0,5000 g-ot használtam fel az extrakcióhoz. A spektrumon jól azonosítható az ösztrom 271 Da tömegű $[M+H]^+$ kvázimolekulaionja. Az elemzések eredményeként az elhunyt neme nő.

8. EGYKORI NÉPCSOPORTOK TÁPLÁLKOZÁSTUDOMÁNYI VIZSGÁLATA

Az antropológiai leletek nemének meghatározásán túl izgalmas kutatási téma az egykori életmód megismerése is. Az ősi populációk táplálkozási szokásainak felderítése rendkívül fontos az egykori környezet és az ember kapcsolatának feltárásában. A nyomelem-analitikai technikák utóbbi évtizedekben bekövetkező fejlődése megteremtette a lehetőséget a rutinszerű és megbízható táplálkozástudományi elemzések számára. Táplálkozásunk alapvetően befolyásolja szervezetünket, így csontjaink kémiai felépítését is. Az étrend rekonstrukciója szempontjából jelentősek a Sr, Zn, Ba, Mn, Na, Cu, Mg és a V.

A nyomelem vizsgálatok mellett igen hatékonyan alkalmazható a N, C, O és Sr stabil izotóp arányainak meghatározása.

8.1. A táplálkozás és a csontszövet nyomelem tartalmának kapcsolata

A csontszövet nyomelem összetételének meghatározása óriási segítséget jelent az egykori táplálkozási szokások vizsgálatában.

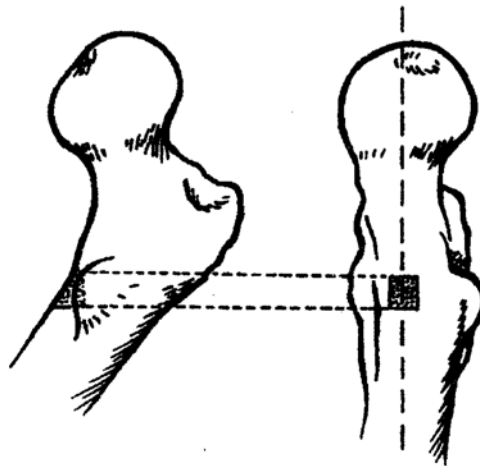
A kutatás szempontjából az egyik legfontosabb komponens a stroncium. Szervezetünk Sr tartalmának 99,1%-a csontjainkban található. A táplálkozási láncba főként a növényeken keresztül kerül be, mivel ezek nagy mennyiségben képesek felvenni és tárolni. Ennél fogva a növényi táplálkozást folytató élőlények szervezetének Sr koncentrációja magasabb a ragadozó társaikénál (Smrčka 2005). A stroncium és a csontokat nagy részben felépítő kalcium kémiai hasonlósága teszi lehetővé azt, hogy a növényekből felvett Sr raktározódjon a csontszövetben és kimutatható legyen több évezred viszonylatában is. A stroncium koncentrációja az életkorral is változik, az újszülöttek csontjainak Sr tartalma alacsonyabb, amely az élet előrehaladtával, valamint a terhesség alatt növekszik. Anomáliákat okozhat még a tengeri élőlények, főként a kagylók nagymértékű fogyasztása is, mivel ezek az élőlények a tengervízből nagy mennyiségben vesznek fel a stronciumot.

A bárium koncentrációja ugyancsak fontos támpontot ad a növényi és állati eredetű táplálékok arányának meghatározásában. A stronciumhoz hasonlóan a bárium is a növényi szervezetből kerül a táplálékláncba.

Míg a Sr koncentrációja csökken az állati eredetű táplálékok túlsúlya esetén, a Zn aránya ebben az esetben növekszik. Ez utóbbi elem értéke növényi táplálkozás esetén 90–150 ppm, vegyes étrendnél 120–220 ppm, míg ragadozó életmódnál 175–400 ppm közötti.

8.2. Anyag és módszer

Vizsgálataim során különböző régészeti korszakból származó csontmaradványok analitikai elemzését végeztem el. A mintavétel minden esetben azonos anatómiai helyről, a combcsont proximális részének combnyak alatti régiójából történt (20. ábra).



20. ábra: A mintavétel helye

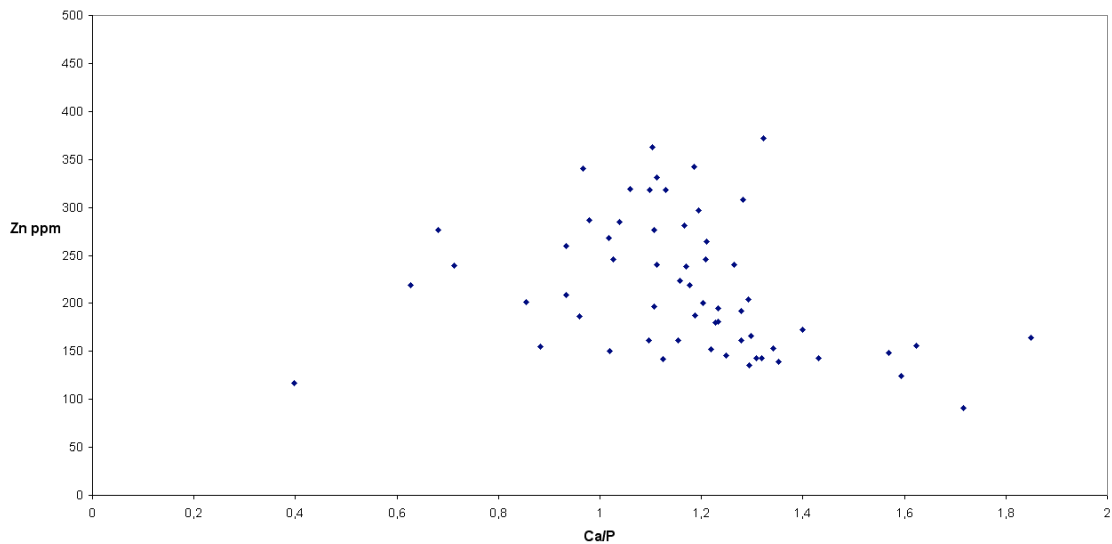
A vizsgálatokat PIXE, AAS és NAA módszerek segítségével végeztem el. Az elemzésekhez kb. 0,2 mm szemcseméretű csontport használtam fel, amelyet 80°C-on súlyállandóságig szárítottam (12 óra). Az AAS módszer elvégzéséhez a mintákból salétromsavval történő feltárással oldatot készítettem (0,5000 g csontpor és 5,00 cm³ salétromsav, feloldás után 50X hígítva).

8.3. A vizsgálatok eredményei

Elsőként a Hódmezővásárhely-Gorzsa-Czukor major lelőhelyen feltárt⁸ újkőkori temető teljes antropológiai leletanyagának (69 sír) kémiai elemzését mutatom be (Horváth 1982). Ez az első hazai őskori temető, amelynek teljes feltárt antropológiai anyagán komplex kémiai vizsgálat történt. A gorzsai telep és a hozzátartozó temető feltárása pontos statigráfiai eszközökkel történt, így régészeti és kronológiai szempontból hazánk egyik legfontosabb lelőhelye. A neolitikáció során történt meg a táplálkozási szempontból jelentős állatok és növények domesztikációja, így a korszak kiemelkedően fontos adatokat hordoz a táplálkozástudományi kutatások számára. A 21. ábrán

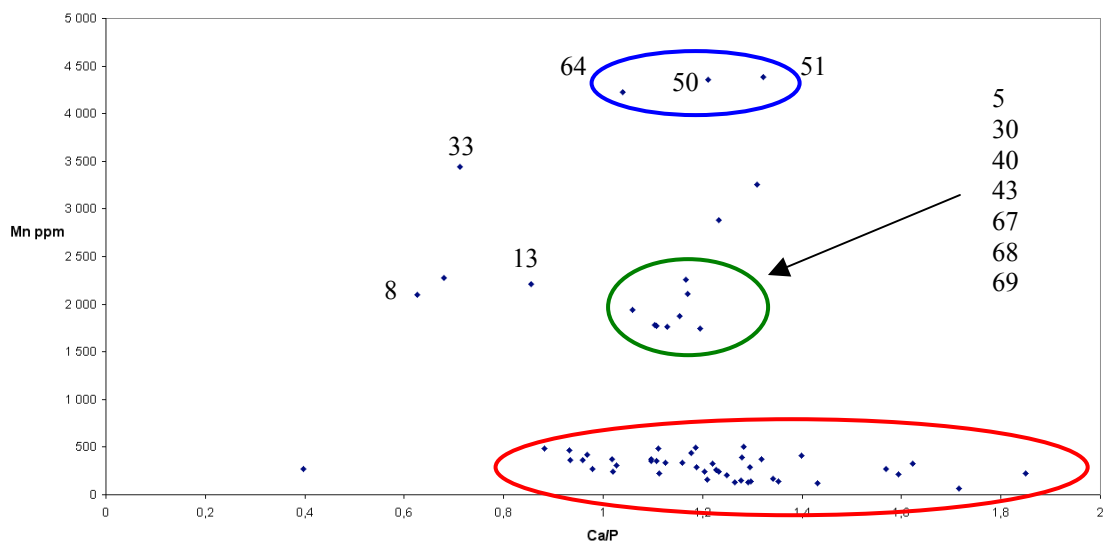
⁸ Dr. Horváth Ferenc feltárása

megfigyelhetjük a Zn koncentrációit a kalcium-foszfor arány függvényében. Az ábra jól mutatja, hogy a leletanyag cink koncentrációja igen magas, így valószínűsíthető az állati eredetű táplálék túlsúlya, amelyet a lelőhelyen feltárt nagy mennyiségű állatcsont is alátámaszt.



21. ábra: A csontok cink koncentrációi a Ca/P arány függvényében

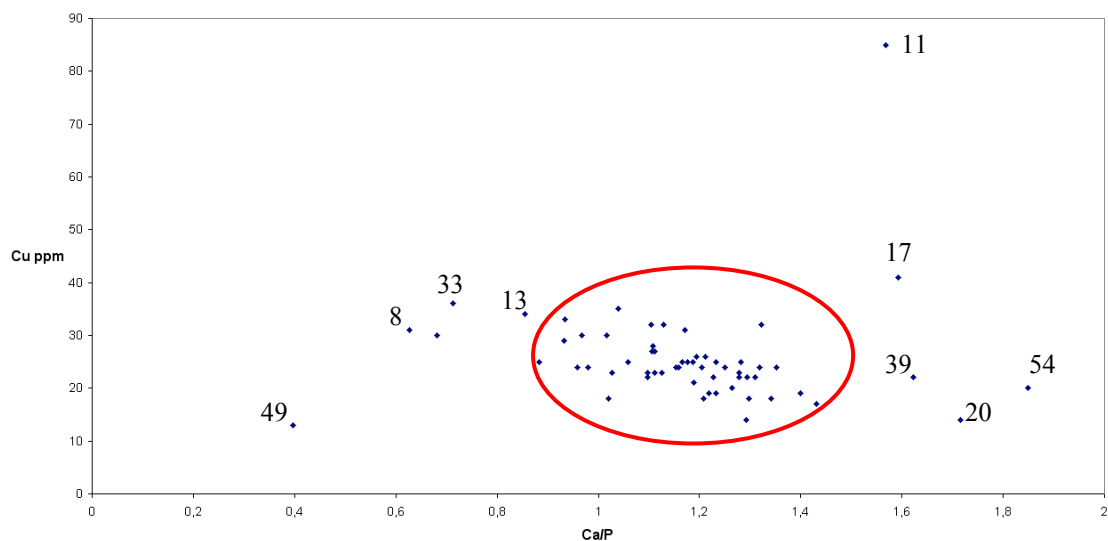
A 22. ábrán a csontok mangán koncentrációit ábrázoltam a kalcium-foszfor arány függvényében.



22. ábra: A Mn koncentrációja a Ca/P arány függvényében

A mangánt, mint exogén elemet tartják számon, azonban nem csupán a talajból kerülhet nagymennyiségű Mn a szervezetünkbe. Mangánban igen gazdag élelmiszerek a búza, búzakorpa (6,4–7,02 mg/100g) és a sertéshús (1–2 mg/100g), míg a tej mangán koncentrációja alacsony (1 mg/100g alatti) (Takács 2001). A mangán és vas felszívódása szorosan összekapcsolódik, a sejtek mitochondriumaiban raktározódik, így koncentrációja a májban a legnagyobb.

Ha a leletek mangán koncentrációt összevetjük, akkor különböző sírcsoportokat figyelhetünk meg. A 22. ábrán pirossal jelölt területen a teljesen normálisnak mondható mangán koncentrációval rendelkező csoport figyelhető meg. A 64, 50 és 51-es sírok csontjainak extrém magas Mn-tartalmát nem tulajdoníthatjuk a talaj szennyező hatásának, hiszen azonos temetőről lévén szó, a talajtani viszonyok is hasonlóak. A mangán magas koncentrációja valószínűleg a tönkölybúza fogyasztásának magas arányára utal.

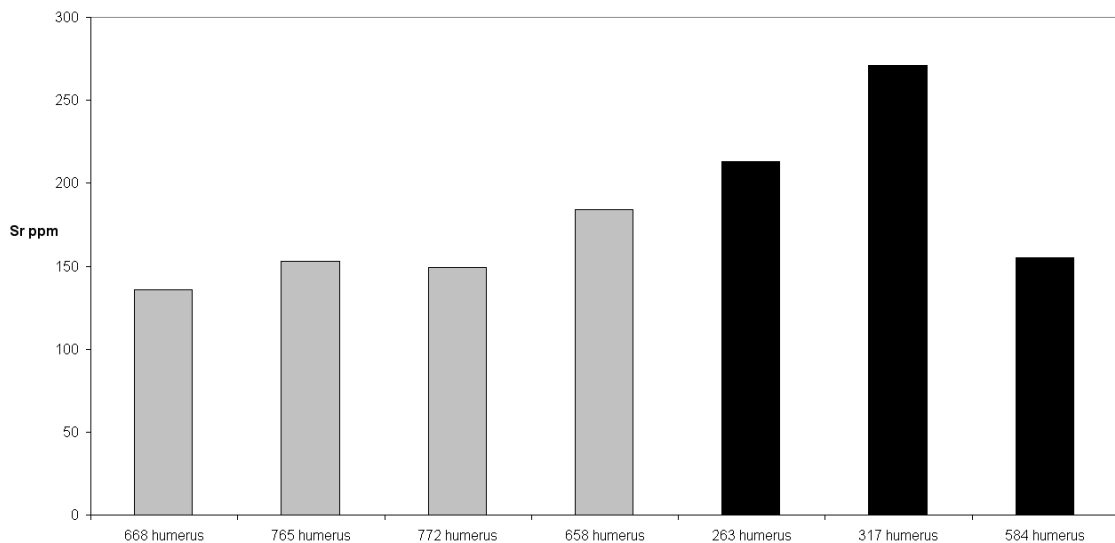


23. ábra: A Cu koncentrációja a Ca/P arány függvényében

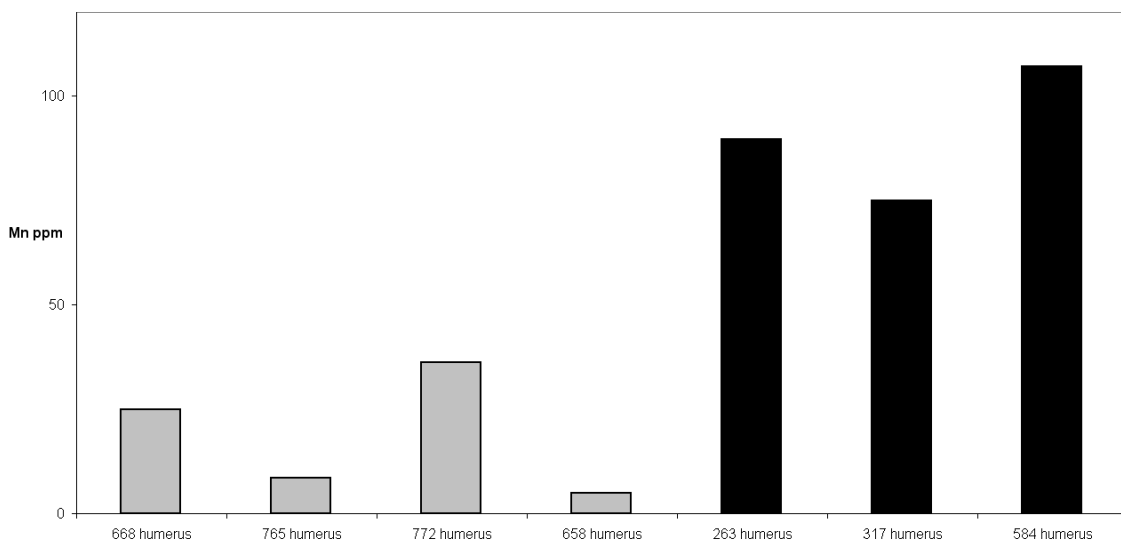
A réz főként az állati eredetű táplálékokkal kerül szervezetünkbe. A csontminták Cu koncentrációit a 23. ábra mutatja be, amelyen megfigyelhetjük az értékek viszonylagos állandóságát.

A Zn, Mn és Cu mennyiségei igen kiegyensúlyozott táplálkozásra utalnak, így megállapíthatjuk, hogy a gorzsai népesség igen változatos táplálkozást folytatott. A nagy mennyiségű állati eredetű — főként szarvasmarhából és sertésből álló — táplálék mellett jelentős mértékben fogyasztottak magas korpatartalmú gabonákat.

Másodsorban a Szegvár-Oromdűlő lelőhelyen feltárt⁹ 9–11. századi temető leletanyagán elvégzett kémiai vizsgálatok eredményeit mutatom be.



24. ábra: A csontminták stroncium koncentrációja

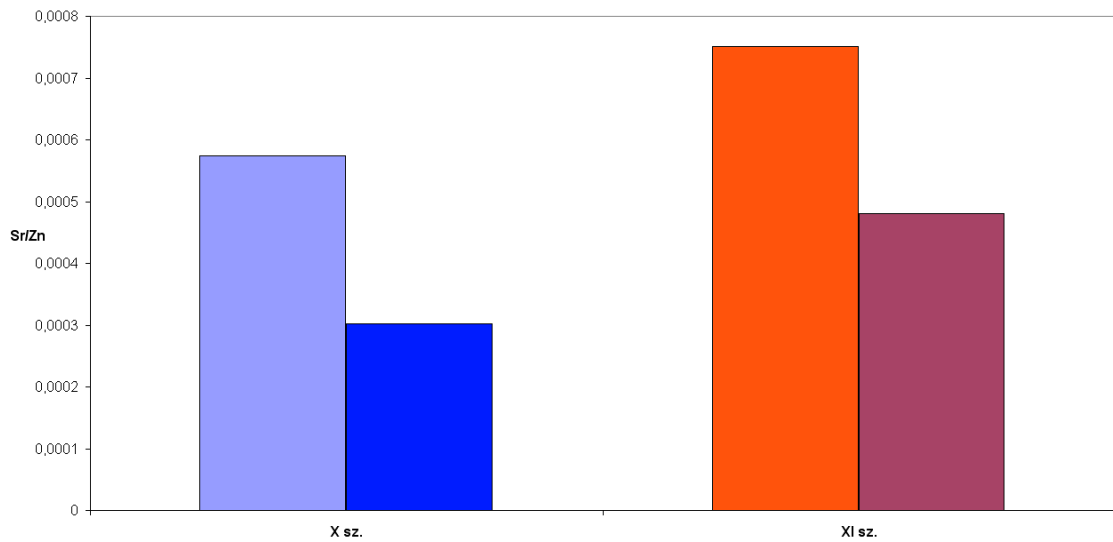


25. ábra: A csontminták mangán koncentrációja

A 24. és 25. ábrákon a csontminták (felkarcsont) stroncium és mangán koncentrációit figyelhetjük meg. A szürke oszlopok a 9–10. századi, míg a fekete oszlopok a 11. századi leletekre vonatkoznak. Az eredményekből kitűnik, hogy a növényi táplálékok aránya a 11. századi leletek esetében magasabb. Ez valószínűleg annak köszönhető,

⁹ Dr. Lőrinczy Gábor feltárása.

hogy a honfoglalás utáni időkben — a letelepült életmódnak köszönhetően — a gabonanövények termesztése került előtérbe. Ezt bizonyítja a 26. ábra is, ahol a combsontokból és felkarcsontokból származó minták Sr/Zn arányait mutatom be. Az adatok tükrében a 10. és 11. század fordulójában a táplálkozási szokások radikális átalakulása következett be.



26. ábra: A csontminták Sr/Zn arányai
combsont

felkarcsont

felkarcsont

9. A KÉSŐSZARMATA NÉPESSÉG TEMETKEZÉSI SZOKÁSAINAK VIZSGÁLATA

A Madaras-Halmok lelőhelyről származó leletek esetében vizsgálataim elsődleges célja az volt, hogy a csontszövetet erősen károsító anyag hovatartozását megállapítsam. A temető humán maradványain megfigyelhető jelenség más lelőhelyről eddig nem került feljegyzésre.

9.1. A vizsgált leletek

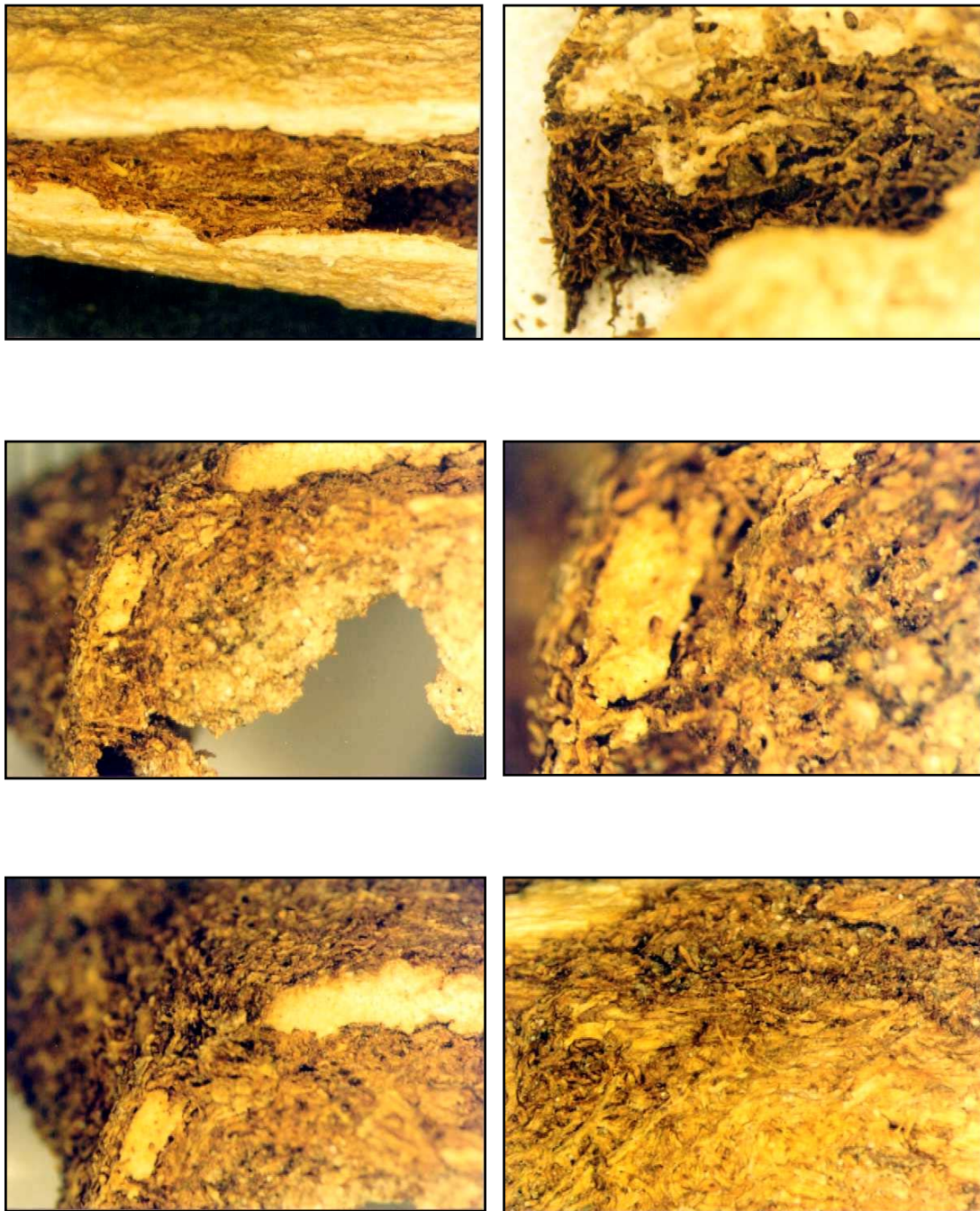
Az antropológiai minták a Füzesabony-Kastélydűlőn Farkas Csilla által feltárt (Farkas 1999) szarmata temető csontleletei közül és a madaras-halmoki hunkori, későszarmata lelőhely antropológiai anyagából származnak (Kőhegyi 1971).

A madarasi temetőben Kőhegyi Mihály végzett feltárásokat a '60-as évek végén, ahol 615 sírt tárt fel. E jelentős temetkezési hely a legnagyobb eddig megfigyelt ilyen korú lelőhely Közép-Európában.

A madarasi és füzesabonyi temetőkből összesen 17 csontminta analitikai elemzését végeztem el (1. táblázat, 27. ábra).

	No.	Ltsz..	Sírszám.	Megjegyzés
Madaras-Halmok	1.	16411	414.	Szennyezett
	2.	16414	417.	Szennyezett
	3.	16583	573.	Szennyezett
	4.	16654	659.	Szennyezett
	5.	16655	660.	Szennyezett
	6.	16656	661.	Szennyezett
	7.	16661	61.-62.	Referencia
	8.	16308	195.	Referencia
	9.	16312	200.	Referencia
Füzesabony-Kastélydűlő	10.	-	60.obj.1.	Referencia
	11.	-	65.obj.2.	Referencia
	12.	-	66.obj.3.	Referencia
	13.	-	125.obj.4.	Referencia
	14.	-	140.obj.5.	Referencia
	15.	-	150.obj. 6.	Referencia
	16.	-	155.obj.7.	Referencia

1. táblázat: A vizsgált leletek



27. ábra: A leletekről készült fényképek (4–10X nagyítás)

9.2. Csontleletek kémiai vizsgálata

A csontkémiai elemzések szorosan kapcsolódnak a régészeti és őskörnyezeti lelőhelyek komplex elemzési stratégiájához, illetve eredményei meghatározó fontosságúak lehetnek az antropológia, a paleozoológia és az őslénytan területén egyaránt. A csontszövet kémiai összetételének meghatározását a beágyazó közeg komponenseinek pontos analízise egészítheti ki, amely során leírhatóvá válik a beágyazó közeg és a beágyazódott anyag kölcsönhatása is.

Vizsgálataim során előkerült egy különlegesnek mondható, eddig csak a madarasi lelőhelyen feltárt csontanyagon megfigyelhető képlet. Habár analitikai eredményeim e jelenség genetikájára nem adnak pontos választ, ám az értelmezés során mégis levonhatóak bizonyos kémiai és régészetileg is egyaránt elfogadható következtetések ezzel a jelenséggel kapcsolatban.

9.3. A minták kiválasztása és előkészítése

A vizsgálandó minták kiválasztása során a fő szempont az volt, hogy reprezentatív sorozatot állítsak össze mind az erősen károsodott, mind a jó megtartású mintákból. A kiemelés során törekedtem továbbá arra, hogy a csontváz ugyanazon anatómiai helyéről származzon a minta. Ennek azért van döntő jelentősége, mivel az egyes alkotók koncentrációja függ a csontszövet felépítésétől. Munkám során bordákból és csigolyákból származó mintákat elemeztem.

A minta kiválasztását követően azokat $\sim 0,2$ mm szemcseméretű porrá őröltem, ezt a műveletet egy célszerűen kialakított rozsdamentes acélmozsárban, majd porcelán- és acháttégelyben végeztem el.¹⁰

Ezután a csontmintákat két — közel egyenlő — részre választottam szét, ezek tömege megközelítőleg 3–5 g volt.

9.4. A kémiai elemzések eredményei

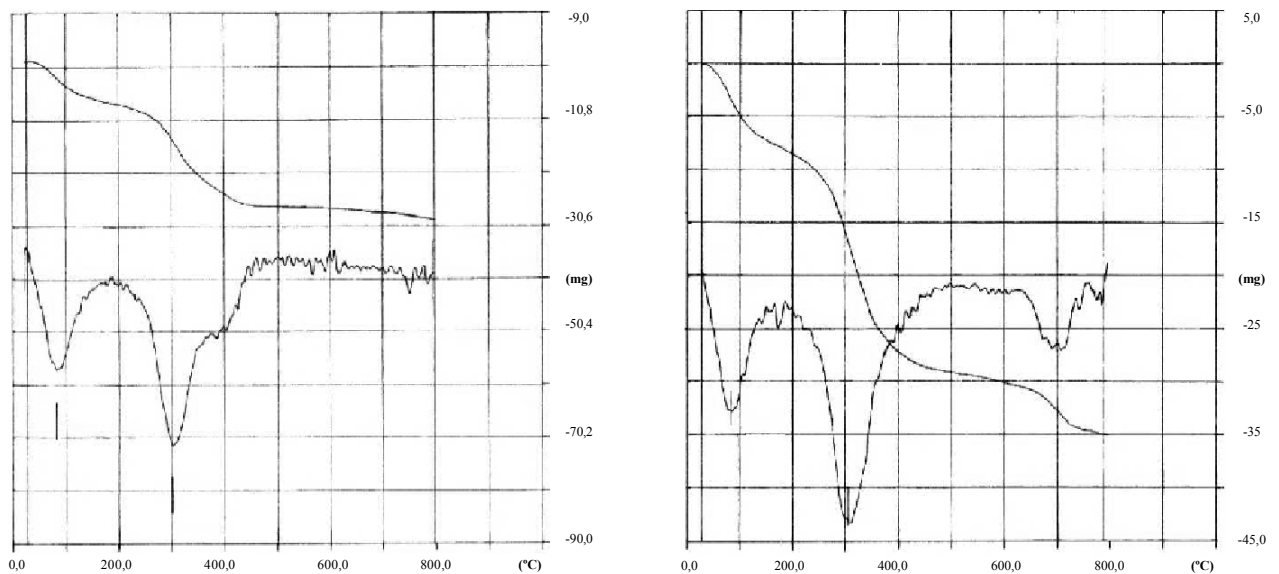
9.4.1. Csontminták termikus vizsgálata

A leletek termikus vizsgálatának elvégzését több cél is vezérelte, mégpedig (i) a minták főbb komponenseinek (víztartalom, szerves és szervetlen komponensek) megismerése, (ii) továbbá a csontok analitikai elemzését (pl. AAS) megelőző elhamvasztásának optimális hőmérsékletének meghatározása. A szakirodalomban közölt eljárás szerint a csontminták hamvasztását 1000°C -on kell elvégezni (Lengyel 1972). Azonban a magas hőmérséklet alkalmazása nem célszerű, mivel a minta egyes alkotói nem kívánt bomlást, változást szenvedhetnek, valamint a zavaró szerves vegyületek már alacsonyabb hőfokon is teljesen elbomlanak.

¹⁰ Jogosan merülhet fel itt a kérdés, hogy az őrölés során a minták milyen mértékű és minőségű szennyezést szenvedtek. Mint tudjuk a szerves anyagok néha az igen ellenálló anyagokat is megtámadják, így a (i) rozsdamentes acélból Fe, Ni, Mn, Cr; (ii) a porcelánból (amelynek keménysége a csontéval jól összemérhető) Fe, Ca, Mg, Mn; (iii) az achátból ugyancsak Fe, Ca, Mg, Mn szennyezés kerülhetett a mintákba. A feltehetően kismértékű szennyezést azonban jó közelítéssel szisztematikusnak tekinthetjük és így ártalmas hatásait figyelmen kívül hagyhatjuk, mivel az előkészítési eljárások a mintacsoportokon belül megegyeztek.

Az optimális hamvasztási hőmérséklet megismerése érdekében a porminták 0,1–0,1 g-ját derivatográfban (MOM Derivatograph Q 1500D) égettem el. Az égetés során levegő atmoszférát, 800°C maximális hőmérsékletet és 160 perc felfűtési időt alkalmaztam. A kapott TG és DTG görbék elemzéséből pontosan kiderült, hogy az antropológiai leletek teljes szervesanyag-tartalmának elbomlása a 400–500°C-os hőmérséklet tartományban következik be. Ebből adódóan a mintákat 550°C-on hamvasztottam el.

A termikus elemzések kiértékeléséhez néhány jellemző TG és DTG diagrammot választottam ki és mutatok be.



28. ábra: Humán csontanyag termogravimetriás elemzése

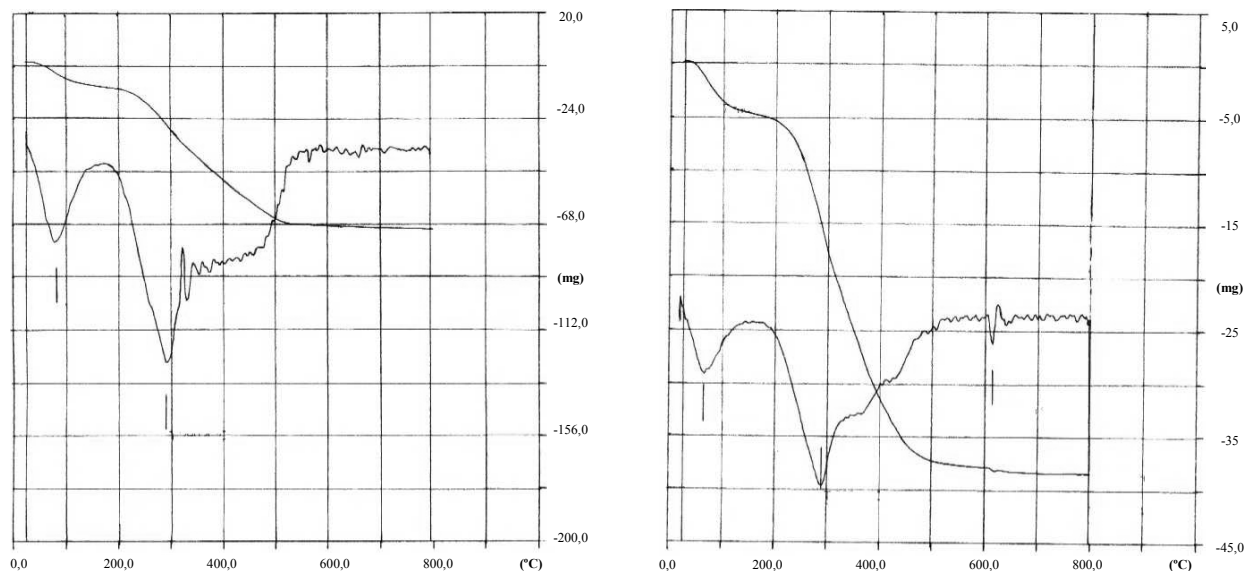
A) Füzesabony-Kastélydülő 150. objektum 6. sír, referencia minta

B) Madaras-Halmok 61-62. sír, referencia minta

A referenciaként használt minták diagrammjainál az irodalmi értékeket tükröző adatokat figyelhetünk meg (Kiszely 1973; Webb *et al.* 1970). A görbéken három nagy tömegesökkenés látható (28. ábra).

Az első 70 és 110°C között észlelhető, ebben a tartományban a fizikailag kötött víz távozik el a mintából.

200–460°C között figyelhető meg a második legmarkánsabb tömegváltozás. Ebben a hőmérséklet-tartományban többnyire a szerves anyagok elbomlásának lehetünk tanúi. A lépcső magassága alapján a minta ~ 20% organikus összetevőt tartalmaz.



29. ábra: Humán csontanyag termogravimetriás elemzése A) Madaras-Halmok 414. sír B) Madaras-Halmok 417. sír

Az utolsó lépésben nagyjából 600 és 800°C között észlelhető egy kisebb változás. Ennél a szakasznál azonban a referencia-minták sem mutatnak egységes képet. A Füzesabonyból származó lelet utolsó lépcsője kicsi, mintegy 0,26%-os tömegcsökkenésnek felel meg. Ellenben a madarasi minta elemzéséből származó görbe ugyanezen szakaszán a változás 4,7–5%. A szóban forgó változás a karbonátok elbomlásához köthető. Ezt a CaCO_3 összehasonlító mintákkal végzett elemzések és az irodalmi adatok is alátámasztják (Mackenze 1970; Mackenze *et al.* 1970; Mackenze *et al.* 1970a).

Az ismeretlen eredetű anyagot tartalmazó leletek termikus vizsgálatakor regisztrált görbék kiértékelésekor az előzőektől eltérő eredményeket kaptam (29. ábra).

A kötött víz eltávozása miatt tapasztalható tömegcsökkenés hasonló a fent említetthez. A szerves anyagok elbomlását jellemző második lépcső ezeknél a mintáknál nagyobb, mintegy 35 és 55–60%-nyi tömegcsökkenést mutat.

A legtanulságosabb az utolsó szakasz, mikor a karbonátok bomlásának hőmérséklet-tartományában az egyik “szennyezett” mintánál sem tapasztaltam jelentős

tömegváltozást. Ez csak úgy lehet, hogy a mintákból a karbonát már korábban eltávozott. Véleményem szerint a csontokkal érintkező ismeretlen eredetű anyag hatására a leletek karbonát-tartalma lebomlott.

9.4.2. Antropológiai leletek analitikai elemzése

Az elemzés protonindukált röntgenemissziós analízissel történt, amelynek eredményeit a 2. táblázat szemlélteti (Waren *et al.* 2002).

Mintakód	koncentráció (c) / ppm													
	Na	Mg	Al	Si	P	S	Ca	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Sr
fk150/6	9422	3692	10900	31080	158000	17440	331100	1489	3413	204	39	576	60	575
fk155/7	15010	4590	22650	47330	152400	1147	339700	1756	7428	217	37	452	27	468
fk60/1	9291	4543	19840	46570	168400	6661	318900	4618	23200	27	8172	51	34	606
mh195a	5604	7584	3684	22910	165300	7714	372800	1267	7711	166	383	183	33	1072
mh195b	6434	7264	3613	22750	161400	7570	364300	1450	7046	191	414	205	26	1161
mh195c	5323	7502	3481	22820	162700	6029	362600	1209	7782	152	421	282	27	1316
mh195d	4505	7859	4127	23290	162400	3544	373000	1389	5833	190	408	180	31	1221
mh200	10650	9752	12240	52170	161300	14240	336000	351	7725	103	2032	572	42	973
mh414	7278	6615	4240	27820	187000	11390	374700	16	1444	196	28	161	19	260
mh573	2653	1834	1611	18050	174400	3136	368700	18	331	223	30	120	22	164
mh659	10020	10850	30030	122200	97530	5543	256900	205	11420	92	17	93	26	364
mh660	6418	5002	8241	30380	123800	17400	342800	79	3920	140	22	251	21	364
mh661	7711	10070	4934	27140	179900	8923	375700	263	1444	198	27	119	21	396

2. táblázat: A minták analitikai vizsgálatának eredményei

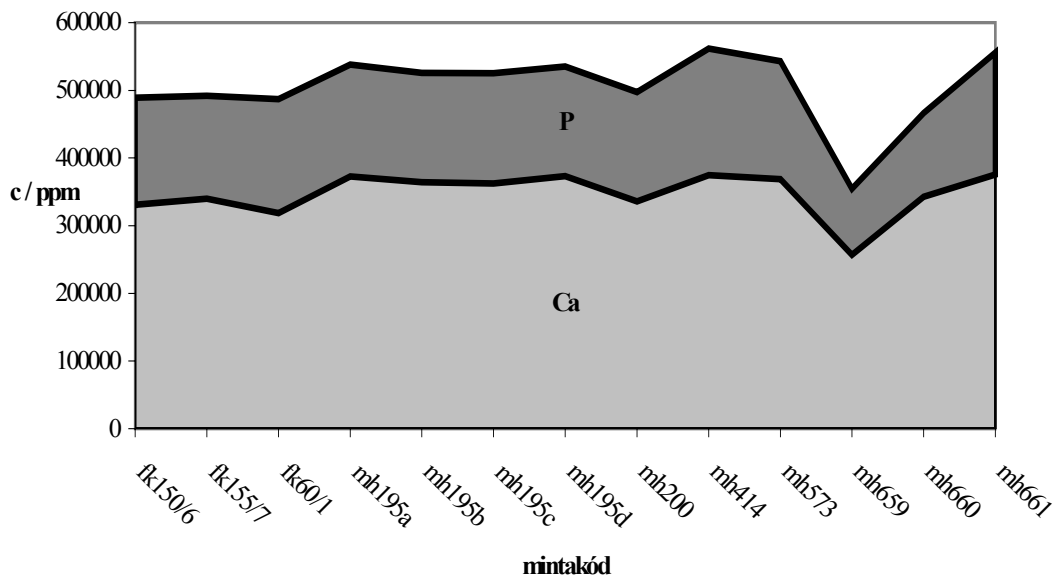
Az As mennyisége a detektálási határhoz képest rendkívül alacsony, így ezek az adatok nem nyújtanak megbízható információforrást.

Az mh195-ös mintán 4 mérési pontot jelöltem ki¹¹, a mérési reprodukálhatóság megvizsgálása céljából, amely az eredmények tanulsága szerint igen jónak mondható. Az analizált értékek összege nem adja ki az elvárható 100%-ot, mivel vannak olyan komponensek amelyek ezzel a módszerrel nem detektálhatók (pl. oxigén). A madarasi leletek kalcium- és foszforkoncentráció alakulásának tanulmányozásakor megfigyelhető, hogy a foszfor koncentrációja kissé magasabb a szennyezett mintáknál,

¹¹ A jelölés értelemszerűen mh195a, mh195b, mh195c, mh195d.

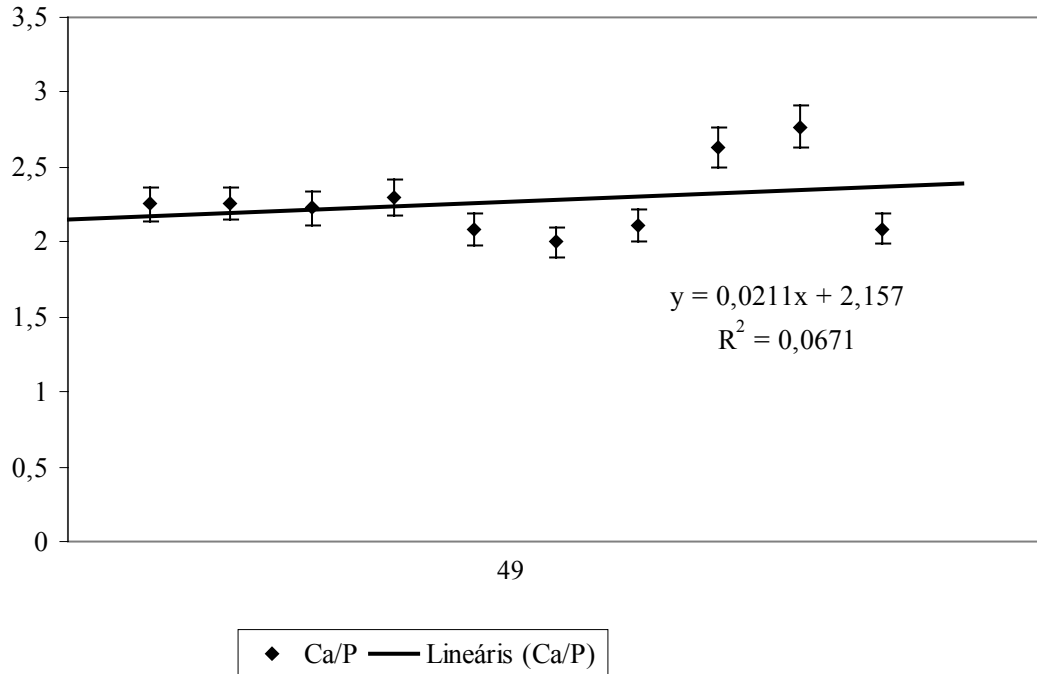
mint a referenciaanyagoknál. A kalcium esetében éppen ellenkezőleg alakul a dolog, a referenciákban nagyobb a mennyisége. Ugyan az eltérések nem szignifikánsak, a jelentőségük mégis nagy. A csontszövetben a Ca/P arány megközelítőleg állandó, így azt várhatnánk, hogy az alacsonyabb kalciumkoncentráció alacsonyabb foszforértéket von maga után. A vizsgálati adatok átlagai azonban első közelítésben azt tükrözik, hogy az említett arány megbomlott. Ha az eredményeket összehasonlítjuk mindhárom mintacsoport esetében, akkor arra a következtetésre juthatunk, hogy a fűzesabonyi lelőhelyen az arány még inkább eltolódott. Valószínűleg a jelenség magyarázata abban rejlik, hogy a savas környezetben a kalcium “mozgékonyabb” elem mint a foszfor, így annak értéke nagyobb mértékben csökken az eltelt idő függvényében. A fűzesabonyi lelőhely talajának savas karaktere pedig hozzájárult ennek az aránynak az eltolódásához. Azonban az átlagértékek használata ebben az esetben torzítást eredményez, mivel az egyes mintáknál az abszolút értékek különböznek ugyan, de azok aránya nem követi ezt. Ha nem az átlagértékeket, hanem az egyes minták Ca és P tartalmának diszkrét értékeit tanulmányozzuk, akkor merőben más kép tárulkozik elénk. A kalcium és foszfor koncentrációjának alakulása tökéletesen követi egymást mindhárom mintatípus esetében (30. ábra).

30. ábra: A kalcium és a foszfor koncentrációjának alakulása a vizsgált mintákban



Ha a Ca/P arányt ábrázoljuk és a pontsorra egyenest illesztünk, annak egyenlete jól reprezentálja a Ca/P értékét. A Ca/P hányados értékeinek alakulását figyelhetjük meg a 31. ábrán. Ezen adatok alapján megfigyelhetjük, hogy a Ca/P hányados — a

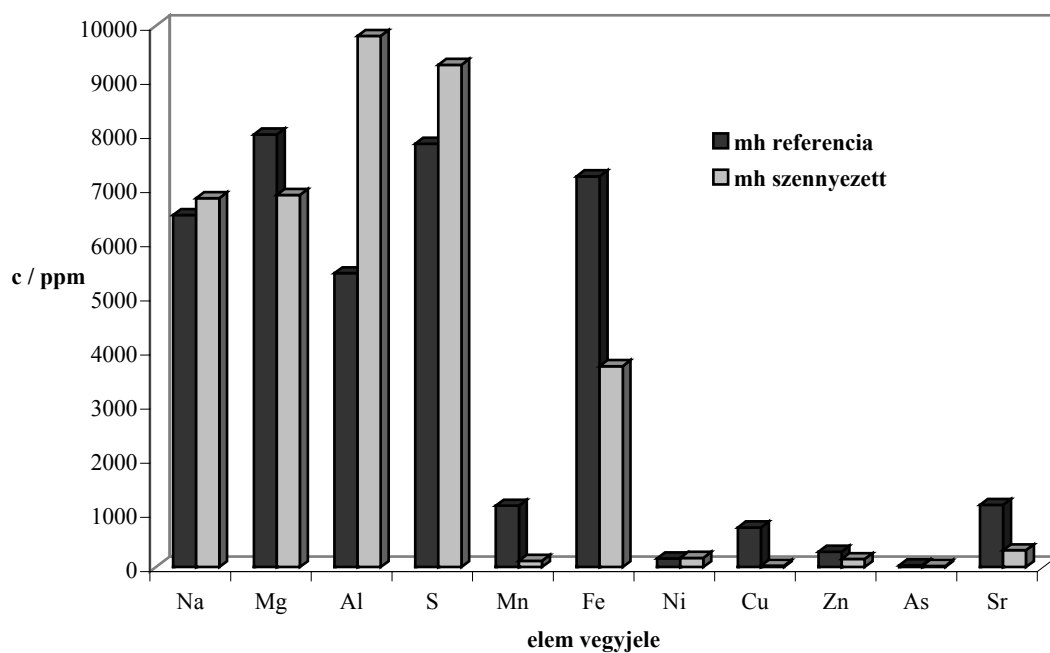
szakirodalomnak megfelelően — azonos korú leletek esetén jó közelítéssel állandónak tekinthető. Értéke a hunkori szarmata csontleleteknél 2,2 körül van.



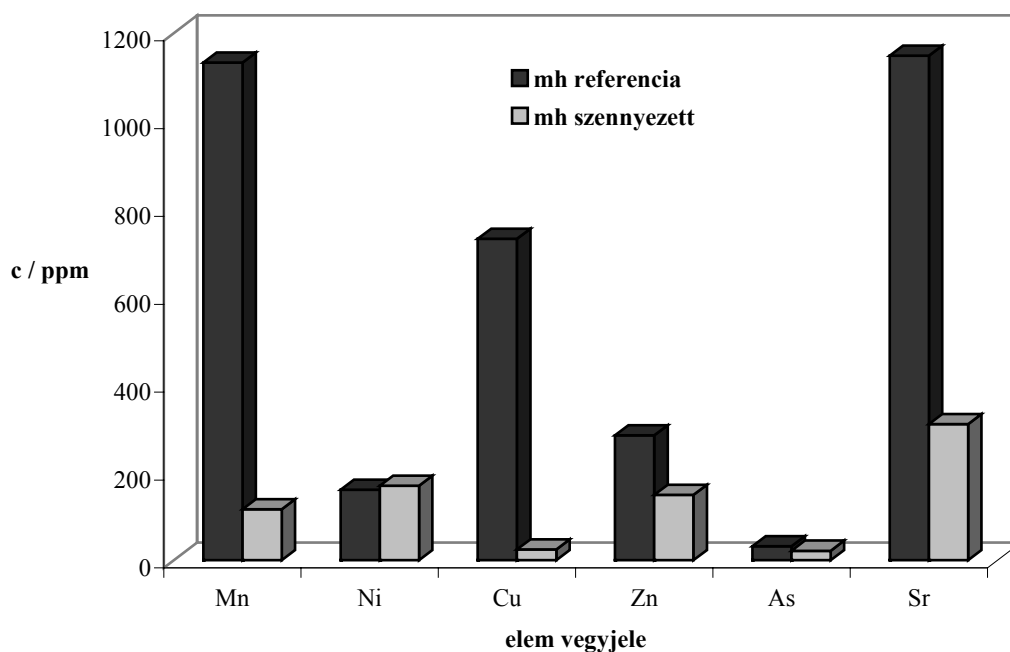
31. ábra: A kalcium-foszfor arány alakulása a vizsgált antropológiai mintákban, és az értékekre illesztett egyenes egyenlete

A recens mintákra vonatkozó adat 1,667. Így megállapítható, hogy a beágyazódás során a Ca mennyisége gyorsabban csökken a csontokban, mint a P-é. Azonos lelőhelyről származó csontminták esetében a Ca/P arány pontos meghatározása talán alapja lehet egy relatív kronológia felállításának.

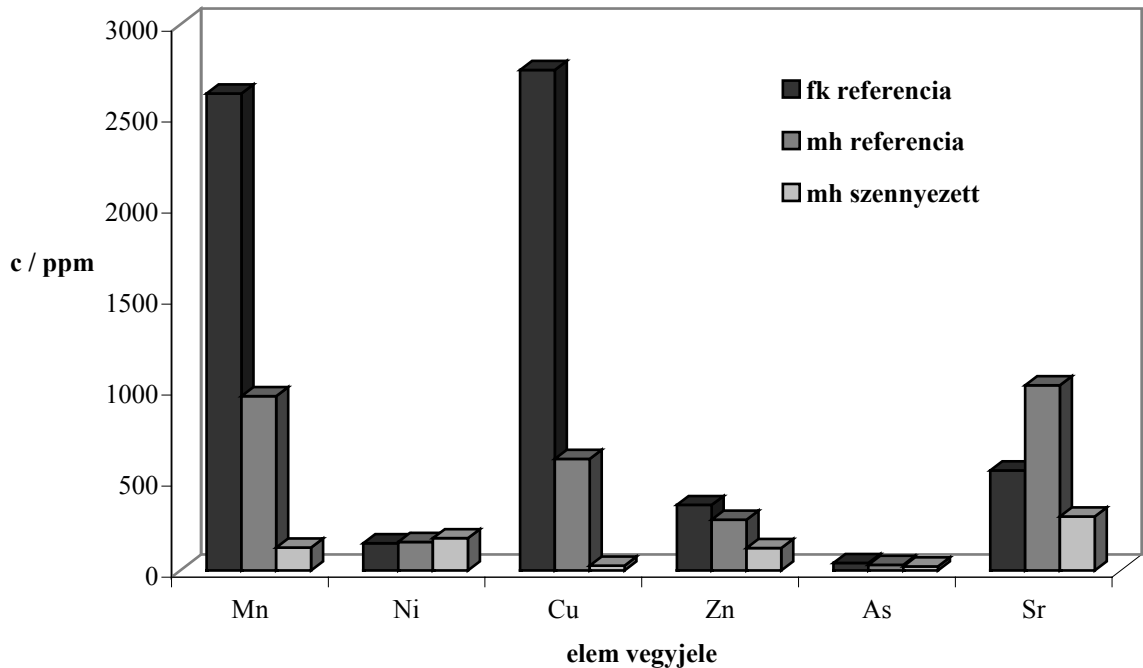
A főalkotók elemzésénél a csontszövet nyomelem-analitikai vizsgálata több információt hordozhat a madarasi lelőhelyen tapasztalt jelenség magyarázatát illetően. A 32. és 33. ábra tanulmányozásával kitűnik, hogy a madarasi minták esetében jelentős eltéréseket találunk a Al, S, Fe, Mn, Cu, Zn és Sr koncentrációban. A 34. ábrán a fűzesabonyi minták összetételét is feltüntettük. Látható, hogy a kén, vas, mangán, réz, cink és stroncium mennyisége jóval alacsonyabb a szennyezett mintáknál, mint a referencialeleteknél. Ezen elemek koncentrációinak alakulása feltehetően ugyancsak a csontleleteket károsító anyag savas karakterének köszönhető. Tehát az említett nyomelemek a savas környezet hatására kioldódhattak a csontszövetből.



32. ábra: A vizsgált csontok kémiai összetétele, kivéve a szilícium, foszfor, kalcium koncentrációkat (A sötét oszlopok a madaras-halmoki referencia minták, a világosak a madarasi „szennyezett” csontok koncentráció-adatait mutatják)



33. ábra: A madarasi csontleletek nyomelemtartalmának alakulása



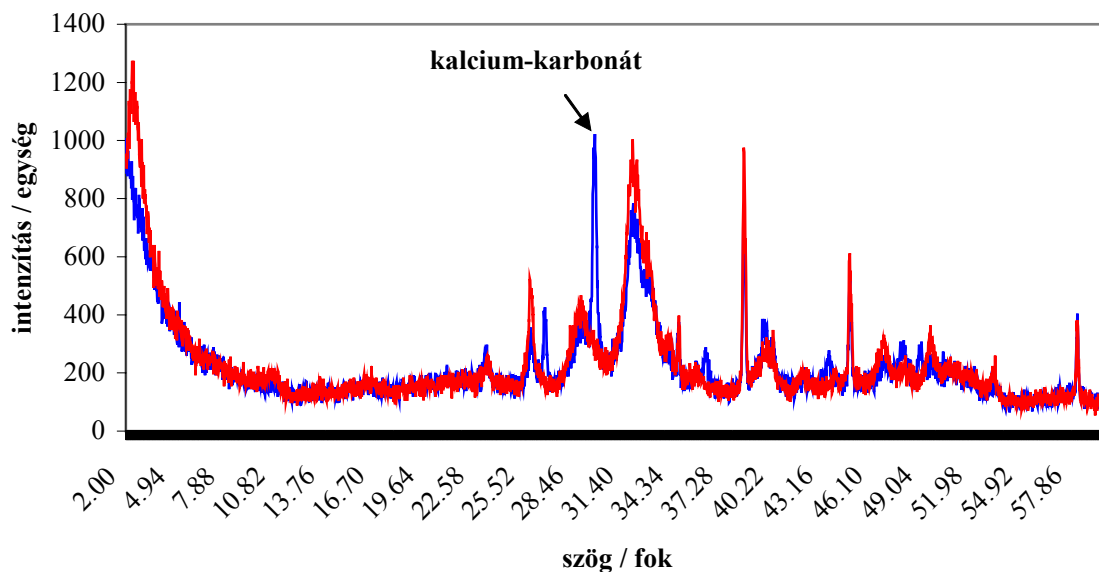
34. ábra: A vizsgált minták nyomelemtartalmának összesítése

Figyelemreméltó a magnézium mennyisége is, amely a madarasi mintákban több mint egy nagyságrenddel meghaladja az irodalmi értéket (Lengyel 1972). A Mg-tartalom és a csontok dekompozíciója között szoros összefüggés van, tehát ha a csontszövetben a Mg koncentrációja a fiziológiás szint alá esik, akkor a csontok korróziója felgyorsul. Jelen esetben a Mg koncentrációja nem támasztja alá ezt az összefüggést, ennek egyik magyarázata az lehet, hogy a csontokba idegen anyagokból (pl. növényekből) bekerülő Mg-nak nincs az endogén Mg-vegyületekhez hasonló “konzerváló” tulajdonsága. A jó megtartású füzesabonyi leletek esetében a Mg-koncentráció minden esetben alacsonyabb.

9.4.3. A röntgendiffrakciós (XRD) vizsgálatok eredményei¹²

A röntgendiffrakciós mérések összesített eredményét a 35. ábrán mutatom be, mely diagrammon jól látszik, hogy a referencia minták kalcium-karbonát tartalma jóval magasabb, mint a “szennyezett” csontleleteké. Így ezen elemzések eredményei azt tükrözik, hogy a csontok minősége között megfigyelhető eltérés főként a karbonátok lebomlásának tulajdonítható.

¹² A csontleletek és a különböző referencia anyagok (pl. mészkő, márvány, dolomit, kalcium-karbonát) XRD vizsgálatait annak érdekében végeztük el, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a minták nagyfokú korróziója a csontszövet karbonát-tartalmának lebomlása miatt következett-e be.



35. ábra: A két minta röntgendiffrakciós elemzéseinek összesítése (piros görbe: szennyezett minta, kék görbe: referencia minta)

9.5. A csontkémiai vizsgálatok eredményeinek értékelése

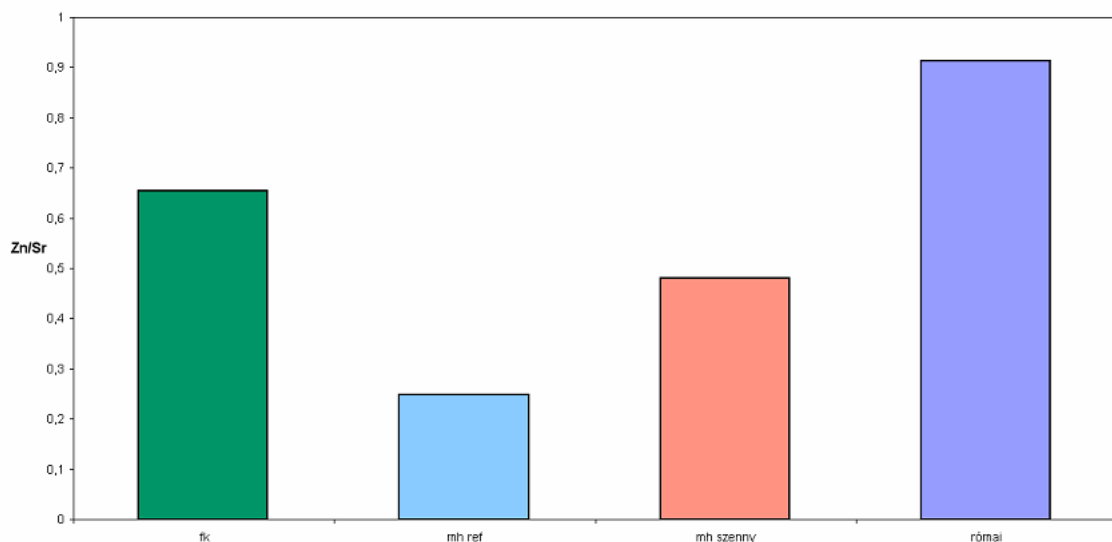
A vizsgálatok eredményeiből megállapítható, hogy a lelőhelyen megfigyelt erős csontkorróziót a csontokon megfigyelt anyag okozta, amely a leletek szerves karbonát-vegyületeit lebontotta. A tapasztalatok alapján a Ca/P arány megközelítőleg állandónak mutatkozott, amely arra is utalhat, hogy a csontszövet főtömegét felépítő apatitszerű kristályokat a kialakult savas környezet nem bontotta meg számottevően. Ebből következően a fosszilis csontokat alkotó viszonylag alacsony koncentrációban jelen lévő vegyületek koncentráció-változásai igen jelentősen befolyásolják a csontlelet dekompozícióját.

Az egyes madarasi mintákban talált idegen anyag hovatartozását illetően a következő megállapítások vonhatók le: (i) a kérdéses anyag savas karakterű; (ii) a szennyezett csontokban a dekompozíció fokához mérten meglepően magas a magnéziumtartalom; (iii) a TG, DTG elemzések (80%-os tömegcsökkenés 500°C-ig) arra engednek következtetni, hogy a kérdéses anyag szerves eredetű, ennek megerősítése érdekében egyéb egyszerű kísérletet végeztünk el (pl. égetési és oldhatósági próbák).

Mint tudjuk, a madaras-halmoki temető 80–90%-át a korabeli sírablók szisztematikusan feldúlták (Kőhegyi 1994). Ennek eredményeként felvetődött két lehetséges megoldás. Az egyik, hogy a napvilágra kerülő csontokat könnyen érthette

valamilyen gombafertőzés. A fertőzés ezután széterjedve a csontokon nagy pusztításokat okozhatott a leletanyagban, ilyen dekompozícióra számos példát láthatunk (Lengyel 1975; Nicholson 1996).

Az említett infekciók miatt bekövetkező dekompozíció mellett a csontok rossz állapotához, illetve a csontokban és azok felületén megtalálható anyag kialakulásához nagyban hozzájárult az, hogy az elhunytakat cserzett bőrökbe tekerve helyezték örök nyugalomra. Ennek a temetkezési szokásnak a megléte ismert a szármataknál¹³, pontos természettudományos vizsgálatokkal alátámasztott bizonyítéka még nem ismert. Az a tény, hogy ez a jelenség nem minden esetben figyelhető meg, nem bizonyítja azt, hogy azoknál a leleteknél nem is létezett ilyen réteg, mivel a csontokat csak jóval feltárásuk és tisztításuk időpontja után vehettük szemügyre. Minden erősen károsodott lelet spongiosa állománya gyakorlatilag teljesen megsemmisült, annak helyét a vizsgálandó szerves anyag töltötte ki. A fényképeken jól látszik az, hogy a csontok nagy szervesanyag-tartalmú külső rétegét is erősen megtámadta a korróziót okozó anyag. Véleményem szerint a bőrökből származó cserzőanyag a csontok felületén átszivároghatva elérte azok szivacsos állományát, és az ott másodlagosan található szerves anyagokat (pl. növényi maradványok) konzerválva hozta létre a csontokban található szubsztanciát.



36. ábra: A madarasi (mh), füzesabonyi (fk) és néhány római lelet cink-stroncium aránya

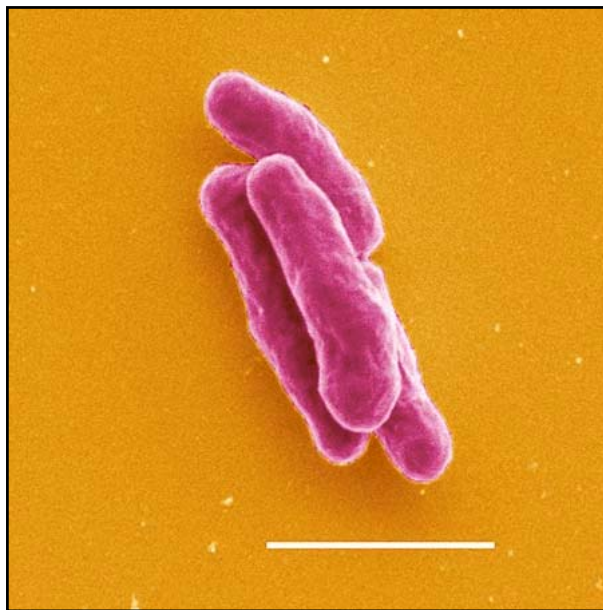
¹³ Dr. Vörös Gabriella régész és Dr. Maresik Antónia antropológus szíves szóbeli közlése.

A 36. ábrán megfigyelhető eredmények alapján a bőrbe temetett szarmaták esetében nagyobb az állati eredetű táplálék aránya, mint a madarasi temető egyéb maradványainál. Ennek értelmében nem kizárható, hogy a bőrbe temetkezés rítusát alkalmazók más népcsoport vagy társadalmi rend tagjai lehettek.

Mindenképpen kijelenthetjük, hogy a vizsgálatok további folytatásával a madarasi temetőt károsító jelenség megismerhetővé válik. Eddigi ismereteink szerint egy olyan kulturális–transzformációs (Schiffer 1976) jelenségről van szó, amely az ember tudatos beavatkozását bizonyítja a vizsgált leletek esetében.

10. MYCOBACTERIUM FERTŐZÉS DETEKTÁLÁSA ANALITIKAI MÓDSZEREKKEL

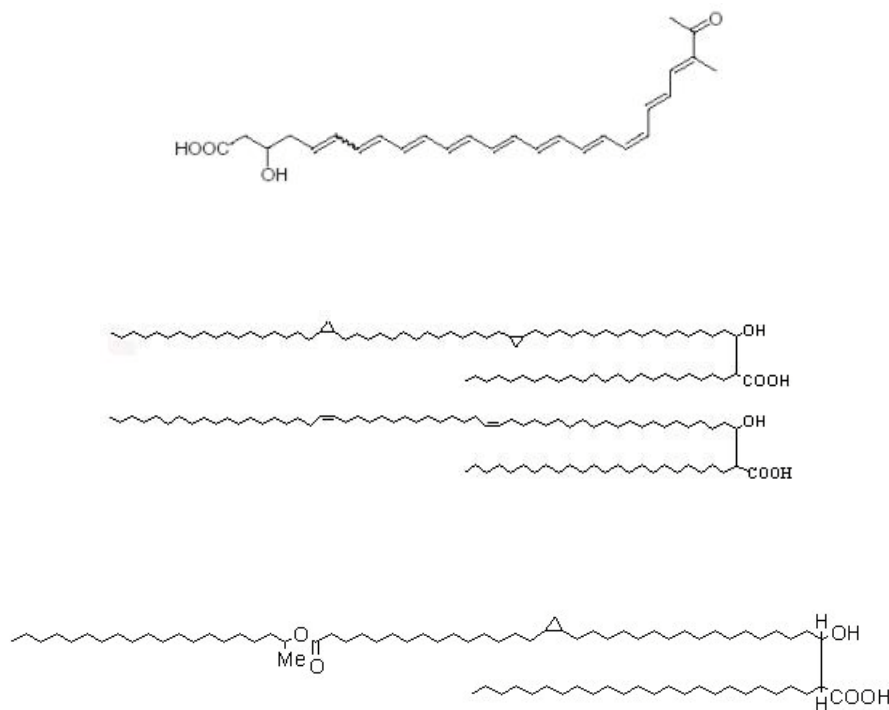
Napjainkban a tuberculosis maradt a legjelentősebb számban halált okozó fertőző megbetegedés a világon. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) számításai szerint a világ lakosságának egyharmada, mintegy 1,7 milliárd egyén fertőződött *Mycobacterium tuberculosis* kórokozóval (37. ábra). Ebből 20 millió az aktív beteg, ezek száma évenként mintegy 8,8 millióval nő és közel 3 millióan halnak meg évenként a betegség következtében.



37. ábra: A *Mycobacterium tuberculosis*
(forrás: www.microscopyconsulting.com)

Sajnálatos módon a gümőkór reneszánszát éli, multidrog rezisztens változatainak megjelenése és globális elterjedése reális fenyegetést jelent napjainkban is. A tuberculosis korai megjelenése a neolitikum végére tehető. Az elképzelések szerint a *Mycobacterium bovis*-sal fertőzött szarvasmarhák cseppfertőzés útján valamint táplálékként adhatták át kórokozókat az embereknek (Ortner 1999). Azonban ennek a feltételezésnek pontos tudományos bizonyítéka jelenleg még nem ismert. A Kárpát-medencében a *tuberculosis* bacillus jelentős terjedése a 7–8. századra tehető. A klasszikus módszereket alkalmazva a betegség antropológiai maradványokból történő kimutatását csupán morfológiai elemzésekkel végezhetjük el. Ennek a meghatározási

módszernek azonban komoly korlátot jelent, hogy csak a csontokon is megjelenő infekció kimutatására alkalmas. Kiváló megoldást jelenthet a baktériumok genetikai állományának kimutatása. A *Mycobacteriumok* vastag sejtfalának köszönhetően a DNS állományuk viszonylag jól kinyerhető, de a régészeti mintákból származó mikrobiális DNS fragmentumok elemzése még napjainkban sem mondható rutinszerű eljárásnak. A hiányságok leküzdésének másik lehetősége olyan könnyen detektálható biomarkerek kimutatása, amelyek megbízható diagnózis felállítására alkalmasak. A mycolsavak stabil, 60–90 szénatomszámú zsírsavak, amelyek a mycobacteriumok sejt falának fő alkotói (38. ábra).



38. ábra: A mycolsavak és észter származékaik általános felépítése

A hidrofób tulajdonságú mycolsavak kiválóan ellenállnak a természeti és mikrobiológiai hatásoknak és így rendkívül jól használhatóak biomarkerként. Korábban kimutatásukat HPLC módszerrel Gernaey, Minnikin és munkatársaik végezték el (Gernaey *et al.* 1998, 2001). A folyadékkromatográfiás elemzés során a mycolsavak metil-antril-észtereinek fluoreszcenciás detektálását végzik el a szerzők. Mycobacteriumok sejtfalából származó mycolsavak tömegspektrometriás detektálását elsőként Laval és munkatársai közölték (Laval *et al.* 2001). Munkám során ennek a

módszernek fejlesztett és régészeti mintákra adaptált változatát alkalmaztam a *Mycobacterium tuberculosis* infekciók kimutatására. A MALDI TOF/TOF tömegspektrometria minta feldolgozási kapacitása nagyságrendekkel nagyobb, mint a folyadékkromatográfiás rendszereké, ez mellett egyszerűbb mintaelőkészítést igényel. Ezen felül a módszer alkalmas a *Mycobacterium* fajának meghatározására is, mivel az abban fellelhető mycolsavak típusai (molekulatömegei) ujjlenyomatként tükrözik azt.

10.1. A vizsgált anyag

Munkám első fázisában 30 sír 61 csontmintáját elemeztem MALDI TOF tömegspektrometriával. A gümőkórral fertőzött minták kiválasztása során elsődleges szempont volt, hogy morfológiailag jól azonosítható legyen az infekció (39–40. ábrák).



39. ábra: *Mycobacterium tuberculosis* kórokozóval fertőzött csontváz rekonstrukciója
Sükösd-Ságod 19. sír (Pálfi *et al.* 1999)



40. ábra: A tuberculosis morfológiai megjelenése
Bélmegyer-Csömöki dűlő 65. sír (Haas *et al.* 2000)

Az elemzett minták adatait a 3. táblázatban foglaltam össze.

No	Lelőhely	Sírsz.	Régészeti kor	Anatómia	Nem	Patológia
1	Sükösd-Ságod	19	7-8. sz.	csigolya T		TB
2	Sükösd-Ságod	19	7-8. sz.	borda		TB
3	Sükösd-Ságod	195	7-8. sz.	csigolya		-
4	Sükösd-Ságod	195	7-8. sz.	borda		-
5	Sükösd-Ságod	217	7-8. sz.	csigolya		-
6	Sükösd-Ságod	217	7-8. sz.	borda		-
7	Sükösd-Ságod	247	7-8. sz.	csigolya		-
8	Sükösd-Ságod	247	7-8. sz.	borda		-
9	Sükösd-Ságod	269	7-8. sz.	csigolya		-
10	Sükösd-Ságod	269	7-8. sz.	borda		-
11	Sükösd-Ságod	292	7-8. sz.	csigolya		-
12	Sükösd-Ságod	292	7-8. sz.	borda		-
13	Bélmegyer-Csömöki domd	65	8. sz.	csigolya L3		TB
14	Bélmegyer-Csömöki domd	65	8. sz.	borda		TB
15	Bélmegyer-Csömöki domd	68	8. sz.	csigolya		-
16	Bélmegyer-Csömöki domd	68	8. sz.	borda		-
17	Bélmegyer-Csömöki domd	93	8. sz.	csigolya		-
18	Bélmegyer-Csömöki domd	93	8. sz.	borda		-
19	Bélmegyer-Csömöki domd	133	8. sz.	csigolya		-
20	Bélmegyer-Csömöki domd	133	8. sz.	borda		-
21	Bélmegyer-Csömöki domd	143	8. sz.	csigolya		-

22	Bélmegyer-Csömöki domd	143	8. sz.	borda		–
23	Bélmegyer-Csömöki domd	189	8. sz.	csigolya		–
24	Bélmegyer-Csömöki domd	189	8. sz.	borda		–
25	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	205	8. sz.	csigolya T		TB
26	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	205	8. sz.	borda		TB
27	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	231	8. sz.	csigolya		–
28	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	231	8. sz.	borda		–
29	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	232	8. sz.	csigolya		–
30	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	232	8. sz.	borda		–
31	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	233	8. sz.	csigolya		–
32	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	233	8. sz.	borda		–
33	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	235	8. sz.	csigolya		–
34	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	235	8. sz.	borda		–
35	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	236	8. sz.	csigolya		–
36	Csongrád-Felgyő Ürmös tanya	236	8. sz.	borda		–
37	Csongrád-Ellés	183	13–14. sz.	borda		TB
38	Csongrád-Ellés	183	13–14. sz.	csigolya T5		TB
39	Csongrád-Ellés	183	13–14. sz.	csigolya L2		TB
40	Csongrád-Ellés	93	13–14. sz.	borda		–
41	Csongrád-Ellés	93	13–14. sz.	csigolya		–
42	Csongrád-Ellés	132	13–14. sz.	borda		–
43	Csongrád-Ellés	132	13–14. sz.	csigolya		–
44	Csongrád-Ellés	92	13–14. sz.	borda		–
45	Csongrád-Ellés	92	13–14. sz.	csigolya		–
46	Csongrád-Ellés	95	13–14. sz.	borda		–
47	Csongrád-Ellés	95	13–14. sz.	csigolya		–
48	Csongrád-Ellés	125	13–14. sz.	borda		–
49	Csongrád-Ellés	125	13–14. sz.	csigolya		–
50	Bácsalmás-Homokbánya	39	16–17. sz.	csigolya L2		TB
51	Bácsalmás-Homokbánya	39	16–17. sz.	borda		TB
52	Bácsalmás-Homokbánya	64	16–17. sz.	csigolya		–
53	Bácsalmás-Homokbánya	64	16–17. sz.	borda		–
54	Bácsalmás-Homokbánya	71	16–17. sz.	csigolya		–
55	Bácsalmás-Homokbánya	71	16–17. sz.	borda		–
56	Bácsalmás-Homokbánya	109	16–17. sz.	csigolya		–
57	Bácsalmás-Homokbánya	109	16–17. sz.	borda		–
58	Bácsalmás-Homokbánya	124	16–17. sz.	csigolya		–
59	Bácsalmás-Homokbánya	124	16–17. sz.	borda		–
60	Bácsalmás-Homokbánya	125	16–17. sz.	csigolya		–
61	Bácsalmás-Homokbánya	125	16–17. sz.	borda		–

3. táblázat: A vizsgált minták

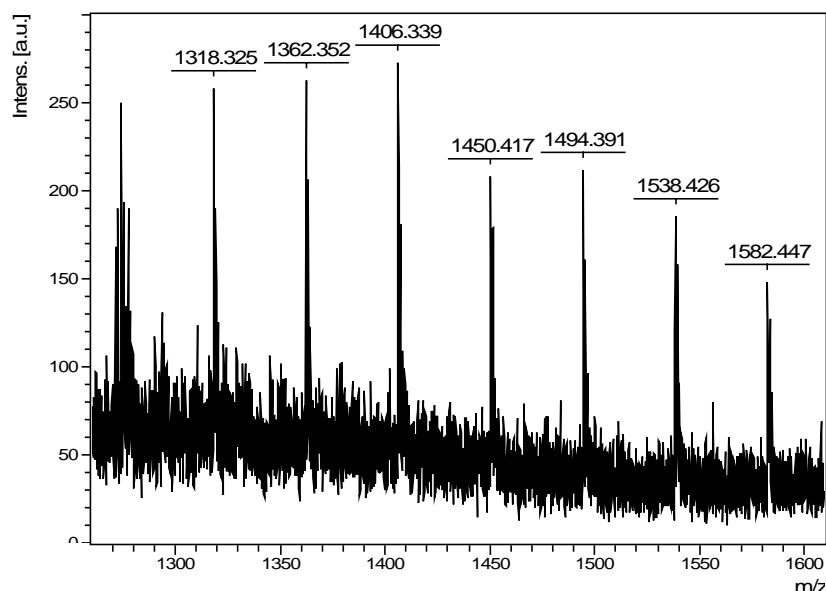
10.2. A vizsgálat menete

A csontmintákat achát mozsárban 0,2 mm szemcse nagyságúra őröltem. 5 mg csontport 1,5 cm³-es Eppendorfcsőbe mértem, majd 1,00 cm³ kloroform–metanol (90/10 V/V) eleggyel 5 percig, jéggel hűtött 25–30°C-os ultrahangos fürdőben extraháltam. A

kivonatok 1–1 μL -ét Bruker rozsdamentes acél mintatartó tálcára cseppentettem. A vizsgálatok során mátrixként α -ciano-4-hidroxi-fahéjsav (CHCA), 2,5-dihidroxi-benzoésav (DHB) és mustársav (SA) telített 0,1%-os trifluor-ecetsav (TFA) – acetonitril (2/1 V/V) oldatát alkalmaztam. A csontextraktumok mellett *Mycobacterium*-ból izolált mycolsav standardot (Sigma) is vizsgáltam, az alkalmazott standrad koncentrációja $0,1 \text{ mg} \times \text{cm}^{-3}$. A minták beszáradása után az elemzéseket Bruker Autoflex II típusú MALDI TOF/TOF tömegspektrométerrel reflektor detektálási módban végeztem el. Az ionizáláshoz 337 nm-es nitrogén lézert alkalmaztam, a vizsgálatok során 300–500 lövés tömegspektrumját összesítettem, a lézer frekvenciája 50 Hz volt. A tömegspektrumokat pozitív ionizációs módban 200 és 3000 m/z tartományban regisztráltam a gyorsító feszültség 20 kV, a késleltetési idő 80 ns volt.

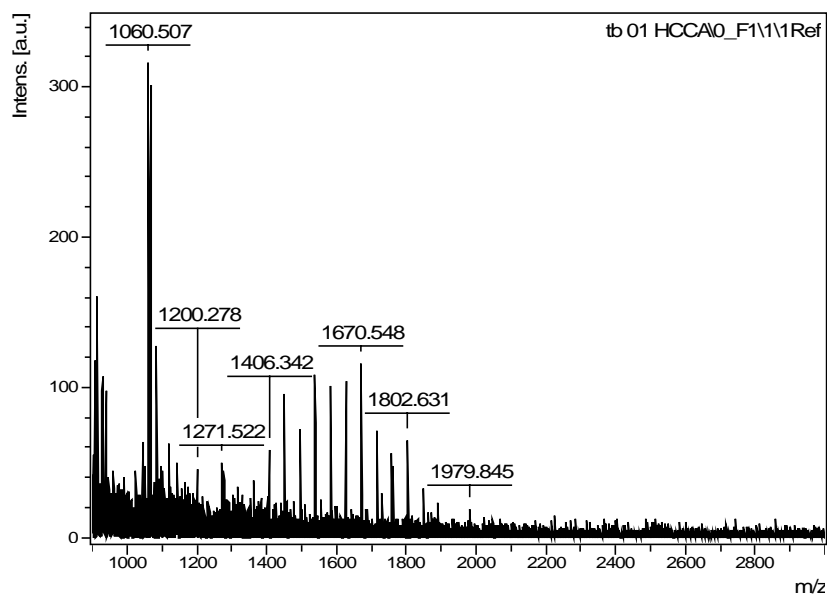
10.3. A vizsgálatok eredményei

A tömegspektrometriás vizsgálat segítségével a 11 fertőzött csontmaradványból 11 esetben kimutatható volt a *Mycobacterium* jelenléte. Az 41. ábrán a mycolsav standard tömegspektrumját mutatom be. A *Mycobacterium tuberculosis* sejtmembránjában megtalálható 87 szénatomszámú methoxy-mycolsav Na^+ ionnal képzett pozitív töltésű kvázimolekulaionja az 1318 m/z értéknél figyelhető meg (Laval *et al.* 2001)

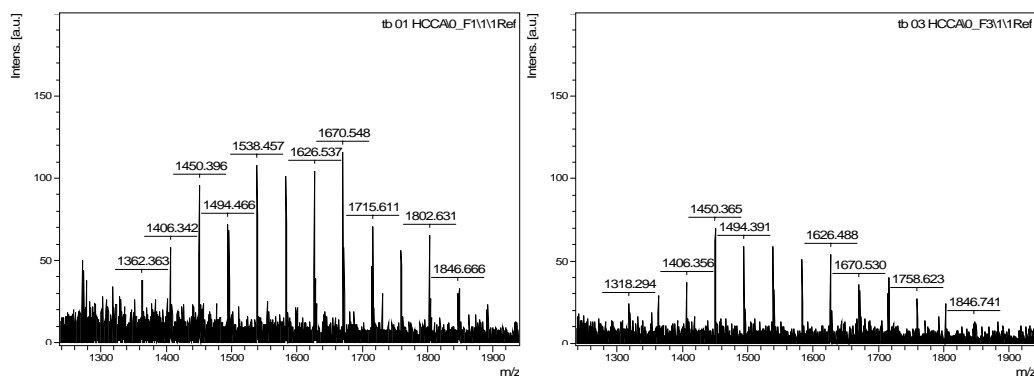


41. ábra: A mycolsav standard MALDI TOF tömegspektrumja

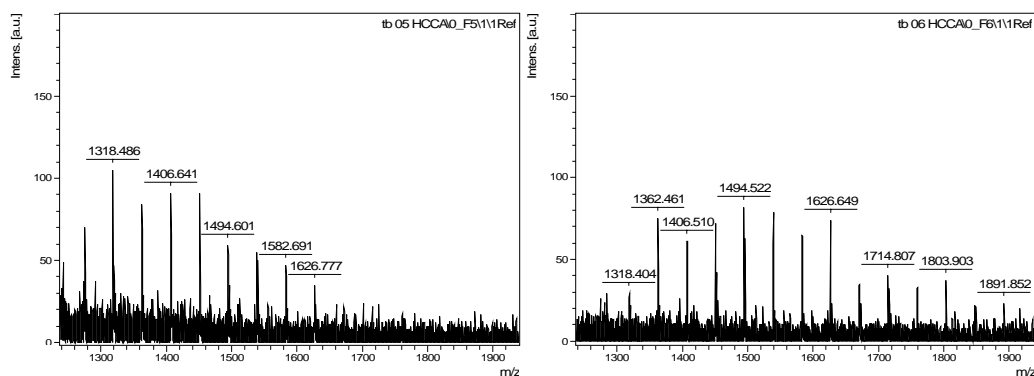
A tömegek közötti 44 Da a karbonsavaknál gyakran megfigyelhető dekarboxiláció, illetve a $[\text{C}_3\text{H}_8]^+$ ionok fragmentációját jelöli (Gross 2004).



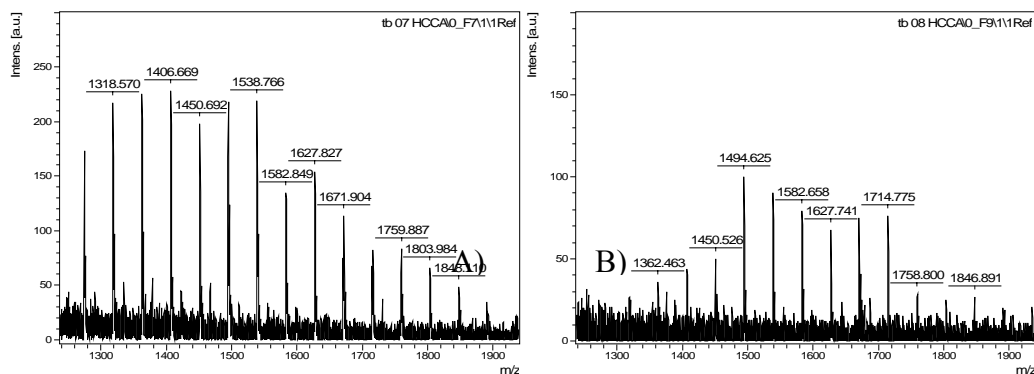
42. ábra: Egy tuberculosis-sal fertőzött csontmaradvány (Sükösd-Ságod 19. sír 1. sz. minta) MALDI TOF tömegspektrumja a 900–3000 m/z tartományban



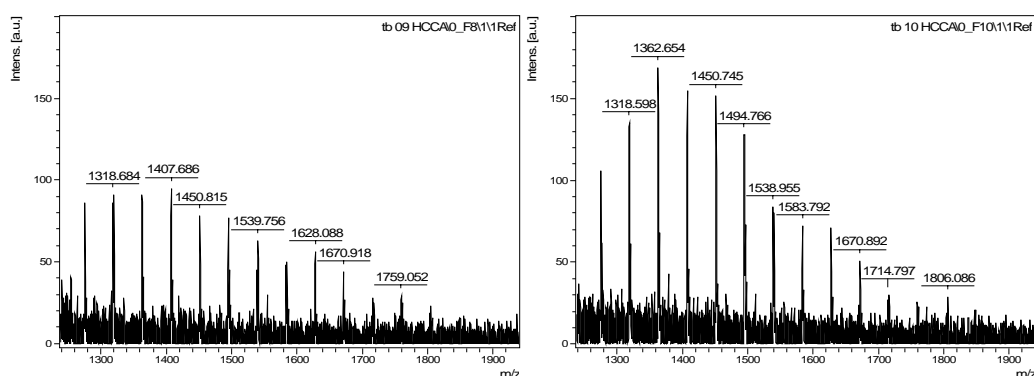
43. ábra: Sükösd-Ságod 19. sír MALDI TOF tömegspektrumja a 1200–2000 m/z tartományban A) csigolya, B) borda



44. ábra: Bélmegyer-Csömöki dűlő, 65. sír MALDI TOF tömegspektrumja a 1200–2000 m/z tartományban A) csigolya, B) borda

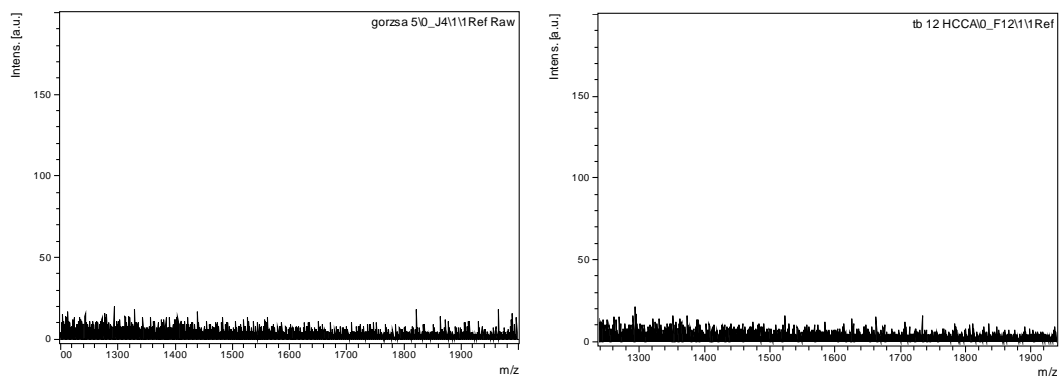


45. ábra: Csongrád-Felgyő Ürmös tanya 205. sír MALDI TOF tömegspektrumja a 1200–2000 m/z tartományban A) csigolya, B) borda



46. ábra: Csongrád-Ellés 183. sír MALDI TOF tömegspektrumja a 1200–2000 m/z tartományban A) csigolya, B) borda

A 42–46. ábrákon a *Mycobacterium tuberculosis*-sal fertőzött egyének csonmaradványainak tömegspektrometriás elemzéseit mutatom be. A tömegspektrumokon megfigyelhető eredmények egyeznek a mycolsav standard elemzése és a szakirodalom által közölt eredményekkel. Természetesen kontrollként a temetőben egészséges leleteit használtam, amelynek eredményei a 47. ábrán látható.



47. ábra: Két egészséges csontmaradvány MALDI TOF vizsgálatának eredménye

Az eredményekből kitűnik, hogy a módszer kiválóan alkalmas a kitűzött cél megvalósítására. Az eljárás külön előnye, hogy segítségével a morfológiailag nem vizsgálható leletek illetve a gümőkór korai fázisban elhunytak maradványai is vizsgálhatóak. További elemzéseket tervezek az egyes *Mycobacterium* fajok biomarkerekkel történő elkülönítésére, amely nagyban hozzájárul a *Mycobacterium tuberculosis* evolúciójának megértéséhez.

11. AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Lengyel Imre professzor úr tragikus halála óta hazánkban elsőként végeztem el szisztematikus csontkémiai vizsgálatokat régészeti és igazságügyi maradványokon.

1. Reprodukáltam és tovább fejlesztettem a Lengyel Imre által kidolgozott citrát-tartalom meghatározására irányuló módszert. Kifejlesztettem egy nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszert a fragmentált csontmaradványok nemének meghatározására.
2. Kidolgoztam egy régészeti és igazságügyi maradványok nemének meghatározásra alkalmas, rendkívül gyors, pontos, reprodukálható high-throughput technikát. A kidolgozott módszer segítségével a csontszövetből sikeresen izoláltam női és férfi nemi hormonokat (ösztrom, ösztradiol, ösztriol, progeszteron, tesztoszteron), majd elvégeztem tömegspektrometriás elemzését. A MALDI TOF tömegspektrometriára épülő módszer kiválóan alkalmas töredékes (0,5–2 g) csontmaradványok nemének meghatározására még olyan esetben is, amikor a leleteket rendkívül agresszíven károsító közegben leltük fel (pl. vízi hullák).
3. Nagyszámú, szisztematikusan gyűjtött antropológiai leletek táplálkozástudományi vizsgálatát végeztem el. Az elemzésekhez számos modern műszeres analitikai módszert használtam fel, amelyek közül a neutron aktivációs analízist és az izotóparány tömegspektrometriát elsőként alkalmaztam. Kémiai módszerekkel igazoltam a Kárpát-medencében a 9. és 11. századok közötti időszakban bekövetkező alapvető táplálkozási változást. Elvégeztem egy teljes őskori temető kémiai analízisét és táplálkozástudományi vizsgálatát.
4. Természettudományos eszközökkel mutattam ki a szarmata népesség körében alkalmazott különleges temetkezési szokások meglétét. Analitikai vizsgálatok segítségével bizonyítottam a bőrbe temetkezés rítusát a késői (hunkori) szarmatáknál.
5. Munkám során egy teljesen új Mycobacteriális fertőzések kimutatására alkalmas tömegspektrometriás vizsgálati módszert fejlesztettem ki. A MALDI TOF

tömegspektrometriára épülő technika alkalmas rendkívül töredékes (5–10 mg) régészeti és recens csontmaradványok nagyhatékonyságú, pontos, nagyérzékenységű vizsgálatára. A módszer alkalmas olyan csontminták vizsgálatára is, amelyek fertőzöttek, de ennek csontokon megjelenő morfológiai nyoma még nem figyelhető meg. A MALDI TOF tömegspektrometria érzékenysége és az egyszerű mintaelőkészítés hozzájárul ahhoz, hogy olyan csontmaradványokon is pozitív eredményt kaphatunk, ahol a mycobacteriális DNS izolálás és szekvenálás nem járt sikerrel.

12. ÖSSZEFOGLALÁS

Az antropológiai és régészeti maradványok elemzése rendkívül összetett feladat. A kutatók számára igen nagy kihívást jelent az egykori életmód, társadalom és környezet rekonstrukciója. Az elmúlt évek során a tudományág által alkalmazott kutatási módszerek — a segédtudományok fejlődésével karöltve — nagy változáson mentek keresztül, így a történeti, recens és igazságügyi embertan is rutinszerűen használja a legújabb biológiai, kémiai és fizikai vizsgálati technikákat. Azon túl, hogy ezek a modern természettudományos vizsgálati eljárások kiválóan kiegészítik a morfológiai jellegek által szolgáltatott információkat, hozzájárulnak a klasszikus antropológia által nem vizsgálható, töredékes, rossz állapotú maradványok tudományos feldolgozásához.

Jelen tanulmány az antropológiai leletek kémiai elemzéseinek alkalmazhatóságával és fejlesztési lehetőségeivel foglalkozik. Napjainkban számos közlemény jelenik meg a témával kapcsolatban, azonban viszonylag kevés a szisztematikus, összetett vizsgálat. Hazánkban, Lengyel Imre a hatvanas évektől végzett nemzetközi szintű csontkémiai vizsgálatokat, melyek azonban tragikus halála következtében megszakadtak. Ezért tűztem ki célul csontkémiai vizsgálatok hazai lehetőségeinek megteremtését és a módszerek fejlesztését. Vizsgálataimat különböző régészeti korszakokból származó és recens csontanyagon végeztem el, a leletek a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Kar Embertani Tanszékének és a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Igazságügyi Orvostani Intézetének gyűjteményéből származnak.

Disszertációmban ismertetem a csontszövet általános kémiai felépítését és a fosszilizáció során bekövetkező főbb változásokat. Vizsgálataimhoz számos modern analitikai módszert alkalmaztam, ezek közül kiemelném a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát (HPLC) és a mátrix segített lézerdeszorpciós ionizációt alkalmazó repülési idő tömegspektrometriát (MALDI TOF MS). A két módszernek óriási szerepe van napjaink analitikájában és orvosi diagnosztikájában, ezeket az eredményeket az igazságügyi és történeti antropológia is sikeresen alkalmazhatja.

Dolgozatom első részében olyan nem-meghatározásra alkalmas kémiai módszereket mutatok be, amelyek töredékes csontmaradványok vizsgálatára is alkalmasak. Kutatásaim két irányban indultak el. Az egyik, a Lengyel Imre által ismertetett citrát-elemzésre épülő nem-meghatározás, amelyet napjaink műszeres analitikai igényeihez

alakítva HPLC-ra dolgoztam át. Az új módszer alkalmas a töredékes csontmaradványok citrát-tartalmának pontos, érzékeny, reprodukálható és gyors meghatározására. Eredményeim jól egyeznek a Lengyel által ismertetett adatokkal, amelyek szerint a női csontok citrát-koncentrációja magasabb, mint az azonos életkorú férfi maradványoké. A másik általam kifejlesztett módszer egy olyan MALDI TOF tömegspektrometriára épülő eljárás, amely alkalmas néhány mg-nyi csontminta elemzésére. A vizsgálat során a csontszövetből nemi hormonokat (ösztron, ösztradiol, ösztriol, progeszteron, tesztoszteron) vontam ki, amelyeket tömegspektrometriával határoztam meg. Sikeresen határoztam meg a nemét egy erősen károsodott Dunából előkerült recens emberi maradványnak. Az elemzést DNS és morfológiai vizsgálatokkal ellenőrztem, amelyek megerősítették eredményeimet.

Másik kutatási területem az egykori népségek táplálkozási szokásainak vizsgálata, amelyhez ugyancsak modern kémiai analitikai eljárásokat alkalmaztam. Elvégeztem egy újkőkori temető teljes feltárt emertani anyagának modern nyomelem analitikai eszközökkel történő kémiai vizsgálatát. Az analízis eredményei alapján kijelenthetjük, hogy a vizsgált neolitikus populáció kiegyensúlyozott táplálkozást folytatott. Étrendjében a nagymennyiségű állati eredetű táplálék mellett meghatározó szerepe volt a gabonanövényeknek.

Táplálkozástudományi vizsgálatokat végeztem egy 9. és 11. század közötti időszakból származó temető anyagán. Mérési eredményeim alapján a 10. és 11. század fordulóján alapvető változás következik be a táplálkozási szokásokban, ennek értelmében a letelepült életmóddal kapcsolatban növekszik a gabonafélék fogyasztása.

Dolgozatom következő részében a madarasi szarmata temetőben megfigyelt különleges maradványok eredetét vizsgálom. Korábbi antropológiai megfigyelések alapján a Madaras-Halmok lelőhelyen feltárt több mint 600 síros hunkori szarmata temető csontanyaga erősen rossz állapotú, a csontokon ismeretlen eredetű szerves anyag figyelhető meg. Komplex kémiai elemzéseim eredményeként sikerült megállapítanom egy különleges temetkezési szokás meglétét a szarmata lakosság körében. Analitikai vizsgálatok segítségével bizonyítottam a bőrbe temetkezés rítusát a késői szarmatáknál. A különleges temetkezést alkalmazó csoport esetében életmódbeli eltérést is kimutattam, amely még ismeretlen társadalmi vagy származásbeli különbségekre utalhat.

Végül olyan kémiai biomarkerek kimutatását mutatom be, amelyek alkalmasak patológias folyamatok meghatározására. Vizsgálataim során különböző lelőhelyekről származó *Mycobacterium tuberculosis* fertőzést mutató csontmaradványok MALDI TOF tömegspektrometriás elemzését végeztem el. Sikeresen detektáltam a *Mycobacterium*-ra jellemző mycolsavakat. A mycolsav a kórokozó sejtmembránjában halmozódik fel, és hidrofób jellege és stabilitása miatt ideális biomarker. A tömegspektrometriás módszer segítségével töredékes csontleletek néhány mg-ja vizsgálható sikeresen még akkor is, ha a maradványok bakteriális DNS-re negatívak voltak. A szakirodalomban található recens baktériumok elemzéseinek eredményei felvetik a lehetőséget a különböző *Mycobacterium* fajok kémiai elkülönítésére, így lehetővé válna a *Mycobacterium tuberculosis* evolúciójának tanulmányozására.

A dolgozatban ismertetett módszer alapjait képzi egy hosszútávú patológias kutatásnak, amelyben kis molekulatömegű biomarkerek és fehérjék, fehérjetöredékek tömegspektrometriás vizsgálatát végzem el. Elképzeléseim szerint emberi maradványokból származó fehérjék szekvenciájának és kémiai módosításainak meghatározása nagyban hozzájárul a paleopatológia további fejlődéséhez.

Munkám során törekedtem arra, hogy kis mintaigényű, kevés mintaelőkészítést igénylő analitikai módszereket alkalmazzak az antropológiai maradványok elemzésére. A MALDI TOF tömegspektrometria maximálisan kielégíti a high-throughput analitikai technikák iránt támasztott követelményeket. Segítségével rendkívül gyorsan akár több száz minta is vizsgálható, így lehetővé válik teljes temetők komplex feldolgozása.

Reményeim szerint a kifejlesztett és a diszertációmban ismertetett módszerek segítségével hazánk nem csupán bekapcsolódhat a nemzetközi csontkémiai vizsgálatokba, hanem meghatározó szerepet tölthet be azok fejlesztésében.

13. SUMMARY

The analysis of anthropological and archaeological remains is a very complex task. It is a great challenge for researchers to reconstruct the ancient environment, society and life habits. Through the past decades research methods applied by the discipline went through major changes, so the historical, recent and forensic anthropology uses the latest biological, physical and chemical research techniques. These modern research techniques excellently complement information suggested by the morphological features, further more assists to analysis of remains in poor condition. This recent essay deals with the possibility of chemical analysis of anthropological remains, and with the opportunity to develop them. Nowadays several announcement appears in connection with this topic, although there are a few complex, systematic researches. In Hungary Imre Lengyel made international-level bone chemistry researches, which stopped because of his tragic death. This is why my aim is to make the possibility of bone chemistry researches, and the development of these methods in Hungary. I have made my assay on different recent, and ancient bone remains which were obtained from the Department of Anthropology (University of Szeged, Faculty of Sciences) and Institute of Forensic Medicine (University of Pecs, Faculty of Medicine)

In my dissertation I delineate the general chemical structure of the bone, and the major changes during fossilization. For my assay I have applied several modern analytical methods, most importantly high performance liquid chromatography (HPLC) and matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry (MALDI TOF MS). These two methods have a general role in today's chemical analysis and medical diagnostics, these results are successfully applied by forensic and paleoanthropology too.

In the first part of my assay I present methods appropriate for sex-determination, which are completely opportune for analysis of bone remains in bad condition. One of them is the sex determination based on citrate-synthase described by Imre Lengyel, which I changed, and applied on HPLC to be agreeable to the needs of modern analytical chemistry. The new method is appropriate to determine precisely, sensitively and reproducibly the citrate concentration of fragmented bone samples. My results correlate well with the data described by Lengyel, which tell that the citrate-synthase concentration of the female bones is higher than the similar aged male ones. The other method I developed is a process based on MALDI TOF mass spectrometry, which is

eligible for analysis of even a few mg of bone samples. During the research I extracted sexual hormones (estrone, estradiol, estriol, progesterone and testosterone) from bone samples, and analyzed them using mass spectrometry. I successfully determined the sex of a recent human remain, a seriously damaged corpse turned up from the river Danube. I made control of morphological and DNA analysis techniques which confirmed my results.

My other research field is the study of ancient civilizations feeding habits, for which I also applied modern analytical methods. I used modern analytical techniques for determination of the trace elements composition of human remains from a well excavated neolithic cemetery. In aware of the results of the analysis we can tell, that the tested neolithic population had a balanced diet. In their diet besides the large amount of meat, a large amount of cereal was decisive.

I have made dietary researches from the remains of a grave originating between the years 9. to 10 sz. Based on my results I can say that there was a basal change in the feeding habits between 10–11. therefore with the settled habit, the amount of the consumed cereals grow.

In the next part of my work I analysed the special remains observed in the Sarmatian cemetery in Madaras. Based on previous anthropological findings, the remains located in the 600 graved Hun aged Madaras-Halmok quarry are in a very bad condition, and on their surface an unknown organic substance can be found. As a result of my complex chemical researches I could establish a special burial habit among late Sarmatian residents. In my opinion the dead were put in their grave, rolled in tanned leather. In the case of the group applying these special habits I was able to establish difference in life habits, which can point to yet unknown societal and ancestry differences.

For the end I introduce the detection of biomarkers which are eligible for determination of pathological processes. During my researches I made the analysis of bone samples from different locations showing *Mycobacterium tuberculosis* infection, using MALDI TOF mass spectrometry. I successfully detected mycolic acids represent *Mycobacterium*. Mycolic acid accumulates in the membrane of the bacteria, and is an ideal biomarker because of its stability and hydrophobic kind. With the help of the mass spectrometric method a few milligrams of fractured bone samples can be analysed

even if tests for bacterial DNA have proved to be negative. Results of analysis of recent bacteria found in the literature raises the opportunity of chemical differentiation of *Mycobacterium* species, giving the opportunity to study the evolution of *Mycobacterium tuberculosis*.

The method showed in this study give the base of a long-term pathological research, where I executed the analysis of low molecular mass biomarkers, proteins and peptides. As I think to determine the sequences, and chemical differentiations of proteins extracted from bone samples, can help the development of paleopathology.

MALDI TOF mass spectrometry completely satisfies the needs of high-throughput analytical techniques. With its help a few hundreds of samples can be rapidly analysed, giving the opportunity of complex processing of complete graves.

I hope that with the help of the developed methods discussed in my dissertation Hungary not only can join international bone chemistry researches, but also play a major role in their development.

*„Vak ügetését hallani
Eltévedt, hajdani lovasnak,
Volt erdők és ó-nádasok
Láncolt lelkei riadoznak.”*

Ady Endre
Az eltévedt lovas (részlet)

14. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném hálámat kifejezni azoknak, akik fizikailag és szellemileg segítettek eddigi tudományos munkámat és disszertációm elkészítését.

Elsősorban feleségemnek Márk Mariannak, illetve édesanyámnak Gellérné Muka Annának valamint apámnak Gellér Józsefnek tartozom köszönettel, segítségük és türelmük nélkül nem készíthettem volna el értekezésemet.

Kutatási elképzeléseimet nem valósíthattam volna meg Marcsik Antónia (Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Kar, Embertani Tanszék) és Bajnóczky István (Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Igazságügyi Orvostani Intézet) szakmai tanácsai és segítségével nélkül. Itt szeretnék megemlékezni egykori témavezetőmről Hertelendi Edéről, az MTA Atommagkutató Intézetében működő Környezetanalitikai Laboratórium egykori vezetőjéről, az ő támogatása és szemléletmódja meghatározó volt tudományos pályám kibontakozásában.

Őszinte köszönetemet fejezem ki Sümegi Balázsnak és Tóth Gyulának a Pécsi Tudományegyetem Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetének jelenlegi és előző igazgatójának, illetve munkacsoportom vezetőjének Ohmacht Róbertnek, akik hozzájárultak munkámhoz és szakmailag segítették azt.

Továbbá — a teljeség igénye nélkül — Balázs Péternek, Balla Mártának, Demény Attilának, Ecsedi Isvának, Ember Istvánnak, Galbács Gábornak, Galbács Zoltánnak, Göbl Lászlónak, Horváth Ferencnek, Lóránt Tamásnak, Mende Balázs Gusztávnak, Montskó Gergelynek, Nagy Lászlónénak, Patonai Zoltánnak, Sümegi Pálnak, Szabó Kingának, Szabó Zoltánnak, Tóth Máriaának, Vályi Katalinnak tartozom köszönettel, hogy hittek bennem, tanítottak illetve tanácsaikkal segítettek eddigi munkámat.

15. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Ambrose S.H., Krigbaum J. (2003) Bone chemistry and bioarchaeology, *Journal of Anthropological Archaeology* **22** (3), pp.191–192
2. Betts F., Blumenthal N.C., Posner A.S. (1981) Bone mineralization. *Journal of Crystal Growth* **53**, pp.63–73
3. Boyd W.C. (1933) Blood Grouping by Means of Preserved Muscle, *Science* **78**, pp.595
4. Boyd W.C. (1950) *Genetics and Races of Man*, Little Brown and Co., Boston
5. Boyd W.C. (1954) Newer Concepts of Human Races Suggested by Blood Group Studies, *Yearbook of Physical Anthropology*, pp.105–110
6. Brätter P., Gawlik D., Rösick U. (1988) A view into the past: Trace element analysis of human bone from former times, *HOMO* **39**, pp.99–113
7. Brown A. (1973) *Bone Strontium Content as a Dietary Indicator in Human Skeletal Populations*, PhD Dissertation , University of Michigan
8. Burger J., Hummel S., Herrmann B. (2000) Paleogenetics and cultural heritage. Species determination and STR-genotyping from ancient DNA in art and artefacts, *Thermochimica Acta* **365**, pp.141–146
9. Candela P.B. (1936) Blood Group Reactions in Ancient Human Skeletons, *American Journal of Physical Anthropology* **21**, pp.429–432
10. Candela P.B. (1939) Blood Group Determinations upon the Bones of Thirty Aleutican Mummies, *American Journal of Physical Anthropology* **24**, pp.361–383
11. Candela P.B. (1942) The Introduction of Blood Group B into Europe, *Human Biology* **14**, pp.413–443

12. Coons A.H, Creech H.J., Jones R.N. (1941) Immunological Properties of Antibody Containing Fluorescent Group, *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* **47**, pp.200–2021
13. Cooper A., Poinar H.N. (2000) Ancient DNA: do it right or no tat all, *Science* **289** p.1139
14. Crubézy E., Legal L., Fabas C., Dabernat H., Ludes B. (2005) pathogeny of archaic mycobacteria at the emergence of urban life in Egypt (3400 BC), *Infection, Genetics and Evolution* (in press)
15. Csapó J, Csapó-Kiss Zs., Csapó Jr. J. (1998) Use of amino acids and their racemisation for age determination in archaeometry, *Trends in Analytical Chemistry* **17** (3), pp.140–148
16. Dalconi M.C.; Meneghini C., Nuzzo S., Wenk R., Mobilio S. (2003) Structure of bioapatite in human foetal bones: An X-ray diffraction study, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **200**, pp.406–410
17. Dávid P.K. (1969) Thermoanalytical Study of Human Bone Remains, *A Móra Ferenc Múzeum Évkönyve* **2**, pp.211–215
18. Denys C. (2002) Taphonomy and experimentation, *Archaeometry* **44** (3), pp.469–484
19. Deyl Z., Mikšík I., Eckhardt A. (2003) Preparative procedures and purity assessment of collagen proteins, *Journal of Chromatography B* **790**, pp. 245–275
20. Donoghue H.D., Spigelman M., Zias J., Gernaey A.M., Minnikin D.E. (1998) Mycobacterium tuberculosis complex DNA in calcified pleura from remains 1400 years old, *Letters in Applied Microbiology* **27**, pp.265–269
21. Donoghue H.D., Marcsik A., Matheson C., Vernon K., Nuorala E., Molto J.E., Greenblatt C.L., Spigelman M. (2004) Co-infection of Mycobacterium tuberculosis

- and *Mycobacterium leprae* in human archaeological samples: a possible explanation for the historical decline of leprosy *Proceedings Biological Science* **272** (1561), pp.389–394
22. Evans W.E.D. (1963) The chemistry of death, in Kugelmass I.N. (ed.) *American in living chemistry*, Charles C Thomas Publisher, Springfield, Illinois
 23. Farkas Cs. (1998) Korai szarmata temető aranyeleletes sírjai Füzesabony határából (Újabb adatok a szarmata kori viselet problémaköréhez), in Havassy Peter (szerk.) *Jazigok, roxolanok, alanok. Szarmatak az Alfoldon. Gyulai Katalogusok* **6**, Gyula, pp.67–81.
 24. Fletcher H.A., Donoghue H.D., Holton J., Pap I., Spigelman M. (2003) Widespread occurrence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from 18th–19th century Hungarians, *American Journal of Physical Anthropology* **120**, pp.144–152
 25. Gernaey A.M., Minnikin D.E., Copley M.S., Power J.J., Ahmed A.M.S., Dixon R.A., Roberts C.A., Robertson D.J., Nolan J., Chamberlain A. (1998) Detecting ancient tuberculosis, *Internet Archaeology* **5**
 26. Gernaey A.M., Minnikin D.E., Copley M.S., Dixon R.A., Middleton J.C., Roberts C.A. (2001) Mycolic acids and ancient DNA confirm an osteological diagnosis of tuberculosis, *Tuberculosis* **81** (4), pp.259–265
 27. Gilbert R.I. (1975) *Trace Element Analysis of Three Skeletal Amerindian Populations at Dickson Mounds*, PhD Dissertation, University of Massachusetts
 28. Goreczky L., Sós J. (1983) *Klinikai kémiai laboratóriumi zsebkönyv*, Medicina, Budapest
 29. Gross J.H. (2004) *Mass spectrometry*, Springer-Verlag, Berlin
 30. Haas C.J., Zink A., Molnar E., Szeimies U., Reischl U., Marcsik A., Ardagna Y., Dutour O., Palfi Gy., Nerlich A.G. (2000) Molecular evidence for different stages of

- tuberculosis in ancient bone samples from Hungary, *American Journal of Physical Anthropology* **113**, pp. 293–304
31. Herrmann B., Hummel S., (1994) *Ancient DNA*, Springer-Verlag, New York
 32. Horváth F. (1982) A gorzszai halom későneolitik rétege, *Archeológiai Értesítő* **109**, pp.201–222
 33. Jayaprakasha G.K., Sakariah K.K. (2002) Determination of organic acids in leaves and seeds of *Garcinia indica* (Desr.) by LC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **28**, pp.379–384
 34. Kaup Y., Weser U. (2000) Ancient Metalloenzymes as Possible Markers in Molecular Archaeology, *Journal of Inorganic Biochemistry* **79**, pp.3–6
 35. Kiszely I. (1973) Derivatographic Examination of Subfossil and Fossil Bones, *Current Anthropology* **14** (3), June, pp.280–286
 36. Kósa F.(1983) Emberi csontok termogravimetriás vizsgálata és alkalmazása az igazságügyi orvosi gyakorlatban, IV. Termogravimetriai Symposium, Budapest
 37. Kósa F., Földes V., Rengei B., Kónya K. (1982) Thermogravimetrische (derivatgraphische) Untersuchungen menschlicher Knochen zwecks Feststellung der Dauer des Begrabenseins in der Erde, XII. Kongress der Internationalen Akademie für Gerichtliche und Sozialmedizin, Wien
 38. Kőhegyi M. (1971) Előzetes jelentés a Madaras-Halmok későszarmata-hun kori temetőjének ásatásáról – Vorläufige Mitteilung über die Freilegung des Spätsarmatisch-Hunnezeitlichen Gräberfeldes von Madaras-Halmok, *Archeológiai Értesítő* **98**, pp.210-215
 39. Kőhegyi M. (1994) Sírrablás a magyarországi szarmatáknál–Grabberaubung bei den Sarmaten in Ungarn, in Lőrinczy G. (szerk) *A kőkortól a középkorig*. Szeged, pp.277-284

40. Kramer B., Shear J. (1928) Composition of Bone. II. Pathological Calcification, *The Journal of Biological Chemistry* **79**, pp.121–123
41. Lampert J.B., Szpunar C.B., Buikstra J.E. (1979) Chemical Analysis of Excavated Human Bone from Middle and Late Woodland Sites, *Archaeometry* **21**, pp.403–416
42. Laval F, Lanéelle M.A., Déon C., Monsarrat B., Daffé M. (2001) Accurate molecular mass determination of mycolic acids by MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **73**, pp.4537–4544
43. Lengyel I., Nemeskéri J. (1963) Application of Biochemical Methods to Biological Reconstruction, *Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie* **54**, pp.1–56
44. Lengyel I., Nemeskéri J. (1964) Über die Blutgruppenbestimmung an Knochen mit Hilfe der Fluoreszenz-Antikörper-Methode, *HOMO* **15** (2), pp.65–72
45. Lengyel I., Nemeskéri J. (1964a) A csontvázleletek dekompozíciójáról, *Anthropológiai Közlemények* **8** (3–4), pp.69–82
46. Lengyel I. (1972) A csontok kémiai elemzése, in Farkas Gyula (szerk.): *Antropológiai praktikum I.* Szeged, 140–198
47. Lengyel I. (1975) *Palaeoserology. Blood Typing with the Fluorescent Antibody Method*, Budapest, Akadémiai kiadó
48. Lengyel I. (1980) Aging in the past. Biochemical aspects of skeletal aging in recent as well as in archaeological periods, *Anthropológiai Közlemények* **24**, pp.137–151
49. Lin D.S., Connor W.E., Napton L.K., Heizer R.F. (1978) The steroids of 2000-year-old human coprolites, *Journal of Lipid Research* **19**, pp. 215–221
50. Machovich R. (2002) A kötőszövet és a hám struktúrfehérjéi, in Ádám V. (szerk) *Orvosi Biokémia. Medicina*, pp. 566–573

51. Mackenzie R.C. (1970) Basic and Historical Development, in Mackenzie R.C. (ed) *Differential Thermal Analysis. Vol. 1*, Academic Press, London–New York, pp.3–15
52. Mackenzie R.C., Mitchell B.D. (1970) Instrumentation, in Mackenzie R.C. (ed) *Differential Thermal Analysis. Vol. 1*, Academic Press, London–New York, pp.63–99
53. Mackenzie R.C., Mitchell B.D. (1970a) Technique, in Mackenzie R.C. (ed) *Differential Thermal Analysis. Vol. 1*, Academic Press, London–New York, pp.101–122
54. McKenzie H.A., Smythe L.E. (1988) Quantitative trace analysis of biological materials, Elsevier, Amsterdam
55. Molin G, Drusini A.G., Pasqual D., Martignago F., Scarazzati G. (1998) Microchemical and crystallographic analysis of human bones from Nasca, Peru. A possible method of direct dating of archaeological skeletal material. *International Journal of Osteoarchaeology* **8**, pp.38–44
56. Nemeskéri J. Lengyel I. (1963) Újabb biológiai módszerek a történeti népeiségek rekonstrukciójában, *MTA Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei* **6 (3–4)**, pp.334–357
57. Nicholson R.A. (1996) Bone Degradation, Burial Medium and Species Representation: Debunking the Myths, an Experiment Based Approach, *Journal of Archaeological Science* **23**, pp.513–533
58. Nielsen-Marsh C.M., Richards M.P., Hauschka P.V., Thomas-Oates J.E., Trinkaus E., Pettitt P.B., Karavanic I., Poinar H., Collins M. (2005) Osteocalcin protein sequences of Neanderthals and modern primates, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102** (12), pp.4409–4413

59. Nokes L., Madea B. (1995) Changes after Death, in Knight B. (ed.) *The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period*, Edward Arnold, London, pp.221–225
60. Ortner D.J. (1999) Paleopathology: Implications for the history and evolution of tuberculosis, in Pálfi et al. (eds.) *Tuberculosis Past and Present*, Golden Book Publisher Ltd., Tuberculosis Foundation, Bp. pp.254–261
61. Pais I., Tóth T. (1990) *A Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Kémiai és Biokémiai Tanszékének zárójelentése a csontanalitikai kutatómunkáról*, Kézirat
62. Pais I., Tóth T. (1991) Human Paleonutrition in the Carpathian Basin from the Neolithic to Mediaeval Times Based on Osteochemical Analysis, *Annales Historico-Naturales Mesei Nationalis Hungarici* **83**, pp.285–299
63. Pais I., Tóth T. (1996) Human Paleonutrition in the Carpathian Basin from the Neolithic to Mediaeval Times Based on Osteochemical Analysis, *Publ. Universitas Horticulturae Industriaeque Alimentariae* **60**, pp16–20
64. Pálfi Gy., Dutour O., Deák J., Hutás I. (1999) *Tuberculosis Past and present*, Zenith Rt. egyetemi nyomda, Szeged
65. Pollard C., Heron M. (1996) *Archaeological Chemistry*, Cambridge
66. Reiche I, Vignaud C., Menu M. (2002) The crystallinity of ancient bone and dentine: New insights by transmission electron microscopy, *Archaeometry* **44** pp.447–459
67. Reiche I., Favre-Quattropani L., Calligaro T., Salomon J, Bocherens H., Charlet L., Menu M. (1999) Trace Element Composition of Archaeological Bones and Postmortem Alteration in the Burial Environment, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **150**, pp.656–662
68. Renfrew C., Bahn P. (1999) *Régészet*, Osiris Kiadó, Budapest

69. Schiffer M.B. (1976) *Behavioral Archaeology*, Academic Press, New York–London
70. Shear M. J., Kramer B. (1928) Composition of Bone. I. Analytical Micro Methods *The Journal of Biological Chemistry* **79**, pp.105–120
71. Smittenberg R.H., Hopmans E.C., Schouten S., Sinninghe Damsté J.S. (2002) Rapid isolation of biomarkers for compound specific radiocarbon dating using high-performance liquid chromatography and flow injection analysis-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry, *Journal of chromatography A* **978**, pp. 129–140
72. Smrčka V. (2005) Trace elements in bone tissue, Charles University in Prague, The Karolinum Press, Prague
73. Smrčka V., Jambor J., Gladykowska-Rzeczycka J., Marcsik A. (2000) Diet Reconstruction in the Roman Era, *Acta Universitatis Carolinae Medica* **41 (1–4)**, pp.75–82
74. Szabó Z., Ohmacht R., Huck C.W., Stögl W.M., Bonn G.K. (2005) Influence of the pore structure on the properties of silica based reversed phase packings for LC. *Journal of Separation Science*. **28**, pp.313–324
75. Szpunar C.B. (1977) *Atomic Absorption of Archaeological Remains: Human Ribs from Woodlands Mortuary Sites*, PhD Dissertation, Northwestern University
76. Takács S. (2001) *A nyomelemek nyomában*, Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest.
77. Waren M.W., Falsetti A.B., Kravchenko I.I., Dunnam F.E., Van Rinsvelt H.A., Maples W.R. (2002) Elemental Analysis of the Bone: Proton-Induced X-ray Emission Testing in Forensic Cases, *Forensic Science International* **125**, pp.37–41

78. Webb T.L., Krüger J.E. (1970) Carbonates, in Mackenzie R.C. (ed) *Differential Thermal Analysis. Vol. 1*, Academic Press, London–New York, pp.303–337
79. Zierdt, H., Hummel S., Wischmann H., Herrmann B. (2000) Hormone in archäologischen Skelettfunden – ein empirischer Zugang zur Fertilität historischerBevölkerungen, *HOMO* **51**, pp.S153